

Astım Fenotip ve Endotipleri

Asthma Phenotypes and Endotypes

İsmet BULUT^a

^aAllerjik Hastalıklar Kliniği,
Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve
Göğüs Cerrahisi Eğitim ve
Araştırma Hastanesi, İstanbul

Yazışma Adresi/Correspondence:
İsmet BULUT
Süreyyapaşa Göğüs Hastalıkları ve
Göğüs Cerrahisi Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
İstanbul, TÜRKİYE
ismetbulut2002@yahoo.com

ÖZET Astım çeşitli çevresel ve genetik faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan hava yollarında kronik farklı inflamasyon paternlerinin gözlemlenebildiği, kompleks bir hastalık veya sendromdur. Astımın bu kompleks ve heterojen yapısı fenotiplemeyi ve beraberinde endotiplerin tanımlanmasını kaçınılmaz hale getirmiştir. Astımın bu kompleks ve heterojen yapısı, yıllar içinde de fenotipik değişim ve geçişlerin gözlenmesi nedeniyle sadece fenotiplendirme ve fenotipe özgün tedavi belirleme yaklaşımının yetersiz olduğundan hareketle yeni bir arayışa girilmiş, astımda endotip kavramı konuşulmaya başlanmıştır. Bu arayışın nedeni fenotipin sadece klinik özellikler hakkında bilgi vermesi fakat hastalık etiyolojisi ve patofizyolojisi arasında doğrudan bir ilgiyi göstermesindeki yetersizliklerdir. Bu derlemede astım fenotip ve endotiplemesinde güncel kavramlardan bahsedilecektir.

Anahtar Kelimeler: Astım; fenotipler; endotipler; biyomarkırlar

ABSTRACT Asthma is a complex disease or a syndrome whereby various patterns of inflammation resulting from environmental and genetical factors seem to exist. This complex and heterogenous structure of asthma renders it necessary to define phenotyping and endotyping for asthma. Since it is possible to observe changes of phenotype in the course of years, which indicates its insufficiency to determine the type of treatment, it became necessary to define endotypes also. The need for this new concept stems from the fact that phenotype gives information about clinical features only but disregards the etiology and pathophysiology of the disease. In this study, we intend to talk about the recent concepts concerning endotyping and phenotyping in asthma.

Key Words: Asthma; phenotypes; endotypes; biomarkers

Türkiye Klinikleri Arch Lung 2012;13(Suppl):S28-S38

Astım iletici hava yollarının inflamatuvar bir hastalığı olup immunpatoloji, klinik fenotipler, tedavi yanıtı ve doğal seyir açısından son derece heterojen klinik görünümleri olan bir hastalıktır.¹ Astım en sık görülen kronik akciğer hastalığı olup, dünyada yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. Her ne kadar çeşitli tanı ve tedavi rehberlerinde üzerinde fikirbirliği bulunan tanımları yapılmış olsa da, aslında bu tanımlamaların hastalığın kliniğinde görülen heterojeniteyi, diğer bir deyişle farklı fenotiplerin hepsini birden yansıtmaması mümkün olmamaktadır.^{2,3}

Fenotip, “bir organizmanın genetik özelliklerinin çevre ile etkileşimi sonrasında da dış görünümde ortaya çıkan gözlemlenebilir özellikler” şeklinde tanımlanmak-

tadır.⁴ Klinisyenler zaman içerisinde farklı astım fenotipleri gözlemlemiş olsalar da bu fenotiplerin her biri için özel biyomarkır, genotip veya patofizyolojik özellikler bugüne kadar yeterince etkin tanımlanamadığından, büyük çoğunluğu klasik astım tanımı altında toplanmak zorunda kalmıştır. Son yıllarda ortaya çıkan fenotipler ve fenotipe özgü tedavi yaklaşımı ve düşüncesi, daha detaylı fenotiplendirme çalışmalarına neden olmuştur, fakat yeterli değildir. Bu çalışmaların en güncellerinden birinde astım fenotipleri klinik ve fizyolojik, tetikleyici faktör ve patolojik özelliklerine göre üç temel kategoride incelenmektedir.^{5,6} (Tablo 1)^{5,6} Bu sınıflamada da fenotipler arasında potansiyel kesişmeler olabileceği açıktır.⁶ Bu fenotipleme çalışmalarının en güncellerinden birinde de astım fenotipleri klinik karakteristiklerine göre; klinik, patolojik, fizyolojik, tedaviye cevap ve prognostik faktörlere göre beş ana kategoride ele alınmaktadır (Şekil 1).⁷

Astım, pek çok varyantları içeren kompleks bir hastalık veya sendromdur. "Fenotip", klinik olarak gözlemlenebilen özellikleri, bir patofizyolojiyle ilişkilendirilmeden belirtir. Ancak endotip tanımında 'belirgin patolojik mekanizma' önemlidir. Astımda fenotip, klinik ve morfolojik özellikleri olduğu kadar tedaviye özgün yanıtları da betimler. Fenotipler hastalığın başvuru semptomları, tetikleyen özellikler ve tedaviye yanıt gibi parametreler bakımından klinikle ilişkili bilgiler verir, ancak altta yatan patolojik mekanizmayı gözardı eder.⁷ Ancak endotipler, yapısal hücrelerin reaktifliği de dahil olmak

üzere hastalık alt tiplerini hücresel ve moleküler mekanizmalarla açıklar. Bu parametreleri anlamak, vücut sıvıları ve dokularda markırları kullanarak astım endotiplerini anlamamıza ve sınıflandırmamıza yardımcı olur.⁸ Astımın hastalık mekanizmalarına dayanarak endotipleme sonuç olarak daha vakaya özgü yaklaşımlar sergileyebilmemize yardımcı olur.^{7,9,10}

Endotiplemenin gözardı edilmesi esas olarak iki belirgin risk içermektedir: 1. Klinik çalışmalar da hasta grubunun doğru belirlenememesi. 2. Geniş kohortlarda hasta gruplarının belirlenmesinde endotip ve fenotiplerin dikkate alınmaması sonucu uygunsuz sonuçlara ulaşılması. Bu nedenle klinik çalışmalarda yer alacak bütün katılımcıların endotipe özgü sınıflandırılmaları, gözardı edilmemesi gereken bir avantajdır (Tablo 2).⁷

ASIM FENOTİPLEMESİNDEKİ GÜNCEL KAVRAMLAR

"Fenotip" kavramı astımda yaygın olarak kullanılmasına rağmen büyük oranda belirsizlikler içermektedir. Burada geniş bir yelpazede "klinik olarak gözlemlenebilir özellikler" den bahsedilmektedir (Şekil 1).⁷ Bu nedenle astım fenotiplerinin pek çok tanımları yapılmaktadır ancak bunlardan çoğu altta yatan mekanizmadan çok semptom ve bulguların şiddetini göz önünde bulundurmaktadır. Fenotipin anlamlı olabilmesi için öncelikle doğru bir teşhis yapılmış olması gerekir. Alternatif teşhisler, komorbiditeler, çevresel maruziyetler (allerjen, sigara dumanı, diğer iç ve dış mekan kirlilikleri vs.), hastanın tedaviye kooperasyonu, yanlış inhaler tekniği, hasta profili, hastalığı anlama ve onunla mücadele etme düzeyi gibi parametrelerin değerlendirilmesi gerekir. Astım çok heterojen bir hastalıktır. Klinik seyir çok hafif veya çok ağır olabilir, intermitan veya persistan havayolu obstrüksiyonun dan brittle astıma kadar. Çoğu fenotip epidemiyolojik veriler, semptom paterni, atopi durumu, bronş obstrüksiyonu gibi parametrelere dayanmaktadır. Bu klinik fenotipler de doğal olarak bazen çakışabilmekte ve hatta zamanla değişim gösterebilmektedir.⁷

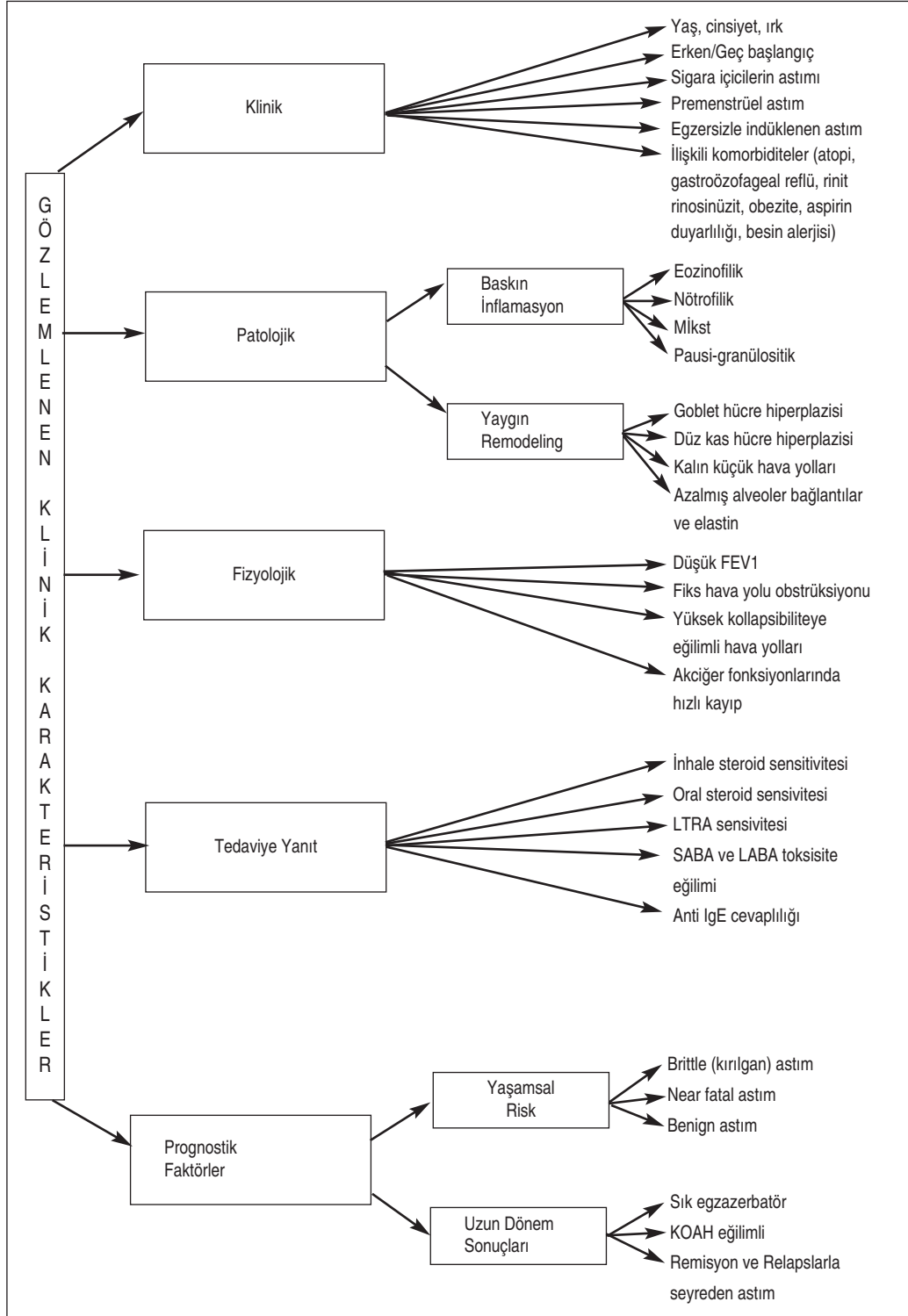
Eskiden astım esas olarak iki fenotipte incelenirdi: ekstresek (allerjik) ve intrinsek (non allerjik) astım olmak üzere.¹¹ Her iki fenotipte de eozinofilik inflamasyon söz konusudur.¹² Allerjik astım, intrinsek (non allerjik) astıma göre tedaviye daha iyi yanıt verir. Allerjik astımda prick test ile saptanabilen ve semptomları ortaya çıkarabilen spesifik bir tetikleyici allerjen mevcut iken intrinsek astımda böyle bir durum söz konusu değildir.

TABLO 1: Farklı kategorilere göre astımın fenotipik sınıflaması.⁵

Klinik ve fizyolojik özelliklerine göre fenotipler
Şiddetine göre astım
Atak eğilimine göre astım
Kronik hava yolu obstrüksiyonuna göre astım
Tedaviye direncine göre astım
Başlama yaşına göre astım
Tetikleyici faktörlere göre fenotipler
Aspirine duyarlı astım
Allerjik astım
Mesleksi astım
Menstrüel astım
Egzersizle tetiklenen astım
İnflamatuvar özelliklerine göre fenotipler
Eozinofilik astım
Nötrofilik astım
Pauci-granülositik astım

Allerjik astımda hava yollarındaki eozinofilik inflamasyonun predominansı inhale steroid tedavisine olumlu yanıtla korelasyon gösterir.

Astım fenotiplemesinde inflamometri kullanımı, özellikle de balgam sitolojisi bir takım avantajlar sunmaktadır. Bunlar; tedaviye yanıtın tahmini, hastalık pa-



ŞEKİL 1: Gözlemlenen klinik karakteristیکlerine göre tanımlanan astım fenotipleri.⁷

TABLO 2: Astım fenotipleri ile ilişkili temel patojenik mekanizmalar.⁷

Astım fenotipleri ve ilgili endotipler
Allerjik astım
Eozinofilik
Th2 aracılı inflamasyon
Steroid cevaplı
Allergen spesifik immünoterapi duyarlı
Anti Ig E duyarlı
Anti İL 5 duyarlı
Anti İL 4 ve İL 13 duyarlı
İntrensek astım
Eozinofilik
Nötrofilik
Süperantijen ilişkili otoantikör
Steroid duyarlı
Steroid dirençli
Nötrofilik astım
Doğal immün yanıt aktivasyonu
HDAC2 nin anormal takviyesi
Nötrofil yaşam süresinde artış
Steroid dirençli
Antioksidan antibiyotiklere yanıt
Anti TNFα duyarlı
HDAC regüle edicilere duyarlı
Aspirin intoleran astım
Eozinofilik
Eikasonoid metabolizmasında değişim
LC4, LD4 ve LE4' duyarlılık
Steroid duyarlı
LTRA duyarlı
Yaygın remodelling astım/İnflamasyon eksikliği/Yaygın remodelling
Anormal EMTU aktivasyonu
ASM anormallikleri
MMP hedefli tedaviye duyarlı
Antianjiyogenik duyarlı

togenezinde rol alan yolların anlaşılması, ve gelecekteki riskin değerlendirilebilmesidir.⁷ Astımlı hastaların balgam örneklerindeki granülosit infiltrasyonlarının araştırılması sonucu eozinofilik, nötrofilik, mikst granülositik, ve pauci granülositik fenotipler oluşturulmuştur. Bu fenotiplerin istikrarlı mı yoksa zamanla değişime açık mı olduğu halen belirsizliğini korumaktadır. İncelenen balgam örneklerindeki inflamatuvar fenotipler üzerinde yapılan prospektif bir çalışmaya göre

sadecene 1/3 ünde istikrarlı bir inflamatuvar fenotip söz konusudur.¹³ Ayrıca, inflamatuvar fenotiplerde yaşa göre bir değişim de söz konusudur. Eozinofilik inflamasyon hem akut hem kronik çocukluk çağı astımında daha yaygın olarak karşımıza çıkarken, nötrofilik inflamasyon ise daha çok ileri yaştaki akut astım vakalarında gözlemlenir.¹⁴ Daha çok geç başlangıçlı olarak görülen intrinsek astımda da eozinofilik inflamasyon ön plandadır.¹⁵

ASTIMDA FENOTİPTEN ENDOTİPE

Astımdaki patogenezin mekanizmaları arasında Th2 (T helper 2)/allerjik ve eozinofilik inflamasyon, havayolu hiperreaktivitesi, nöro-immün reaksiyonlar, bronşlarda ve hatta parenkimde görülen kalıcı değişiklikler ve sekresyonlarda görülen değişiklikler ve anjiyogenez gibi pek çok faktör sayılabilir. Steroid rezistansı ve uzun süreli beta 2 agonisti kullanımına bağlı azalmış yanıt veya toksisite gibi parametreler de muhtemel fenotipler arasında sayılabilir.^{7,16,17} Güncel bazı verilere göre bunlara ek olarak nötrofiller, NK (Naturel Killer) hücreler, doğal bağışıklık mekanizmaları ve inflamatuvar yanıt ile doku tamir mekanizmaları da sayılabilir.^{7,18,19}

Astım endotiplemesinde kullanılacak doğru ve yeterli bir tanımda, hastalığın kompleks ve değişken yapısını ve sabit havayolu obstrüksiyonuna gidebilecek seyri ve aspirin sensitivitesi gibi diğer muhtemel sonuçlar da göz önünde bulundurulmalıdır. Klinik özellikleri ve hastalığın fizyopatolojisini (inflamasyon ve remodelling) bir araya getiren çok boyutlu bir yaklaşım kompleks parametreler içereceği gibi yaş ve cinsiyet gibi değişkenleri de gözönünde bulundurmayı gerektirecektir.^{7,20}

Yeni tanımlanan astım endotiplerinin bir değeri olup olmadığı araştırılırken 3 basamakta değerlendirme yapılmalıdır: 1. Değişik populasyonlar arasında yapılacak longitudinal replikasyon sonucunda bireyler arasında anlamlı değişiklikler görülmeli, 2. Bu tür endotipler arasında yapılan gözlemler hastalığın biyolojisini, doğal öyküsünü ve tedaviye yanıtını yansıtmalıdır. 3. Endotipler güncel klinik pratikte kullanılabilir olmalı ve ayrıca makul maliyette olmalıdırlar.⁷

Dolayısıyla endotipin başarılı bir tanımı anahtar patolojik mekanizma ile astımın klinik fenotipi arasında bir ilgi kurmalıdır. Bunu sağlamak için de öncelikle belli bir patolojik mekanizma için geçerli biomarkırların tesbiti gereklidir. Bu yaklaşımla astımın pek çok endotipi tanımlanabilir (Tablo 2).⁷

ALLERJİK ASTIM

Allerjenlerle tetiklenen astım erişkinlerde ve pediatrik yaş grubun da en sık rastlanan astım fenotipidir. Bu fenotip her yaşta ortaya çıkabilir, ancak daha sıklıkla erken çocuklukta başlar.²¹

Ailede astım hikayesi ve allerjenlerle temas, allerjik astım gelişimi için önemli faktörlerdir, fakat allerjenlerle temasın neden bazı şahıslarda astıma, diğerlerinde solunum dışı allerjik semptomlara neden olduğu tam aydınlatılamamıştır.²² Allerjik astımlılar allerjik olmayan astımlılarla karşılaştırıldıklarında solunum fonksiyonlarının daha iyi olduğu, ancak daha sık atak geçirdikleri görülmüştür.⁵

Daha önceleri yapılan histopatolojik çalışmalarda, allerjik astımdaki inflamatuvar sürecin allerjik olmayan astımdakine benzediği ve her ikisinde de Th2 sitokinlerinin veya IgE'nin veya her ikisinin birden önemli rolünün olduğu ileri sürülmüştür.²³ Ancak daha sonraki çalışmalar, bu iki fenotip arasındaki patolojik farklılıkları ortaya koymuştur. Allerjik astımda ortaya çıkan inflamatuvar patoloji, aradaki paralellik nedeni ile en iyi erken tip aşırı duyarlılık modeli ile açıklanabilir. Allerjiye yatkın atopik kişiler de, bazı antijenlere duyarlı hale gelmek T hücrelerinin Th2 hücreleri yönünde farklılaşmasına ve IgE tipi antikor yapımına neden olmaktadır. Kişi duyarlı olduğu allerjenle tekrar karşılaştığında iki fazlı bir inflamatuvar yanıt geliştirir. Erken faz yanıtta mast hücrelerine bağlanmış IgE antikorlarının antijenle birleşmeleri sonucu mast hücreleri degranüle olarak vazodilatasyon, mukus hipersekresyonu, ödem, bronko-konstrüksiyon gibi akut değişiklikler ortaya çıkar. Erken fazda ortaya çıkan çeşitli mediatörler, hücreden zengin geç faz yanıtlarına zemin hazırlar. İnflamasyon bölgesinde bu hücrelerden açığa çıkan sitokin ve toksik ürünler ise mukus bezi hiperplazisi, bronş düz kas hipertrofisi, subepitelyal fibrozis ve revaskülarizasyon gibi kalıcı, geri dönüşümsüz değişikliklere yol açmaktadır.²⁴

Histolojik olarak allerjik astımda mukozanın eozinofiller, CD4+ T hücreleri, mast hücreleri tarafından infiltrasyonu ve inflamasyon bölgesindeki hücrelerde yüksek afiniteli IgE reseptörlerinin ekspresyonu mevcuttur. Epitel hasarı, hemidesmozomlar, goblet hücre hiperplazisi, retiküler bazal membran kalınlaşması ve düz kas hipertrofisi tabloya eklenir. Günümüze kadar yapılan tüm araştırmalara rağmen hala bu bulguların ortaya çıkma sebebinin eozinofilik havayolu inflamasyonu olup olmadığı henüz kesinlik kazanmış değildir.⁷

Allerjik astımın altında yatan anahtar patofizyolojik mekanizma, Th2 tarafından indüklenen inflamasyondur. Ancak bu, allerjen maruziyeti esnasında ya da sonrasında görülür.²⁵ Burada muhtemelen T regülatuar hücrelerin yetersiz bir yanıtı da söz konusudur.²⁶

Allerjik astımlı hastalarda; balgam, serum, bronkoalveolar lavaj ve bronş biopsilerinde ölçülebilen biomarkırlar şunlardır: IL-4 (İnterlökin-4) (Allerjen maruziyetinden sonra ölçmek zor ancak allerjen yokluğunda görülmez), IL-5 (Sadece eozinofillerin varlığında bulunur), IL-9, IL-13, ve periostin ve CCR8 ile yeni ortaya çıkan moleküller (TLSP, TARC, IL-25, CRTH2, ve DP1 reseptörleri, ICOS/ICOS-L, IL-31, IL-33, ve T1/ST-2, IL-19, IL-22, H4 reseptörleri)'dir. Spesifik bir endotipin tanımlanmasında kullanılmak üzere bu markırları çok yönlü olarak değerlendiren kesitsel ve longitudinal çalışmalar yeterli düzeyde değildir ancak gelecekte çok önemli faydalar sağlayabilecekleri öngörülmektedir. Allerjik astımlı hastaların ekshalasyon havasındaki nitrik oksit düzeyi artmış olabilir ve bu eozinofilik inflamasyonun muhtemel sebepleri arasındadır.^{27,28}

Allerjik astımdaki inflamatuvar sürecin daha iyi aydınlatılabilmesi, astımda yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesinin önünü açacaktır. Bu anlamda en önemli ve güncel seçeneklerden biri, ağır allerjik astımda kullanılmak üzere geliştirilen humanize anti-IgE monoklonal antikor "omalizumab" tır. Yapılan çalışmalarda "omalizumab"ın atakları azalttığı gösterilmiştir. Ancak ilginç olarak, spesifik IgE veya prik testi pozitifliğiyle allerjik astım olarak tanımlanan hastaların tümü bu tedaviye yanıt vermemiştir.²⁹ Bu saptama bugün allerjik astım olarak tanımlanan fenotipin de subfenotipleri ve endotipleri olan heterojen bir grup olduğu savını desteklemektedir.. Fakat yine de omalizumab bugün için allerjik astımda gerçek bir fenotip spesifik tedavi seçeneğidir.

İNTRENSEK (NON ALLERJİK) ASTIM

Yetişkin yaşlarda görülen astımların yaklaşık üçte birini ve çocukluk çağı astımlarının yarısını intrensek (atopik olmayan) astım oluşturur.^{30,31} Yetişkin yaşta görülen intrensek astım genelde yaşamın ikinci dekadında başlar, kadınlarda daha sık görülür ve genelde atopik astımdan daha şiddetli seyredir. Kronik sinüzit, nazal polipler, ve aspirin sensitivitesi de bu fenotip de daha yaygındır. Çocuklarda intrensek astım semptomları daha erken başlangıçlıdır ve respiratuar enfeksiyonlar ile çevresel sigara dumanına maruziyet daha sık olarak görülür. Yetişkinlerin aksine intrensek astımlı çocuklar daha hafif semptomlar gösterir.³²

Havayolu inflamasyon paterni bakımından allerjik astımla benzerlikler gösterir. Her ikisinde Th2 hücre sayısında artış, mast hücresi aktivasyonu, eozinofil infiltrasyonu ve benzer inflamasyon markırları görülür. Th2 sitokinleri ve eozinofilotaktik kemokinler de bu markırlar arasındadır. Ancak bu iki tip arasında inflamasyon süreci bakımından bazı farklılıklar da görülür. İntrensek astımda IL-2 ve IFN- γ miktarı bronkoalveolar lavajda artmış olarak bulunur. Ancak IL-4 için böyle bir artış söz konusu değildir.^{33,34} BAL'daki T hücreleri, intrinsek astımda kronik inflamasyon markırları eksprese ederler. Bu da muhtemelen endojen bir antijene bağlı süre giden T hücre aktivasyonunu düşündürmektedir.¹¹

İntrensek astımda inflamasyonu sürdüren önemli unsurların ne olduğu konusunda bir belirsizlik vardır. Havayolundaki inflamasyonu sürdürmede allerjenlerin kesin bir rolü yoktur. Lokal IgE sentezi, spesifik endobronşial mRNA varlığı nedeniyle muhtemel faktör olarak görülebilir ancak patolojik sebep sonuç ilişkisi pek net değildir. Ev tozu akarlarına spesifik IgE de intrinsek astımlı hastaların balgam analizlerinde tesbit edilmiştir ancak bu IgE reaktivitesi Der p ye karşı klinik yanıt oluşturmamıştır. Ayrıca bu hastaların intrinsek astım olarak değerlendirilmesinde de bir takım belirsizlikler ve soru işaretleri vardır. IgE tarafından Fc ϵ RI yoluyla indüklenen astım yanıtını ortaya çıkaran ikinci sinyal, intrinsek astımda yetersiz olabilir.^{7,35} Bu patogeneze süperantijenler de lokal B hücrelerinin tipini değiştirerek bronş içerisinde poliklonal IgE üretimine sebep olarak katkıda bulunabilir. Ayrıca bu spesifik IgE süperantijenlerinin diğer bir etkisi de T hücrelerinin klonal ekspansiyonunu yoluyla Th2 ve CD8+ miktarını arttırmak ve regülatuar T hücrelerini baskılamak olabilir. Süperantijenler ayrıca kortikosteroidlere verilen yanıtı da azaltarak astımın şiddetini artırabilir.^{7,36} İntrensek astımdaki muhtemel patojenik mekanizmalardan biri de mast hücre degranülasyonu yoluyla hızlı hipersensitivite yanıtı oluşturan serbest hafif zincirlerdir.³⁷ Sitokeratin-18 gibi epiteliyel proteinlere karşı oluşturulan IgG antikorları da intrinsek astımlı yetişkinlerde tesbit edilmiştir. Burada ayrıca epitel tamir mekanizmalarındaki bozukluk ve inflamasyonun sonlandırılmasında ortaya çıkan aksaklıkların da bir rolü olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.³⁸

İntrensek astım için hangi biomarkırların kullanılabilirliği tam olarak kesinlik kazanmış değildir. Th1 hücreleri, IL-18, IL-15, IP-10, epitel proteinlerine karşı oluşturulan antikorlar ve CD26, önerilen muhtemel biomarkırlar arasındadır.⁷

NON EOZONOFİLİK (NÖTROFİLİK) ASTIM

Havayolunda eozinofilinin yokluğuyla karakterizedir. Bunun yerine nötrofil görülür. Günümüze kadar hala bunun özgün bir astım formu mu yoksa sadece astımın bir aşaması ya da persistan bakteri kolonizasyonu veya enfeksiyonu mu olduğu henüz kesinlik kazanmış değildir.⁷ İndükte balgam sitolojisi çabımların da, semptomatik astımlı hastaların %59'unda nötrofil tesbit edilmiştir.³⁹ Nötrofilik inflamasyonlu popülasyonda astım görülme riski yaklaşık %50 civarındadır. Tersinden bakılacak olursa, bütün astım vakalarının %50 sinde inflamasyondan sorumlu hücrelerin nötrofil dışındaki hücre tiplerinden oluştuğu anlamına gelir.⁴⁰ Nötrofilik astım daha çok ağır astıma eşlik etmekte, astım atağından ölen hastaların otopsilerinde nötrofil hakimiyeti görülmektedir.⁵ Ağır astımla ilişkili bulunması, tedavide kullanılan yüksek doz kortikosteroidlerin nötrofil apoptozisini azaltması ile açıklanmaktadır.⁶ Şiddetli seyreden astım tiplerinde nötrofil canlılığını uzatan faktörlerin artmış olduğunu gösteren bazı çalışmalar da vardır.⁴¹ Th17 lenfositlerin astımdaki havayolu inflamasyonundaki rolü de halen araştırılmaktadır.⁴² Noneozinofilik astımın patogenezinde düşünülebilecek yeni mekanizmalar arasında; bakteri virüs ve diete bağlı olarak doğal bağışıklık yanıtının aktivasyonu, nötrofil elastazın aktivasyonu ve histon deasetilazın (HDAC) azalmış nükleer üretimi sayılabilir. Nötrofil inflamasyonunu indüklediği bilinen biomarkırlar arasında IL-8, IL-17A, LTB4, ve muhtemelen IL-32, PAMS, DAMPS ve SDF sayılabilir.⁷ Nötrofilik astımda nötrofil elastaz aktivitesi ve remodelling eozinofilik astıma göre daha belirgindir, bu nedenle fiks obstrüksiyon görülür bununla birlikte ilginç olarak nötrofilik astımda eozinofilik astıma göre daha az sayıda ve daha hafif şiddette ataklar görülmektedir.⁴³ Nötrofilik astım fenotipine yönelik özel bir tedavi ile planlanmış ve sonuçlandırılmış bilinen bir çalışma yoktur; fakat edinilen klinik tecrübe, nötrofilik astımın kortikosteroidlere yanıtının eozinofilik astıma göre daha az olduğu yönündedir.⁴⁴ Nötrofilik astımdaki havayolu patofizyolojisini belirleyen özellikler arasında; artmış havayolu direnci, fiks hava yolu obstrüksiyonu, mannitole karşı azalmış havayolu yanıtı ve FeNO düzeylerinde azalma sayılabilir.⁴⁵ Nötrofilik astımın teşhisindeki en önemli tanısal araç indükte balgam incelemesidir fakat bunun ayrı bir fenotipi tanımlamak için yeterli olup olmadığı ise cevaplanması gereken bir sorudur.⁷ Maalesef bu astım fenotipinde hedefe yönelik tatmin edici bir tedavi seçeneği henüz bulunmamaktadır.

ASPİRİN DUYARLI ASTIM

Aspirin ve diğer nonsteroid antiinflatuvar (NSAİ) ilaçlarla tetiklenen astım belki de astımın en iyi tarif edilmiş fenotipidir.⁵ Atopik olmayan bireylerde daha fazla görülen aspirin-intoleran astım (AİA), bütün yetişkin astımlı bireylerin yaklaşık %5 ila 10'unda görülmektedir.⁴⁶ Çocuklarda daha nadir rastlanır. Kadınlarda ise erkeklere oranla 1,32 ile 5,5 kat daha fazla görülmektedir.⁴⁷ Bu tip astım genelde progresif astım zemininde oluşur ve aspirin ve NSAİ grubu ilaçların yokluğunda bile belirti ve bulgular verir. İsimlendirilmede kullanılabilir diğer bir ifade olarak 'Aspirinle Kötüleşen Respiratuar Hastalık (AERD)'de önerilmektedir. Tipik başlangıç şekli, üçüncü dekada çoğu zaman bir viral solunum yolu enfeksiyonunu takiben gelişen rinit semptomlarıdır. Birkaç ay içerisinde kronik nazal konjesyon, anosmi, rinore, ve nazal polipler gelişir ve bunu aspirine duyarlanma takip eder.^{7,47}

Hastalık genelde şiddetli seyrederek ve COX-1 (Siklooksijenaz-1) inhibitörlerinden uzak durulsa bile devam etme eğilimindedir. Pek çok hastada sinüzit mevcuttur ve çoğu kez astımı kontrol etmek için sistemik kortikosteroid gereksinimi mevcuttur. Aspirin, astımda hayatı tehdit eden atakları tetikleyebilen bir faktördür. Geniş katılımlı bir araştırmada acil mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan astım hastalarının %25inde aspirinin indüklediği astım formu (Aspirin Induced Asthma) (AIA) bulunmuştur. Hayatı tehdit eden astım ataklarından korunmak için aspirin ve NSAİ grubu ilaçlardan kesin olarak uzak durulmalıdır.⁴⁷ Selektif COX-2 inhibitörleri ise daha iyi tolere edilmektedir ve astımı kontrol altında olmak kaydıyla hastalar tarafından kullanılabilir. Histolojik olarak AERD'de, nazal ve bronşiyal dokularda yoğun eozinofilik inflamasyon mevcuttur.⁴⁷ Hava yollarında hem COX-1 hem de COX-2 ekspresyonu görülmekle birlikte COX-1 fonksiyonel olarak dominant tiptir ve bu da COX-2'ye selektif inhibitörlerin neden daha iyi tolere edildiğini açıklamaktadır.⁴⁸ Altta yatan astıma ek olarak eikasonoid metabolizmasında değişiklik ve lökotrien C4, D4 ve E4'e karşı artmış sensitivite görülmektedir.⁴⁹ Sistein içeren lökotrienlerin üretimindeki artış da önemli bir patojenik özellik olarak düşünülmektedir. Üriner enantiomer PGF2 alfa miktarı ölçülerek belirlenen serbest radikale bağlı prostaglandin üretimi de diğer bir faktördür.⁵⁰

COX-2 inhibitörlerinin astım atağını tetiklemesi daha az muhtemel olsa da bazı hastalarda bu mümkün değildir ancak gene de oral COX-2 alımını takiben görülebi-

len ataklar daha hafif seyretmektedir. Klinik olarak önemli olan bu soruna ilgili sitemik araştırmalar hala yeterli değildir. Aspirini tolere edebilen astımlıların aksine, aspirin duyarlı olan astımlıların lökositlerinde 15-hidroksi eikasotetraenoik asit (15-HETE) üretimi görülmektedir. 15-HETE üretimi sonucu 15- lipo oksijenaz (15-LO) aktive olmakta ve prostaglandin EP1-3 reseptörleri tarafından modüle edilmektedir.⁵¹

Günümüzde AERD tanısında anahtar teşhis araçları hala lizin-aspirin bronşiyal provokasyon testi ve oral provokasyon protokolüdür. Güncel rehberler öncelikle bronşiyal ya da nazal provokasyon testi yapılmasını ve sonuçlar negatif ise oral provokasyonla teşhisin teyit edilmesini önermektedir. Ancak nazal provokasyon testlerinin geçerliliği çok iyi dökümanente edilmiş değildir ve spesifitesi yetersizdir.⁷

Bütün bu bilgilerin ışığında denilebilir ki AERD için 'endotip' kavramını kullanmak zordur çünkü bu genelde intrensek, daha seyrek olarak da allerjik astım zemininde gelişen edinilmiş bir durumdan ibarettir. Aspirine karşı görülen dikkat çekici duyarlılık bir yana bu durumlarla pek çok ortak özelliğe sahiptir.⁷

Aspirine duyarlı astım fenotipinin kortikosteroidlere yanıtı genellikle kötü olduğundan astım şiddetleri çoğunlukla ağırdır. Patogenezdeki lökotrien artışı nedeni ile tedavide lökotrien reseptör antagonistlerinin tedavide özel bir yeri vardır.⁵²

YAYGIN REMODELLİNG İLE SEYREDEN ASTIM

Bu astım varyantında histolojik olarak minimal inflamasyon söz konusudur ancak çok yoğun olarak doku değişimi gözlemlenir. Bu bazı durumlarda küçük hava yolları duvarında ciddi düzeyde kalınlaşma, bazı durumlarda ise alveolar yapı bozukluğu ve elastin kaybı olarak görülebileceği gibi havayolu düz kas hipertrofisi, goblet hücre hiperplazisi ve artmış mukus üretimi, anjiyogenez, lenfanjiogenez, ve retiküler bazal membran kalınlaşması şeklinde de karşımıza çıkabilir.⁷ Güncel araştırmalara göre havayolu remodelling sürecinde görülen en önemli özelliklerden biri düz kas hipertrofisidir. Fatal astım vakalarında yapılan morfolojik ve morfo metrik ölçümler sonucu iki fatal astım alt fenotipi tanımlanmıştır, bu alt fenotipler de düz kas hipertrofisi paterni tesbit edilmiştir: Tip 1'de yalnız büyük havayollarındaki düz kaslarda hipertrofi görülürken, Tip 2'de hem santral, hem de periferel bütün bronşlarda düz kas hipertrofisi görülmektedir.^{7,53} Fatal astım vakalarında artmış kas kitleleri ve fibröz bağ doku, lenfatik akımı

bozmakta ve bu da sekresyonların temizlenmesini zorlaştırıp hava yolu mukozasında ki ödem de artışa sebep olmaktadır.⁵⁴ Bir görüşe göre epiteliyal mezenkimal trofik ünite (EMTU) de görülen anormallik sonucu doku tamir süreci bozulmakta ve bu da patogeneze rol oynamaktadır. Düz kaslarda görülen hipertrofi ise belki de intrinsek anomali ve buna bağlı hücre proliferasyonuna sekonder oluşmaktadır.⁷ Şiddetli astım vakalarında gallopamile duyarlı kalsiyum-kalmodulin kinaz IV, çeşitli transkripsiyon faktörlerini uyararak (PG-1a, NRF-1 ve mt-TFA) mitokondri biogenezi artırarak olduğu düşünülmektedir. Sarkoplazmik/endoplazmik retikulumdaki kalsiyum pompasında görülen fonksiyon ve ekspresyon değişikliği de düz kaslarda görülen değişikliğin sebebi olabilir.^{7,55} Düz kas hücreleri arasındaki sıkı bağlantı bölgesi proteinlerinde görülen değişiklikler de düz kas hipertrofisine katkı yapabilir. Düz kas hücre yapısında gözlenen ve hipertrofide rolü olabilecek diğer bir değişiklik ise nükleus ve sitoplazmada izlenen artmış claudin-1 ekspresyonudur. Bu, VEGF (Vasküler endotelial büyüme faktörü) yoluyla anjiogenezi de artırabilir.⁵⁶ Yaygın remodelling ile seyreden astım fenotipin de araştırılan biomarkırlar arasında; MMP ler, TIMP, TGF- β , IL-13, VEGF alt grupları, ADAM 33, ADAMTS, pro-anjiogenik hematopoetik progenitör hücreler, ayrıca IL-13, ICOS-L, CC gibi daha yakın zamanda tesbit edilen moleküller ve CXC kemokinleri, osteopontin, amfiregulin, periostin, fibulin, dekorin, oncostatin M, LIGHT, relaxin, endotelin-1, havayolu bazal kök hücreleri, retinoid reseptörleri bulunmaktadır. Ancak bu markırların hiç birisi gözlenen özellikleri tatmin edici bir şekilde açıklamaya yetmediği gibi, astımın diğer formlarında da belli oranda görülebilmektedir.⁷ Klinikte çoğu hastanın uzun süreden beri astımı vardır ve genellikle yetersiz tedavi almıştır. Çocuklarla ilgili veriler yetersizdir ve longitudinal ve epidemiyolojik veriler bulunmamaktadır. Havayolu fizyolojisinde de vakalar arasında büyük değişiklikler görülebilmektedir.⁷ Bu astım fenotipin de en önemli tanısal araçlar, havayolu fizyolojisinin dinamik değerlendirilmesi ve yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografidir. (HRCT).⁵⁷

ASTIM GENETİĞİ VE ENDOTİPLER

Astımda araştırılan genlerin farklı populasyonlardaki dağılımları arasında tutarlı bir ilişki gösterilememiştir. Bir teoriye göre epigenetikler ve prenatal etkiler sonucu genetik yapının ekspresyonu, belli bir endotipe uygun olarak şekillenebilir.⁵⁸ Bütün genom yapısıyla gen ekspresyonu profili arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar

astımdaki heterojen profili, sınıflandırmayı ve mekanizmaları açıklamada faydalı olabilir. Bu yaklaşım, endojen mekanizmalarla ilişkili endotipleri tanımlamada da faydalı olacak bir potansiyele sahiptir.⁵⁹ Baines ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada indüklenmiş balgam numunelerindeki gen ekspresyon profilleri incelenerek transkripsiyon seviyelerine göre üç farklı astım fenotipi tanımlanmıştır. Bu üç farklı fenotip aynı zamanda klinik durum ve havayolu inflamasyonunun tipi ve derecesiyle de ilişkilidir. Bahsedilen fenotiplerden ikisinin, birin de eozinofiller diğerinde de nötrofiller ağırlıklı olmak üzere-inflamasyon ön plandadır ancak üçüncü tipte ise granülositler az oranda görülmektedir. İnflamasyonun ön planda olduğu her iki tipte immün ve inflamatuvar yanıt ve yara iyileşmesine ait faktörleri sentezleyen genlerde artmış aktivite sözkonusuydu. Nötrofilik fenotipte ise ekspresyonu artan genler ağırlıklı olarak hücre kemotaksisi ile IL1 ve TNF- α /NF- κ B yolaklarıyla ilgiliydi.⁵⁹

ASTIMDA KÜME ANALİZLERİ

Küme analizleri aslında bir popülasyonda önceden belirlenen çok sayıdaki değişkene göre benzerlikleri belirlemek, benzer özelliklerin ağırlıkta olduğu kişileri de belirli kümeler de toplamaktır. Buna örnek olan astımlı ilgili ilk küme analizi çalışması Haldar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadır.⁶⁰ Bu çalışmada 3 grup hasta çalışmaya alınmıştır; 1. Grupta birinci basamakta takip edilen hafif-orta astımlı hastalar, 2. Grupta ikinci basamakta takip edilen zor tedaviye dirençli astımlı olgular, 3. Grupta daha önce bir çalışmaya katılmış zor astımlı hastalar bulunmaktaydı. Bu çalışmada küme analizlerinde araştırılan özellikler atopi, değişken havayolu obstrüksiyonu, indükte balgam da eozinofil sayısı, semptomlar, cinsiyet ve yaş gibi demografik özellikler, vücut kitle endeksi, metakolin provokasyon testi gibi parametrelerdi. Sonuçta birinci basamakta izlenen hastalarda 3 küme ortaya çıktı. Birinci basamak kümeleri: 1. Küme erken başlayan (12 yaş öncesinde), allerjik, semptomatik, havayolunda eozinofilik inflamasyonun hakim olduğu küme, 2. Küme obez, kadın, semptomatik, havayolunda non-eozinofilik inflamasyonun hakim olduğu küme, 3. Küme ise bening astım, aktif astmatik semptomu olmayan, seyrek atakların izlendiği küme idi. 2. Basamak kümeleri ise 1. Erken başlangıçlı allerjik astımlı, eozinofilik havayolu inflamasyon paternine sahip, sık atak geçiren astımlardan oluşan küme, 2. Küme yine birinci basamak kümelerinden 2. Kümeye benzeyen obez, kadın, non-eozinofilik inflamasyon pa-

ternine sahip, yoğun semptomatik astımları içeren küme. 3. Küme Erken başlayan, yoğun semptomatik, allerjik astımlı, non eozinofilik inflamasyon paternine sahip astımlı hastaları içeren küme. 4. Küme geç yaşta başlayan, az semptomlu, sık atak geçiren, eozinofilik inflamasyon paternine sahip astımlı küme den oluşmaktaydı.⁶⁰ Bu çalışmanın belki de en önemli sonucu: tüm bu birinci ve ikinci basamak hastalara nasıl bir tedavi yaklaşımı sergilememiz ile ilgiliydi. Birinci ve ikinci basamak erken başlangıçlı allerjik astımlılar ve beningn astımlı hastalar astım rehberlerinin önerileri doğrultusunda semptomları ve hastalık şiddetine göre kolayca tedavi edilebilir ve hastalıkları kontrol altına alınabilir. Fakat bunun yanında semptomları yoğun, inflamasyonun az olduğu ve yoğun semptomları nedeniyle yüksek doz inhale steroid alan bu grupta inflamasyonun monitorizasyonu ile gerektiği kadar steroid verilebilir ve hastalar yüksek doz steroid ve buna bağlı yan etkiler ve komplikasyonlardan kurtarılabilir. Burda bir başka grup varki inflamasyonun titrasyonu ile gerektiği kadar steroid ile hastaların astımı kontrol altına alınabilir. Gerçektende bu çalışmanın sonucunda tanımlanan astım grupları ve kümeleri günlük yaşamda sık karşılaştığımız astım fenotiplerine sahip hastalardır ve günlük klinik pratikte hasta yaklaşımı ve tedavisinde işimizi çok kolaylaştıracak gibi görünmektedir.

SONUÇ

Günümüzde, astım sendromunun içerisinde yer alan farklı fenotipler ve fenotip ilişkili endotipler için farklı patogenez mekanizmalarına göre farklı tedavi modaliteleri gerektiğine dair artan veriler mevcuttur.

Sonuç olarak, klinik ve immünolojik mekanizmalara dayanan patogenez mekanizmalarının iyi anlaşılması ve aydınlatılması, bunlarla ilişkili biomarkırların tespiti doğru fenotipleme ve fenotip ilişkili endotiplerin belirlenmesinde anahtar rol oynayacaktır. Bunun sonucu olarak yapılacak doğru fenotip ve endotiplendirmeler vakaya özgü tedavi modalitelerin belirlenmesini sağlayacaktır. Buda hastalığın tedavisi ve kontrolünde hedefe ulaşmamızı kolaylaştıracaktır.

Umuyoruzki astım patogenezi ve bilinen endotipler için özgün patogenez mekanizmaları ve spesifik biyomarkırların tespitine yönelik kapsamlı ve derinlemesine yapılacak çalışmalar ile gelecekte daha vakaya özgün tedavi yaklaşımlarına ulaşmak mümkün olacaktır. Böyle bir yaklaşımın en önemli faydalarından biriside astım olmadığı halde astım benzeri semptomlar sergileyen bireylere gereksiz tedavi verilmesinin önüne geçilmiş olunacak olmasıdır.

KAYNAKLAR

1. Yorgancıoğlu A. Astım patogenezi. Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A, editörler. Solunum Sistemi ve Hastalıkları, Cilt-1. Birinci Baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2010. p. 617-24.
2. Türk Toraks Derneği Astım ve Allerji Çalışma Grubu. Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. Toraks Dergisi 2000;1(Suppl 1).
3. Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma; Expert Panel Report 2; NIH Publication, No 97-4051;1997. p.146.
4. Soukhanov AH. Encarta World English Dictionary. 1st ed. New York: St Martin's Press; 1999. p.2078.
5. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. Lancet 2006;368(9537): 804-13.
6. Çelikel S, Karakaya G, Kalyoncu F. [Asthma phenotypes in adults]. Asthma Allergy Immunology 2008;6(3):167-75.
7. Agache I, Akdis C, Jutel M, Virchow JC. Untangling asthma phenotypes and endotypes. Allergy 2012;67(7):835-46.
8. Lötval J, Akdis CA, Bacharier LB, Bjerner L, Casale TB, Custovic A, et al. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. J Allergy Clin Immunol 2011;127(2):355-60.
9. Anderson GP. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. Lancet 2008;372(9643):1107-19.
10. Brasier AR, Victor S, Boetticher G, Ju H, Lee C, Bleeker ER, et al. Molecular phenotyping of severe asthma using pattern recognition of bronchoalveolar lavage-derived cytokines. J Allergy Clin Immunol 2008;121(1):30-37.e6.
11. Walker C, Bode E, Boer L, Hansel TT, Blaser K, Virchow JC Jr. Allergic and nonallergic asthmatics have distinct patterns of T-cell activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage. Am Rev Respir Dis 1992;146(1):109-15.
12. Walker C, Virchow JC Jr, Bruijnzeel PL, Blaser K. T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. J Immunol 1991;146(6):1829-35.
13. Al-Samri MT, Benedetti A, Préfontaine D, Olivenstein R, Lemièrre C, Nair P, et al. Variability of sputum inflammatory cells in asthmatic patients receiving corticosteroid therapy: A prospective study using multiple samples. J Allergy Clin Immunol 2010;125(5):1161-1163.e4.
14. Wang F, He XY, Baines KJ, Gunawardhana LP, Simpson JL, Li F, et al. Different inflammatory phenotypes in adults and children with acute asthma. Eur Respir J 2011;38(3):567-74.
15. Kim CK, Choi J, Callaway Z, Iijima K, Volcheck G, Kita H. Increases in airway eosinophilia and a th1 cytokine during the chronic asymptomatic phase of asthma. Respir Med 2010; 104(10):1436-43.
16. Li LB, Leung DY, Martin RJ, Goleva E. Inhibition of histone deacetylase 2 expression by elevated glucocorticoid receptor beta in steroid-resistant asthma. Am J Respir Crit Care Med 2010;182(7):877-83.
17. Duan QL, Gaume BR, Hawkins GA, Himes BE, Bleeker ER, Klanderman B, et al. Regulatory haplotypes in ARG1 are associated with altered bronchodilator response. Am J Respir Crit Care Med 2011;183(4):449-54.

18. Simpson JL, Grissell TV, Douwes J, Scott RJ, Boyle MJ, Gibson PG. Innate immune activation in neutrophilic asthma and bronchiectasis. *Thorax* 2007;62(3):211-8.
19. Simpson JL, Scott RJ, Boyle MJ, Gibson PG. Differential proteolytic enzyme activity in eosinophilic and neutrophilic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172(5):559-65.
20. Spycher BD, Silverman M, Kuehni CE. Phenotypes of childhood asthma: are they real? *Clin Exp Allergy* 2010;40(8):1130-41.
21. Tang EA, Wiesch DG, Samet JM. Epidemiology of asthma and allergic disease. In: Middleton E Jr, ed. *Allergy Principles and Practice*. 6th ed. Philadelphia: Mosby; 2003. p.1127-68.
22. Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 2002;347(12):869-77.
23. Humbert M, Durham SR, Ying S, Kimmitt P, Barkans J, Assoufi B, et al. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against "intrinsic" asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154(5):1497-504.
24. Prussin C, Metcalfe DD. 5. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(2 Suppl Mini-Primer):S450-6.
25. Virchow JC Jr, Walker C, Hafner D, Kortsik C, Werner P, Matthys H, et al. T cells and cytokines in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(4):960-8.
26. Dehzad N, Bopp T, Reuter S, Klein M, Martin H, Ulges A, et al. Regulatory T cells more effectively suppress Th1-induced airway inflammation compared with Th2. *J Immunol* 2011;186(4):2238-44.
27. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblatt PE, Parsey MV, Arron JR, et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 2011;365(12):1088-98.
28. Schleich FN, Seidel L, Sele J, Manise M, Quaedvlieg V, Michils A, et al. Exhaled nitric oxide thresholds associated with a sputum eosinophil count $\geq 3\%$ in a cohort of unselected patients with asthma. *Thorax* 2010;65(12):1039-44.
29. Nowak D. Management of asthma with anti-immunoglobulin E: a review of clinical trials of omalizumab. *Respir Med* 2006;100(11):1907-17.
30. Knudsen TB, Thomsen SF, Nolte H, Backer V. A population-based clinical study of allergic and non-allergic asthma. *J Asthma* 2009;46(1):91-4.
31. Pearce N, Pekkanen J, Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax* 1999;54(3):268-72.
32. Castro-Rodriguez JA, Ramirez AM, Toche P, Pavon D, Perez MA, Girardi G, et al. Clinical, functional, and epidemiological differences between atopic and nonatopic asthmatic children from a tertiary care hospital in a developing country. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007;98(3):239-44.
33. Turato G, Barbato A, Baraldo S, Zanin ME, Bazzan E, Lokar-Oliani K, et al. Nonatopic children with multitrigger wheezing have airway pathology comparable to atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178(5):476-82.
34. Tang ML, Coleman J, Kemp AS. Interleukin-4 and interferon-gamma production in atopic and non-atopic children with asthma. *Clin Exp Allergy* 1995;25(6):515-21.
35. Mouthuy J, Detry B, Sohy C, Pirson F, Pilette C. Presence in sputum of functional dust mite-specific IgE antibodies in intrinsic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184(2):206-14.
36. Barnes PJ. Intrinsic asthma: not so different from allergic asthma but driven by superantigens? *Clin Exp Allergy* 2009;39(8):1145-51.
37. Groot Kormelink T, Thio M, Blokhuis BR, Nijkamp FP, Redegeld FA. Atopic and non-atopic allergic disorders: current insights into the possible involvement of free immunoglobulin light chains. *Clin Exp Allergy* 2009;39(1):33-42.
38. Kwon B, Lee HA, Choi GS, Ye YM, Nahm DH, Park HS. Increased IgG antibody-induced cytotoxicity against airway epithelial cells in patients with nonallergic asthma. *J Clin Immunol* 2009;29(4):517-23.
39. Gibson PG, Simpson JL, Salto N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. *Chest* 2001;119(5):1329-36.
40. Gibson PG. Inflammatory phenotypes in adult asthma: clinical applications. *Clin Respir J* 2009;3(4):198-206.
41. Uddin M, Nong G, Ward J, Seumois G, Prince LR, Wilson SJ, et al. Prosurvival activity for airway neutrophils in severe asthma. *Thorax* 2010;65(8):684-9.
42. Cosmi L, Liotta F, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Th17 cells: new players in asthma pathogenesis. *Allergy* 2011;66(8):989-98.
43. Haldar P, Pavord ID. Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(5):1043-52; quiz 1053-4.
44. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 2002;57(10):875-9.
45. Porsbjerg C, Lund TK, Pedersen L, Backer V. Inflammatory subtypes in asthma are related to airway hyperresponsiveness to mannitol and exhaled NO. *J Asthma* 2009;46(6):606-12.
46. Szczeklik A, Nizankowska E, Sanak M, Swierczynska M. Aspirin-induced rhinitis and asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1(1):27-33.
47. Szczeklik A, Nizankowska E, Duplaga M. Natural history of aspirin-induced asthma. AIAANE Investigators. European Network on Aspirin-Induced Asthma. *Eur Respir J* 2000;16(3):432-6.
48. Harrington LS, Lucas R, McMaster SK, Moreno L, Scadding G, Warner TD, et al. COX-1, and not COX-2 activity, regulates airway function: relevance to aspirin-sensitive asthma. *FASEB J* 2008;22(11):4005-10.
49. Szczeklik A, Sanak M. The broken balance in aspirin hypersensitivity. *Eur J Pharmacol* 2006;533(1-3):145-55.
50. Higashi N, Mita H, Ono E, Fukutomi Y, Yamaguchi H, Kajiwara K, et al. Profile of eicosanoid generation in aspirin-intolerant asthma and anaphylaxis assessed by new biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(5):1084-1091.e6.
51. Jedrzejczak-Czechowicz M, Lewandowska-Polak A, Bienkiewicz B, Kowalski ML. Involvement of 15-lipoxygenase and prostaglandin EP receptors in aspirin-triggered 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation in aspirin-sensitive asthmatics. *Clin Exp Allergy* 2008;38(7):1108-16.
52. Dahlén SE, Malmström K, Nizankowska E, Dahlén B, Kuna P, Kowalski M, et al. Improvement of aspirin-intolerant asthma by montelukast, a leukotriene antagonist: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(1):9-14.
53. Ebina M, Yaegashi H, Chiba R, Takahashi T, Motomiya M, Tanemura M. Hyperreactive site in the airway tree of asthmatic patients revealed by thickening of bronchial muscles. A morphometric study. *Am Rev Respir Dis* 1990;141(5 Pt 1):1327-32.
54. Ebina M. Remodeling of airway walls in fatal asthmatics decreases lymphatic distribution; beyond thickening of airway smooth muscle layers. *Allergol Int* 2008;57(2):165-74.

55. Girodet PO, Ozier A, Bara I, Tunon de Lara JM, Marthan R, Berger P. Airway remodeling in asthma: new mechanisms and potential for pharmacological intervention. *Pharmacol Ther* 2011;130(3):325-37.
56. Fujita H, Chalubinski M, Rhyner C, Indermitte P, Meyer N, Ferstl R, et al. Claudin-1 expression in airway smooth muscle exacerbates airway remodeling in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(6):1612-21.e8.
57. Kurt E, Ozkan R, Orman A, Calisir C, Metintas M. Irreversibility of remodeled features on high-resolution computerized tomography scans of asthmatic patients on conventional therapy: a 6-year longitudinal study. *J Asthma* 2009;46(3):300-7.
58. Martino D, Prescott S. Epigenetics and prenatal influences on asthma and allergic airways disease. *Chest* 2011;139(3):640-7.
59. Baines KJ, Simpson JL, Wood LG, Scott RJ, Gibson PG. Transcriptional phenotypes of asthma defined by gene expression profiling of induced sputum samples. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(1):153-60, 160.e1-9.
60. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178(3):218-24.