

# Astım ve Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAİ) Olgularında Serum Eozinofilik Katyonik Protein (ECP) ve Triptaz Düzeyleri<sup>¶</sup>

## EOSINOPHILIC CATIONIC PROTEIN (ECP) AND TRYPTASE LEVELS IN PATIENTS WITH ASTHMA AND COPD

Tunçalp DEMİR\*, Bilun GEMİCİOĞLU\*\*, Birsen MUTLU\*\*, Nurhayat YILDIRIM\*\*, Nail YILMAZ\*\*

\* Uz.Dr., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD,

\*\* Prof.Dr., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, İSTANBUL

### Özet

Çalışmada inflamasyonun ön planda olduğu iki hastalık olan astım ve KOAH'ın stabil dönemindeki hastalarda serum ECP ve triptaz düzeyleri ölçülerek aradaki farklılıklar ortaya konmaya çalışılmıştır. Çalışmaya stabil dönemdeki uluslararası kriterlere göre tanı almış 24 astım ve 13 KOAH'lı hasta ilgili poliklinikten rastgele seçilerek alınmıştır. Olgularda solunum fonksiyon testleri ile birlikte, serum ECP ve triptaz düzeyleri ile, periferik eozinofili ve balgamda eozinofili incelenmiştir.

ECP düzeyleri ortalaması astımlılarda  $18.35 \pm 21.22$  µg/L, KOAH'lılarda  $30.4 \pm 27.77$  µg/L bulunurken, triptaz düzeyleri astımlılarda  $4.5 \pm 3.44$  µg/L ve KOAH'lılarda  $6.38 \pm 5.65$  µg/L olarak bulunmuştur. ECP ve triptaz düzeylerinde astımlı ve KOAH'lı gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak serum triptaz düzeylerinin stabil dönemdeki astım ve KOAH olgularında normalden farklı olmadığı, serum ECP düzeylerinin ise her iki grupta da normalden yüksek olduğu saptanmıştır. ECP düzeyleri KOAH olguları ile astımlı olgular arasında farklı olarak bulunmasa da, KOAH'lılardaki yüksek ECP düzeyleri dikkat çekicidir.

**Anahtar Kelimeler:** ECP, Triptaz, Astım, KOAH, İnflamasyon

T Klin Allerji-Astım 2000, 2:14-18

### Summary

In this study, we aimed to differentiate asthma and COPD in which inflammation is a prominent feature, by evaluating serum ECP and tryptase levels during stable period.

Twentyfour patients with asthma and 13 patients with COPD diagnosed using international criteria, were included into the study. All patient underwent lung function tests, and serum ECP and tryptase levels. Peripheral eosinophilia and eosinophilia in sputum were also evaluated.

The mean ECP levels were  $18.35 \pm 21.22$  µg/L in patients with asthma and  $30.4 \pm 27.77$  µg/L in patients with COPD, whereas mean tryptase levels were  $4.5 \pm 3.44$  µg/L and  $6.38 \pm 5.65$  µg/L in patients with asthma and COPD, respectively. There was no significant difference between serum ECP and tryptase levels of asthmatics and COPD patients.

As a result, we found that serum tryptase levels in both groups were not different from normal. But, serum ECP levels were higher than normal in both groups. Although ECP levels are not different between COPD and asthma, the high level of ECP is intriguing in COPD.

**Key Words:** ECP, Tryptase, Asthma, COPD, Inflammation

T Klin J Allergy-Asthma 2000, 2:14-18

Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAİ) havayollarında inflamasyonun yol açtığı

**Geliş Tarihi:** 19.11.1999

**Yazışma Adresi:** Dr.Tunçalp DEMİR  
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi  
Göğüs Hastalıkları AD, İSTANBUL

<sup>¶</sup>Bu çalışma 1998 Toraks Derneği II. Kongresinde ve 1998 World Asthma Meeting'te sunulmuştur.

obstrüksiyonla karakterize iki hastalıktır. Eozinofiller, astım patogeneğinde mast hücreleri ile birlikte inflamasyonun ana hücreleri olarak rol oynarlar. Astımdaki inflamasyonda, epitelde oluşan değişikliklerin de önemli olduğu, epitel hasarında ise viruslar ve allerjenler gibi ekzojen etkenlerin yanında eozinofil ve mast hücrelerinden salgılanan triptaz, kimaz ve eozinofilik katyonik protein (ECP) gibi proteolitik enzim ve proteinlerin de rol oynadığı bilinmektedir (1). Bronkoalveoler lavaj

(BAL) çalışmaları astımlılarda hava yollarında eozinofil sayılarının normal populasyona göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (2). KOAH'ta ise inflamasyonun özellikleri astımdaki kadar ortaya konulmamış olsa da genelde nötrofilik bir inflamasyonun varlığı ile daha az oranda mast hücresi ve eozinofil artışı söz konusudur (3,4). KOAH'lıların BAL sıvılarında ise nötrofillerin artmış miktarda bulunduğu gösterilmiştir (5). Eozinofillerden salgılanan ECP ile astımlılarda mast hücrelerinden ve KOAH'lılarda nötrofillerden salgılanan triptaz düzeyleri bu hücrelerin aktivasyonunu göstermektedirler (6). Bu nedenle ECP düzeyleri astımlılarda eozinofilik inflamasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (7). KOAH'lılarda ise ECP ve triptaz düzeyleri ve bunların inflamasyondaki rolleri hakkında kesin bir görüş birliği yoktur.

Çalışmamızda stabil dönemdeki astım ve KOAH olgularında periferik kanda inflamatuvar olaylarda önemli rolleri olan ECP ve triptaz düzeyleri ölçülerek, iki grup arasındaki bu düzeylerin farklılığı ortaya konmak istenmiştir.

### Yöntem

Çalışmamızda 1997 yılı içinde Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniği'ne başvuran daha önceden konsensus raporlarına göre astım ve KOAH tanısı almış, konsensusa göre uygun tedavi kullanan ve en az 3 haftadır stabil dönemdeki hastalar incelenmiştir (8-10). Olguların tümüne ayrıntılı anamnez alındıktan sonra, solunum fonksiyon testleri (akım volüm ve reversibilite) yapılmış ve eş zamanlı olarak kan alınarak serum ECP ve triptaz düzeyleri ölçümü ile tam kan sayımı incelemesi yapılmıştır. KOAH astım ayırıcı tanısında ise reverzibilite, atopi ve sigara anamnezi özellikle incelenmiştir. Ayrıca balgam çıkarabilen hastalarda (9 astımlı ve 10 KOAH'lı) balgamda eozinofili incelenmiştir.

ECP ve triptaz ölçümü için 2-5 cc venöz kan alınıp santrifüj tüpüne konulmuş, tüp 3-5 kere elle çevrildikten sonra 60-120 dk oda ısısında (20° -24°C) bekletilmiştir. Sonra 10 dk 2000g'de santrifüj edilip serumu ayrılmıştır. Oda ısısında 24 saat, buzdolabında 5 gün veya -20°C'de daha uzun süre bekletilebilen örnekler Pharmacia Unicap 100 cihazında fluoroimmünassay yöntemi ile çalışılarak

ölçüm yapılmıştır. Laboratuvar normal referans değerleri ECP için 0-11,7±4,3 µg/L, triptaz için 0-9,8±3,8 µg./L'dir (11,12). Hastalarımızda eozinofil düzeyi, Medonic CA 610 adlı cihazla çalışılmıştır. (Normal periferik kan eozinofil değerleri; erişkinlerde 0-250 hücre/mm<sup>3</sup> veya %1-3 arasında değişir (13).

Balgamda eozinofili, çıkarılan ilk sabah balgamının May-Grunwald- Giemsa yöntemi ile boyanıp ışık mikroskobu ile değerlendirilmesi yoluyla bakılmıştır (14). Sayılan total hücre miktarının %10'dan fazlasının eozinofil olması balgamda eozinofili olarak kabul edilmiştir (15,16).

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilip daha sonra istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. İstatistik yöntem olarak SPSS programında t-testi kullanılmıştır.

### Bulgular

Çalışmaya sigara içmemiş 24 astımlı olgu ile sigara anamnezi olan 13 KOAH'lı olgu alınmıştır. Astımlı olguların çoğunluğunu kadınlar oluştururken, KOAH'lıların çoğunluğu erkektir. Yine astımlı grupta sigara içmiş olgu bulunmazken, KOAH'lıların tümünde sigara anamnezi mevcuttu ancak tümü sigarayı bırakmışlardır (Tablo 1).

Astımlı olguların tümü inhaler steroid ve gerektiğinde kısa etkili beta-2 agonist, 14 tanesi de ek olarak uzun etkili inhaler beta-2 agonisti kullanıyordu. KOAH'lı olgularda ise inhaler steroid kullanan bulunmazken, tümü ipratropium bromür, gerektiğinde kısa etkili beta-2 agonist ve oral teofilin, 6 tanesi de ek olarak uzun etkili inhaler beta-2 agonisti kullanıyordu.

Solunum fonksiyon testleri sonuçlarına bakıldığında ise KOAH'lıların beklenen değere

**Tablo 1.** Olguların özellikleri

	ASTİM	KOAH
Olgu sayısı	24	13
Yaş	39 ± 15	56.6 ± 9.6 *
Cins (K/E)	24/2	1/12
Sigara anamnezi (paket/yıl)	0	36.3 ± 20.2

\*p<0.05

**Tablo 2.** Fonksiyonel parametreler

	ASTİM	KOAİ
FVC (ml)	2850 ± 515	3503 ± 797
FVC (%)	91.7 ± 17.3	85.2 ± 20.5
FEV <sub>1</sub> (ml)	2166 ± 626	2025 ± 606
FEV <sub>1</sub> (%)	79 ± 19.7	61 ± 16.8
FEV <sub>1</sub> /FVC	76.2 ± 10.1	57 ± 7.9
FEF <sub>25-75</sub> (l/sn)	2.01 ± 0.96	1.1 ± 0.45
FEF <sub>25-75</sub> (%)	56.5 ± 23.6	30.2 ± 11.4
Reversibilite (%)	13.4 ± 9.4	9.5 ± 7.8

**Tablo 3.** Periferik kan ve balgamda eozinofil oranı

	ASTİM	KOAİ
Periferik eozinofil oranı (%)	3.0 ± 3.6	1.2 ± 1.7*
Balgamda eozinofili (+) olgu	5 (%20.8)	1 (%7.7)

\*p&gt;0.05

**Tablo 4.** Serum ECP ve triptaz düzeyleri

	ASTİM	KOAİ
ECP (µg/L)	18.35 ± 21.22	30.4 ± 27.77*
Triptaz (µg/L)	4.5 ± 3.44	6.38 ± 5.65*

\*p&gt;0.05

göre FEV<sub>1</sub> oranları, FEV<sub>1</sub>/FVC oranları ile FEF<sub>25-75</sub> değerleri astımlılardan daha düşüktür (Tablo 2).

Serum ECP ve triptaz düzeyleri KOAİ'lilerde astımlı olgulara göre daha yüksek oranda bulunsa da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ortalama ECP düzeyleri her iki grupta da normalin üzerinde iken, triptaz düzeyleri normal sınırlardadır (Tablo 4). Yine Solunum fonksiyon testleri ile serum ECP ve triptaz düzeyleri arasında korelasyon mevcut değildi (p>0.05).

Astımlı olguların 10 (%44) ve KOAİ'li olguların 7 (%54) tanesinin normalin üstünde (>16.0 µg/L) ECP düzeylerine sahip oldukları görülmüştür. Triptaz düzeyi ise yalnızca 1 KOAİ'li olguda normalin üzerindedir (>13.6 µg/L).

## Tartışma

Çalışmada eozinofilik inflamasyonun bir göstergesi olarak kabul edilen ECP düzeylerinin stabil dönemdeki hem astımlı hem de KOAİ'li olgularda normalden yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Yine normalin üstünde ECP düzeylerine sahip olguların oranı astımlılarda %41, KOAİ'lilerde ise %54 olduğu bulunmuştur. KOAİ'lilerdeki ECP düzeyleri astımlılara oranla daha yüksek bulunsa da arada istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Solunum fonksiyon testleri ile ECP düzeyleri arasında da anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Yapılan bir çok çalışmada astımlıların serum ve BAL sıvılarında ECP düzeylerinin artmış olarak bulunduğu gösterilmiştir (7,17,18). Niimi ve arkadaşları serum ECP düzeylerinin astımlılarda normallerden yüksek olduğunu ve BAL sıvısı ve doku eozinofil sayıları ile korelasyon gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (19). Louis ve arkadaşları astımlıların indüklenmiş balgam örneklerinde triptaz ve ECP düzeylerini yüksek olarak bulmuşlardır (20). Parra ve arkadaşları ise serum ECP düzeylerini kontrol grubuna karşı astımlılarda daha yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada semptomatik olgulardaki ECP düzeylerinin semptomsuz olgulardan daha yüksek olduğu da gösterilmiştir (21). Bunun özellikle inflamasyonun ve hastalığın kontrol altında olup olmadığının iyi bir göstergesi olduğu ileri sürülmüştür. Aynı zamanda antiinflamatuvar tedavi yanıtının ECP düzeyleri ile korele ettiği de gösterilmiştir. İnhaler kortikosteroidler ile yapılan çalışmalarda tedavi sonucunda ECP düzeylerinde anlamlı düşmeler görülmüş, steroid tedavisinin kesilmesi sonucunda ise semptomatik hale gelen olgularda ECP düzeylerinin de yükseldiği görülmüştür (22). Çalışmamızdaki astımlı olguların yalnızca %41'inin normalden yüksek ECP düzeylerine sahip olmaları, olguların stabil dönemde olmalarının ve inflamasyonun kontrol altında olduğunun göstergesi olarak kabul edilebilir.

KOAİ'ta ise submukozal lenfositik infiltrasyona karşın hava yolları lümeninde klasik olarak nötrofilik inflamasyon söz konusudur. Bazı indüklenmiş balgam ve serum çalışmalarında KOAİ'lilerde da ECP düzeylerinin yüksek bulunması KOAİ'taki inflamasyonda eozinofillerin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir (22).

Gürsel ve arkadaşlarının akut ataktaki KOAH ve astımlılarda yaptıkları çalışmada; serum ECP düzeyleri KOAH'lı grupta daha yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak her iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (23). Riise ve Linden'in yaptıkları iki ayrı BAL çalışmasında KOAH'lılarda nötrofillerin yanında eozinofillerin de artmış olduğu gösterilmiş ve bu sonuçlara dayanılarak KOAH'taki inflamasyonda eozinofillerinde içinde olduğu geniş bir spektrumda granülositlerin önemli olduğu ileri sürülmüştür (24,25). Özellikle oluşan havayolu hasarından ECP'nin de içinde olduğu toksik eozinofil degranülasyon ürünlerinin sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür. KOAH akut alevlenme döneminde bronş mukoza ve balgam örneklerinde artmış eozinofil düzeyleri gösterilmiştir (26). Genellikle ECP düzeyleri ile eozinofil sayıları arasında korelasyonun gösterilmiş olması da KOAH'ta eozinofillerin önemini destekleyebilir. KOAH'lı olgularımızda periferik eozinofil sayıları, astımlılardan düşük olmasına karşın ECP düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da astımlılardan daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç ta KOAH'lı olgulardaki inflamasyonda eozinofillerin de önemli olabileceğini ileri süren çalışmaları destekleyebilir.

Bir diğer hipotez, astımda inflamasyon için tüm hastaların kullandığı inhaler steroidlerle ECP düzeyi de baskılanabilmişken, KOAH'ta inflamasyonu baskılayacak yeterli bir tedavinin verilemediğidir. Diğer bir olasılık ise ECP veya benzeri bir maddenin nötrofillerden salınması nedeni ile KOAH'ta da astıma benzer düzeylerin gözlenmesinin söz konusu olmasıdır.

Triptaz mast hücrelerinden salgılanan bir nötral endopeptidazdır. Triptazın diğer bir mast hücre ürünü olan kimazla birlikte vazoaaktif intestinal protein (VIP) gibi bronş düz kasları üzerine relaksasyon etkisi olan maddelerin yıkımında rol aldığı ve IL-8 yapımını indüklediği gösterilmiştir (27,28). Bu nedenlerle triptazın astım patogenezinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir. Astımlılarda yapılan çalışmalarda triptaz düzeylerinin yüksek bulunmasına karşın Riise ve arkadaşları KOAH'lıların BAL sıvılarında triptaz düzeylerini kontrol grubundan farklı bulmamışlardır (20,24). Bizim çalışmamızda ise serum triptaz düzeyleri her iki grupta da normal düzeylerde bulunmuştur. Bu sonuç olgularımızın stabil dönemde olması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak serum triptaz düzeylerinin stabil dönemdeki astım ve KOAH olgularında normalden farklı olmadığını, serum ECP düzeylerinin ise her iki grupta da normalden yüksek olduğu saptanmıştır. ECP düzeyleri KOAH olguları ile astımlı olgular arasında farklı olarak bulunamamıştır. Ancak KOAH olgularındaki gözlenen yüksek ECP düzeyleri dikkat çekici bulunarak tartışılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Holgate ST, Lackie PM, Davies DE, Roche WR, Walls AF. The bronchial epithelium as a key regulator of airway inflammation and remodelling in asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29(suppl 2): 90-5.
2. Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma and normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 449-53.
3. Thompson AB, Daughten DM, Robbins R, Ghafouri MA, Oehlerking M, Rennard SI. Intraluminal airway inflammation in chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1527-37.
4. Spurzem JR, Thompson AB, Daughten DM, Mueller M, Linder J, Rennard SI. Chronic inflammation is associated with an increased proportion of goblet cells recovered by alveolar lavage. *Chest* 1991; 100: 389-93.
5. Martin TR, Raghu G, Maunder R, Springmeyer SC. The effects of chronic bronchitis and chronic air-flow obstruction on lung cell populations recovered by bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 254-60.
6. Schwartz LB. Tryptase from human mast cells: biochemistry, biology and clinical utility. Monograph in *Allergy* 1990; 27: 90-113.
7. Bousquet J, Chané P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Ehander I. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990; 323: 1033-39.
8. Siafakas NM, Vermeria P, Pride NB, et al. Optimal assessment and management of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). A consensus statement of the European Respiratory Society (ERS). *Eur Respir J* 1995; 8:1398-1420.
9. Toraks Derneği Bronş Astması Tanı ve Tedavi Rehberi, İstanbul, 1996.
10. National Institute of Health. Global strategy for asthma management and prevention NHLBI/WHO workshop report. NHLBI Publication Number 95-3659, 1995.
11. Venge P. Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* 1993; 23: 3-7.
12. Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J et al: Time course of appearance and disappearance of human mast cell tryptase in circulation after anaphylaxis. *J Clin Invest* 1989; 83: 1551-55.

13. Elin RJ. Laboratory reference intervals and values. In: L Goldman, JC Benett (eds) Cecil Textbook of Medicine, W B Saunders Co. Philadelphia, 21st. Ed. 2000; 2305.
14. Yılmaz N. Tıbbi Sitolojiye Giriş ve Solunum Sistemi Sitolojisi. Nobel Tıp Kitabevi, 1995; 30-6.
15. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, et al. Induced sputum cell counts: a non-invasive method to investigate airway inflammation in asthma. Thorax 1989; 44: 693-9.
16. Fathy JV, Liu J, Wong H, Bouchey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and healthy individuals. Am Rev Respir Dis 1993; 147: 1126-31.
17. Tosun GA, Tunalı L, Yaman M, Hacıbekiroğlu M, Karadan R. Hafif bronş astımlı olgularda serum ECP (Eosinofilik katyonik protein) düzeyinin semptom ve solunum fonksiyonları ile ilişkisi. Toraks Derneği II. Kongresi. Antalya, 1998, Özet Kitabı:53.
18. Arıkan S, Canbakan S, Çapan N, Başer Y. Serum eosinophilic cationic protein (ECP) levels in asthmatic patients. Eur Respir J 1998; 12 (Suppl 28):71.
19. Niimi A, Amitani R, Suzuki K, Tanaka E, Murayama T, Kuze F. Serum eosinophilic cationic protein as a marker of eosinophilic inflammation in asthma. Clin Exp Allergy 1997; 28: 233-40.
20. Louis R, Shute J, Biagi S, Stanciu L, Marrelli F, Tenor H, Hidi R, Djukanovic R. Cell infiltration, ICAM-1 expression, and eosinophil chemotactic activity in asthmatic sputum. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155: 466-72.
21. Parra A, Prieto I, Sanz ML, Dieguez I, Resano A, Oehling AK. Serum ECP levels in asthmatic patients: comparison with other follow-up parameters. Allergy Asthma Proc 1996; 17(4): 191-7.
22. De Backer W. Measures of inflammation in serum. Eur Respir Rev 1998; 8:1098-1102.
23. Gürsel G, Turктаş H, Gökçora N, Tekin İO. Comparison of sputum and serum eosinophil cationic protein (ECP) levels in nonatopic asthma and chronic obstructive pulmonary disease. J Asthma 1997; 34(4):313-9.
24. Riise GC, Ahlstedt S, Larsson S, Enander I, Jones I, Larsson P, Andersson B. Bronchial inflammation in chronic bronchitis by measurement of cell products in bronchial lavage fluid. Thorax 1995; 50(4): 360-5.
25. Linden M, Rasmussen JB, Piitulainen E, Tunek A, Larsson M, Tegner H, Venge P. Airway inflammation in smokers with nonobstructive and obstructive chronic bronchitis. Am Rev Respir Dis 1993; 148: 1226-32.
26. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, Turato G, Ruggeri MP, Roggeri A, Calcagni P, Mapp E, Ciaccia A, Fabbri LM. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. Am J Respir Crit Care Med 1994; 148: 1226-32.
27. Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase is a mitogen for epithelial cells: stimulation of IL-8 production and intercellular adhesion molecule-1 expression. J Immunol 1996; 156: 275-83.
28. Tam EK, Caughey GH. Degradation of neuropeptides by human lung tryptase. Am J Respir Cell Mol Biol 1992; 3: 27-32.