

# Astımda İndükte Balgam

## Induced Sputum in Asthma

Seçil Kepil Özdemir, Betül Ayşe Sin

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

Özet  
Abstract

Salin solüsyonunun inhalasyonu ile indüklenen balgam, alt hava-yollarından materyal elde etmek için kullanılan non-invaziv bir yöntemdir. Balgam indüksiyonu yönteminin standardizasyonu balgam örneklerinin kalitesi ve tekrarlanabilirliğini arttırmıştır. Ağır astımlı ve/veya ataktaki hastalarda da uygun koşullarda uygulanabilmesi önemli bir avantajdır. Araştırmalarda çok sayıda hastaya uygulanabilir, seri değerlendirmeler yapılabilir. Ancak, zaman alıcı ve deneyim gerektiren bir yöntemdir. Astımda, havayolu inflamasyonunun değerlendirilmesi, tedavinin yönlendirilmesi, atakların sınıflanması, ilaçların etkilerinin değerlendirilmesi ve mesleki astım tanısındaki yeri araştırılmıştır. Balgam eozinofilisini baskılamaya dayalı tedavi protokolünün, ağır astımlı hastalarda atak sayısında azalma sağladığı saptanmıştır. Özellikle üçüncü basamak kliniklerde, ağır astımlı, sık atak geçiren hastalarda indükte balgam kullanımının yaygınlaşması yararlı olacaktır. İndükte balgam, bronşiyal biyopsi, bronkoalveoler lavaj ve ekshale soluk havasında NO ölçümünün, akciğerlerin farklı kompartmanlarını örneklediği düşünülmektedir. Bu nedenle, bu yöntemler birbirini tamamlayıcıdır ve araştırmalarda kullanılacak yöntem amaca göre değişebilir.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** İndükte balgam, astım, havayolu inflamasyonu

Induced sputum with inhalation of saline solution is a non-invasive method used to collect material from lower airways. The standardization of this method has improved the quality and reproducibility of sputum samples. An important advantage of the technique is that it enables sampling of the airways in patients with severe asthma and/or during exacerbation, under the appropriate conditions. For research purposes, it can be used in many patients and serial evaluations can be done. However, it is time consuming and requires experience. In patients with asthma, analysis of induced sputum has been investigated for studying airway inflammation, managing therapy, categorization of exacerbations, and diagnosis of occupational asthma. A significant reduction in asthma exacerbations has been shown in severe asthma patients with a treatment strategy based on suppressing sputum eosinophilia. It would be useful to increase the availability of the induced sputum technique, especially in tertiary clinics and in patients with severe asthma with frequent exacerbations. Induced sputum, bronchial biopsy, bronchoalveolar lavage, and exhaled NO are thought to sample from different compartments of the lung. Therefore, these methods are complementary and the research technique used depends on the purposes of the study.

**KEY WORDS:** Induced sputum, asthma, airway inflammation

Salin solüsyonunun inhalasyonu ile balgam indüksiyonu, havayollarından hücresel ve çözünür materyal elde etmek için kullanılan non-invaziv bir yöntemdir. Balgam incelemesi solunum yolu hastalıklarında uzun zamandan beri kullanılmaktadır. İndükte balgam önceleri akciğer kanseri ve enfeksiyonlarının araştırılmasında kullanılmaya başlanmıştır [1]. Son iki dekada ise astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında (KOAH) hava yolu inflamasyonunun değerlendirilmesinde güvenilir olması ve biyopsi, bronkoalveoler lavaj gibi invaziv yöntemler ile kıyaslanabilir sonuçlar sağlaması nedeniyle yaygın olarak kullanılmıştır. Son yıllarda, interstisyel akciğer hastalıklarının, özellikle sarkoidozun değerlendirilmesinde de faydalı olabileceği bildirilmektedir [1].

Astım, havayolu inflamasyonu, havayolu aşırı duyarlılığı, değişken hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize karmaşık bir hastalıktır. Havayolu inflamasyonu hastalığın patogenezinde temel rol oynar. Bu inflamasyon eozinofiller, makrofajlar, mast hücreleri, lenfositler, nötrofiller gibi çeşitli hücreleri, sitokinler ve diğer medyatörleri içerir. Havayolu inflamasyonu ile ilgili ilk çalışmalar astımlı hastaların otopsi verilerine dayanmaktadır. Ancak, fiberoptik bronkoskopinin geliştirilmesinden sonra bronkoalveoler lavaj, fırçalama, bronşiyal doku şeklinde alt hava yolu örneklerinin alınmasının kolaylaşması ve segmental allerjen provokasyonları astımda havayolu inflamasyonunun rolü konusundaki bilgilerimizin gelişmesini sağlamıştır. Ayrıca, havayolu inflamasyonunu değerlendiren non-invaziv yöntemler geliştirilmeye devam etmektedir. Bu yöntemler içinde indükte balgam, ekshale nitrik oksit (NO) ve yoğunlaştırılmış ekshale soluk havası hem klinik hem de araştırma amaçlı uygulamalar için umut vermektedir. Özellikle indükte balgamdaki hücre sayıları iyi belirlenmiş ve geniş serilerde normal değerler yayınlanmıştır. Balgam indüksiyonu iyi tolere edilebilen, güvenilir ve tekrarlanabilir bir yöntemdir [2,3]. Bronkoskopi gerektiren yöntemlere göre en önemli avantajı non-invaziv olmasıdır. Bu, özellikle ağır astımlı ve/veya ataktaki hastalarda önemlidir. Balgam indüksiyonu bu hastalarda tamamen risksiz olmasa da uygun koşullarda

**Yazışma Adresi / Address for Correspondence:** Betül Ayşe Sin, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji ve Allerji Hastalıkları Bilim Dalı, Ankara, Türkiye Tel: +90 312 595 65 53 E-posta: bsin@medicine.ankara.edu.tr

©Telif Hakkı 2013 Türk Toraks Derneği - Makale metnine www.toraks.dergisi.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2013 by Turkish Thoracic Society - Available online at www.toraks.dergisi.org



uygulanabilmektedir. İndükte balgam, araştırmalarda çok sayıda hastaya uygulanabilir, seri değerlendirmeler yapılabilir ve takipte kullanılabilir. Ancak, birçok avantajına rağmen balgam indüksiyonu ve işlenmesi zaman alıcıdır ve deneyim gerektirmektedir.

### Balgam İndüksiyonu Yöntemi

Yöntem temelde izotonik ya da hipertonic salin (sodyum klorür) solüsyonlarının nebülizasyonla inhalasyonundan oluşur. Balgam indüksiyonunun tam mekanizması bilinmemekle birlikte, havayolunu döşeyen sıvının ozmolaritesinde artış sonucu bronş mukozasında damar permeabilitesinin artışı ve sonuçta submukozal bezlerden mukus yapımının artması ve/veya sekresyon klirensinin artması rol oynayabilir [4]. Spontan olarak ekspektore edilen balgamdaki hücre ve mediyatörlerin indükte balgamla benzer olduğu, ancak spontan balgamdaki hücre canlılığı ve örnek kalitesinin indükte balgamdan düşük olduğu gösterilmiştir [5].

Balgam örneklerinin kalitesinin, tekrarlanabilirliğinin artması ve araştırma sonuçlarının karşılaştırılabilmesi için balgamın indüksiyon ve işlenmesi yöntemlerinin standardize olması gereklidir. Balgam indüksiyonu düşünülen kişiye öncelikle bazal spirometri yapılmalıdır. Hipertonic salinin neden olabileceği bronkokonstriksiyon riskinin azaltılması amacıyla balgam indüksiyonu öncesi bronkodilatör ilaçla premedikasyonun (ölçülü doz inhaler ile salbutamol 200 µg), özel araştırmalar dışında, rutin olarak uygulanması önerilmektedir [4].

Balgam indüksiyonu için ultrasonik nebülizerlerin kullanılması önerilmektedir [4]. Hasta uyumu çok önemli olduğu için, hastaya yapılacak işlem hakkında ayrıntılı bilgi verilmelidir. Oksijen saturasyonu ölçümü için gerekli malzemeler, oksijen ve diğer acil müdahale imkanları bulunmalı ve işlem hekim gözetiminde yapılmalıdır.

Balgam indüksiyonu sırasında solunum fonksiyonlarının takibi gereklidir. Bronkodilatör öncesi, bronkodilatörden 10-15 dakika sonra, her bir inhalasyon periyodundan sonra zorlu ekspiratuar volüm 1. saniye (FEV<sub>1</sub>) ölçülmelidir [4]. Eđer post-bronkodilatör değere göre FEV<sub>1</sub>'de %20'den fazla düşüş olursa veya semptomlar ortaya çıkarsa işlem sonlandırılmalıdır. İndüksiyon işlemi sonunda, eğer hastanın FEV<sub>1</sub>'inde bazal değerin %10'undan fazla düşüş olmuşsa inhale kısa etkili beta-2 agonist verilmelidir.

Balgam indüksiyonunda kullanılan salin solüsyonu steril şartlarda ve taze olarak hazırlanmalıdır. Çeşitli protokollerde salin konsantrasyonu %0,9 ile %7 arasında değişmektedir. Balgamın indüksiyonunda, hipertonic salin solüsyonları izotonikten daha etkili ancak bunların bronkospazm riski daha yüksektir. Sabit konsantrasyonda (örneğin %3 ya da %4,5) ya da giderek artan konsantrasyonlarda hipertonic salin (%3, %4, %5) kullanılabilir. Yüksek riskli hastalarda indüksiyona izotonik salinle başlanması önerilir [4]. Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada bronş provokasyonu ile kombine uygulanan balgam indüksiyonunda hipertonic salin ve mannitol karşılaştırılmış ve mannitol ile indüksiyonda total hücre sayısı daha düşük bulunmuş, ancak, eozinofil ve nötrofil sayıları, interlökin (IL) 8, nötrofil elastaz, matriks metalloproteaz (MMP) 9 konsantrasyonları arasında anlamlı fark saptanmamıştır [6].

tır [7]. İndüksiyonun erken döneminde alınan örneklerde nötrofil ve eozinofillerin, daha geç dönemde alınan örneklerde ise lenfosit ve makrofaj sayılarının daha fazla olduğu bulunmuştur. İndüksiyonun erken döneminde santral havayollarından, daha sonraki dönemlerinde periferik havayolları ve hatta alveollerden örnek alınabildiği düşünülmektedir [4]. Bu nedenle, balgam indüksiyonunun süresinin standardize edilmesi önemlidir. Uygun örnek alındığında indüksiyonun sonlandırılması uygun bir araştırma yöntemi değildir [4]. Genellikle 15-20 dakika (örneğin 3 kez, 7'şer dakika) kümülatif nebülizasyon süresi önerilmektedir [8]. Nebülizasyonlar arasındaki sürenin sabit tutulması önerilir [8].

İndüksiyon sırasında her nebülizasyon süresi sonunda veya hasta ne zaman balgam çıkarma ihtiyacı duyarsa inhalasyon kesilir ve derin bir öksürükle steril bir petri kutusuna balgam çıkarması istenir. Her inhalasyon sonrasında balgam çıkarmadan önce kontaminasyonu azaltmak için hastaya burnunu temizlemesi, ağız ve boğazını suyla çalkalayıp yutması veya ağız mukozasını tahriş etmeden hafifçe steril gazlı bezle kuruması tavsiye edilebilir [8]. Bu yöntemlerin yararı net değildir. Bazı araştırmacılar ağız sık sık suyla çalkalanmasının orofarengeal inflamasyona neden olabileceğini düşünmektedir. İnhale edilen hipertonic salin solüsyonunun toplam volümü sıvı fazı etkileyebileceği için bunun belirlenmesi önemlidir. Sık tekrarlanan balgam indüksiyonlarının havayolu inflamasyonuna neden olduğu düşünüldüğünden ardışık 2 indüksiyon arasında en az 48 saat olması önerilmektedir [4]. Bir araştırmada kullanılan indüksiyon yöntemi mümkün olduğunca sabit olmalıdır [4].

### İndükte Balgamın İncelenmesi

Bir sonraki basamak indükte edilen balgamın işlenmesidir. Elde edilen balgam örneğinin mümkün olan en kısa sürede ya da en fazla 2 saat içinde işlemden geçirilmesi ve bu süre içinde 4°C'de saklanması önerilmektedir [4,9]. Balgam incelenmesi ekspektore edilen örneğin tümünde ya da tükrükle kontamine olmamış visköz balgam kısımları seçilerek, seçilen bu örnekte yapılabilir [1]. Seçilmiş balgam yönteminin avantajı hücre kalitesi ve canlılığının iyi olması, tüm ekspektorat yönteminin avantajı ise biraz daha hızlı olmasıdır [10]. Bir araştırmada bu iki yöntemden hangisi seçildiyse tüm hastalarda aynı yöntem uygulanmalıdır [1,10].

Sonraki aşamada örnek tartılır ve dithiothreitol (DTT) ile homojenizasyon yapılır. DTT ve dithioerythritol (DTE), müsin moleküllerindeki disülfid bağlarını parçalamakta ve rezidüel mukusa hapsolmuş hücrelerin lifefaksiyonla açığa çıkmasını sağlamaktadır [10]. Mukustan tam ayırlamayan hücreler koyu boyanma eğilimindedir ve bu durum hücrelerin doğru şekilde tanınmasını güçleştirir [10]. Tüm ekspektorat yönteminde balgam örneğinin ağırlığı kadar, seçilmiş balgam yönteminde balgam örneği ağırlığının 4 katı DTT örneğe eklenir ve vortekslenir [10]. Elde edilen karışım 15 dakika oda ısısında (22°C) tüp rocker'da (veya hafif sallanan su banyosunda 37°C) tam homojenizasyon için bekletilir. DTT ile eşit miktarda standart fosfat tamponlu solüsyon (PBS) örneğe eklenir, 5 dakika daha rocker'da bekletilir [1]. Daha sonra, örnek kalitesinin daha iyi olması için, delik çapı 48 mikrometre olan naylon bir filtreden süzülme suretiyle mukus ve debrisin uzaklaştırılması önerilmektedir [10].

Nonskuamöz toplam hücre sayısı hemositometre kullanılarak manüel olarak hesaplanır, hücre canlılığına ise tripan

mavisi yöntemi ile bakılır [2]. Canlı hücrelerin oranı %50'den az ya da skuamöz hücre kontaminasyonu %20'den fazla ise örneğin kalitesi ve sonuçların tekrarlanabilirliği düşüktür [11]. Balgamdaki hücreleri sıvı fazdan ayırmak için santrifüj edilmesi gerekir. Daha sonra çözünür mediyatörlerin araştırılması için, santrifüjden sonra üstte kalan ve süpernatant olan sıvı fazı alınarak 1 mL'lik eppendorf tüplere dağıtılır. Süpernatant daha sonra çözünür belirteçlerin araştırılması için -20 ile -80 derece arasında saklanır [2]. Tüpün dibinde kalan hücre kümesi Ringer laktat veya PBS ile resüspande edilerek volüm 1 mL'ye tamamlanır. Hücre analizi, genellikle, yayma veya sitospin preparatları kullanılarak yapılır. Optimum hücre sayıları ( $40-60 \times 10^3$  hücre) elde edilmiş ise sitospinler hazırlanır ve hücre süspansiyonları bunlara yerleştirilir [10]. Bu şekilde hücre dağılımı yaymadan daha kesin olarak belirlenmektedir [10]. Sitospinlerin diferansiyel hücre sayımı için boyanması Wright ya da Giemsa ile yapılır. Diferansiyel hücre sayımı en az 400 non-skuamöz hücre sayılarak elde edilir [8]. Sitospinler sitokimyasal ve immüno-sitokimyasal yöntemler için kullanılabilir, in situ hibridizasyon yapılabilir. Ayrıca sitokin mRNA hücrelerden ekstrakte edilebilir ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak ölçülebilir. Hücre süspansiyonu, inflamatuvar hücre popülasyonları ve alt popülasyonları ile hücre aktivasyonunu belirlemek için akım sitometriyle hemen işleme koyulabilir [1]. Ancak periferik kana göre balgam indüksiyonuyla nispeten daha az sayıda hücre elde edildiği için, ayrıca canlı hücrelerin korunmasının zorluğu nedeniyle değeri sınırlıdır. Süpernatanda ise çözünür sıvı faz mediyatörler, sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri, granülosit proteinleri, eikozanoidler, proteazlar ve inhibitörleri, albümin, fibrinojen, C reaktif protein, nitrik oksit solübl ürünleri çeşitli immünoassay'ler kullanılarak ölçülebilir.

### Astımda İndükte Balgam

Astım; farklı fenotipleri olan, patogenezi, hastalığın şiddeti, semptomları, tedavi yanıtı ve doğal seyri açısından heterojen bir hastalıktır. Astımdaki inflamatuvar olaylar sadece yardımcı T hücre (Th)-2 aracılı eozinofilik havayolu inflamasyonundan çok daha karmaşıktır. Astım fenotiplerinin belirlenmesi, alta yatan patofizyolojinin anlaşılması, tedaviye yön verilmesi ve yeni terapötik yöntemlerin geliştirilmesi açısından önemlidir. Bu nedenle, tam ve geniş bir klinikopatolojik sınıflama sisteminin oluşturulması, astım araştırmalarının önemli bir önceliği olmaktadır [12].

Balgamdaki predominant hücre tipinin belirlenmesi astım hastalarının buna göre sınıflanmasını sağlamıştır. Balgam eozinofilisi olan astımlı hastalarda bazal membran kalınlığı ve steroid tedaviye yanıtın daha iyi olduğu gösterilmiştir [13,14]. Balgam eozinofilisini baskılamaya dayalı tedavinin, temelde semptomlar ve spirometri/zirve ekspiratuvar akım hızına dayalı klasik tedavi protokolü ile karşılaştırıldığı üç erişkin çalışmasının değerlendirildiği bir meta-analizde balgam eozinofilisini baskılamaya dayalı tedavi protokolünün atak sayısında azalma sağladığı saptanmıştır [15]. Ancak, bu çalışmalarda balgam bulgularına dayalı tedavinin katkısı, daha ağır hastalığı olan ve atak sırasında eozinofili gösteren hastalar ile sınırlıdır. Bu bulgular balgamda eozinofil artışının havayolu inflamasyonunun yeterince kontrol altına alınmadığını ve atak riskindeki artışı yansıttığını düşündürmektedir [16]. Balgam eozinofil sayısının izleminin atakları öngörmede konvansiyonel metodlardan daha duyarlı olduğu gösteril-

miştir [17]. Bu sonuçlar balgam eozinofilisinin astım tedavisini düzenlemede kullanımının sık atak geçiren ve ağır astımı olan hastalarda yararlı olabileceğini düşündürmektedir [15]. Mehta ve ark.'larının [18] çalışmasında, astım hastalarının indükte balgam ve kandaki eozinofil sayılarının sinüslerdeki mukozal kalınlaşma ile pozitif korelasyon gösterdiği ve osteit ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

İndükte balgam tekniği kullanılarak bir grup astım hastasında eozinofilik havayolu inflamasyonunun saptanmadığı gözlenmiştir [19]. Non-eozinofilik astımlı bu hastalarda inhaler steroid yanıtının eozinofilik astımlı hastalardaki yanıtın daha az olduğu gösterilmiştir [19,20]. Havayolu sekresyonlarında nötrofilik inflamasyon akut ağır astımlı hastalarda bildirilmiştir [21]. Jatakanon ve ark.'larının [22] bir çalışmasında balgamdaki nötrofil artışının astım ağırlığında artışla ilişkili olduğu saptanmıştır. Green ve ark.'larının [23] çalışmasında ise hafif-orta astımlı bir grup hastada balgamda nötrofili bildirilmiştir. Nötrofilik inflamasyon astımlı olgularda eozinofili ile de birlikte bulunabilir [24]. Makrolid antibiyotiklerin anti-nötrofilik özellikleri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, Simpson ve ark.'ının [25], randomize çift kör plasebo kontrollü çalışmasında refrakter astım hastalarında 8 haftalık klaritromisin tedavisi denenmiş ve bu tedavinin balgam IL-8 ve nötrofil sayılarını ve süpernatandaki nötrofil elastaz konsantrasyonunu azalttığı, yaşam kalitesinde düzelmeye sağladığı gösterilmiştir. Yaşam kalitesindeki düzelmeye özellikle non-eozinofilik astımlı hastalarda daha belirgin bulunmuştur [25]. Astımın heterojen bir hastalık olduğu bilindiğinden, fenotipe özgü tedavi yöntemlerinin araştırılması ve yeni tedavilerin tedaviye yanıt vermesi en muhtemel hastalarda denenmesi yararlı olabilir.

Havayolu obstrüksiyonu benzer düzeyde olsa bile, kronik astımdaki havayolu inflamasyonu, kronik bronşit ve amfizemden farklıdır [26]. Kronik persistan hava yolu obstrüksiyonu olan 10 astımlı ve 35 KOAH'lı hastanın indükte balgam verilerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, astımlı hastaların balgam eozinofil ve eozinofil katyonik protein (ECP) düzeyleri KOAH hastalarından daha yüksek, nötrofil ve nötrofil elastaz düzeyleri ise daha düşük bulunmuştur [26]. Bu çalışmadaki tüm hastalar birlikte değerlendirildiğinde, indükte balgamdaki nötrofil yüzdesi ile FEV<sub>1</sub>% arasında negatif korelasyon saptanmıştır [26]. Shaw ve ark.'ları [27], 1197 astımlı hastanın indükte balgam hücre sayıları ve solunum fonksiyonlarını değerlendirdikleri çalışmalarında hem yüksek nötrofil hem de yüksek eozinofil sayılarının düşük pre-bronkodilatör FEV<sub>1</sub> değeri ile ilişkili olduğunu ancak düşük post-bronkodilatör FEV<sub>1</sub> değerinin sadece yüksek nötrofil sayıları ile ilişkili olduğunu bildirmiştir [27]. Astımda nötrofilik ve eozinofilik havayolu inflamasyonunun birlikte bulunabilmesinin bilinmesi önemlidir. Astımlı 205 hastada indükte balgamdaki eozinofil ve nötrofil sayıları arasında ters ilişki bulunmamıştır [28].

Duncan ve ark.'larının [29] çalışmasında, indükte balgamdaki eozinofil yüzdeleri ile astım semptom ve ağırlık skorları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Inhaler steroid tedavinin, semptomlarda azalma ile birlikte balgam eozinofillerinde azalma, çeşitli inflamasyon mediyatörlerinde düzelmeye sağladığı gösterilmiştir [30]. Lökotrien reseptör antagonisti ile tedavinin de balgam eozinofil yüzdelerinde azalma ve eozinofil apopitozis oranlarında artışa neden olduğu bildirilmiştir [31].



Balgamdaki hücre sayıları, inflamasyon mediyatörleri astım tedavilerinin ya da geliştirilmekte olan ilaçların potansiyel antiinflamatuvar etkilerinin değerlendirilmesinde yararlıdır. İndükte balgam, sık tekrarlanabilir bir yöntem olduğundan inflamasyonun izlemine olanak sağlayarak yeni tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Lemière ve ark.'larının [32], 32 ağır ve 35 orta şiddette astımlı olguda, havayolu inflamasyonunu, indükte balgam, ekshale NO, bronşial biyopsi ile değerlendirdikleri çalışmalarında, bronşial biyopsi ve indükte balgamda eozinofilik ve non-eozinofilik fenotipler saptanmıştır. Ancak, balgam eozinofil sayısı yüksek olan hastaların çoğunda bronşial biyopside yüksek mukozal eozinofil sayıları saptanmamıştır [32]. Ekshale NO ile mukozal eozinofiller arasında korelasyon saptanmış, ancak balgam eozinofilleri ile NO arasında saptanmamıştır [32]. Balgam eozinofil sayısı yüksek hastalarda atak sayısı fazla bulunmuştur [32]. Bronşial biyopsiye dayanarak eozinofilik ve non-eozinofilik olarak değerlendirilen hastalar arasında klinik özellikler açısından fark saptanmamıştır [32]. Havayolu lümenindeki eozinofiller intraluminal kemoatraktanların daha yüksek konsantrasyonlarını, epitelyal aktivasyonun derecesini ve daha ağır bir astım fenotipini yansıtır olabir [32]. Bu bulguların alternatif bir açıklaması ise, bronşial biyopsi sadece büyük havayollarını yansıtırken, indükte balgamın küçük havayolları ve alveolleri de örneklemesi olabilir [32]. Ancak mukozal ve luminal eozinofillerin ya da havayollarındaki proksimal ve distal inflamasyonun göreceli önemi henüz bilinmemektedir.

Astımlı hastaların indükte balgam süpernatantında çeşitli mediyatörler ölçülebilir. Bu mediyatörler havayolu inflamasyonunun ve yeniden yapılanmanın (remodeling), eozinofil aktivasyonu, mast hücre aktivasyonu, sitokin yapımı gibi farklı yönlerini ve mikrovasküler sızıntıyı gösterebilir [33]. Astım hastalarının indükte balgamında ECP, sisteinil lökotrien konsantrasyonları, eotaksin, triptaz, fibrinojen, albümin, IL-5, IL-8, nötrofil elastaz konsantrasyonları, IL-17 mRNA, IL-8 mRNA düzeyleri normal popülasyona göre artmış saptanmıştır [26,34-36]. Remodeling ile ilişkili çözümlü proteinler (örneğin prokollajen sentez peptidleri, MMP'lar, metalloproteazların doku inhibitörleri (TIMP'ler) indükte balgam süpernatantında saptanabilir. MMP-8 ve MMP-9 konsantrasyonları astımlı hastalarda sağlıklı popülasyondan yüksek bulunmuştur [37]. Anjiyogenik vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) astımlı hastaların indükte balgamında yüksek bulunmuştur [38]. VEGF düzeyinin FEV<sub>1</sub>, eozinofil yüzdesi ve ECP ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır [38].

Astım semptomlarındaki ve hava akımı ölçümlerindeki klasik sirkadiyan dalgalanmaların muhtemelen altta yatan havayolu inflamasyonu etkisiyle oluştuğu düşünülerek, 13 kontrol altında olmayan astımlı ve 10 sağlıklı kişiye 08:00-09:00 ve 20:00-21:00 saatleri arasında balgam indüksiyonu yapılmış ve hücresel özellikleri ve ECP içeriği değerlendirilmiştir [39]. Balgamdaki total hücre sayıları değerlendirildiğinde astımlı hastalarda, sabah/akşam değerlerinde anlamlı farklılık görülmemiş, sağlıklı kontrollerde ise belirgin sabah piki görülmüştür [39]. Astımlı hastaların akşam balgamındaki total hücre sayıları kontrollerden yüksek iken, sabah değerlerinde fark saptanmamıştır [39]. Bu çalışmadan farklı olarak, Panzer ve ark.'ları [40] 11 hafif astımlı hastaya

07:00 ve 16:00 saatlerinde balgam indüksiyonu yapmışlar ve sabah balgamındaki total hücre ve eozinofil sayılarını yüksek bulmuşlardır.

Astımdaki akut havayolu inflamasyonunun atak sınıflamasında kullanılabileceği düşünülmektedir. Ataktaki çocukların indükte balgamlarının incelendiği bir çalışmada; eozinofilik, kombin eozinofilik-nötrofilik, ve non-eozinofilik olmak üzere üç inflamatuvar hücre paterni saptanmıştır [41]. Bu çalışmada balgam eozinofilisi klinik ağırlık ile ilişkili bulunmuştur [41]. Wark ve ark.'larının [42] astım atağındaki 49 hastayı değerlendirdikleri çalışmada, olguların %76'sında viral enfeksiyon saptanmış ve viral enfeksiyonu olan hastaların balgamında nötrofiller, nötrofil elastaz düzeyleri yüksek ve klinik seyir daha ağır bulunmuştur. Enfeksiyon saptanmayan hastaların balgamında ise eozinofillerde artış gözlenmiştir [42].

Spesifik allerjen provokasyonu mesleki astım tanısında referans test yöntemidir. Ancak, bu testlerin yorumlanması, özellikle güvenilir spirometrik manevraları yapamayan hastalarda zor olabilir [33]. İndükte balgam, mesleki astım araştırmalarında, tanısı ve takibinde yararlı olabilir [33]. İnhalan allerjenle provokasyon genellikle, balgam eozinofil sayılarında artışla birlikte [8]. Diğer allerjen provokasyonlarına benzer şekilde, tahıllar, *Lepidoglyphus destructor*, izosiyanatlar gibi bazı ajanlara maruziyetin balgam eozinofillerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir [43,44]. İzosiyanat maruziyetinden sonra nötrofilik inflamasyon da gösterilmiştir [45]. Sağlıklı bireylerde ise izosiyanat maruziyeti eozinofilik ya da nötrofilik inflamasyonu uyandırdığına dair bulgu yoktur [44].

Balgam indüksiyonunun çeşitli klinik uygulamaları mevcuttur. Ağır astımda tedavinin yönlendirilmesindeki rolü ile ilgili veriler güçlüdür. Bu nedenle, özellikle üçüncü basamak kliniklerde, ağır astımlı, sık atak geçiren hastalarda kullanımının yaygınlaşması yararlı olacaktır. Ancak, balgamın indükte edilmesi, işlenmesi zaman alıcı ve deneyim gerektiren bir yöntem olduğu için, daha basit tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Günümüzde havayolu inflamasyonunu değerlendiren mükemmel bir yöntem yoktur. İndükte balgam, bronşial biyopsi, bronkoalveoler lavaj, ekshale NO gibi yöntemlerin farklı akciğer bölgelerinden balgam örneği sağladığı kabul edilmektedir. Bu nedenle, bu yöntemler birbirini tamamlayıcıdır ve araştırmalarda kullanılacak yöntem amaca göre değişebilir.

#### KAYNAKLAR

1. Economidou F, Samara KD, Antoniou KM, Siafakas NM. Induced Sputum in Interstitial Lung Diseases: Novel Insights in the Diagnosis, Evaluation and Research. *Respiration* 2009;77:351-8. [CrossRef]
2. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:308-17. [CrossRef]
3. Wark PA, Simpson JL, Hensley MJ, Gibson PG. Safety of sputum induction with isotonic saline in adults with acute severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2001;31:1745-53. [Cross-Ref]
4. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, et al. Sputum induction. *Eur Respir J Suppl* 2002;37:3-8.
5. Bhowmik A, Seemungal TA, Sapsford RJ, et al. Comparison of spontaneous and induced sputum for investigation of airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1998;53:953-6. [CrossRef]

6. Wood LG, Powell H, Gibson PG. Mannitol challenge for assessment of airway responsiveness, airway inflammation and inflammatory phenotype in asthma. *Clin Exp Allergy* 2010;40:232-41. [\[CrossRef\]](#)
7. Holz O, Jörres RA, Koschyk S, et al. Changes in sputum composition during sputum induction in healthy and asthmatic subjects. *Clin Exp Allergy* 1998;28:284-92. [\[CrossRef\]](#)
8. Sin B, Wu X, Hoenig T, et al. Nasal allergen challenge induces inflammatory cell influx in sputum and peripheral eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:100-1. [\[CrossRef\]](#)
9. Balbi B, Pignatti P, Corradi M, et al. Bronchoalveolar lavage, sputum and exhaled clinically relevant inflammatory markers: values in healthy adults. *Eur Respir J* 2007;30:769-81. [\[CrossRef\]](#)
10. Efthimiadis A, Spanevello A, Hamid Q, et al. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J Suppl* 2002;37:19-23.
11. Popov T, Gottschalk R, Kolendowicz R, et al. The evaluation of a cell dispersion method of sputum examination. *Clin Exp Allergy* 1994;24:778-83. [\[CrossRef\]](#)
12. Bradding P, Green RH. Subclinical phenotypes of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010;10:54-9. [\[CrossRef\]](#)
13. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:218-24. [\[CrossRef\]](#)
14. Haldar P, Pavord ID. Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1043-52. [\[CrossRef\]](#)
15. Petsky HL, Kynaston JA, Turner C, et al. Tailored interventions based on sputum eosinophils versus clinical symptoms for asthma in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;2:CD005603.
16. Murugan A, Prys-Picard C, Calhoun WJ. Biomarkers in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2009;15:12-8. [\[CrossRef\]](#)
17. Green RH, Brightling CE, McKenna S, et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002;360:1715-21. [\[CrossRef\]](#)
18. Mehta V, Campeau NG, Kita H, Hagan JB. Blood and sputum eosinophil levels in asthma and their relationship to sinus computed tomographic findings. *Mayo Clin Proc* 2008;83:671-8. [\[CrossRef\]](#)
19. Pavord ID, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *Lancet* 1999;353:2213-4. [\[CrossRef\]](#)
20. Meijer RJ, Postma DS, Kauffman HF, et al. Accuracy of eosinophils and eosinophil cationic protein to predict steroid improvement in asthma. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1096-103. [\[CrossRef\]](#)
21. Ordóñez CL, Shaughnessy TE, Matthay MA, Fahy JV. Increased neutrophil numbers and IL-8 levels in airway secretions in acute severe asthma: Clinical and biologic significance. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1185-90. [\[CrossRef\]](#)
22. Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, et al. Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1532-9. [\[CrossRef\]](#)
23. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, et al. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 2002;57:875-9. [\[CrossRef\]](#)
24. Kikuchi S, Nagata M, Kikuchi I, et al. Association between neutrophilic and eosinophilic inflammation in patients with severe persistent asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137:7-11. [\[CrossRef\]](#)
25. Simpson JL, Powell H, Boyle MJ, et al. Clarithromycin targets neutrophilic airway inflammation in refractory asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:148-55. [\[CrossRef\]](#)
26. Bartoli ML, Di Franco A, Vagaggini B, et al. Biological markers in induced sputum of patients with different phenotypes of chronic airway obstruction. *Respiration* 2009;77:265-72. [\[CrossRef\]](#)
27. Shaw DE, Berry MA, Hargadon B, et al. Association between neutrophilic airway inflammation and airflow limitation in adults with asthma. *Chest* 2007;132:1871-5. [\[CrossRef\]](#)
28. Woodruff PG, Khashayar R, Lazarus SC, et al. Relationship between airway inflammation, hyperresponsiveness, and obstruction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:753-8. [\[CrossRef\]](#)
29. Duncan CJ, Lawrie A, Blaylock MG, et al. Reduced eosinophil apoptosis in induced sputum correlates with asthma severity. *Eur Respir J* 2003;22:484-90. [\[CrossRef\]](#)
30. Basyigit I, Yildiz F, Kacar Ozkara S, et al. Effects of different anti-asthmatic agents on induced sputum and eosinophil cationic protein in mild asthmatics. *Respirology* 2004;9:514-20. [\[CrossRef\]](#)
31. Abadoglu O, Mungan D, Aksu O, et al. The effect of montelukast on eosinophil apoptosis: induced sputum findings of patients with mild persistent asthma. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2005;33:105-11. [\[CrossRef\]](#)
32. Lemièrè C, Ernst P, Olivenstein R, et al. Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma: eosinophilic and noneosinophilic phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:1033-9. [\[CrossRef\]](#)
33. Quirce S, Lemièrè C, de Blay F, et al. Noninvasive methods for assessment of airway inflammation in occupational settings. *Allergy* 2010;65:445-58. [\[CrossRef\]](#)
34. Aggarwal S, Moodley YP, Thompson PJ, Misso NL. Prostaglandin E2 and cysteinyl leukotriene concentrations in sputum: association with asthma severity and eosinophilic inflammation. *Clin Exp Allergy* 2010;40:85-93.
35. Xu J, Jiang F, Nayeri F, Zetterström O. Apoptotic eosinophils in sputum from asthmatic patients correlate negatively with levels of IL-5 and eotaxin. *Respir Med* 2007;101:1447-54. [\[CrossRef\]](#)
36. Bullens DM, Truyen E, Coteur L, et al. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir Res* 2006;7:135. [\[CrossRef\]](#)
37. Gagliardo R, La Grutta S, Chanez P, et al. Non-invasive markers of airway inflammation and remodeling in childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2009;20:780-90. [\[CrossRef\]](#)
38. Bergeron C, Tulic MK, Hamid Q. Tools used to measure airway remodelling in research. *Eur Respir J* 2007;29:596-604. [\[CrossRef\]](#)
39. Popov TA, Shenkade MS, Tzoncheva AV, et al. Circadian changes in the sputum of asthmatic subjects and healthy controls. *WAO Journal* 2008;5:74-8.
40. Panzer SE, Dodge AM, Kelly EA, Jarjour NN. Circadian variation of sputum inflammatory cells in mild asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:308-12. [\[CrossRef\]](#)
41. Gibson PG, Norzila MZ, Fakes K, et al. Pattern of airway inflammation and its determinants in children with acute severe asthma. *Pediatr Pulmonol* 1999;28:261-70. [\[CrossRef\]](#)
42. Wark PA, Johnston SL, Moric I, et al. Neutrophil degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma. *Eur Respir J* 2002;19:68-75. [\[CrossRef\]](#)
43. Lemièrè C, Chaboillez S, Malo JL, Cartier A. Changes in sputum cell counts after exposure to occupational agents: what do they mean? *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:1063-8. [\[CrossRef\]](#)
44. Maestrelli P, Calcagni PG, Saetta M, et al. Sputum eosinophilia after asthmatic responses induced by isocyanates in sensitized subjects. *Clin Exp Allergy* 1994;24:29-34. [\[CrossRef\]](#)
45. Lemièrè C, Romeo P, Chaboillez S, et al. Airway inflammation and functional changes after exposure to different concentrations of isocyanates. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:641-6. [\[CrossRef\]](#)