

# KİSTİK FİBROZİSTE NAZAL POTANSİYEL FARKININ ÖLÇÜLMESİ

## ÖNEMLİ NOKTALAR

- Nazal potansiyel farkı (NPF), burun mukozasından transepitelyal potansiyel farkının ölçüldüğü elektrofizyolojik bir testtir.
- Bu test KF için bir tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir. Özellikle, KF'e özgü gastrointestinal veya pulmoner semptomların daha az olduğu ve ter testi sonuçlarının normal veya sınırda olduğu atipik KF vakalarında başvurulmaktadır.
- NPF testinde baseline potansiyel farkının yüksek (daha negatif) ölçülmesiyle birlikte amiloride yüksek, OCl ve isoproterenole düşük voltajlı cevabın ölçülmesi KF'yi gösterir.
- Yoğun emek, özel eğitilmiş deneyimli personel ve standardizasyon gerektirir.
- Tanı merkezleri arasında kullanılan araç, ilaç dozu vb. yönünden farklılıklar olması nedeniyle, NPF tek başına tanı yöntemi olarak kullanılmamalıdır.

Burun mukozasından "transepitelyal potansiyel farkı"nın ölçülmesi, kistik fibrozis transmembran regülasyon (KFTR) proteinin aktivitesinin değerlendirildiği elektrofizyolojik bir testtir [1,2]. Kistik fibroziste (KF), epitel hücrelerinden iyon transportunun bozulması, normal transepitelyal elektriksel potansiyel farkının da değişmesine yol açar. Bu elektriksel değişiklikler, solunum yolu epitelinden veya intestinal epitelden elektrofizyolojik ölçümler yapılmasına dayanan biyolojik testler ile saptanabilir. Testler nazal veya bronşiyal potansiyel ölçümü şeklinde *in vivo* olarak gerçekleştirildiği gibi, vücut dışında intestinal mukozal örneklerinde veya hava yolu hücre kültürlerinde de uygulanabilir [3]. Birçoğu henüz araştırma aşamasında olan bu elektrofizyolojik testlerden sadece "nazal potansiyel farkı"nın (NPF) ölçülmesi klinik uygulamaya girmiştir.

NPF, terde elektrolitlerin ölçümü gibi KFTR işlevlerinin biyolojik bir göstergesi olması nedeniyle KF için bir tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir [1,4,5]. KF'ye özgü gastrointestinal veya pulmoner semptomların daha az, özellikle de ter testi sonuçlarının normal veya sınırda olduğu atipik KF vakalarında başvurulması yardımcı bir testtir [5-8].

Yoğun emek, özel eğitilmiş deneyimli personel ve standardizasyon gerektirir [2]. NPF testinin yapılmadığı merkezlerde tanınal algoritmada bu basamak atlanmak-

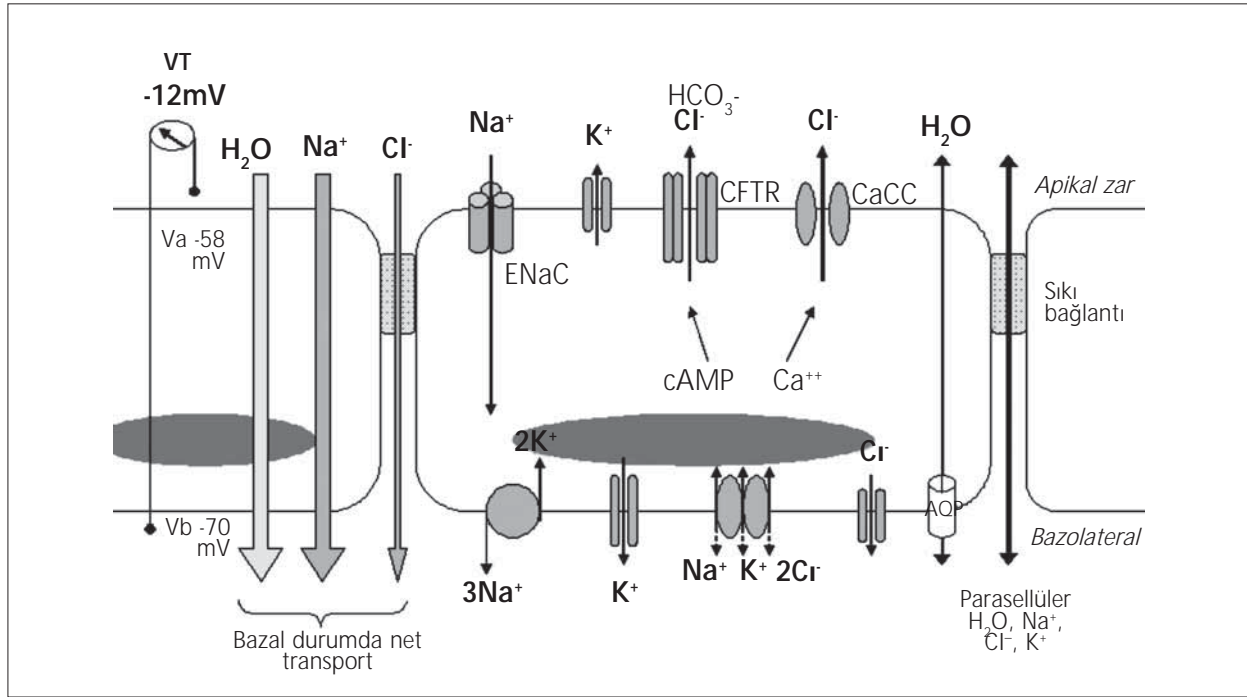
tadır [9]. Gen transferi, KFTR-aktif edici ajan kullanımı gibi yeni tedavi protokollerinin değerlendirilmesinde ve ilaç geliştirilmesi çalışmalarında da *in vivo* biyolojik yöntem olarak NPF'den yararlanılmaktadır [10].

## Hava Yollarında Transepitelyal Potansiyel Farkı

Normal koşullarda solunum yolu epitelini  $\text{Na}^+$  ve suyu absorbe eder. Solunum yolu yüzey sıvısının konsantrasyonu izotoniktir [11].  $\text{Na}^+$ , elektrokimyasal gradiyent ile apikal zarıdan hücreye alınır, daha sonra bazolateral zarıdan hücre dışına pompalanır. Normal hava yolu epitelinde KFTR kanalı kısmen aktif olmasına rağmen  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  ile beraber transsellüler yoldan absorbe edilmez. Çünkü apikal zarı klor için net bir elektrokimyasal sürücü kuvvet yoktur.  $\text{Cl}^-$  absorpsiyonu, epitel hücresinden değil parasellüler yoldan olur.  $\text{Cl}^-$  ile kıyaslandığında  $\text{Na}^+$  geçirgenliğinin daha fazla olması nedeniyle lümen interstisyuma göre daha negatiftir ve bir transepitelyal potansiyel farkı (PF) oluşur [12]. PF, apikal ve bazolateral hücre zarlarındaki elektriksel potansiyellerin farkına eşittir [3] (Şekil 1).

Hücrede zar potansiyelinin büyüklüğü, iyonların zarıdaki dağılımına (iyonik gradiyent) ve zarın bu iyonlara geçirgenliğine bağlıdır. Dolayısıyla kanal aktivatörleri veya inhibitörleriyle zarıdaki iyon geçirgenliği değiştirilirse zar potansiyeli de etkilenecektir. Klor konsantrasyonunun hücre dışında yüksek ve klorun denge potansiyelinin zar potansiyeline yakın olması nedeniyle klor iletkenliğinin değiştirilmesi zar potansiyelinde önemli değişiklik yapmaz. KFTR aktivitesinin, zar potansiyeli ölçülerek incelenmesi için, klor geçirgenliği modifiye edildiği zaman hücre dışı klor miktarı azaltılarak voltaj değişikliği yapacak bir elektrokimyasal gradiyent oluşturulması gereklidir [3]. Bu yüzden transepitelyal potansiyel farkı ölçülerek zarın klor iletkenliği incelenirken lümenal yüzey kloruz (OCl) solüsyonla perfüze edilir.

KF'de bazal hava yolu transepitelyal potansiyel farkı normale göre iki, üç kat artar (Şekil 2). Bu artışı açıklamaya yönelik bazı modeller önerilmiştir. Son on yıl içinde insan bronşiyal hücre kültürleri, fare modelleri ve klinik insan çalışmalarından toplanan veriler daha çok düşük-hacim modelini desteklemektedir [10,13]. KF'de hava yolu yüzey sıvısı normaldeki gibi izotoniktir, fakat hacmi azdır. KFTR'nin yokluğu veya fonksiyon bozukluğu epite-



**Şekil 1.** Büyük hava yolları epitelinin apikal ve bazolateral zarındaki başlıca iyon taşıyıcı mekanizmalar ve parasellüler transport. Solda bazal durumda net iyon ve su transportu ve zar potansiyelleri gösterilmiştir. ENaC: Epitelial sodyum kanalı, CFTR: Kistik fibrozis transmembran iletkenlik regülatörü, CaCC: Kalsiyumla aktive edilen klor kanalı, AQP: Aquaporin su kanalı, Vt: Transepitelial potansiyel farkı, Va: Apikal zar potansiyeli, Vb: Bazolateral zar potansiyeli (voltaj değerleri örnektir)

liyal sodyum kanallarından (ENaC)  $\text{Na}^+$  absorpsiyonunun artmasına neden olur. CFTR'den  $\text{Cl}^-$  iletimi yoktur, ancak akciğerlerde CFTR dışı yollardan  $\text{Cl}^-$  iletiminin mümkün olduğu düşünülmektedir. Bu durumda sonuç  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  ve sıvı absorpsiyonunda relatif bir artıştır ( $\text{NaCl}$  hiperabsorpsiyonu). Epitelde  $\text{Cl}^-$  geçirgenliğinin sodyumdan daha az olması nedeniyle mukozal yüzey normalden daha negatif yüklü olur. Bazal (dinlenme) durumunda transepitelial potansiyel farkı yüksek bulunur.

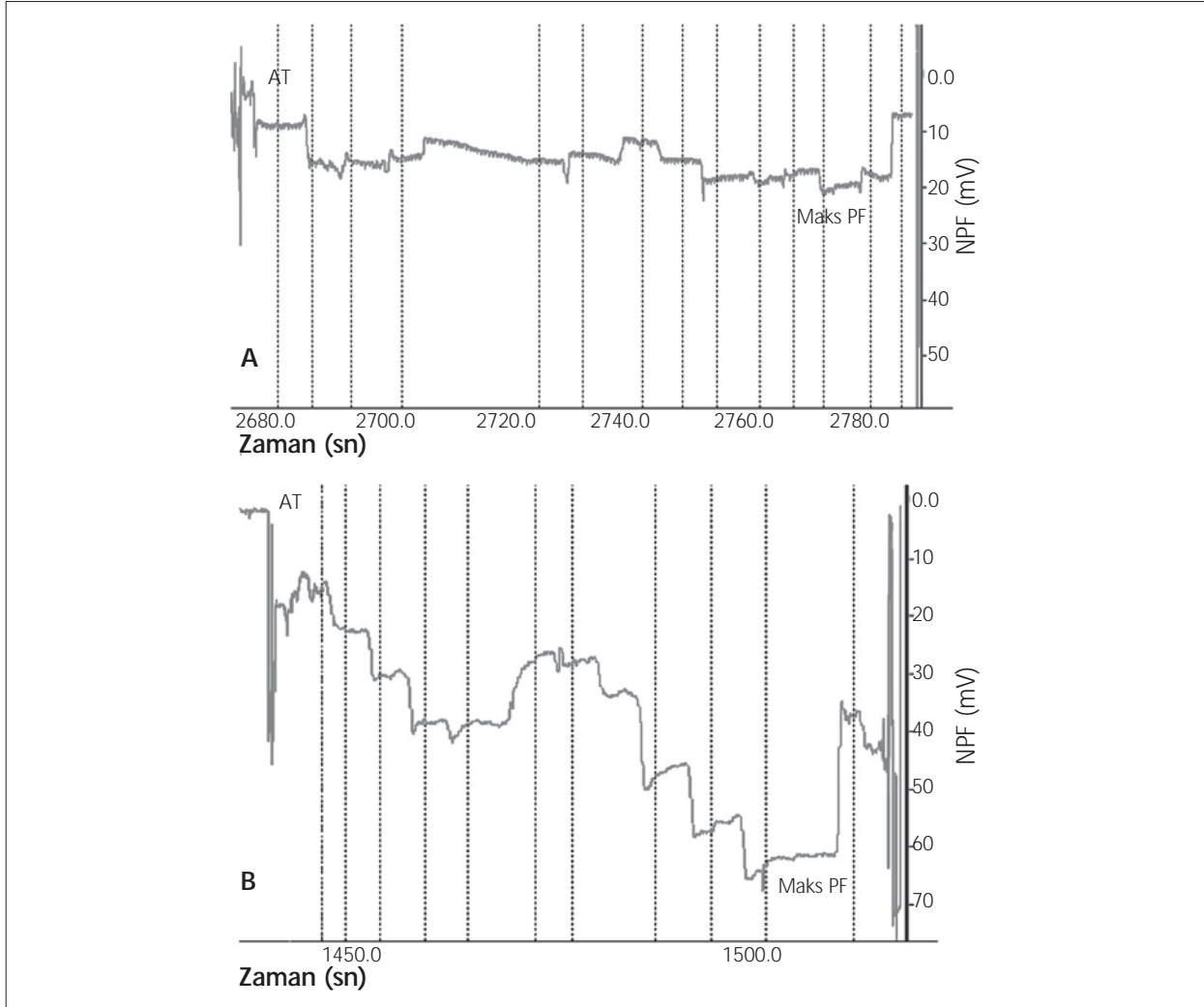
Normal hava yolu mukozası CFTR açığı veya luminal klor sekresyonunu uyarıcı bir solüsyonla superfüze edilirse potansiyel farkında değişiklikler olur. Bu değişiklikler normal kişilerde klor sekresyonuyla uyumlu (lümen-negatif potansiyel farkının artışı gibi), KF hastalarında uyumsuzdur.

### Nazal Potansiyel Farkı

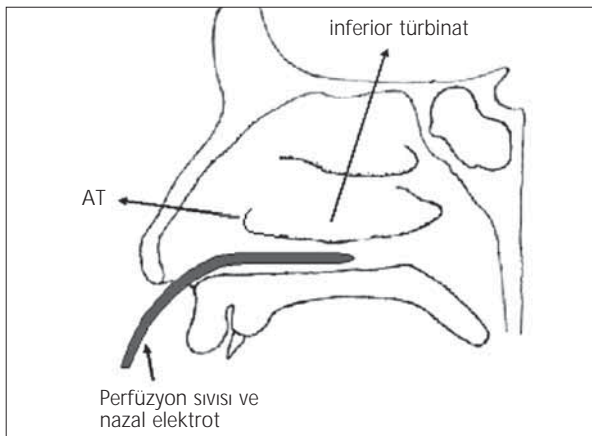
İnsan hava yolunda iyon transportunu incelemek için, klinik uygulamada en uygun bölge nazal kavitedir. Nazal kavitede epitelin histolojisi bölgesel farklılık gösterir [14]. Kavitenin üst-arka kısmındaki epitel, koku duyusu için özelleşmiş olfaktör epitelidir. Lateral duvarda NPF ölçümü için önemli olan inferior türbinat (konka) epitelinin de ön, alt ve medial yüzlerde farklı olduğu görülür. Kavite girişinde ve inferior türbinatın ön ucunda (anterior türbinat, AT olarak da adlandırılmakta) skuamöz epitel, inferior türbinatın medial yüzeyinde kübik epitel bulunur. Skuamöz epitel, keratinöz tabakasını kaybederek nazal kavitenin büyük kısmını kaplayan yalancı çok katlı, silli solunum epiteline dönüşür. Kavitenin tabanı ve inferior türbinatın alt yüzü de solunum epitelini ile döşelidir. NPF'nin, solunum epitelinin apikal hücre zarındaki  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  kanallarının aktivasyon

veya inhibisyonuna göre değişebildiği ve transepitelial iyon transportuyla korele olduğu anlaşıldıktan sonra normal bronşiyal ve nazal solunum epitelinde bazal iyon aktivitesinin oldukça benzer olduğu da gösterilmiştir [1,12,14-16]. Histolojik yapısı ve iyon transport fonksiyonundaki benzerlik nedeniyle nazal solunum epitelinden yapılan ölçümler büyük hava yollarındaki durumu temsil eder.

NPF testi, KF araştırmalarında uzun yıllardır yer almaktadır. İlk ölçümler 1980'lerin başında Knowles ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [1,14,15,17]. Daha sonra bu temel yöntem kullanılmaya devam edilmiş ancak çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır [18-21]. KF'de NPF ölçümü, tanı amacıyla kullanılmasından başka tedavi protokollerinde de başvurulan bir testtir. CFTR gen transfer çalışmalarında NPF'ye dayanarak klor sekresyonundaki artış gösterilebilmekte, nazal bölgeye uygulanan gentamisin, klor salgılatıcı ve sodyum kanal blokeri gibi ajanların etkileri NPF ile takip edilebilmektedir. CFTR'ye etkili çok fazla yeni ajanın olması ve spesifik mutasyonlu KF hastasının az olması çok merkezli yaklaşımı gerektirmektedir. Tek merkezde yapılan çalışmalardan farklı olarak çok merkezli araştırmalarda NPF sonuçlarının merkezler arasında büyük değişkenlik göstermesi, tekrarlanabilirliğin düşük olması ve standart değerlerin belirlenememesi nedeniyle "Cystic Fibrosis Therapeutics Development Network" (CF-TDN) merkezleri tarafından "standart çalışma yöntemleri" (standard operating procedures, SOP) geliştirilmiştir [20-24]. Yakın zamanda tamamlanan çok merkezli bir deneyde bu yöntemlerin uygulanmasıyla CFTR-aracılı klor sekresyonu yönünden değişkenliğin azaldığı, tekrarlanabilirliğin arttığı görülmektedir [2,25].



**Şekil 2.** Normal (A) ve kistik fibrozis (B) nazal epitelinde ortalama bazal ve maksimal potansiyel farkının (Maks PF) belirlenmesi amacıyla alınan kayıt örnekleri. AT: İnferior türbinatın ön ucu (Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı kayıtlarından alınmıştır)



**Şekil 3.** Nazal kavitede potansiyel farkı ölçümü için elektrot ve perfüzyon kateterinin yerleştirilmesi. AT: İnferior türbinatın ön ucu

### NPF Ölçümünde Hedefler ve Temel Prensipler

NPF, nazal epitelin mukozal ve submukozal yüzlerinden ölçülür. Araştırmacı elektrot nazal mukozaya, referans elektrot ön kolun iç tarafında deri altına veya abraze deriye yerleştirilir. Subkütan alan tüm vücut bölgelerinde izo-

elektriktir. Solunum epitelinin submukozal yüzünün de subkütan alan ile eşdeğer olduğu gösterilmiştir [1]. Test sırasında nazal epitelin zedelenmemesine dikkat edilmelidir. Epitelde abrazyon veya inflamasyon, hücreler arasındaki sıkı bağlantıları bozup parasellüler direnci azaltarak bazal transepitelyal potansiyeli düşürür. Nazal kavitede epitel yapısının çok değişmesi nedeniyle ölçüm yapılan bölge önemlidir. Kavitenin tabanı ve inferior türbinatın alt yüzü yalancı çok katlı, silli epitel ile döşelidir. NPF; inferior meatusdan, bazal potansiyel farkının ve KFT-araçlı klor iletkenliğinin en yüksek olduğu inferior türbinatın altından ölçülür [1,14,23] (Şekil 3). Ölçüm elektrodu görecelik olarak yerleştirilmelidir. Solüsyon ve ilaçlar perfüzyon yöntemiyle uygulanır. Solüsyonlar 36-37°C'ye ısıtılmış olmalıdır, oda sıcaklığında verince hücrede aktif iyon transportunun önemli oranda engellendiği saptanmıştır [26]. Standart olarak AT potansiyeli, deri potansiyeli (parmak potansiyeli) ve elektriksel "offset" ölçümleri yapılır.

NPF protokolüyle nazal epitelde incelenen başlıca biyoelektriksel özellikleri şöyle sıralayabiliriz (Şekil 2 ve 4):

1. Ortalama bazal PF veya maksimal bazal PF ile belirtilen bazal potansiyel farkı



İnflamasyon bazal PF'yi düşürür ve false negatif sonuç alınır [4]. Nazal polip, akut rinit veya öksürük, hırıltılı solunum gibi solunum semptomları varsa test yapılmamalıdır.

Bazı ilaçlar ve egzersiz de bazal PF'yi etkiler. Orta şiddette egzersiz yapılması amiloride duyarlı Na<sup>+</sup> iletimini engellemekte, bazal NPF ve KF hastalarında daha belirgin olarak amiloride cevap azalmaktadır [27].

Sigara içenlerde de KFTR fonksiyonlarının bozulduğu gösterilmiştir [28].

### Araç ve Gereç

Voltmetre ve kaydedici: Potansiyel ölçümleri yüksek empedanslı (10<sup>8</sup> ohm) voltmetreyle yapılır. Voltaj değişiklikleri grafik yazıcı ile kaydedilir. Aynı amaçla yeterli yazılma sahip bilgisayarlı veri toplama ve analiz sistemleri de kullanılabilir [29].

Elektrot, çift lümenli sonda (nasal probe) ve perfüzyon kateteri: Elektrotlar calomel-Hg/HgCl veya Ag/AgCl olabilir. Standart koşullar uygulandığında ikisi arasında fark olmadığı gösterilmiştir [2,23]. Nazal araştırıcı elektrot, çift lümenli sondanın elektrolitli jel (%4 agar/ringer) ile doldurulan kanalına yerleştirilir böylece mukozayla arada köprü oluşturulur. Sondanın diğer kanalına takılan kateter ile perfüzyon sıvısı iletilir. Referans elektrot olarak; %4 agar/ringer solüsyonuyla doldurulan subkütan iğne (22-24 gauge) kullanılır. Uygulamada güçlük olursa standardın dışında abraze deri-elektrot sistemi seçilebilir.

Perfüzyon pompası, solüsyonların verilmiş hızını ayarlar. Ölçümde kullanılacak solüsyonlar 50 ml'lik enjektörlere doldurulur. Kateter aracılığıyla nazal proba bağlanır.

Rinoskop veya endoskop veya nazal spekulum ve ışık kaynağı, elektrodun nazal kaviteye görecelik yerleştirilmesinde gereklidir.

Perfüzyon solüsyonlarının sıcaklığını ayarlamak için ısıtıcı, pH kontrolü için pH metre bulunmalıdır.

Tüm verilerin raporlanacağı bir sonuç tablosu hazır olmalıdır.

### Solüsyon ve İlaçlar

Perfüzyon solüsyonları aşağıdaki gibi hazırlanır:

Solüsyon 1: Ringer

Solüsyon 2: Ringer + amilorid (100 µM)

Solüsyon 3: OCl + amilorid

Solüsyon 4: OCl + amilorid + isoproterenol (10 µM)

Solüsyon 5: OCl + amilorid + ATP (10 µM) + isoproterenol

Ringer: Fosfat tamponlu ringer solüsyonu, NaCl (135 mM), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (2,25 mM), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (2,4 mM), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,4 mM), MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O (1,2 mM).

OCl (kloruz): Ringer solüsyonundaki klor içeren kimyasalların yerine glukonatlı kimyasallar kullanılır.

Solüsyonların oda sıcaklığında hazırlanması gerekir. Ringer ve OCl solüsyonları en az 1 L hazırlanıp buzdolabında 3 ay saklanabilir veya 6 ay dondurulabilir. pH: 7.4 (7.0-7.6) olarak kontrol edilmelidir. Amilorid'in 50 kat, ATP'nin 1000 kat yoğun depo solüsyonları hazırlanıp buzdolabında saklanır, deney günü perfüzyon solüsyonla-

rına eklenir. Isoproterenol'ün deney günü çözülmesi ve 2 saat içinde kullanılması gerekir. Solüsyonlar saklanmadan veya kullanılmadan önce ≤ 0.22 µ filtre ile filtrelenir.

### NPF Ölçümü

NPF ölçümü, elektriksel gürültünün minimum olduğu, sakin bir ortamda eğitilmiş kişiler tarafından yapılır.

Testin uygulanacağı kişi sakin ve rahat bir şekilde oturur pozisyonda olmalıdır. Diş hekimi koltuğu gibi yükseklik, baş ve sırt pozisyonu ayarlanabilir, ışık kaynaklı koltukların kullanılması uygundur. Küçük çocuklar annesinin kucağında iken ölçüm yapılabilir.

1. Solüsyonlar yukarıda tanımlandığı şekilde hazırlanır.
2. Kullanılan tüm malzemeler için ölçüm öncesi ve sonrasında temizlik ve sterilizasyon kurallarına uyulmalıdır. Hastalar arasında kontaminasyonu önlemek için her hastada yeni sonda ve kateter seti kullanılır. Rinoskop, endoskop, spekulum ve diğer tekrar kullanılabilir aletler dezenfekte edilir. Subkütan iğne steril olmalıdır. Solüsyonlar önceden filtrelenip steril koşullarda saklanmamışsa ölçüm günü filtrasyon (≤0.22µ) yapılır.
3. Solüsyonlar ısıtılır, nazal probun ucundan gelen solüsyonun sıcaklığı (37°C) kontrol edilir.
4. Elektrot kalibrasyonu yapılır. Cam bir kaptaki tuz köpürüsü ile bağlanan iki elektrot arasındaki "offset" potansiyeli sıfırlanır, 1 mV'dan fazla ise elektrotlar değiştirilir.
5. Sol ön kolda deri altı ile elektrot bağlantısı kurulur. Referans iğne steril yöntemle deri altına yerleştirilir. Hasta uyumsuzluğu söz konusu ise standart dışında sadece epidermisi uzaklaştırarak şekilde yüzeysel ve elektrot genişliğinde bir abrazyon yapılarak Ag/AgCl elektrot flasterle sabitlenir. Elektrotlar %4 agar/ringer ile doldurulur.
6. Deri potansiyeli ölçülür. Bu ölçüm iletkenliğin kontrolü için yapılır. Nazal elektrot hastanın elinin palmar yüzüne/ parmak ucunun iç kısmına dokundurulduğunda sabit bir negatif voltaj alınmalıdır. Eğer böyle değilse devrenin yeniden kontrol edilmesi gerekir.
7. Kaydedicinin hızı; eğrilerde voltajı, zamanı ve notları takip edebilecek şekilde ayarlanır.
8. Nazal prop endoskop veya rinoskop yardımıyla görecelik inferior türbinata yönlendirilir. AT, anatomik ve fizyolojik referans noktası olarak alınır, bu bölgede voltaj 0 ile -10mV arasında olmalıdır. Eğer bu sınırların dışındaysa devrenin kontrol edilmesi gerekir, aksi takdirde ölçümler doğru kabul edilmez. Inferior türbinatin altında AT'den arkaya doğru 0.5-1-1.5-2 ve 3 cm mesafelerde en az 5 saniye stabil kalan voltajlar kaydedilir. Bu değerlerden bazal PF hesaplanır.
9. Negatif voltajın en yüksek (maksimal PF) olduğu yer belirlenir, elle veya bant ile probun bu noktada sabit kalması sağlanır. Solüsyon ve ilaçların etkisi burada incelenir.
10. Probu pozisyonu ve kaydedicinin hızı kontrol edilir.

11. Her solüsyon en az 3 dk süreyle 5mL/dk perfüzyon yapılır. Voltaj plato yaptıktan sonra en az 15-30 sn süreyle sapmanın 3 mV dan az olduğu stabil bir kayıt alınmalıdır. Eğer böyle değilse perfüzyon ve kaydı 5 dakikaya kadar devam ettirmek gerekir.
12. Ringer solüsyonuyla perfüzyon başlatılır. Her solüsyon değiştirildiğinde kayıt üzerinde işaretlenir.
13. Ringer, amiloridli Ringer ile değiştirilir.
14. Amiloridli Ringer, OCl solüsyonu (amiloridli) ile değiştirilir.
15. OCl solüsyonu, isoproterenol solüsyonu (amiloridli OCl) ile değiştirilir.
16. İsopterenol, ATP solüsyonu (amiloridli ve isoproterenollü OCl) ile değiştirilir. ATP ile perfüzyonda voltaj değişikliği gözlenene kadar kayda devam edilir. Genellikle 1 veya 2 dakika yeterlidir.
17. Perfüzyon durdurulur, prop ucunun yeri kontrol edilir. Devrenin stabilitesinden emin olmak için tekrar AT potansiyeli kaydedilir. Parmak potansiyeli kontrol edilir.
18. Proben dışı serum fizyolojikle yıkanır. ATP solüsyonu Ringer solüsyonuyla değiştirilir. Perfüzyon kateteri ve proptan Ringer geçirilerek önceki ilaçlar uzaklaştırılır.
19. Diğer burun deliğinde 6'dan 16'ya kadar olan adımlar tekrarlanır.
20. Deneyin sonunda "offset" potansiyeli tekrarlanır. İlk ve son ölçüm arasındaki fark 5mV dan küçük olmalıdır. Eğer büyükse ölçümler hatalı kabul edilir. Solüsyon değişikliği, harekete bağlı artefakt, hapşırma, öksürme gibi olaylar kayıt üzerinde belirtilmelidir. Diğer burun deliğinin amiloridle kontamine olmasını önlemek için bazal ölçümlerin perfüzyonlardan önce yapılması önerilir [2].

### Kayıt Analizi ve Karar

Ölçülen voltajlar bir yazıcı veya bilgisayar programı ile kaydedilir. Değerlendirme, testi gerçekleştiren tarafından aynı gün yapılır. NPF profilinin bütün olarak analizinin, komponentlerin tek tek analizinden daha değerli olduğu unutulmamalıdır.

Sodyum transportunun nicelik olarak ifadesi [2]:

1. Ortalama bazal PF
2. İ inferior meatustaki en yüksek PF
3. Ringer solüsyonuyla stabil PF
4. Amilorid perfüzyonuyla PF değişiminin analiziyle yapılır. Benzer şekilde KFTR-bağımlı klor transportu da
  1. Kloruz solüsyondan sonra PF değişimi
  2. KFTR agonist perfüzyonu ile PF değişimi
  3. Bu değişimlerin toplamı ile ifade edilir [2].

Başlangıçta bazal potansiyel farkı belirlenir. Bunun için inferior türbinatin ön ucundan (AT) arkaya doğru 0.5-1-1.5-2 ve 3 cm mesafelerde en az 5 saniye stabil kalan değerler ölçülür. Her iki burun deliğindeki değerlerin ortalaması alınarak "ortalama bazal PF" hesaplanır. Alternatif bir yöntem, en polarize burun deliğinin analizidir ki, hatalı yorumlara neden olabilir [2]. Bazal potansiyel farkı, maksimal bazal PF ile de belirtilebilir. Bunun için ölçülen en yüksek potansiyel farkı alınır.

Maksimal PF'nin ölçüldüğü noktadan ringerle perfüzyon sırasında kaydedilen değer "baseline" PF'dir. "Ringerli bazal PF" şeklinde de kullanılır. Perfüzyonun başlangıcındaki en yüksek PF'yi gösterir, bazal PF'den farklıdır [23]. Solüsyon ve ilaçların etkisi "baseline" PF'ye göre ifade edilir. Her 3 dakikalık perfüzyonun son 15-30 saniyelik stabil bir bölgesi değerlendirilir. Bu bölgede gürültü olmamalı veya 3mV/dk dan az olmalıdır. Eğer gerekiyorsa hesaplanan tüm değerler için "offset" potansiyeline göre düzeltme yapılır.

Klasik KF'li hastalarda NPF kontrole göre bariz farklılık gösterir (Şekil 4 ). Bazal PF daha yüksektir (daha negatif), amiloride cevap artar, kloruz solüsyona ve isoproterenole cevap daha azdır veya hiç yoktur. KF için kesin sınırlar belirlenememiştir. "Baseline" değerler ve amiloride cevap yönünden normal ve KF gruplarında örtüşme vardır. OCl ve isoproterenole cevabın birlikte, KF ve KF olmayan hastaların kesin olarak ayırt edilmesini sağladığına dair deliller fazladır. Ancak bu parametrenin de KF ve KF olmayan hastaların değerlerinin örtüştüğü görülmektedir [5,23].

Klasik KF'den farklı olarak klasik olmayan KF'de NPF sınırda olabilir, hatta bazal PF ve amilorid cevabı normal bulunabilir. Bu yüzden KF tanısını ekarte etmek için sadece bazal PF sonucuna güvenmemek ve OCl ve isoproterenol perfüzyonuyla NPF ölçümünü tamamlamak zorunludur. Kontrol ve KF veya klasik olmayan KF arasında klor sekresyon cevabının sensitivite ve spesifitesi oldukça fazladır [23]. Sonucun normal olup olmadığına nasıl karar verileceği tam olarak belirlenmemiş olsa da hem sodyum hem klor transportunun her ikisini de dikkate alan bir formül oluşturulmuştur [7]. Bunun için her laboratuvar tarafından normal ve anormal klor transportu arasındaki "cut-off" değerinin belirlenmesi gereklidir. Hem Na<sup>+</sup> hem Cl<sup>-</sup> iletkenliğindeki değişikliklere bakılan "toplam NPF değişikliği" ( $\Delta$ NPF) diğer bir parametredir ve KFTR aktivite düzeyinin saptanmasında yararlı olabileceğine ilişkin deliller vardır [2,28].

KF'yi ayırt edecek kantitatif NPF sonuçları ölçüm yapılan merkezlerde birbirleriyle tam uyumlu bir şekilde tanımlanamamıştır. Amerika Birleşik Devletlerinde standart çalışma yöntemi ile aralarındaki değişkenliğin azalmasını sağlayan sekiz merkezin sonuçlarına göre ortalama Ringerli maksimal (baseline) PF; normal kişilerde -18.2±8.3 mV, KF hastalarında -45.3±11.4 mV'dur [23]. Türkiye'de NPF ölçümüne ilişkin veriler bir merkezin çalışmalarıyla sınırlıdır [29-31]. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinde standart çalışma yöntemi uygulanmakta, perfüzyon, hastaların tolere edebildiği şekilde 3.1 mL/dk hızda yapılmakta, iğne elektrodu yerine abraze deri-elektrot sistemi kullanılmaktadır. Sırasıyla non-KF ve KF gruplarında, Ringerli maksimal PF-26.72 mV ve -49.37 mV; amiloride bağlı değişiklik 8.04 mV ve 20.75 mV; OCl ve isoproterenol ile toplam değişiklik -15.96 mV ve -0.83 mV olarak rapor edilmiştir. İki grup arasındaki fark önemlidir [31].

NPF testinde baseline potansiyel farkının yüksek (daha negatif) ölçülmesiyle birlikte amiloride yüksek, OCl ve isoproterenole düşük voltajlı cevabın ölçülmesi KF'yi gösterir. İsopterenol kapsayan kloruz perfüzyon

solüsyonuna önemli bir cevabın görüldüğü NPF testi, KF tanısının ekarte edilmesini sağlar. NPF, özellikle atipik KF için tanı değeri taşımaktadır [8]. NPF ölçüm protokolü erişkinler ve büyük çocuklar için iyi tanımlanmıştır ve özelleşmiş KF merkezlerinde güvenilir olarak uygulanmaktadır. Yenidoğan tarama testi olarak kullanılması için çalışmalar sürdürülmektedir [21,23,32]. NPF ölçümünde standardizasyon ve tekrarlanabilirlik önem taşımaktadır, tanı merkezleri arasında hala kullanılan araç, ilaç dozu vb yönünden farklılıklar vardır ve aşık bir şekilde KF'yi işaret eden, tüm merkezlerde tutarlılık gösteren kantitatif NPF sonuçları henüz tanımlanamamıştır. Dahası ter testi değerlerindeki örtüşmeyi çağırıştırır şekilde bazal NPF ve OCl ve isoproterenole cevaba ilişkin KF ve KF olmayan hastaların değerleri örtüşme göstermektedir. Tüm bu nedenlerle NPF tek başına tanı yöntemi olarak kullanılmamaktadır, bunun için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir [2,5].

#### KAYNAKLAR

1. Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference: techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther* 1995; 6: 445-55.
2. Rowe SM, Accurso F, Clancy JP. Detection of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activity in early-phase clinical trials. *Proc Am Thorac Soc* 2007; 4: 387-98.
3. Moran O, Zegarra-Moran O. On the measurement of the functional properties of the CFTR. *J Cyst Fibros* 2008; 7: 483-94.
4. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998; 132: 589-95.
5. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr* 2008; 153: S4-14.
6. Wilson DC, Ellis L, Zielinski J, et al. Uncertainty in the diagnosis of cystic fibrosis: possible role of in vivo nasal potential difference measurements. *J Pediatr* 1998; 132: 596-9.
7. Wilschanski M, Famini H, Strauss-Liviatan N, et al. Nasal potential difference measurements in patients with atypical cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2001; 17: 1208-15.
8. Jaron R, Yaakov Y, Rivlin J, et al. Nasal Potential Difference in Non-Classic Cystic Fibrosis—Long Term Follow Up. *Pediatr Pulmonol* 2008; 43: 545-9.
9. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, et al. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006; 61: 627-35.
10. Clunes MT, Boucher RC. Cystic Fibrosis: The Mechanisms of Pathogenesis of an Inherited Lung Disorder. *Drug Discov Today Dis Mech* 2007; 4: 63-72.
11. Knowles MR, Robinson JM, Wood E, et al. Ion composition of airway surface liquid of patients with cystic fibrosis as compared with normal and disease-control subjects *J Clin Invest* 1997; 100: 2588-95.
12. Boucher RC. Human airway ion transport. Part one. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 271-81.
13. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1992-2001.
14. Knowles MR, Carson JL, Collier AM, et al. Measurements of nasal transepithelial electric potential differences in normal human subjects in vivo. *Am Rev Respir Dis* 1981;124: 484-90.
15. Knowles M, Gatzky J, Boucher R. Relative ion permeability of normal and cystic fibrosis nasal epithelium. *J Clin Invest* 1983; 71: 1410-7.
16. Knowles MR, Buntin WH, Bromberg PA, Gatzky JT, Boucher RC. Measurements of transepithelial electric potential differences in the trachea and bronchi of human subjects in vivo. *Am Rev Respir Dis* 1982; 126: 108-12.
17. Knowles M, Gatzky J, Boucher R. Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl JMed* 1981; 305: 1489-95.
18. Hofman T, Böhmer O, Hüls G, et al. Conventional and modified nasal potential difference measurement in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1908-13.
19. Leal T, Leback J, Lebecque P, et al. Modified method to measure nasal potential difference. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 61-7.
20. Ahrens RC, Standaert TA, Launspach J, et al. Use of nasal potential difference and sweat chloride as outcome measures in multicenter clinical trials in subjects with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33: 142-50.
21. Schuler D, Sermet-Gaudelus I, Wilschanski M, et al. Basic protocol for transepithelial nasal potential difference measurements. *J Cyst Fibros* 2004; 3: 151-5.
22. McCarty NA, Standaert TA, Teresi M, et al. A phase I randomized, multicenter trial of CPX in adult subjects with mild cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33: 90-8.
23. Standaert TA, Boitano L, Emerson J, et al. Standardized procedure for measurement of nasal potential difference: an outcome measure in multicenter cystic fibrosis clinical trials. *Pediatr Pulmonol* 2004; 37: 385-92.
24. Yaakov Y, Kerem E, Yahav Y, et al. Reproducibility of nasal potential difference measurements in cystic fibrosis. *Chest* 2007; 132: 1219-26.
25. Clancy J, Rowe SM, Bebok Z, et al. No detectable improvements in CFTR associated with nasal aminoglycosides in CF patients heterozygous for stop mutations. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 57-66.
26. Boyle MP, Diener-West M, Milgram L, et al. A multicenter study of the effect of solution temperature on nasal potential difference measurements. *Chest*. 2003; 124: 482-9.
27. Hebestreit A, Kersting U, Basler B, et al. Exercise inhibits epithelial sodium channels in patients with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 443-6.
28. Cantin AM, Hanrahan JW, Bilodeau G, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator function is suppressed in cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1139-44.
29. Ergönül Z, Balkancı ZD, Yılmaz G, et al. Using computer based data acquisition and analysis system for nasal potential difference measurement in cystic fibrosis. *Turk J Pediatr* 2004; 46: 339-43.
30. Balkancı D, Sevgili M, Karabulut İ, et al. Kistik Fibrozis Tanısında Standart Bir Yöntem Olarak Nazal Potansiyel Farkı Ölçümü.31.Ulusal Fizyoloji Kongresi. 27-30 Eylül 2005, Gaziantep. *Bildiri Özetleri Kitabı*, P62/S10.
31. Cinel G, M Sevgili, D Balkancı, et al. Nasal potential difference measurements in Turkish CF patients. *J Cyst Fibrosis* 2006; 5: S106.
32. Taylor CJ, Hardcastle J, Southern KW. Physiological measurements confirming the diagnosis of cystic fibrosis: the sweat test and measurements of transepithelial potential difference. *Paediatr Respir Rev* 2009; 10: 220-6.