

Beta Talasemi Taşıyıcılığı Olan Çocuklarda Alerjik Hastalık Sıklığının Araştırılması

Investigation of the Frequency of Allergic Diseases in Children with Beta Thalassemia Trait

Ulviye KIRLI¹, Sibel TİRYAKI², Fatih Mehmet AZIK³, Can Naci KOCABAŞ⁴

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Kardiyolojisi Bilim Dalı, Muğla, Türkiye

³Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı, Muğla, Türkiye

⁴Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk İmmünolojisi ve Alerjik Hastalıkları Bilim Dalı, Muğla, Türkiye



ÖZ

Amaç: Beta talasemi taşıyıcılığı (BTT) olan olgularda özellikle otoimmün hastalıkların daha sık görüldüğü bilinmektedir. Ancak bu hastalarda alerjik hastalık sıklığını araştıran sadece bir çalışma mevcut olup bu çalışmada BTT'li olgularda astımın anlamlı derecede daha sık görüldüğü belirtilmiştir. Çalışmamızda, bölgemizde sık görülen BTT'li çocuklarda astım ve diğer alerjik hastalıkların sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmaya BTT tanısı alan olgular hasta grubu olarak alındı. Kontrol grubu olarak da yaş ve cinsiyet özellikleri benzer çocuk polikliniğine rutin tetkiklerini yaptırmak amacıyla başvuran olgular alındı. Olguların sosyodemografik özellikleri kaydedildi, alerjik hastalıklarla ilişkili semptomları Türkçeye çevrilmiş olan "ISAAC: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood" soru anketi esas alınarak sorgulandı. Ayrıca olguların mutlak eozinofil sonuçları değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmaya yaşları 5 ile 17 arasında değişen toplam 171 olgu (BTT:85, Kontrol:86) dahil edildi. ISAAC anket sonucuna göre yaşam boyu hisilti sıklığı (BTT:%28.2, Kontrol:%18.6), yaşam boyu rinit sıklığı (BTT:%30.6, Kontrol:%23.3), yaşam boyu kaşıntılı tekrarlayıcı döküntü sıklığı (BTT:%9.5, Kontrol:%10.5), yaşam boyu besin alerjisi sıklığı (BTT:%2.4, Kontrol:%8.1) olarak bulunmuştur. Semptomlar açısından BTT grubunda hisilti ve alerjik burun akıntısı daha sık olsa da gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Benzer şekilde BTT grubunda doktor tanımlı astım ve alerjik rinit daha fazla tespit edildi ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Ayrıca BTT grubunda mutlak eozinofil sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti.

Sonuç: Çalışmamızda BTT'li olgularda tekrarlayan hisilti ve burun akıntısı gibi alerjik hastalıkları düşündürecek semptomların ve doktor tanımlı astım ve alerjik rinit sıklığının sağlıklı çocuklara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu oran istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değildir. Olası sıklığı netleştirebilmek için daha fazla ve geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: Alerjik hastalık, Beta talasemi taşıyıcılığı, Çocuk

ABSTRACT

Objective: It is known that autoimmune diseases are seen more frequently in cases with beta thalassemia trait (BTT). However, there is only one study investigating the frequency of allergic disease in these patients, and it has been reported that asthma is more commonly seen. In our study, it was aimed to investigate the frequency of asthma and other allergic diseases in children with BTT which is very common in our region.

Material and Methods: Children diagnosed with BTT were included in to the study as the patient group. Children with similar age and gender admitted to the outpatient clinics for routine tests were included as the control group. Sociodemographic features were recorded. Symptoms related to allergic disorders were questioned with the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) questionnaire. The results of absolute eosinophil counts were also assessed.

Results: A total of 171 cases (BTT:85, Control:86), between 5-17 years of age were included in the study. The ISAAC questionnaire results was as follows: Life-long wheezing (BTT:28.2%, Control:18.6%), life-long rhinitis (BTT:30.6%, Control:23.3%), life-long repetitive pruritic rash (BTT:9.5%, Control:10.5%), and life-long food allergies (BTT:2.4%, Control:8.1%). Although wheezing and allergic runny nose were seen more commonly in the BTT group, no significant difference was observed. Likewise, although an asthma and allergic rhinitis diagnosis by physicians was more common in BTT, the difference between the groups was not statistically significant. In the BTT group, the absolute eosinophil count was significantly higher compared with controls.

Conclusion: In our study, it was determined that the frequency of allergic symptoms like recurrent wheezing, nasal discharge and also the frequency of doctor-diagnosed asthma and allergic rhinitis were higher in BTT children when compared to healthy children. However, this difference was not statistically significant. We believe more comprehensive studies are needed in order to clarify the frequency of this possible coexistence.

Key Words: Allergic disease, β -thalassemia trait, Children

GİRİŞ

Beta talasemi, hemoglobini oluşturan beta globin zincirlerinden birinin veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen otozomal resesif geçiş gösteren hematolojik bir hastalıktır. Ülke genelinde beta talasemi taşıyıcılığı (BTT) sıklığı %2.1 olup bölgeler arasında farklılık göstermektedir. Çukurova, Akdeniz kıyı şeridi, Ege ve Marmara bölgelerinde BTT çok sık görülmektedir (1). Muğla'da ise BTT sıklığı %3.2 olarak bildirilmiştir (2). Homozigot hastalarda majör hematolojik problemler görülmekte iken, BTT hafif hipokrom mikrositer anemi dışında genellikle asemptomatik seyrederek (1).

BTT'de özellikle otoimmün hastalıkların (sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, fibromiyalji) ve bazı diğer hastalıkların (osteoporoz, böbrek hastalıkları, depresyon, diş problemleri) daha sık görüldüğü tespit edilmiştir (3-9). Bunun yanında iskemik serebrovasküler ve iskemik kardiyak hastalıkların ise daha seyrek görüldüğü tespit edilmiş ve bu hastalıklara karşı koruyuculuğunun olduğu düşünülmüştür (10, 11).

Literatürde BTT'de alerjik hastalık sıklığını araştıran tek bir çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, BTT'nin özellikle astım gelişimi için bir risk faktörü olabileceği ileri sürülmektedir (12). Bu durumun astım oluşumundan sorumlu genlerin beta globin sentezleyen genlere olan yakınlığına ya da hemorfinle ilişkili ya da bronşial sirkülasyonun bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (12,13). Ancak bu konuyu aydınlatacak epidemiyolojik çalışmalar yetersizdir.

Bu gözlem ve hipotezlerin ışığında çalışmamızda bölgemizde sık görülen BTT olan çocuklarda astım ve diğer alerjik hastalıkların sıklığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmaya, Mart 2017-Nisan 2018 tarihleri arasında okul taramalarında, Çocuk polikliniği ve Çocuk Hematoloji polikliniğinde BTT (hipokrom mikrositer anemisi olan olgularda hemoglobin elektroforezi ile hemoglobin A₂'nin %3.5'in üzerinde saptanması) tanısı alan çocuklarla, yaş ve cinsiyet özellikleri benzer çocuk polikliniğine rutin sağlıklı çocuk muayenesi yaptırmak amacıyla başvuran olgular alındı. Beta talasemi intermedia, beta talasemi

majör tanılı hastalar ya da anketi doldurmak istemeyenler çalışma dışı bırakıldı. Olguların sosyodemografik özellikleri, alerjik hastalıklarla ilişkili semptomları kaydedildi. Ayrıca tüm olguların doktor tanılı alerjik hastalıkları olup olmadığı araştırıldı.

Olguların alerjik hastalıkla ilişkili semptomları Türkçeye çevrilmiş olan "ISAAC: The International Study of Asthma and Allergies in Childhood" soru anketi kullanılarak sorgulandı (14). Anket ile alerjik hastalıkla ilişkili semptomların yanında ailede atopi ve alerjik hastalıkların varlığı, anne sütü alımı ve süresi, evde hayvan besleme ve sigara içilmesi gibi bilgiler de edinildi. Anketler çocukların kendileri ve/veya ebeveynleri tarafından dolduruldu.

Semptomların anketle sorgulanması dışında ayrıca çalışmaya alınan tüm olgular, doktor tarafından astım, alerjik rinit, atopik dermatit veya besin alerjisi tanısı alıp almadıkları, bu tanımlarla düzenli ilaç kullanıp kullanmadıkları açısından hastane kayıtlarından ya da olgulara telefonla ulaşılarak sorgulanarak kaydedildi.

BTT ve kontrol grubunun tam kan sayımlarında mutlak eozinofil ve trombosit sonuçları değerlendirildi.

Fakültemiz etik kurulundan 03/03/2017 tarih ve 04/V sayılı kararı ile onay alındı. Çalışmaya alınan olgulardan ve ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam formu alındı.

İstatistiksel değerlendirme: Verilerin istatistiksel analizinde SPSS17.0 (SPSS. Inc. Chicago, IL, ABD) bilgisayar programı kullanıldı. Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak, kesikli değişkenler frekans ve yüzde olarak verildi. Kesikli değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. İstatistiksel analizlerde $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Sosyodemografik Özellikler

Çalışmaya yaşları 5 ila 17 arasında değişen toplam 171 olgu dahil edildi. Bunlardan 85'i BTT, 86'sı kronik hastalığı olmayan benzer yaş ve cinsiyetteki olgulardan oluşmaktaydı. BTT olan 85 olgunun yaş ortalaması 13 ± 4.3 yıl olup, kontrol grubundaki 86 olgunun yaş ortalaması 13.5 ± 3.6 yıldır. Tablo 1'de olguların diğer sosyodemografik özellikleri belirtilmiştir.

Alerjiye zemin hazırlayacak yaşam şartları açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark bulunmamaktaydı. BTT'li gruptaki olguların %33'ü, kontrol grubundaki olguların %48'i ev içinde sigara içildiğini belirtti ($p=0.062$). Evcil hayvan (kedi, köpek) besleme oranı BTT'li gruptaki olgularda %20, kontrol grubundaki olgularda %29 ($p=0.21$), yaşanan evde nem, küf, rutubet bulunma oranı ise BTT'li grupta %21, kontrol grubunda %22 olarak belirtilmiştir ($p=0.85$).

Tüm çalışma grubunun %43'ü ($n:74$) kırsal alanda, %57'si ($n:97$) ise şehirleşmiş bölgelerde yaşamaktaydı. BTT olup olmadığından bağımsız olarak tüm olguların yaşadıkları yere göre alerjik hastalıklarının olup olmadığı karşılaştırıldığında şehir ve ilçe merkezlerinde yaşayanların %29'unda alerjik hastalık varken kırsal alanda yaşayanlarda bu oran (%20) daha düşük idi. Ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.218$).

Ailede alerjik hastalık bulunması durumunun olguların kendisinde alerjik hastalık sıklığına etkisi olup olmadığı araştırıldığında; ailesinde alerji olanların ($n:97$) %28'inin ($n:27$) kendisinde de alerjik tanı varken, ailesinde alerji olmayanların ($n:74$) %21'inde ($n:15$) alerjik tanı mevcuttu. Ailede alerjik hastalık bulunan olguların kendisinde de alerjik hastalık olma sıklığı daha fazla olsa da gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.379$).

ISAAC Anket Sonuçlarının Değerlendirilmesi

ISAAC anket sonucuna göre yaşam boyu hışıltı sıklığı BTT'de %28.2, kontrol grubunda %18.6; yaşam boyu rinit sıklığı

BTT'de %30.6, kontrol grubunda %23.3; yaşam boyu kaşıntılı tekrarlayıcı döküntü sıklığı BTT'de %9.5, kontrol grubunda %10.5; yaşam boyu besin alerjisi sıklığı BTT'de %2.4, kontrol grubunda %8.1 olarak bulunmuştur (Tablo I, Şekil 1).

Ailede atopik hastalık öyküsü olup olmadığı açısından yapılan değerlendirmede BTT'li 31 olgunun ailesinde astım, 29 olgununinde alerjik rinit, 15 olgununinde ise egzama bulunurken; kontrol grubundan 25 olgunun ailesinde astım, 29 olgunun ailesinde alerjik rinit, 20 olgunun ailesinde egzama öyküsü mevcuttu (Tablo I).

Doktor tanıli alerjik hastalıkların değerlendirilmesinde BTT grubunda 13 (%15.3) olguda astım, 16 (%18.8) olguda alerjik rinit, 3 (%3.5) olguda ise atopik dermatit olduğu tespit edilmiştir. Doktor tanıli besin alerjisi BTT grubunda tespit edilmemiştir. Bu hastalıkların kontrol grubundaki dağılımı ise sırasıyla 6 (%7), 15 (%17.4), 3 (%3.5) ve 2 (%2.3)'dü (Şekil 2). BTT grubunda astım ve alerjik rinit, kontrol grubunda ise besin alerjisi tanısı daha fazla olsa da gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

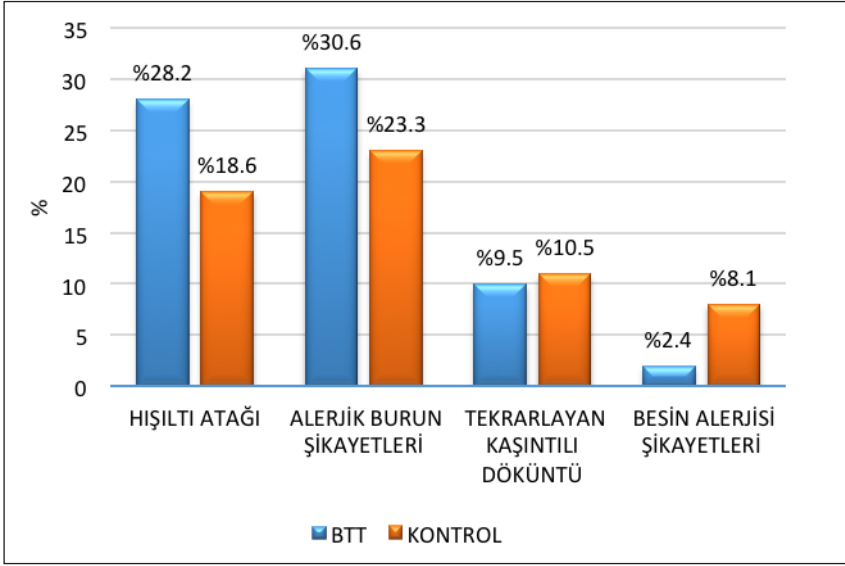
Laboratuvar

BTT ve kontrol grubunun laboratuvar değerleri karşılaştırıldığında BTT grubunun mutlak eozinofil (BTT:177±98/mm³, Kontrol:130±77/mm³, $p=0.02$) ve trombosit sayıları (BTT:362.000±110.000/mm³, Kontrol:294.000±74.000/mm³, $p=0.01$) kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

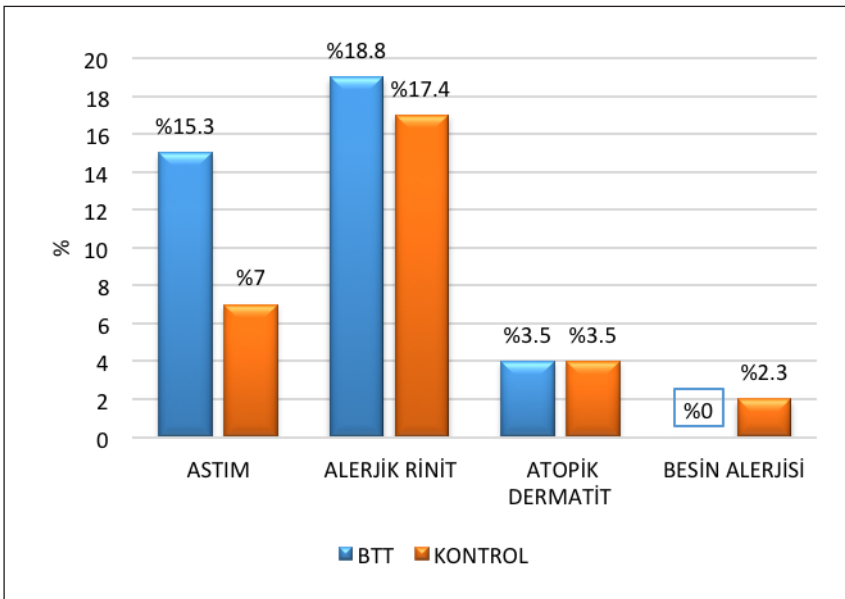
Tablo I: Çalışma grubunun epidemiyolojik özellikleri, olguların ve aile bireylerinin alerjik hastalık sıklığı.

	Beta Talasemi Taşıyıcılığı n:85 n(%)	Kontrol n:86 n(%)	p
Cinsiyet			
Kız	39 (46)	46 (54)	0.2
Erkek	46 (54)	40 (46)	
İkamet edilen yer			
Köy	32 (38)	42 (49)	0.12
İlçe	18 (21)	11 (13)	
Şehir	35 (41)	33 (38)	
Yaşam boyu hışıltı şikayeti	24 (28.2)	16 (18.6)	0.152
Doktor tanıli astım	13 (15.3)	6 (7)	0.094
Yaşam boyu bahar nezlesi şikayeti	26 (30.6)	20 (23.3)	0.305
Doktor tanıli alerjik rinit	16 (18.8)	15 (17.4)	0.845
Yaşam boyu kaşıntılı döküntü şikayeti	8 (9.5)	9 (10.5)	1
Doktor tanıli atopik dermatit	3 (3.5)	3 (3.5)	1
Yaşam boyu besin alerjisi	2 (2.4)	7 (8.1)	0.168
Doktor tanıli besin alerjisi	0	2	*
Ailesinde astım	31 (36.5)	25 (29)	0.33
Ailesinde alerjik rinit	29 (34)	29 (34)	1
Ailesinde egzama	15 (18)	20 (23)	0.449

*Doktor tanıli besin alerjisi tanısı konan olgu sayısı az olduğu için istatistik işlemlerinde göz ardı edilmiştir.



Şekil 1: Çalışma grubunda yaşam boyu alerjik şikayetler.



Şekil 2: Çalışma grubunda doktor tanıli alerjik hastalıklar.

TARTIŞMA

Çalışmamızda BTT tanıli çocukluk yaş grubundaki bireylerde alerjik hastalık sıklığının BTT olmayan çocuklara kıyasla artıp artmadığı araştırılmıştır. Literatürde BTT'li olgularda bazı otoimmün hastalıkların sıklığının arttığı gösterilmiş ise de, sadece bir çalışmada astımın sıklığı araştırılmıştır. Bizim çalışmamızda da BTT'li çocuklarda tekrarlayan hişilti ve burun akıntısı gibi alerjik hastalıkları düşündürecek semptomlar ile doktor tanıli astım ve alerjik rinit sıklığının BTT olmayan çocuklara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu oran istatistiksel olarak anlamlı düzeyde saptanmamıştır.

Alerjik hastalıklar, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan multifaktöriyel hastalıklardır. IgE aracılı atopi ve alerjik hastalıkların sıklığı gelişmiş ülkelerde daha fazladır (15).

Yine gelişmekte olan ülkelerde de kentleşme ve/veya göreceli zenginlik ile alerjik hastalık görülme sıklığı artış göstermektedir. Çevresel faktörlerin yanında genetik faktörler de alerjik hastalıkların gelişiminde etkilidir (16). Bir çocuğun herhangi bir şeye alerjisinin olma olasılığı ailedeki alerjik birey sayısına paralel olarak artış göstermektedir. Literatürle uyumlu olarak çalışma kohortumuzda da kentsel alanlarda yaşayanlarda ve ailesinde alerjik hastalık bulunanlarda ISAAC anketi ile alerjik hastalık olma sıklığı daha fazla bulunmuştur.

Literatürde BTT ile alerjik hastalıkların ilişkisini araştıran çalışma erişkin hastalarda yapılmış olup beş yıllık süreçte alerji polikliniğine başvuran olgulardan 66'sında hemoglobinopati olduğu (61'i beta talasemi taşıyıcısı, 2'si beta delta talasemi, 2'si orak hücreli anemi, 1'i hemoglobin C) saptanmıştır. Bu olgulardan 57'sinin solunumsal alerjisinin (%75'inde astım, %25'inde alerjik rinit) olduğu tespit edilmiştir. Hemoglobinopatisi olmayan grupla

(n:491) karşılaştırıldığında (%57'sinde astım, %43'ünde alerjik rinit) özellikle astım prevalansının BTT olanlarda ve orak hücreli anemi hastalarında anlamlı derecede fazla olduğu bulunmuştur. Bu nedenle hafif anemisi ve mikrositozu olan astım hastalarının mutlaka hemoglobinopatiler açısından değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (12).

BTT'de astım sıklığındaki olası artışın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Vücutta büyük oranda beta globin zincirlerinden salınan ve görevi nötrofillerin migrasyonu ve inflamasyonun baskılanması olan hemorfinin BTT'de sentezinin azaldığı ve bu nedenle inflamasyonun artarak alerjik ve otoimmün hastalıklara yatkınlığın arttığı ileri sürülmüştür (13). Artan inflamasyon sonucu bronş duvarında oluşan hasarın bronşların aşırı duyarlanmasına, bronş düz kaslarının kasılmasına ve bronşların daralması sonucu hava yolu hiperaktivitesine yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Bir diğer ileri sürülen mekanizma ise BTT'de kapiller yatakta dolaşan eritrositlerde meydana gelen yapısal değişikliğin eritrosit rijiditesini arttırarak bronşial sirkülasyonu bozması ve hava yolu hiperaktivitesine yol açmasıdır (12).

Çalışmamızda da BTT grubunda astım ve alerjik rinit kontrol grubuna göre daha sık gözlenmiştir. Ancak bu düzey istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yine bu fazlalığı destekler şekilde mutlak eozinofil sayısı BTT grubunda daha yüksek tespit edilmiştir. Her ne kadar BTT'de mutlak eozinofil sayısı sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunsun da her iki grupta da belirgin eozinofili olmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızın kısıtlılığı alerjik hastalıkların teşhisinin doğrulanması için olgularda total IgE değeri ve deri prik testi gibi tetkiklerin yapılmamış olmasıdır. Ayrıca anketlerin farklı zamanlarda yapılması mevsim değişikliğine bağlı alerjik hastalık semptom sıklığını etkilemiş olabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda BTT olan çocuklarda tekrarlayan hışıltı ve burun akıntısı gibi alerjik hastalıkları düşündürecek semptomlar ve doktor tanılı astım ve alerjik rinit sıklığının BTT olmayan çocuklara oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı ölçüde olmayan bu artışı netleştirebilmek için daha fazla ve geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Canatan D, Kose MR, Ustundağ M, Haznedaroglu D, Ozbaş S. Hemoglobinopathy control program in Turkey. *Community Genet* 2006;9:124-6.
2. Topal Y, Topal H, Ceyhan MN, Azik FM, Capanoğlu M, Kocabas CN. The prevalence of hemoglobinopathies in young adolescents in the province of Muğla in Turkey: Results of a Screening Program. *Hemoglobin* 2015;39:247-50.
3. Castellino G, Govoni M, Padovan M, Rizzo N, Trotta F. β thalassaemic trait and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64: 653-4.
4. Castellino G, Govoni M, Trotta F. Rheumatoid arthritis in β -thalassemia trait. *Rheumatology* 2000;39:1286-7.
5. Caporali R, Bugatti S, Rossi S, Cavagna L, Bogliolo L, Montecucco C. Rheumatoid arthritis in β -thalassaemic trait: Clinical, serologic and immunogenetic profile. *Joint Bone Spine* 2004;71:117-20.
6. Pamuk GE, Pamuk ON, Set T, Harmandar O, Yesil N. An increased prevalence of fibromyalgia in iron deficiency anemia and thalassemia minor and associated factors. *Clin Rheumatol* 2008;27:1103-8.
7. Gomez Rodriguez N, Sanchez Burson JM, Atanes Sandoval A, Grana Gil J, de Toro Santos J, Galdo Fernandez F. Osteoporosis as the first manifestation of minor β -thalassemia. *An Med Interna* 1992;9:287-90.
8. Cetin T, Oktenli C, Ozgurtas T, Yenicesu M, Sanisoglu SY, Oguz Y, et al. Renal tubular dysfunction in β -thalassemia minor. *Am J Kidney Dis* 2003;42:1164-8.
9. Keskek SO, Kirim S, Turhan A, Turhan FG. Depression in subjects with beta-thalassemia minor. *Ann Hematol* 2013;92:1611-5.
10. Bozdar M, Ahmed S, Anwar J. Relative protection from ischaemic heart disease in beta-thalassaemia carriers. *J Coll Physicians Surg Pakistan* 2010;20:653-6.
11. Karimi M, Borhani Haghighi A, Raisi H, Giti R, Namazee MR. Is beta-thalassemia trait a protective factor against ischemic cerebrovascular accidents? *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2008;17:79-81.
12. Palma Carlos AG, Palma Carlos ML, Costa AC. "Minor" hemoglobinopathies: A risk factor for asthma. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2005;37:177-82.
13. Altinoz M, Gedikoglu G, Deniz G. β -Thalassemia trait association with autoimmune diseases: β -globin locus proximity to the immunity genes role of hemorphins? *Immunopharmacology Immunotoxicology* 2012;34:181-90.
14. Asher M, Keil U, Anderson H, Beasley R, Crane J, Martinez F, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): Rationale and methods. *Eur Respir J* 1995;8:483-91.
15. Halcken S. Prevention of allergic disease in childhood: Clinical and epidemiological aspects of primary and secondary allergy prevention. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:9-32.
16. Jarvis D, Chinn S, Luczynska C, Burney P. The association of family size with atopy and atopic disease. *Clin Exp Allergy* 1997;27:240-5.