

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN FARELERDE
PARTENOLİTİN AKCİĞER HİSTOLOJİSİ
ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZM. DR. ZEYNEP T. ARIKAN AYYILDIZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

İZMİR- 2013

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN FARELERDE
PARTENOLİTİN AKCİĞER HİSTOLOJİSİ
ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZM. DR. ZEYNEP T. ARIKAN AYYILDIZ

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nevin Uzun

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ	III
RESİM LİSTESİ	IV
KISALTMALAR.....	V
TEŞEKKÜR.....	VII
TÜRKÇE ÖZET	1
İNGİLİZCE ÖZET	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Astımın tanımı	4
2.2. Astımın prevalansı	4
2.3. Astımın gelişimini ve prezentasyonun etkileyen faktörler	4
2.3.1. Konağa ait faktörler.....	4
2.3.2. Çevresel faktörler	5
2.4. Astım patogenezi	7
2.4.1. Astımda havayolu inflamasyonu	7
2.4.2. Astımda havayolunda görülen yapısal değişiklikler ve yeniden yapılanma (remodeling)	10
2.4.3. Astımın patofizyolojisi.....	11
2.5. Astım tanısı	11

2.5.1.Hikaye ve fizik muayene.....	11
2.5.2. Tanısal testler	12
2.6. Astım tedavisi	13
2.6.1. Kontrol edici ilaçlar.....	13
2.6.2. Rahatlatıcı ilaçlar	14
2.6.3. Allerjen spesifik immunoterapi.....	14
2.6.4. Astımda kontrol kavramı ve kontrole dayalı tedavi yaklaşımı	15
2.7. Astımda tamamlayıcı ve alternatif tedaviler	17
2.8. <i>Tanacetum parthenium</i> (Feverfew; Gümüşdüğme)	17
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
3.1. Deney hayvanları	22
3.2. Çalışma grupları.....	22
3.3. Astım modelinin oluşturulması.....	22
3.4. Çalışma ilaçlarının uygulanması.....	23
3.5. Hayvan yaşamını sonlandırma zamanı ve yöntemi	23
3.6. Histolojik incelemeler.....	23
3.6.1. Işık mikroskopisi için doku takip protokolü	23
3.6.2. Elektron mikroskopisi için doku takip protokolü	24
3.7. Akciğer dokusunda IL-4 ve IL-5 ölçümü	25
3.8. İstatistiksel analiz.....	25
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR.....	45
7. KAYNAKLAR.....	47

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Astımda kontrol düzeyini belirlemek için kullanılan kriterler

Tablo 2. Astımlı beş yaş üstündeki çocuklarda, adolesanlarda ve erişkinlerde kontrole dayalı tedavi yaklaşımı

Tablo 3. Tüm grupların histolojik verileri

Tablo 4. Grup I ve Grup II'nin histolojik verilerinin karşılaştırılması

Tablo 5. Grup II ve grup III'ün histolojik verilerinin karşılaştırılması

Tablo 6. Grup II ile Grup IV'ün histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 7. Grup II ve Grup V'in histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 8. Grup III ve Grup IV'in histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 9. Grup III ve Grup V'in histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 10. Çalışma gruplarının akciğer dokusunda bakılan IL-4 ve IL-5 düzeyleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. *Tanacetum Parthenium*'da bulunan seskiterpen laktonlar

Şekil 2. Astım modelinin şematik görünümü

RESİM LİSTESİ

- Resim 1.** *Tanacetum Parthenium* 'un a. Genel görünümü b. Çiçekleri c. Yaprakları
- Resim 2.** Kontrol grubunun (Grup I) HE boyalı akciğer kesitleri.
- Resim 3.** Kontrol grubunun (Grup II) PAS boyalı akciğer kesitleri
- Resim 4.** Kontrol grubunun (Grup I) toluidin mavisi boyalı akciğer kesitleri
- Resim 5.** Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitlerinin EM görünümü
- Resim 6.** Plasebo grubunun (Grup II) HE boyalı akciğer kesitleri
- Resim 7.** Plasebo grubunun (Grup II) PAS boyalı akciğer kesitleri
- Resim 8.** Plasebo grubunun (Grup II)'nin toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 9.** Plasebo grubunun (Grup II) akciğer kesitlerinin EM görünümü
- Resim 10.** Dekametazon tedavisi verilen grubun (Grup III) HE ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 11.** Dekametazon tedavisi verilen grubun (Grup III) PAS ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 12.** Dekametazon tedavisi verilen grubun (Grup III) toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 13.** Dekametazon tedavisi verilen grubun akciğer kesitlerinin EM görünümü
- Resim 14.** Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) HE ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 15.** Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) PAS ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 16.** Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 17.** Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) akciğer kesitlerinin EM görünümü
- Resim 18.** Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) HE ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 19.** Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) PAS ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 20.** Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri
- Resim 21.** Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) akciğer kesitlerinin EM görünümü

KISALTMALAR

BAL	: Bronkoalveolar lavaj
β	: Beta
CXCL 8	: CXC kemokin ligand 8
CCL20	: CC kemokin ligand 20
DMSO	: Dimetil sülfoksit
FEV1	: Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm
FVC	: Zorlu ekspiratuvar kapasite
GINA	: Global Initiative for Asthma
GM-CSF	: Granulosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
HE	: Hematoksilen-eosin
ICAM	: Hücreler arası adhezyon molekülü
IgE	: Immunglobulin E
IKKβ	: Kappa B kinaz inhibitörü
IKK	: I κ B kinaz kompleksi
IL	: İnterlökin
IP	: İntraperitoniyel
LTB4	: Lökotrien B4
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein 1
MDC	: Makrofaj kaynaklı kemokin
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NO	: Nitrik oksit

OVA	: Ovalbumin
PAS	: Periyodik asit schiff
PBS	: Fosfat tamponlu serum fizyolojik solüsyonu
PEF	: Tepe ekspiratuvar akım
PG	: Prostoglandin
PMSF	: Fenilmetansülfonilflorid
RSV	: Respiratuvar sinsityal virüs
SLs	: Seskiterpen laktonlar
TARC	: Timus ve aktivasyon ilişkili kemokin
TCPA-1	: (2-[(aminokarbonil)amino]-5-[4-florofenil]-3 tiyofenokarboksamid)
Th	: Yardımcı T hücre
Th1	: Yardımcı T hücre tip 1
Th2	: Yardımcı T hücre tip 2
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa
Treg	: Reglatuvar T hücre
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü

TEŞEKKÜR

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda çalıştığım süre içinde yardımlarını esirgemeyen Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Prof. Dr. Hale Ören'e, yan dal eğitimim sürecinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Çocuk Allerji ve İmmunoloji Bilim Dalı Başkanı Prof Dr. Özden Anal ve Prof.Dr.Özkan Karaman'a, eğitimim sürecinde kendisinden pek çok şey öğrendiğim, desteğini her zaman hissettirdiğim tez danışmanım Prof. Dr. Nevin Uzuner'e ve tez çalışmam sırasındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Meral Karaman, Prof. Dr. Alper Bağrıyanık ve Dr. Seda Özbal'a teşekkürü bir borç bilirim.

Aynı çalışma ortamını paylaştığım ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum uzman ve asistan arkadaşlarıma,

Ve her zaman yanımda olan aileme, sevgisi ve desteği ile bana yardımcı olan sevgili eşime, sevgisiyle bana zorlukları unutturan sevgili oğluma teşekkürlerimle...

ÖZET

ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN FARELERDE PARTENOLİTİN AKCİĞER HİSTOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş: Partenolit, asırlardır migren, artrit ve inflamasyonda kullanılan '*Tanacetum parthenium*' (Feverfew; Gümüşdüğme) bitkisinin aktif bileşenini oluşturur. Partenolitin antiinflamatuvar etkinliği çeşitli insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Bu çalışmada, kronik astım modeli oluşturulmuş farelerde partenolitin akciğerdeki histolojik değişiklikler üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Otuzbeş adet adet BALB/c fare yedişerli gruplara ayrıldı. Grup I (kontrol), Grup II (plasebo), Grup III, Grup IV, Grup V. Çalışma gruplarındaki fareler, ovalbumin uygulanarak duyarlılaştırıldı. Kontrol grubundaki farelere aynı yol ve dozlarda steril salin solusyonu uygulandı. Duyarlılaştırmanın son haftasında beş gün boyunca Grup II'ye partenolitin çözücüsü olan dimetil sülfoksit (DMSO), Grup III'e deksametazon, Grup IV'e partenolit, Grup V'e deksametazon ve partenolit tedavileri verildi. Çalışma ilaçlarının son dozunun uygulanmasından 24 saat sonra fareler sakrifiye edildi. Elde edilen akciğer örneklerinin histolojik özellikleri, ışık ve elektron mikroskopisi kullanılarak değerlendirildi. Akciğer dokusundaki interlökin (IL)-4 ve IL-5 düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Akciğerin histolojik değerlendirmelerinde partenolit alan grupta (Grup IV) goblet hücre ve mast hücre sayısı dışındaki tüm histolojik parametrelerin, plasebo uygulanan gruba (Grup II) göre anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Partenolit grubu, deksametazon grubu (Grup III) ile karşılaştırıldığında ise bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı dışındaki parametrelerde, deksametazon ile düzelme anlamlı olarak daha iyi bulunmuştur. Grup III ve Grup V karşılaştırıldığında çoğu parametrelerin benzer şekilde iyileştiği görülmüştür. Partenolit alan grup, plasebo grubu ile karşılaştırıldığında IL-4 düzeylerinde anlamlı bir düşüş görülürken, IL-5 düzeyleri her iki grupta benzer bulunmuştur.

Sonuç: Bu çalışmada astım modeli oluşturulan farelerde partenolitin akciğer histolojisi üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. Ancak partenolitin deksametazon kadar etkin olmadığı ve deksametazon tedavisine partenolit eklenmesinin ek yarar sağlamadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Astım, akciğer histolojisi, fare, partenolit, deksametazon, *Tanacetum parthenium*

ABSTRACT

EFFICACY OF PARTHENOLIDE ON LUNG HISTOPATHOLOGY IN A MURINE MODEL OF ASTHMA

Introduction: Parthenolide is the active constituent of the plant '*Tanacetum parthenium*' (Feverfew) which has been used for centuries as a folk remedy for migraine, arthritis and inflammatory conditions. Its antiinflammatory effects have been shown in several human and animal studies. In this study we aimed to investigate the effects of parthenolide on histological changes in a murine model of chronic asthma.

Materials and Methods: Thirty- five BALB/c mice were divided into five groups; I (control), II (placebo), III, IV and V. All groups except the control were sensitized and challenged with ovalbumin. Sterile saline was administered instead of ovalbumine in control group. Mice in Group II (placebo group) received solvent of parthenolide dimethyl sulfoxide (DMSO), Group III received dexamethasone, Group IV received parthenolide and Group V received both dexamethasone and parthenolide via intraperitoneal route once daily in the last five days of the challenge period. Animals were sacrificed by an overdose of ketamin after 24 hours from the last dose of the drug administration. Lung histology was evaluated by using light and electron microscopy. Levels of interleukin (IL)-4 and IL-5 were determined by ELISA.

Results: Histologic parameters except the number of mast and goblet cells improved in parthenolide group (Group I) when compared with placebo. All parameters except basal membrane thickness and number of mast cells were improved significantly better in group receiving dexamethasone (Group III) when compared with parthenolide group (Group IV). Improvement of most of the histologic parameters were similar in Group III and V. Interleukin-4 levels were significantly reduced in parthenolide group when compared to placebo group, but IL-5 levels were similar in both groups.

Conclusion: In this study we demonstrated that parthenolide administration alleviated some of the pathologic changes in asthma. But parthenolide alone is not efficient as dexamethasone therapy and parthenolide and dexamethasone combination also did not add any beneficial effect to dexamethasone treatment.

Keywords: Asthma, histology of lung, mouse, parthenolide, dexametasone, *Tanacetum parthenium*

1.GİRİŞ ve AMAC

Astım, gelişmiş ülkelerde prevalansı oldukça yüksek düzeylere ulaşmış, gelişmekte olan ülkelerde de görülme sıklığı giderek artan, önemli morbiditeye neden olan bir hastalıktır. Kronik inflamatuvar bir hastalık olan astım, havayollarında bronşiyal aşırı duyarlılık ve geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonu ile karakterize olup, tekrarlayan hışıltı, nefes darlığı, öksürük gibi semptomlara neden olmaktadır (1).

Astım tedavisinde en sık kullanılan ve en etkili tedavi olan inhale steroidlerin gerek uzun dönem kullanımda olası yan etkileri, gerekse hasta uyumu nedeniyle kullanımları kısıtlanmaktadır (2,3). Hem astımı hem de allerjik riniti olan hastalarda çoklu ilaç kullanımı yan etki ve uyum problemlerini daha da arttırmaktadır. Astımda etkin ve yan etki profili düşük tedavi seçenekleri halen araştırılmaktadır.

Astım patogeneğinde, havayollarında pek çok inflamatuvar hücre ve bu hücrelerden salınan mediyatörler rol oynamaktadır. Nükleer faktör kappa-B (NF- κ B) birçok hücre tipinde eksprese olan, fizyolojik ve patolojik koşullarda hücre içi sinyal iletiminden sorumlu olan IL-1, IL-2, IL-6, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi pro-inflamatuvar sitokinler, IL-8 ve eotaksin gibi kemokinler ve çeşitli adhezyon moleküllerini kodlayan genlerin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörüdür (4). Astımda NF- κ B yolağının aktif olduğu gösterilmiştir. Astımlı hastalarda yapılan çalışmalarda NF- κ B p65 ve NF- κ B p50 düzeylerinin arttığı, NF- κ B p50'si olmayan farelerde yapılan bir çalışmada ise bu farelerde aerolize allerjene karşı daha az eozinofilik infiltrasyon geliştiği görülmüştür (5-8).

Seskiterpen laktonlar (SLs) Asteraceae familyasındaki bitkilerin aktif bileşenini oluştururlar ve bu bitkiler asırlardır migren, artrit ve inflamasyonda kullanılmaktadır. Partenolit, *Tanacetum parthenium* (Feverfew; Gümüşdüğme) bitkisinin içinde yer alan bir seskiterpen laktonudur ve bu bitkinin aktif bileşenini oluşturur. Partenolitin antiinflamatuvar etkisini NF- κ B inhibisyonu yolu ile gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (9,10). Bu nedenle astım tedavisinde partenolitin yararlı etkileri olabileceği düşünülebilir. Bu çalışmada, kronik astım modeli oluşturulmuş farelerde partenolitin akciğerdeki histolojik değişiklikler üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Astım tanımı

Astım birçok hücre ve hücresel elemanın rol aldığı kronik inflamatuvar bir havayolu hastalığıdır. Kronik inflamasyon, havayolu aşırı duyarlılığı ile birlikte astımın tipik bulguları olan tekrarlayıcı hışıltı atakları, nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi ve sıklıkla gece veya erken sabah saatlerinde görülen öksürük yakınmalarına yol açmaktadır. Bu yakınmalar çoğu zaman yaygın, değişken, spontan olarak veya tedavi ile düzelen havayolu obstrüksiyonu ile ilişkilidir (1).

2.2. Astım prevalansı

Astım dünya çapında 300 milyon kişiyi etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Farklı ülkelerde yapılan çalışmalarda astım prevalansının %1-18 arasında değiştiği bildirilmiştir (11,12). Astım, gelişmiş ülkelerde çocukluk çağında görülen en sık kronik hastalık olarak tanımlanmaktadır. Türkiye’de ilkokul çağı çocuklarında astım prevalansını araştıran çok merkezli bir çalışmada, astım prevalansı kentte sırasıyla erkek ve kızlarda %8.5-%11.2, kent dışı yerleşim bölgelerinde ise %6.2-%7.5 bulunmuştur (13). Yine ilkokul çağı çocuklarında Edirne bölgesinde 10 yıl ara ile yapılan bir çalışmada, astım prevalansının kentte %5.2’den %8.6’ya, kent dışı bölgelerde ise %5.8’den 12.1’e yükseldiği görülmüştür (14). İzmir ilinde ise 6-13 yaş arası çocuklarda yapılan bir çalışmada, astımın kümülatif prevalansı %4.9 olarak bulunmuştur. Aynı bölgede dokuz yıl sonra yapılan ve ilkokul 3, 4 ve 5. sınıf çocuklarını kapsayan çalışmada ise, tekrarlayan hışıltı prevalansının %15.9, doktor tanılı astımın ise %4.8 olduğu görülmüştür (15,16).

2.3. Astım gelişimini ve prezentasyonunu etkileyen faktörler

Astım riskini etkileyen faktörler, astım gelişimini etkileyen konağa ait faktörler ve astım yakınmalarını tetikleyen çevresel faktörler olmak üzere iki bölümde incelenebilir.

2.3.1. Konağa ait faktörler

a. Genetik faktörler

Astım patogenezinde birçok gen rol almakta ancak her ırkta bu genlerin hastalığa etkisi değişkenlik göstermektedir (17,18). Astım gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülen genler dört farklı işleve odaklanmıştır: allerjen spesifik immunoglobulin E (IgE) üretimi (atopi), havayolu aşırı duyarlılığı, inflamatuvar mediyatör salınımı ile yardımcı T hücre tip 1 (Th1) ve yardımcı T hücre tip 2 (Th2) arasındaki oran. Çeşitli vaka-kontrol ve aile çalışmaları 5.,11.,12., ve 13. kromozomlar üzerinde pek çok farklı gen bölgesinin astım patogenezi ile ilgili olduğunu, bazı gen polimorfizmlerinin de atopi ve astım gelişimi ile ilişkili olduğunu saptamıştır (18-21).

Astıma yatkınlık yaratan genlerin yanı sıra, bazı genlerin beta-2 agonist, glukokortikosteroid ve lökotrien modifiye edici ajanlara cevap ile de ilişkili olduğu gösterilmiştir (22-24)

b. Cinsiyet

Çocuklarda erkek cinsiyetin astım için risk faktörü olduğu bilinmektedir. Yaş arttıkça her iki cins arasındaki farkın azaldığı, erişkin hayatta ise astımın kadınlarda daha sık görüldüğü bilinmektedir (1). Doğumda erkeklerdeki akciğer hacimlerinin daha küçük, erişkin hayatta ise daha büyük olmasının bu farkı yarattığı düşünülmektedir (25).

c. Obezite

Astımın obezlerde daha sık görüldüğü ve kontrolünün daha zor olduğu bilinmektedir (26-28). Obezite genetik, gelişimsel, hormonal ve nörojenik etkileri yanı sıra mekanik etkiler ve adipositlerden pro-inflamatuvar sitokin ve mediyatörlerin salınımı ile havayolu fonksiyonlarını bozmaktadır (29).

2.3.2. Çevresel faktörler

a. Allerjenler

İç ve dış ortamdaki allerjenlerin astım alevlenmelerine yol açtığı bilinmekle birlikte, astım gelişimindeki özgün rolleri net olarak bilinmemektedir. Doğum kohort çalışmaları, ev

tozu akarı allerjenleri, kedi tüyü, köpek tüyü ve Aspergillus küf mantarının üç yaşından küçük çocuklarda astım için risk faktörü olduğunu göstermiştir (30-32). Ancak çocuklardaki allerjen maruziyeti ve duyarlanma arasındaki ilişki genetik faktörler, yaş, allerjen türü, doz ve maruziyet süresi ile ilişkilidir.

b. Enfeksiyonlar

Hijyen hipotezi, yaşamın erken dönemlerinde enfeksiyonlara maruziyetin, immün sistem Th1 ve Th2 hücreleri arasındaki dengenin Th1 lehine değişmesine ve böylece astım ve diğer allerjik hastalıkların prevalansının azalmasına neden olduğunu öne süren bir hipotezdir. Hijyen hipotezi halen araştırılmaya devam edilmektedir. Bu mekanizma ile doğum sırası, kreşe gitme, aile nüfusu ile astım riski arasındaki ilişki açıklanabilmektedir.

Bebeklik döneminde geçirilen birçok virüs enfeksiyonunun astım fenotipi ile ilişkili olabileceği bilinmektedir. Respiratuvar sinsityal virüs (RSV), parainfluenza virüs ve rinovirüs enfeksiyonlarının astım gelişimini tetikleyebileceği bildirilmektedir (33-35). Ancak literatürde farklı yönde yayınlar da mevcut olduğundan, şu an için bu konuda kesin bir yargıya varmak mümkün görünmemektedir.

c. Sigara

Prenatal dönemde ve doğum sonrasında sigara dumanına maruziyetinin, astım benzeri semptomlar da dahil olmak üzere birçok zarara yol açtığı bilinmektedir (1) Annenin sigara içmesinin bebeklerdeki akciğer gelişimini olumsuz etkilediği ve bu bebeklerde ilk bir yıldaki hışıltı riskinin dört kat arttığı belirtilmektedir (36). Sigara içilmesi veya sigara dumanına maruziyet astımlı hastaların akciğer fonksiyonlarını bozmakta, astım semptomları ve ağırlığında artışa ve tedaviye yanıtın azalmasına neden olmaktadır (37,38).

d. Dış ve iç ortam hava kirliliği

Dış hava kirliliği ve astım arasındaki nedensel ilişki tartışmalı olmakla birlikte, hava kirliliğinin yoğun olduğu dönemlerde astım alevlenmeleri ve astıma bağlı hastane başvurularında artış olduğu birçok çalışmada gözlenmiştir (39,40).

Ev içi hava kirliliğine yol açan maddeler olan ısınma ve yemek pişirme için kullanılan yakıtların dumanlarının da benzer şekilde etkilerinin olduğu düşünülmektedir (1). Parfüm, toz,

klor vb. iritanlarla temasın da astım semptomlarına neden olabileceği düşünölmekte ve bunlardan kaçınma önerilmektedir (41).

e. Diyet

Anne sütü ile beslenme, atopik hastalıklardan korunma için önerilmektedir. İnek sütü veya soya proteini içeren formölalar ile beslenen bebeklerin anne sütü ile beslenenler ile karşılaştırıldığında erken çocukluktaki hışıltılı hastalık insidansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (42). Artmış oranda işlenmiş gıda tüketimi, antioksidan içeriğı düşük gıdalar ile beslenme, artmış n-6 poliansatüre yağ asidi ve azalmış miktarda n-3 poliansatüre yağ asidi alımının astım ve allerjik hastalıkların son yıllardaki artışına katkıda bulunduğu belirtilmektedir (43).

f. Egzersiz

Egzersizin astımlı çocuklarda semptomları tetikleyebildiğı bilinmektedir (44). Bunun yanı sıra ayrı bir astım fenotipi olan egzersiz ilişkili astımda semptomlar, sadece egzersiz ile tetiklenebilir. Egzersiz sırasında solunumla birlikte su ve ısı kaybı artmakta, havayolundaki soğuma düz kas kasılması ve mukozal ödeme neden olmaktadır (45)

2.4. Astım Patogenezi

Astım birçok hücre ve mediyatörün rol oynadığı kronik, inflamatuvar bir havayolu hastalığıdır. Bu inflamasyon havayolu aşırı duyarlılığına ve semptomlara neden olmaktadır.

2.4.1 Astımda Havayolu İnflamasyonu

Astımda havayolu inflamasyonu temel ve değişmez bir özelliktir. Havayollarındaki inflamasyon sürekli olarak devam etmektedir ancak semptomlar epizodik olarak görülür. İnflamasyonun yoğunluğu ile astımın şiddeti arasındaki ilişki açık değildir (46,47).

2.4.1.1. Astım patogeneğinde rol alan inflamatuvar hücreler

a. Mast hücreleri: Mukoza yerleşimli mast hücreleri, allerjenler ve ozmotik uyarılar ile IgE reseptörleri aracılığı ile aktive olduklarında histamin, sisteinil lökotrienler, prostoglandin D2 (PGD2) gibi bronkokonstriktör mediyatörler salınır. Havayolu düz kaslarındaki mast hücre sayısı, havayolu aşırı duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur (48).

b. Eozinofiller: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar. Bazik protein salınımı ile havayolu epitel hücrelerinde hasara neden olurlar. Eozinofil infiltrasyonunun havayolu yeniden yapılanması (remodeling) ile ilişkili olduğu ve havayolu aşırı duyarlılığına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (49).

c. T lenfositler: T lenfositler havayollarında fazla sayıda bulunurlar ve IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi birçok sitokin salınımıyla eozinofilik infiltrasyonu kontrol ederek, B lenfositlerden IgE sentezine neden olurlar. Reglatuvar T hücre (T_{reg}) hücrelerinin sayısal azlığının veya fonksiyon bozukluğunun çevresel allerjenlere toleransı bozarak allerji ve astıma neden olduğunu düşünülmektedir (50).

d. Dendritik hücreler: Dendritik hücreler havayolu yüzeyinden allerjenleri seçerek reglatuvar T hücreler ile etkileşimin gerçekleştiği bölgesel lenf nodlarına götürürler ve burada naif T hücrelerden Th2 oluşumunu stimüle ederler (51).

e. Alveolar makrofajlar: Alveolar makrofajlar, TNF- α , CXC kemokin ligand sekiz (CXCL8) ve granülosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi proinflamatuvar sitokinler, çeşitli kemokinler, prostaglandinler ve lökotrien B4 (LTB4) salgırlar. Bu mediyatörler astımda inflamasyonun başlaması ve devam etmesinden sorumludur (52).

f. Nötrofiller: Nötrofillerin astımdaki patofizyolojik rolü tam olarak aydınlatılamamıştır ancak sigara içen ve ciddi astımı olanların havayollarında nötrofil sayısının artmış olduğu gösterilmiştir (53).

2.4.1.2. Astım patogeneğinde rol alan havayolu yapısal hücreleri

Havayollarının yapısal hücreleri, çeşitli mediyatörler ve büyüme faktörleri salgılayarak astım patogeneğine katkıda bulunurlar (1).

a. Havayolu epitel hücreleri: Bu hücreler mekanik çevrelerini algılayarak çok çeşitli inflamatuvar proteinleri eksprese eder ve sitokin, kemokin ve lipid mediyatörler salarlar.

b. Havayolu düz kas hücreleri: Düz kas hücrelerinin histamin ve lökotrienler gibi mediyatörler aracılığı ile kasılması bronkokonstrüksiyona neden olmakla birlikte salgıladığı çok sayıda proinflamatuvar mediyatör, sitokin ve büyüme faktörü havayollarındaki inflamasyona katkıda bulunur. Düz kas hücreleri hipertrofiye uğrayarak remodeling sürecinde de görev alırlar (55).

c. Endotel hücreleri: Bronşiyal dolaşımda yer alan endotel hücreleri dolaşımdan havayoluna inflamatuvar hücrelerin geçişini sağlarlar.

d. Fibroblast ve miyofibroblastlar: Remodelingde görev alan kollajen ve proteoglikanlar gibi bağ dokusu komponentlerini salgılamakla görevlidirler.

e. Havayolundaki sinirler: Kolinerjik sinir lifleri havayollarındaki çeşitli refleks mekanizmalar ile tetiklendiklerinde bronkokonstrüksiyona ve mukus sekresyonuna yol açarlar. Nörotropinleri içeren inflamatuvar uyarılar ile duyarlanan duyuşal sinirler ise refleks değişikliklere ve öksürük, nefes darlığı gibi semptomlara neden olurlar (5).

2.4.1.3. Astım patogeneğinde rol alan temel mediyatörler

Astım patogeneğinde rol oynayan aktive olmuş mast hücreleri, eozinofiller, T hücreleri ve havayolunun yapısal hücreleri 100'den fazla farklı mediyatör salgılayarak kompleks inflamatuvar yanıtı meydana getirirler.

a. Kemokinler: Havayollarında inflamatuvar hücrelerin birikiminde rol oynayan kemokinler temel olarak havayolu epitel hücrelerinde eksprese olurlar. Eotaksin eozinofillerin, timus ve aktivasyon ilişkili kemokin (TARC) ve makrofaj kaynaklı kemokin (MDC) ise Th2 hücrelerin göçüne neden olmaktadır (4).

b. Sitokinler: Sitokinler, astımda inflamatuvar yanıtı yönetir ve hastalık şiddetini belirlerler. IL-1 β ve TNF- α gibi anahtar sitokinler inflamatuvar yanıtı artırır, GM-CSF eozinofillerin havayollarındaki yaşam süresini uzatır. Th2 kaynaklı sitokinlerden IL-5, eozinofil

diferansiyasyonu ve yaşamı için, IL-4 Th2 diferansiyasyonu, IL-13 ise IgE oluşumu için gereklidir (4).

c. Histamin: Histamin, havayollarındaki mast hücrelerinden ve dolaşımdaki bazofillerden salınır. Astımda en önemli etkisi bronkokonstrüksiyondur. Bunun yanı sıra kapiller permeabilite artışına ve mukus sekresyonuna neden olur (4).

d. Sisteinil lökotrienler: Mast hücreleri ve eozinofiller tarafından salınan lökotrienler güçlü bir bronkokonstrüktör olup aynı zamanda plazma eksudasyonuna ve mukus sekresyonuna neden olurlar. Lökotrienler, inhibe edildiklerinde akciğer fonksiyonlarında ve astım semptomlarında iyileşme görülen tek mediyatör grubudur (56).

e. Nitrik oksit: Havayolu epitel hücrelerinde indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentaz ile üretilen güçlü bir vazodilatördür. Nefes havasında atılan NO astımda inflamasyon belirteci olarak tedavinin etkinliğini değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (4).

f. Prostaglandin D₂: Mast hücrelerinden köken alan bir bronkokonstrüktördür ve havayoluna Th2 göçünde rol oynamaktadır (1).

g. Nükleer faktör kappa B: Nükleer faktör kappa B (NF-κB), allerjik astım patogenezinde kritik rolü olan bir transkripsiyon faktörüdür. NF-κB ailesi beş ilişkili proteinden oluşmaktadır: p50, p52, RelA (p65), c-Rel, RelB. (57) Çeşitli uyaranlara maruz kalındığında havayolu epitel hücrelerinde NF-κB'nin bağlı bulunduğu IκB proteinleri, kappa B kinaz inhibitörü (IKKβ) ile fosforile olup yıkılmakta ve bu süreçte NF-κB aktifleşmektedir. NF-κB aktivasyonu ile granülosit makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF), CC kemokin ligand 20 (CCL20), IL-1, IL-2, IL-6, TNF-α gibi pro-inflamatuvar sitokinler, IL-8 ve eotaksin gibi kemokinler ve hücreler arası adhezyon molekülü (ICAM), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM), e-selektin gibi adhezyon moleküllerini kodlayan genlerin transkripsiyonel aktivasyonu gerçekleşmektedir (4,57). Solunum yolu epitelinin fonksiyonunun bozulması ile antijenler dendritik hücrelere daha kolay ulaşmakta, CCL20 ve GM-CSF ile dendritik hücre birikimi ve aktivasyonu artmakta, Th2 immun yanıtla havayolu yeniden yapılanması (remodeling) gerçekleşmektedir.

Astımda NF-κB yolağının aktif olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Orta- ağır derecedeki astımlı hastalarda NF-κB p65 ekspresyonunun ve NF-κB proteininin aktivasyonu

için gerekli IκB proteininin fosforilasyonunun (IKKβ yolu ile) arttığı saptanmıştır (5). Tedavi edilmemiş astımlı hastalardan alınan hücreler ile yapılmış çalışmalarda yine NF-κB p65 ve NF-κB p50 nin artmış olduğu gösterilmiştir (6). NF-κB p50'si olmayan farelerde yapılan çalışmalarda ise, aerolize allerjene karşı daha az eozinofilik infiltrasyon geliştiği görülmüştür. Bu etkinin Th2 sitokinleri IL-4, IL-13, IL-5 ve eotaksin üreten T hücrelerinin yokluğuna bağlı olduğu düşünülmüştür (7,8).

2.4.2. Astımda havayolunda görülen yapısal değişiklikler ve yeniden yapılanma

Astımda, havayolu inflamasyonuna ek olarak havayolunun yeniden yapılanması veya remodeling olarak tanımlanan bir takım karakteristik yapısal değişiklikler gerçekleşir. Bu değişiklikler, havayollarındaki inflamasyon sonucu oluşan hasarın tamir mekanizmalarından olmakla birlikte hastalığın şiddetinin artmasına ve geriye dönüşümsüz havayolu darlığına neden olabilir (58).

a. Subepitelyal fibrozis ve bazal membran kalınlaşması: Havayolu epitelindeki bazal membran kalınlaşması astımın karakteristik özelliklerinden biridir. Astımlı hastalarda bazal membran altında kollajen liflerin ve proteoglikanların birikimi sonucu gelişen subepitelyal fibrozis henüz semptomlar başlamadan bile saptanabilir. Epitel hücreleri, makrofajlar, eozinofiller, lenfositler ve fibroblastlar tarafından sentez edilen transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-β) ekstraselüler matriks oluşumunu stimüle eder. Bu sitokinin ekspresyonu subepitelyal fibrozis ile ilişkili bulunmuştur. Fibrozis havayollarının diğer tabakalarında da görülmektedir (1).

b. Havayolu düz kas tabakasında kalınlaşma: Düz kas hücrelerinin hipertrofisi ve hiperplazisi ile havayolunun kalınlığı ve havayolu düz kas yoğunluğu artar. Düz kas hücreleri çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri veya matriks proteinleri salgılayarak ve adezyon moleküllerini eksprese ederek havayolu remodelingini gerçekleştirmektedirler (59).

c. Vasküler proliferasyon: Vasküler endotelyal büyüme faktörü ile ilişkili olarak gelişen hava yolu damarlarındaki proliferasyon havayolu duvar kalınlığını arttıran bir faktördür (60).

d. Goblet hücre hiperplazisi: Hava yolu remodelinginin bir bulgusu da havayolu epitelindeki goblet hücre sayısındaki artış ve buna bağlı olarak aşırı mukus üretimidir. IL-4, IL-5, IL-9 ve

IL-13 gibi Th2 sitokinlerin goblet hücre metaplazisine neden olarak mukus sekresyonunu arttırdığı bilinmektedir (61).

2.4.3. Astımın Patofizyolojisi

Havayolu daralması astımdaki fizyolojik değişimler ve semptomlar ile yakından ilişkilidir. Havayolu daralmasına neden olan faktörler aşağıda belirtilmiştir:

a. Havayolu aşırı duyarlılığı: Havayolu aşırı duyarlılığı, astımın karakteristik fonksiyonel anormallığıdır. Astımlı hastada normal kişilerden farklı olarak çeşitli uyaranlara yanıt sonucunda havayollarında daralma gerçekleşir. Sonuçta değişken derecede havayolu akımında azalma ve semptomlar oluşur. Havayolu aşırı duyarlılığı inflamasyon ve havayolu tamir süreci ile yakından ilişkili olup, tedaviye kısmi olarak cevap verir (1).

b. Havayolunda düz kaslarda kontraksiyon: Bronkokonstrüktör mediyatörlere cevap olarak oluşur ve nörotransmitterler havayolunda daralmaya yol açar. Bu durum çoğu zaman bronkodilatörler ile düzelebilir (54).

c. Havayolu ödemi: Havayollarında inflamatuvar mediyatörlerin etkisiyle kapiller permeabilite artışı ve buna bağlı olarak da sekonder ödem gelişmektedir. Bu özellikle akut alevlenmeler sırasında havayolu daralmasına katkıda bulunmaktadır (1).

d. Havayolu duvar kalınlaşması: Remodeling süreci ile ilişkili olan hava yolu duvar kalınlaşması tedaviyle tamamen düzelmemektedir. Hastalığın şiddetini artıran bir faktördür (1).

e. Mukus hipersekresyonu: Mukus üretiminin artması ve havayollarındaki eksuda, mukus tıkaçları oluşumuna ve lümende obstrüksiyona neden olur (1).

2.5. Astım tanısı

2.5.1. Hikaye ve fizik muayene

Astım tanısı için genellikle anamnez, fizik muayene ve spirometrik testler yeterli olmaktadır. Hikayede tekrarlayan solunum sıkıntısı, öksürük atakları ve hışıltı yakınmaları astım tanısını düşündürmelidir. Semptomların allerjen, sigara ve iritanlar gibi tetikleyiciler ile artış göstermesi, gece yakınmalarının varlığı ve uygun astım tedavisine cevap astım tanısını desteklemektedir. Fizik muayene astımda tamamen normal olabilir. Atak dönemlerinde fizik muayenede sibilan ronküs ve hışıltı duyulabilirken, ciddi ataklarda takipne, siyanoz, uykuya eğilim, yardımcı solunum kaslarının solunuma katılması gibi solunum sıkıntısı bulguları gözlenebilir.

2.5.2. Tanısal testler

a. Solunum fonksiyon testleri

Spirometri, havayolu obstrüksiyonunu ve reverzibilitesini göstermesi nedeniyle astım tanısı koyabilmek için önerilmektedir. Spirometrik değerlendirmede, zorlu inspiryum ve zorlu ekspiryum manevraları ile 1.saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1), zorlu vital kapasite (FVC), tepe ekspiratuvar akım (PEF), FVC'nin %25, %50, %75 ve %25 ila %75'i arasındaki zorlu ekspiratuvar akım (FEF25, FEF50, FEF75, FEF25-75) parametreleri ölçülür ve aynı yaş ve boydaki sağlıklı kişilerin değerleri ile karşılaştırılır (62). FEV1/FVC oranının düşük olması ve bronkodilatör uygulanması sonrasında FEV1 değerinde %12'lik veya 200 ml'lik bir artış astımdaki geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonunu göstermesi açısından anlamlıdır. Spirometrik inceleme, güce bağlı olması ve kooperasyon gereksinimi nedeniyle beş yaş altı çocuklarda ve koopere olamayan kişilerde yapılamamaktadır (63).

Pefmetre ile yapılan PEF ölçümü de, astım tanısı ve izleminde kullanılabilir. Hasta kendi pefmetresini kullanarak yaptığı şikayetsiz dönemindeki en iyi ölçümü bazal değer olarak kaydeder. Aynı gün içinde sabah ve akşam ölçümlerinde PEF değerinin %20'den fazla değişmesi astımı düşündürmektedir. Yine semptomlu dönemde ölçülen PEF değerinin bazal değer ile kıyaslanması atak şiddeti hakkında fikir vermekte ve hastanın kendi astım kontrolünü yapabilmesine yardımcı olmaktadır (1).

b. Bronş provokasyon testleri

Astım ile uyumlu semptomları olup solunum fonksiyon testleri normal bulunan hastalarda astım tanısı için bronş provokasyon testlerinden yararlanılır. İn hale metakolin ve histamin havayolunu direkt olarak uyaran testler, mannitol ve egzersiz ise indirekt uyaran testler arasında sayılabilir. Bu testlerin astım tanısı için sensitivitesi yüksek ancak spesifitesi düşüktür (64).

c. Allerjen duyarlılığının belirlenmesi

Deri testleri IgE aracılı alerjen duyarlılığını göstermede en sık kullanılan testlerdir. Bu testlerde ticari olarak hazırlanmış allerjen ekstraktları ile birlikte pozitif kontrol olarak kullanılan histamin, negatif kontrol olarak %0,9 NaCl ön kol volar yüze veya sırtta uygulanır. Prik lansetler veya özel olarak bu amaçla hazırlanmış cihazlar kullanılarak allerjen deri içine iletilir. Kişinin duyarlı olduğu allerjenin bulunduğu bölgedeki mast hücrelerinin degranüle olması sonucunda kabarıklık, kızarıklık ve kaşıntı oluşur. Testin uygulanmasından 10-15 dakika sonra oluşan kabarıklığın çapı negatif kontrole göre en az 3 mm fazla ise test o allerjen için pozitif olarak kabul edilir.

Spesifik IgE ölçümü, özellikle deri testinin uygulanamadığı hastalarda kişinin duyarlı olduğu allerjenin saptanmasında kullanılır. Antihistaminiklerden etkilenmemesi avantaj olmakla birlikte sensitivite ve spesifitesinin azlığı, maliyetinin deri testlerinden daha fazla olması dezavantajlarıdır (65).

2.6. Astım tedavisi

Astım tedavisinde amaç klinik kontrolün sağlanması ve devam ettirilmesidir. Tedavide kullanılan ilaçlar, günlük olarak kullanılan ve antiinflamatuvar etkileri ile astımı kontrol altına alarak astıma bağlı morbiditeyi azaltan kontrol edici ilaçlar ve gereksinim oldukça kullanılan bronkospazmı düzelten rahatlatıcı ilaçlar olmak üzere iki grupta incelenmektedir.

2.6.1. Kontrol edici ilaçlar

a. *Inhale steroidler:* Günümüzde persistan astım tedavisinde kullanılan en etkin antiinflamatuvar ilaçlar inhale steroidlerdir. Astım semptomlarının azaltılması, astımda hayat kalitesinin arttırılması, akciğer fonksiyonlarının düzeltilmesi, havayolu aşırı duyarlılığının azaltılması, havayolu inflamasyonunun kontrol edilmesi, alevlenme ciddiyetinin ve sıklığının azaltılması ve astıma bağlı mortalitenin azaltılmasında etkinlikleri gösterilmiştir (66-70).

İnhale steroid kullanımı ile en sık görülen lokal yan etkiler orofarınjiyal kandidiyazis, disfoni ve irritasyona bağlı öksürüktür. Uzun dönem ve yüksek dozda inhale steroidler ile adrenal supresyon, kemik mineral yoğunluğunda azalma ve kolay morarma gibi yan etkiler görülebilmektedir (1).

b. *Lökotrien modifiye edici ilaçlar:* Lökotrien modifiye edici ilaçlar sistinil lökotrien reseptör antagonistleri (montelukast, pranlukast, zafirlukast) ve 5-lipooksijenaz inhibitörü zileuton olmak üzere iki grupta incelenir. Klinik çalışmalarda bu grup ilaçların az da olsa bronkodilatör etkilerinin olduğu, öksürük de dahil olmak üzere klinik semptomları azalttığı, akciğer fonksiyonlarını düzelttiği, havayolu inflamasyonu ve astım alevlenmelerini azalttığı gösterilmiştir (71,72). Lökotrien modifiye edici ilaçlar, hafif persistan astımlı çocuk ve erişkinlerde alternatif ilaç olarak kullanılabilir (73,74). Düşük doz inhale steroidler ile karşılaştırıldıklarında etkinliklerinin daha az olduğu bilinmektedir (1).

c. *Uzun etkili beta-2 agonistler:* Bu grupta formoterol ve salmeterol yer almaktadır. Bu ilaçlar hiçbir zaman astım tedavisinde monoterapi olarak kullanılmamalı, mutlaka inhale steroid ile kombine edilmelidir. Orta doz inhale steroidlere yanıt alınamayan hastalarda inhale steroidlere ek olarak uzun etkili beta-2 agonist eklenmesi tercih edilmelidir (1). Beş yaş altındaki çocuklarda kullanımı onaylanmamıştır (75).

d. *Teofilin:* Düşük dozlarda antiinflamatuvar etkinliği de olan bir bronkodilatördür. İlk basamak kontrol edici ajan olarak etkinliği çok azdır, ancak inhale steroid almakta olup kontrolün sağlanamadığı hastalarda seçilebilir (76,77).

e. *Kromonlar:* Bu grupta yer alan sodyum kromoglikat ve nedokromil sodyumun uzun dönem astım tedavisindeki yeri sınırlıdır (1). Hafif persistan astım ve egzersiz ilişkili bronkospazmda

etkinliđi bildirilmiř olmasına rađmen, antiinflamatuvar etkinliđi zayıftır ve dūřuk doz inhale kortikosteroide göre daha az etkin olduđu bilinmelidir (78).

f. *Anti-IgE*: Monoklonal IgE antikoru olan omalizumabın sadece IgE dūzeyi yūysek olan ađır allerjik astımlı hastalarda endikasyonu vardır (79).

g. *Sistemik Kortikosteroidler*: Uzun sūreli sistemik kortikosteroid tedavisi, ağır ve kontrol altına alınamayan astımda gerekli olabilmektedir ancak yūysek yan etki olasılığı kullanımını sınırlamaktadır. Çocuklarda sadece alevlenme dönemlerinde kısa sūreli kullanımı önerilmektedir (1).

2.6.2. Rahatlatıcı ilaçlar

Bronř dūz kasında gevřemeye neden olarak semptomları dūzeltirler. Kısa etkili beta-2 agonistler, sistemik glukokortikosteroidler, antikolinergik ajanlar, teofilin ve kısa etkili oral beta 2 agonistler bu grupta yer alan ilaçlardır (1). Kısa etkili inhale beta 2 agonistler en etkin bronkodilatör ajanlardır ve tūm yařlar için akut astım tedavisinde öncelikle önerilmektedir (1). Salbutamol ve terbutalin űlkemizde bulunan kısa etkili beta-2 agonistlerdir.

2.6.3. Allerjen spesifik immunoterapi

Astımda immunoterapi, allerjen maruziyeti ile semptomları oluşan, tek veya az sayıda allerjen duyarlılığı olan, uygun doz ve sūrede tedaviye rağmen yakınmaları devam eden veya tedaviye bağlı yan etkilerin ortaya çıktığı hastalarda başlanabilir. İmmunoterapide amaç, kişinin duyarlı olduğu allerjenlerin artan dozlarda verilerek zaman içinde allerjen spesifik T hūcre toleransını sağlamaktır. Allerjen spesifik immunoterapi subkutan ve sublingual yollarla uygulanabilmektedir (80).

2.6.4. Astımda kontrol kavramı ve kontrole dayalı tedavi yaklaşımı

Astım tedavisi uluslararası uzlaş raporları doğrultusunda yapılmaktadır ve bu raporlar arasında en çok kabul gören ve yaygın olarak kullanılan GINA (Global Initiative for Asthma)

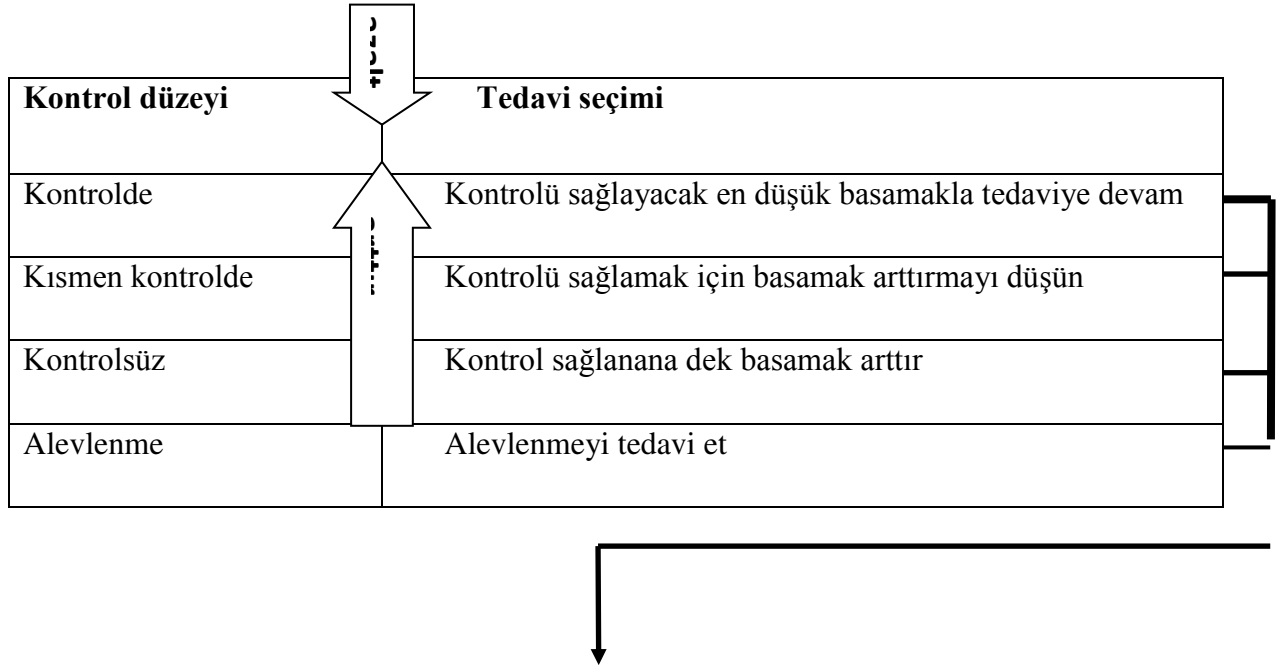
raporudur. Son yıllarda astım tedavisinde klinik kontrolün sağlanması ve sürdürülmesi amaçlanmakta ve tedavi stratejileri kontrol düzeyine göre belirlenmektedir. Hastanın astım kontrolünün değerlendirilmesi GINA’da belirtilen ve Tablo 1’de görülen kriterlere göre yapılabileceği gibi astım kontrol testi, astım kontrol anketi ve astım kontrol skorum sistemi gibi değerlendirmeler de kullanılabilmektedir (1,81-83).

GINA’da önerilen astım tedavisinde, 1. ve 5. basamak arasında etkinliği giderek artan tedavi seçenekleri bulunmaktadır (Tablo 2). Her basamak için hastaya öncelikle başlanması önerilen tedavi ve bunun alternatifi olabilecek ikinci bir tedavi yaklaşımı verilmiştir. Hastaya başlanan tedaviye 4-6 hafta devam edilir ve sonrasında hasta astım kontrolü açısından tekrar değerlendirilir. Eğer kontrol sağlanamazsa bir üst basamak tedaviye geçilir. Kontrol sağlanmışsa hasta kontrolün sağlandığı basamakta en az 3 ay izlenir ve sonra tedavi basamağı azaltılabilir. Her basamakta verilen tedavinin yanında gerektiğinde kullanmak üzere kısa etkili bronkodilatör önerilmektedir.

Tablo 1. Astımda kontrol düzeyini belirlemek için kullanılan kriterler

ASTIM KONTROL DÜZEYİ			
	KONTROLDE (Kriterlerin tümü)	KISMEN KONTROLDE (Kriterlerden biri)	KONTROLSÜZ
Gündüz semptomları	Yok (haftada iki veya daha az)	Haftada ikiden fazla	Üç veya daha fazla kısmi kontrollü astım özelliğinin bulunması
Aktivitelerde kısıtlılık	Yok	Var	
Gece semptomları	Yok	Var	
Rahatlatıcı tedavi ihtiyacı	Yok (haftada iki veya daha az)	Haftada ikiden fazla	
Solunum fonksiyon testleri (PEF veya FEV1)	Normal	< %80	

Tablo 2. Astımlı beş yaş üstündeki çocuklarda, adolesanlarda ve erişkinlerde kontrole dayalı tedavi yaklaşımı



Tedavi azalt

Tedavi artır

Tedavi basamakları

Basamak 1	Basamak 2	Basamak 3	Basamak 4	Basamak 5
Astım eğitimi				
Çevre kontrolü				
İhtiyaç olduğunda kısa etkili $\beta 2$ agonist kullanımı				
	Birini seç	Birini seç	Basamak 3'e bir veya fazlasını ekle	Basamak 4'e bir veya fazlasını ekle
	Düşük doz inhale steroid	Düşük doz inhale steroid +uzun etkili $\beta 2$ agonist	Orta veya yüksek doz inhale steroid +uzun etkili $\beta 2$	Oral kortikosteroid(En düşük doz)

Kontrol edici ilaç seçenekleri			<i>agonist</i>	
	Lökotrien modifiye edici ilaçlar	Orta-yüksek doz inhale steroid	Lökotrien modifiye edici ilaçlar	Anti Ig E
		Düşük doz inhale steroid+ Lökotrien modifiye edici ilaçlar	Teofilin	
		Düşük doz inhale steroid+ Teofilin		

Tercih edilen kontrol edici ilaçlar italik yazıyla gösterilmiştir.

2.7. Astımda tamamlayıcı ve alternatif tedaviler

Kronik seyirli pek çok hastalıkta medikal tedavinin dışında çeşitli alternatif yöntemlerin kullanıldığı görülmektedir. Dünya Sağlık örgütü verileri, toplumun %80'inin hastalıklardan korunma ve tedavi amacıyla alternatif yöntemlere başvurduklarını göstermektedir (84). Avrupa, Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya ve Yeni Zelanda'daki hastaların son yıllarda allerji, astım ve immünolojik hastalıkların tedavisinde alternatif uygulayıcılara yöneldikleri bildirilmektedir (85). Ülkemizde yapılan çalışmalarda erişkin astımlı hastalar arasında alternatif/tamamlayıcı tedavi kullanma oranı %50-%60 arasında (86,87) bulunmuştur. Çocukluk çağı astımında ise alternatif/tamamlayıcı tedavi kullanma oranı erişkinlere benzer şekilde %45-50 arasında bulunmuş, en sık kullanılan alternatif/tamamlayıcı tedavilerin bitkisel ilaçlar, bildircin yumurtası ve bal olduğu görülmüştür (88,89)

Bitkiler, homeopati, akupunktur, arı sütü, bal ve mağara tedavisi astımda en sık kullanılan alternatif tedavi yöntemleri arasında sayılabilir. Bitkisel ilaçların birçok çalışmada en fazla kullanılan alternatif/tamamlayıcı tedaviler arasında ilk sırada olduğu görülmektedir. Bitkiler biyolojik aktivitesi bulunan doğal kimyasal maddeler içermekte ve astımın da içinde bulunduğu birçok kronik hastalıkta kullanılmaktadır. Geleneksel Çin, Hint ve Japon tıbbında kullanılan ve astımda etkinlikleri üzerine çalışmaların olduğu bitkisel ilaçlardan bazıları *Ephedra sinica*, *Lobelia*, *Sanguinaria*, *Gingo biloba*, *Boswellia serrata*, *Atropa belladonna*, *Coleus forskohlii*, *Ling Zhi*, *Ku Shen* ve *Gan Cao*'dur (90, 91).

Astımda tamamlayıcı/alternatif tedavilerin bir kısmı ile az da olsa objektif düzelmeler gözlenirken, hastalığın algılanmasındaki değişikliğe bağlı olarak subjektif yararların daha belirgin olduğu düşünülmektedir (85). Ancak bu yöntemlerin etkinliğinin bilimsel olarak ortaya konabilmesi için iyi planlanmış klinik çalışmalara gereksinim vardır. Böylece gelecekte astım ve allerjik hastalıklarda medikal tedaviye katkısı olabilecek ek tedavi olasılıklarının ortaya konması ve hastaları bu tedavi yöntemlerinin riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek mümkün olacaktır (85).

2.8. *Tanacetum parthenium* (Feverfew; Gümüşdüğme)

Tanacetum parthenium (Feverfew; Gümüşdüğme) Asteraceae familyasında yer alan, Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da yetişen, yaprakları asırlardır ateş düşürücü olarak kullanıldığı için İngilizce'de 'feverfew' adında anılan bir bitkidir. İlk yüzyıldaki önde gelen

Yunan hekimlerinden biri olan Dioscorides'in *Tanacetum parthenium*'u tüm ateşli hastalıklar için önerdiği bilinmektedir. *Tanacetum parthenium*, 0.3-1 m uzunlukta, aromatik, tüylü yapraklara sahip, çiçekleri papatyayı (*Matricaria chamomilla*) andıran bir bitkidir (Resim 1).

Tanacetum parthenium yüzyıllar boyunca artrit, astım, kabızlık, dermatit, kulak ağrısı, ateş, baş ağrısı, inflamatuvar diğer durumlar, böcek ısırıkları, doğum, menstrual bozukluklar, psöriazis, spazmotik ağrılar, tinnitus ve vertigo gibi çok çeşitli durumlarda tedavi amaçlı kullanılmıştır. Bitkinin yaprakları tatlandırıldıktan sonra kuru veya taze olarak günde 2-3 adet olarak tüketilmektedir. Güçlü ve kalıcı kokusu nedeniyle evlerde havayı temizlemek ve böcekleri uzak tutmak için, böcek ısırıklarının tedavisinde ve opiyat zehirlenmelerinde antidot olarak da kullanıldığı bilinmektedir (92-94).



Resim 1. *Tanacetum parthenium*'un a. Genel görünümü b. Çiçekleri c. Yaprakları (94)

Kimyasal yapı

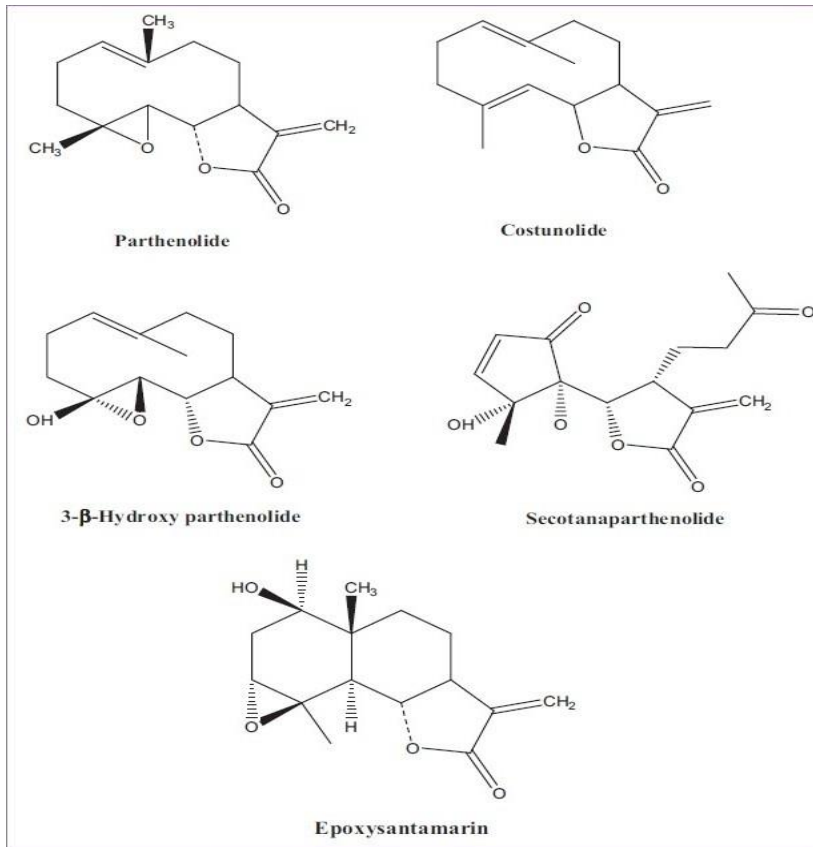
Seskiterpen laktonlar (SLs) Asteraceae familyasındaki bitkilerin aktif bileşenini oluştururlar. *Tanacetum parthenium* bitkisi içinde otuzdan fazla seskiterpen lakton bulunmaktadır (Şekil 1). Partenolit, *Tanacetum parthenium* bitkisinin yüzeyel yaprak salgısında bulunur ve bitkinin tüm seskiterpen içeriğinin %85'ini oluşturan en önemli bileşenidir. Flavanoidler ve uçucu yağlar *Tanacetum parthenium* içindeki diğer önemli maddelerdir.

Farmakoloji

Antiinflamatuvar aktivite: Partenolit, spesifik olarak I κ B kinaz kompleksi (IKK) β 'ye bağlanıp, bu kompleksin aktivitesini inhibe etmektedir. Normal şartlarda I κ B, IKK β ile fosforile olup yıkılmakta ve bu süreçte NF- κ B aktifleşmektedir. Aktif NF- κ B, TNF- α , IL-1, IL-6, IL-2 ve IL-8 salınımı, yabancı antijenler ve oksidatif stres ile ilişkilidir. Partenolit NF- κ B inhibisyonu yolu ile proinflamatuvar sitokin ilişkili sinyal iletimini etkilemekte ve antiinflamatuvar etkilerini göstermektedir. (95-97).

Tanacetum parthenium'un prostoglandin sentezini inhibe ettiği de gösterilmiştir. Partenolit ve lipofilik bir flavonoid olan tanetin bu etkiden sorumlu komponentler olduğu düşünülmektedir (94,98,99).

Partenolit aynı zamanda spesifik patojen ilişkili moleküler komponentleri tanıyarak aktifleşen inflamazomların inhibisyonu ile de ilişkili bulunmuştur. Çeşitli virüs, bakteri, dokuların nekrotik kalıntıları ile aktifleşen Nlrp3 inflamazomu, partenolit ile inhibe olmakta ve bu etkinin NF- κ B yolağından bağımsız olarak gerçekleştiği gösterilmiştir (100).



Şekil 1. *Tanacetum parthenium*'da bulunan seskiterpen laktonlar (94)

Vasküler düz kas ilişkili aktivite: *Tanacetum parthenium*'un kloroform yaprak ekstresinin tavşan aortasındaki kontraksiyon ve relaksasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyonun konsantrasyon bağımlı ve geri dönüşümsüz olduğu bilinmektedir. Tavşan ve sıçan çalışmalarında *Tanacetum parthenium*'un düz kas spazmını, potasyum kanallarının açılmasını inhibe ederek engellediği sonucuna varılmıştır (101,102).

Trombosit ilişkili aktivite: *Tanacetum parthenium* ekstraktının hücre içi ve hücre dışındaki sülfhidril gruplarını nötralize ederek trombosit serotonin (5-HT) sekresyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (94). Bu etki genellikle seskiterpen ilişkili olup, trombositin yanı sıra polimorfonükleer lökositlerden de serotonin salınımı inhibe edilmektedir (95,103,104).

Histamin salınımının inhibisyonu: *Tanacetum parthenium*'un kloroform ekstresinin sıçan periton mast hücrelerinden histamin salınımını engellediği gösterilmiştir (94). Bu etkinin mast hücrelerine kalsiyum girişinin sağlanması ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (105).

Kemoterapötik aktivite: Partenolitin gram pozitif bakterilerin, küf ve bazı mantarların büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir (103).

Antikanser aktivite: *Tanacetum parthenium*'un, lakton halkası epoksit ile DNA replikasyonunu engellediği, partenolit ile DNA içine timidinin entegrasyonunu inhibe ettiği ve oksidatif stres, intraselüler tiyol deplesyonu, endoplazmik retikulum stresi ve mitokondriyal disfonksiyon ilişkili sitotoksik aktiviteler ile antikanser aktivitelerini gösterdiği bilinmektedir (103,106-110).

Partenolitin insan fibroblast, insan larinks karsinomu gibi bazı kanser hücre dizilerinde antikanser aktivite gösterdiği, antineoplastik bir ilaç olan paklitakselin etkinliğini arttırabileceği belirtilmektedir (108-110).

Antimigren aktivite: *Tanacetum parthenium*'un migren baş ağrıları üzerine olan etkisinin prostaglandin sentez inhibisyonu, vasküler düz kas spazmını azaltıcı ve trombosit granül sekresyonunu inhibe edici etkiler ile gerçekleştirdiği düşünülmektedir (94).

Klinik veriler

Tanacetum parthenium'un migren profilaksisinde kullanımı ile ilgili ilk bilimsel çalışma 1985 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada aktif bitki ile plasebo alan hastalar karşılaştırılmış, her iki grupta başağrısı insidansı benzer olmakla birlikte, çalışma süresinde plaseboya geçenlerde üç kat daha fazla başağrısı gözlenmiştir (111). Takip eden yıllarda yapılan çalışmalarda ise *Tanacetum parthenium*'un bulantı ve kusma yakınmalarını azalttığı, klasik migren dışında küme başağrısı, premenstural, menstural ve diğer tip başağrıları için de olumlu etkilerinin olabileceğine dair veriler yayınlanmıştır (112,113).

Çok merkezli çift kör plasebo kontrollü randomize yapılan 147 hastalık ilk çalışmada *Tanacetum parthenium* alan ve almayan hastaların migren atak sayısı, şiddeti ve migrenli gün sayısı açısından farkı olmadığı görülmüş, herhangi bir doz-etki ilişkisi de gösterilememiştir (114). 2004 yılındaki bir metaanalizde beş randomize ve plasebo kontrollü çift kör çalışma değerlendirilmiş, bu çalışmaların sonucunda *Tanacetum parthenium*'un plaseboya göre daha etkin olduğuna dair yeterli kanıt elde edilememiştir (115).

Tanacetum parthenium bitki ekstrelerinin inflamasyonlu eklemde ve deriden enzim salınımını inhibe ettiği ve bu etkinin de psöriazis ve artritdeki kullanımının mantığını oluşturduğu düşünülmektedir. *Tanacetum parthenium*'un romatoid artrit üzerine etkisi çift kör randomize plasebo kontrollü bir çalışmada araştırılmış, aktif bitki alan grupta test edilen 15 parametrenin sadece birinde iyileşme gözlenmiştir (116). Romatoid artritde sinoviyal fibroblastların ICAM 1'i ekprese ettikleri ve partenolitin sinoviyal fibroblastlarındaki ICAM-1 ekspresyonunu IL-1, TNF- α ve interferon- γ sitokinleri ile inhibe ettiği gösterilmiştir (117,118).

Tanacetum parthenium ekstrelerinin geleneksel olarak astımda kullanıldığı bilinmekle birlikte, astımlı hastalarda veya hayvan çalışmalarında *Tanacetum parthenium* kullanımı ile ilgili bir literatür bulunmamaktadır. Partenolit ile deneysel kistik fibrozis hücrelerinde aktif NF- κ B ve disregüle olan çeşitli protein kinazların inhibe edildiği ve sonuçta IL-8 ilişkili inflamasyonun azaldığı gösterilmiştir (119,120).

Tanacetum parthenium ekstreleri taze, dondurulmuş ve kurutulmuş olarak kapsül, tablet ve sıvı ekstreleri şeklinde bulunabilmektedir. Bitki ekstrelerindeki partenolit miktarının en az %0.2 partenolit bulunacak şekilde standardize edilmesi gerekmektedir (94).

Kanada Sağlık Koruma Birimi, İngiliz feverfew (*T. parthenium*) bitkisi için ilaç identifikasyon numarası (DIN) vererek migren profilaksisi için reçete ilacı dışı kapsamda satışına izin vermiştir (94). Birim, migren profilaksisi için en az % 0.2 partenolit içeren kuru bitki ekstresinden günlük 125 mg önermiştir. Erişkinlerde migren başağrıları için standardize ekstrelerden günde 4 kez 100-300 mg tüketilmesi atak ve profilaktik tedavi için kullanılabilmektedir. İki yaşın altındaki çocuklarda kullanılması uygun değildir.

Yan etkiler

Tanacetum parthenium ekstresini uzun süre alan hastalarda ciddi bir yan etki gözlenmemiştir. Plasebo kontrollü bir çalışmada uzun dönem aktif ekstre kullanmakta iken bunu bırakıp plaseboya geçen hastalarda başağrısı, uykusuzluk, sinirlilik, yorgunluk, eklem ağrısı, kas ve eklem katılığı gibi etkiler görüldüğü bildirilmiştir (111,121). *Tanacetum parthenium* ekstresini kullanan daha geniş hasta serilerinde ise %18 gibi beklenmeyen etki görüldüğü, en önemlilerden birinin ağızda ülserasyon (%11) olduğu, dudakta şişlik ve tad alamama gibi etkilerin de görülebileceği belirtilmektedir (105,122,123)

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

Çalışma için 6-8 haftalık 20-25 gr ağırlığında 35 adet dişi BALB/c fare kullanıldı. Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Laboratuvarlarından elde edilen farelere çalışma boyunca aynı bölüm laboratuvarlarında bakıldı. Fareler, klimalı odalarda bulunan hijyenik makrolen kafesler içerisinde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda muhafaza edildi ve *ad libitum* olarak beslendi.

Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 14.06.2010 tarihinde 35/2010 protokol numarası ile onay alındı.

3.2. Çalışma Grupları

Çalışmaya dahil edilen 35 adet BALB/c fare, yedişer fareden oluşan beş gruba ayrıldı.

Grup I: Oda havasında bulunan ve astım modeli oluşturulmayan kontrol grubu

Grup II: Astım modeli oluşturularak partenolitin çözücüsünün verildiği plasebo grubu

Grup III: Astım modeli oluşturularak 1 mg/kg deksametazon tedavisi verilen grup

Grup IV: Astım modeli oluşturularak 3 µg/g partenolit tedavisi verilen grup

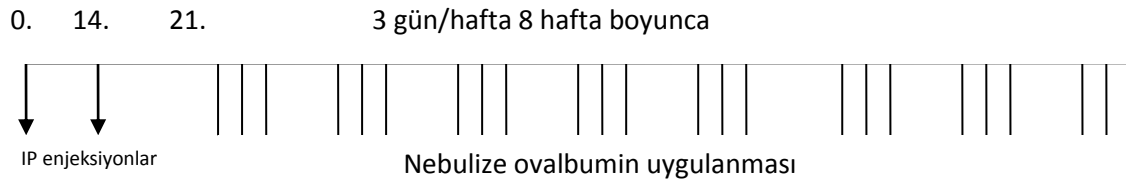
Grup V: Astım modeli oluşturulan ve 3 µg/g partenolit tedavisi ve 1 mg/kg deksametazon tedavisi verilen grup

3.3. Astım Modelinin Oluşturulması

BALB/c fareler, ovalbumine yüksek IgE yanıtı verdikleri için tercih edildi ve Temelkovski ve ark'ları tarafından tanımlanan kronik astım fare modeli kullanıldı (124,125). Kontrol grubu dışında bulunan Grup II, Grup III, Grup IV ve Grup V'teki tüm farelere, çalışmanın 0. ve 14. günlerinde 10 µg/0,1 ml tavuk yumurtası ovalbumini (OVA; Grade V, Sigma, St Louis, Missouri, USA) adjuvan olarak kullanılan alum ile birlikte intraperitoneal

(IP) yolla uygulandı. Bu farelere, son immunizasyondan yedi gün sonra (21. günde) başlamak üzere, günde 30 dakika süre ile haftanın üç günü sekiz hafta boyunca steril salin içerisinde % 2.5'lik OVA solusyonundan oluşan aerosol inhale ettirildi (125). İnhalasyon uygulamaları tüm vücut inhalasyon sistemi ile yapıldı. Isı 20-25°C, relatif nem ise % 40-60 olacak şekilde ayarlandı. Normal salin içerisindeki % 2.5'lik OVA solüsyonu, sıkıştırılmış havanın jet nebulizatöre verilmesi yöntemi ile inhale ettirildi.

Kontrol grubundaki farelere ise 0. ve 14. günlerde % 0,9 NaCl 0,1 ml intraperitoneal olarak verildi. Sonrasında 21. günden başlanarak 8 hafta boyunca, haftada 3 gün, 30 dakika süreyle % 0,9 NaCl solüsyonunun nebulizasyonu tüm vücut inhalasyonu yoluyla uygulandı. Şekil 2'de oluşturulan astım modelinin şeması görülmektedir.



Şekil.2. Astım modelinin şematik görünümü

3.4. Çalışma ilaçlarının uygulanması

Ovalbumin inhalasyonunun son haftasında, plasebo grubundaki farelere partenolitin çözücüsü olan dimetil sülfoksit (DMSO) 50 µL dozunda, grup III'deki farelere deksametazon 1 mg/kg/gün, grup IV'deki farelere partenolit (Calbiochem, Merck Millipore, Darmstadt, Germany) 3 µg/g dozunda, grup V'deki farelere deksametazon 1 mg/kg ve partenolit 3 µg/g, 5 gün boyunca, günde tek doz olarak intraperitoneal yolla uygulandı.

Uygulanan partenolit 3 µg/g, deksametazon 1 mg/kg ve DMSO 50 µL dozları daha önce farelerde yapılan çalışmalardan alındı (120,126,127). Partenolit üretici firmanın önerilerine uygun olarak DMSO ile çözülerek uygulandı.

3.5. Hayvan Yaşamını Sonlandırma Zamanı Ve Yöntemi

Son çalışma ilacının uygulanmasından 24 saat sonra fareler toksik doz ketamin uygulanarak sakrifiye edildi.

3.6. Histolojik incelemeler

3.6.1. Işık mikroskopisi için doku takip protokolü

Tüm deneklerin sol akciğer orta zonundan alınan doku örnekleri tedavi gruplarını bilmeyen iki araştırmacı tarafından incelendi. Akciğer dokuları %10' luk tamponlanmış nötral formalin içerisinde üç gün süreyle tespit edilerek rutin doku takip işlemi başlatıldı. Tespit maddesinin uzaklaştırılması için bir gece akar su altında yıkandıktan sonra, 60°C de etüvde 20' şer dakika sırasıyla %70, %80, %96 artan etil alkol serilerinden geçirildi. Daha sonra 60°C'de etüvde 20' şer dakika dört değişim asetonda dehidrate edildi. Şeffaflandırma amacıyla 60°C'de etüvde 30' ar dakika iki kez ksilolde bekletildi. 60°C' lik etüvde iki değişim halinde birer saat parafin ile immersiyonu sağlanarak parafin bloklar içerisine gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica, Germany) aracılığı ile 5 µm'lik kesitler alındı.

Her deneğe ait kesitler dokunun genel histomorfolojik özelliklerini değerlendirmek için hematoxilen-eosin (HE), toluidin mavisi ve periodik asit schiff (PAS) ile boyandı.

Histolojik Ölçümler

Epitel kalınlığı, orta ve küçük havayollarında subepitelyal düz kas tabakasının kalınlığı ölçümü ve genel doku özelliklerinin değerlendirilmesi HE ile boyanan kesitlerden yapıldı. Epitel ve subepitelyal düz kas tabakasının kalınlığını değerlendirmek amacıyla her havayolunda saat 3, 6, 9, 12 hizasından olmak üzere dört ölçüm yapıldı. Her kesitten iki veya üç havayolu olmak üzere, her hayvanın yaklaşık 20 havayolu değerlendirildi. Örneklerden alınan 10 kesit toluidin mavisi, 10 kesit PAS ile boyandı. Toluidin mavisi ile boyalı her kesitten rastgele 5 alanın fotomikrografi çekildi. Mast hücre sayımı için, 20000 µm² alana

sahip transparan bir sayım çerçevesi kullanılarak, fare başına her fotoğraftan sekiz alan incelendi. Goblet hücre sayımı için, PAS ile boyalı örneklerde fare başına 10 kesit sayıldı. Her kesitte rastgele seçilmiş üç-beş havayolu fotoğraflandı. Tüm havayollarının çapı ölçüldü ve goblet hücre sayıları kaydedildi. Standardize olması için $100 \mu\text{m}^2$ içindeki goblet hücreleri sayıldı, havayolu çapının total uzunluğuna bölündü, bu sayının 100 ile çarpılması ile goblet hücre sayısı elde edildi.

Görüntü Analiz Metodu

Kesitlerden elde edilen görüntülerin incelenmesinde bilgisayarlı video kamera esaslı görüntü analiz yöntemi kullanıldı (UTHSC Image software). Tüm kesitler (her doku için en az 4 kesit) analize edilecek; sadece boyamaya bağlı belirgin artefaktları olan kesitler değerlendirme dışı tutuldu. Boyama tamamlandıktan sonra kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX-51 Tokyo, Japan) incelenerek, görüntüler yüksek çözünürlüğe sahip kamera yardımıyla bilgisayara aktarıldı (Olympus DP-71, Japan). Bütün kesitler dijital olarak fotoğraflandı.

3.6.2. Elektron mikroskopisi için doku takip protokolü

Dokular %2,5'luk gluteraldehit içinde 48 saat bekletilerek fikse edildi. Rutin takip aşamaları için Sorenson tampon fosfat buffer ile yıkanarak, PBS ve osmium tetraoksit solüsyonu karışımında bekletildikten sonra dehidratasyon işlemi yapıldı. Dokular öncelikle 1:1 oranında propilen oksit ve araldit karışımına alınarak bir saat oda sıcaklığında, daha sonra da saf araldit içine alınarak 6–12 saat oda ısısında bekletildikten sonra araldit ile kapsüllere gömüldü. Kırk sekiz saat 65°C ' lik etüvde polimerizasyon için bekletildi.

Daha sonra 1μ kalınlığında yarı ince kesitler alınarak Toluidin blue ile boyandı. Gridlere alınan ince kesitler ise uranil asetat ve kurşun sitratla kontrastlandıktan sonra transmisyon elektron mikroskopunda (Carl Zeiss Libra 120) değerlendirildi. Elektron mikroskopa bağlı Trondle (2048×2048 pixel) digital kamera ile her fare için 8-10 bölgenin fotoğrafı çekildi. Solunum yolu bazal membranının ölçümü için her preparatta birbirinden eşit uzaklıktaki 20 noktadan ölçüm yapıldı ve veriler kaydedildi.

3.7. Akciğer dokusunda IL-4 ve IL-5 ölçümü

Sakrifiye edilen farelerin sağ akciğer üst lobundan alınan örnekler 2 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı ve -80 °C'da çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü -80 °C'dan çıkarılan dokular +4 °C'da çözöldü. Buz üzerine alınan ve tartılan örnekler (60-80 gr) fosfat tamponlu serum fizyolojik solüsyonu (PBS) içinde 5 ml paslanmaz çelik boncuk, 0.1% SDS, proteaz inhibitör kokteyl (Sigma Aldrich, StLouis, MO) ve 0.1 mg/ml fenilmetansülfonilflorid (PMSF) bulunan tüplere alındı. Mikrosantrifüj tüpleri önceden soğutulmuş Tissuelyser LT raklarına alınıp Tissuelyser (Qiagen, Germany) doku homojenizasyon cihazına yerleştirildi. Frekans 50, zaman ise 5 dakika olarak ayarlandı. Homojenatlar 4 °C'da 15000 g de 1 saat santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlardan IL-4 ve IL-5 düzeyleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda ELISA yöntemi (Bender MedSystems, MedSystems Diagnostics GmbH, Vienna, Australia) ile çalışıldı. Kitlerin hassasiyeti IL-4 için 2.0 pg/ml, IL-5 için ise 3.3 pg/ml idi.

3.8. İstatistiksel analiz

İstatistik analiz için SPSS 15 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, Amerika Birleşik Devletleri) kullanıldı. Veriler ortalama (ort) $\pm$ standart sapma (SD) şeklinde verildi. Çoklu gruplar arasındaki karşılaştırmalarda normal dağılım gösteren veriler için Bonferonni düzeltmeli tek yönlü ANOVA testi (tek yönlü varyans analizi) kullanıldı. IL-4 ve IL-5 ölçümlerinde çoklu grup karşılaştırmaları için Kruskal Wallis, ikili grup karşılaştırmaları için Mann Whitney testi kullanıldı. $p < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma sonunda, her grupta yedi fare olmak üzere toplam 35 farenin verileri incelendi. Kontrol grubu (Grup I), plasebo grubu (Grup II), deksametazon grubu (Grup III), partenolit grubu (Grup IV), partenolit ve deksametazon grubunun (Grup V) histolojik verileri Tablo 3’de verilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir.

Tablo 3. Tüm grupların histolojik verileri

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	GrupV
	Kontrol grubu (Ort $\pm$ SD)	Plasebo Grubu (Ort $\pm$ SD)	Deksametazon Grubu (Ort $\pm$ SD)	Partenolit Grubu (Ort $\pm$ SD)	Deksametazon & partenolit grubu (Ort $\pm$ SD)
Bazal membran kalınlığı (nm)	322.94 $\pm$ 16.15	653.83 $\pm$ 18.36	508.89 $\pm$ 11.61	553.93 $\pm$ 15.86	511.02 $\pm$ 10.99
Subepitelyal düz kas kalınlığı (μm)	3.40 $\pm$ 0.05	8.93 $\pm$ 0.12	3.75 $\pm$ 0.06	5.5 $\pm$ 0.13	3.68 $\pm$ 0.15
Epitel yüksekliği (μm)	11.55 $\pm$ 0.18	24.69 $\pm$ 0.31	12.96 $\pm$ 0.12	17.6 $\pm$ 0.17	13.88 $\pm$ 0.16
Goblet hücre sayısı/ 100 (μm)	0.5 $\pm$ 0.04	2.45 $\pm$ 0.05	0.96 $\pm$ 0.07	2.21 $\pm$ 0.06	1.41 $\pm$ 0.08
Mast hücre sayısı/ 20000 (μm²)	0.4 $\pm$ 0.02	2.44 $\pm$ 0.05	1.17 $\pm$ 0.04	2.15 $\pm$ 0.11	1.3 $\pm$ 0.09

Kontrol grubu (Grup I) ile plasebo grubunun (Grup II) histolojik verileri karşılaştırıldığında; plasebo grubunun bazal membran kalınlığı ($p=0.000$), subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı ($p=0.000$), epitel yüksekliği ($p=0.000$), goblet hücre sayısı ($p=0.000$) ve mast hücre sayısının ($p=0.000$) anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar astım modelinin çalışma grubundaki farelerde başarı ile oluşturulduğunu göstermiştir. Tablo 4’de her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (ortalama $\pm$ standart sapma) ve p değerleri gösterilmiştir.

Tablo 4. Grup I ve Grup II’nin histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Grup I (kontrol)	Grup II (plasebo)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	322.94 $\pm$ 16.15*	653.83 $\pm$ 18.36	0.000
Subepitelyal düz kas kalınlığı (μm)	3.40 $\pm$ 0.05*	8.93 $\pm$ 0.12	0.000
Epitel yüksekliği (μm)	11.55 $\pm$ 0.18*	24.69 $\pm$ 0.31	0.000
Goblet hücre sayısı/ 100 (μm)	0.50 $\pm$ 0.04*	2.45 $\pm$ 0.05	0.000
Mast hücre sayısı/ 20000 (μm^2)	0.40 $\pm$ 0.02*	2.44 $\pm$ 0.05	0.000

Astım tedavisi olarak deksametazonun verildiği Grup III ile plasebo grubunun histolojik parametreleri karşılaştırıldığında; bazal membran kalınlığı ($p=0.000$), subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı ($p=0.000$), epitel yüksekliği ($p=0.000$), goblet hücre sayısı ($p=0.000$) ve mast hücre sayısını ($p=0.000$) içeren tüm parametrelerin deksametazon verilen grupta daha iyi olduğu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Her iki grubun

karşılaştırılan parametreleri (ortalama $\pm$ standart sapma) ve p değerleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Grup II ve grup III’ün histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Grup II (plasebo)	Grup III (deksametazon)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	653.83 $\pm$ 18.36	508.89 $\pm$ 11.61	0.000
Subepiteliyal düz kas kalınlığı (μm)	8.93 $\pm$ 0.12	3.75 $\pm$ 0.06	0.000
Epitel yüksekliği (μm)	24.69 $\pm$ 0.31	12.96 $\pm$ 0.12	0.000
Goblet hücre sayısı/ 100 (μm)	2.45 $\pm$ 0.05	0.96 $\pm$ 0.07	0.000
Mast hücre sayısı/ 20000 (μm²)	2.44 $\pm$ 0.05	1.17 $\pm$ 0.04	0.000

Partenolit tedavisi verilen Grup IV ile plasebo grubunun histolojik verileri karşılaştırıldığında, partenolit uygulanan grupta tüm parametrelerde düzelme olmakla birlikte bazal membran kalınlığı (p=0.001), subepiteliyal düz kas kalınlığı (p=0.000) ve epitel yüksekliği için her iki grup arasındaki (p=0.000) fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş, goblet hücre sayısı (p=0.128) ve mast hücre sayıları arasındaki (p=0.058) fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (ortalama, $\pm$ standart sapma) ve p değerleri Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. Grup II ile Grup IV'ün histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup II (plasebo)	Grup IV (partenolit)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	653.83±18.36	553.93±15.86	0.001
Subepitelyal düz kas kalınlığı (µm)	8.93±0.12	5.5 ± 0.13	0.000
Epitel yüksekliği (µm)	24.69±0.31	17.6 ± 0.17	0.000
Goblet hücre sayısı/ 100 (µm)	2.45±0.05	2.21 ± 0.06	0.128
Mast hücre sayısı/ 20000 (µm²)	2.44±0.05	2.15 ± 0.11	0.058

Partenolit tedavisi ile birlikte deksametazon tedavisi verilen Grup V ile plasebo grubunun histolojik parametreleri karşılaştırıldığında Grup V'de tüm histolojik parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir düzelme saptanmıştır. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (ortalama ± standart sapma) ve p değerleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7. Grup II ve Grup V'in histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup II (plasebo)	Grup V (deksametazon ve partenolit)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	653.83±18.36	511.02±10.99	0.000
Subepitelyal düz kas kalınlığı (µm)	8.93±0.12	3.68 ± 0.15	0.000
Epitel yüksekliği (µm)	24.69±0.31	13.88± 0.16	0.000
Goblet hücre sayısı/ 100 (µm)	2.45±0.05	1.41 ± 0.08	0.000
Mast hücre sayısı/ 20000 (µm²)	2.44±0.05	1.3± 0.09	0.000

Deksametazon tedavisi verilen Grup III ile partenolit tedavisi verilen Grup IV'ün verileri ile karşılaştırıldığında deksametazon grubunun subepitelyal düz kas kalınlığı ($p=0.000$), epitel yüksekliği ($p=0.000$) ve goblet hücre sayılarının ($p=0.000$) anlamlı olarak daha az olduğu, bazal membran kalınlığı ($p=0.329$) ve mast hücre sayısının ($p=1.000$) ise her iki grupta benzer olduğu görülmüştür (Tablo 8).

Tablo 8. Grup III ve Grup IV'in histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

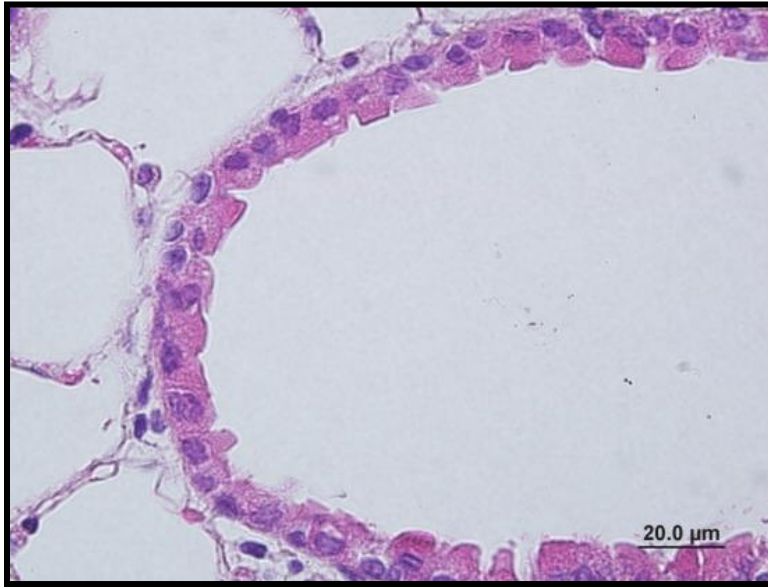
	Grup III (deksametazon)	Grup IV (partenolit)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	508.89±11.61	553.93±15.86	0.329
Subepitelyal düz kas kalınlığı (µm)	3.75 ± 0.06	5.5 ± 0.13	0.000
Epitel yüksekliği (µm)	12.96 ± 0.12	17.6 ± 0.17	0.000
Goblet hücre sayısı/ 100 (µm)	0.96 ± 0.07	2.21 ± 0.06	0.000
Mast hücre sayısı/ 20000 (µm²)	1.17 ± 0.04	2.15 ± 0.11	1.000

Deksametazon uygulanan Grup III ile deksametazon ile partenolit tedavisini birlikte alan Grup V'in verileri karşılaştırıldığında bazal membran kalınlığı ($p=1.000$), subepitelyal düz kas kalınlığı ($p=1.000$) ve mast hücre sayısının ($p=1.000$) her iki grupta benzer olduğu, epitel yüksekliği ($p=0.03$) ve goblet hücre sayısının ($p=0.000$) ise deksametazon grubunda daha az olduğu görülmüştür. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (ortalama, ± standart sapma) ve p değerleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

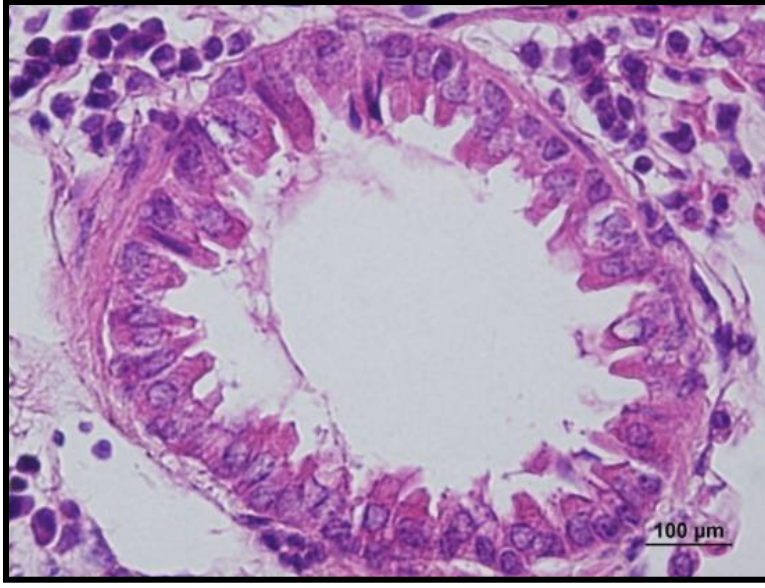
Tablo 9. Grup III ve Grup V'in histolojik parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup III (deksametazon)	Grup V (deksametazon ve partenolit)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	508.89±11.61	511.02±10.99	1.000
Subepitelyal düz kas kalınlığı (µm)	3.75 ± 0.06	3.68 ± 0.15	1.000
Epitel yüksekliği (µm)	12.96 ± 0.12	13.88± 0.16	0.03
Goblet hücre sayısı/ 100 (µm)	0.96 ± 0.07	1.41 ± 0.08	0.000
Mast hücre sayısı/ 20000 (µm²)	1.17 ± 0.04	1.3± 0.09	1.000

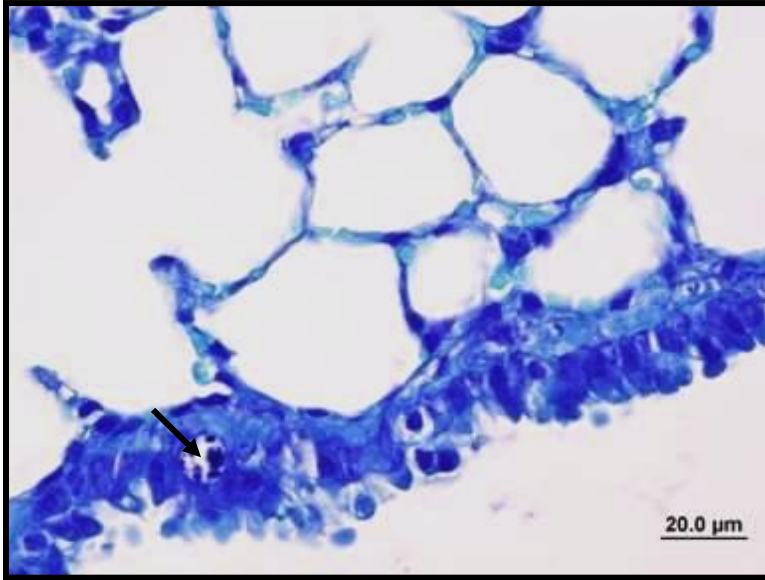
Tüm grupların ışık ve elektron mikroskopik görünimleri aşağıda verilmiştir (Resim 2-21)



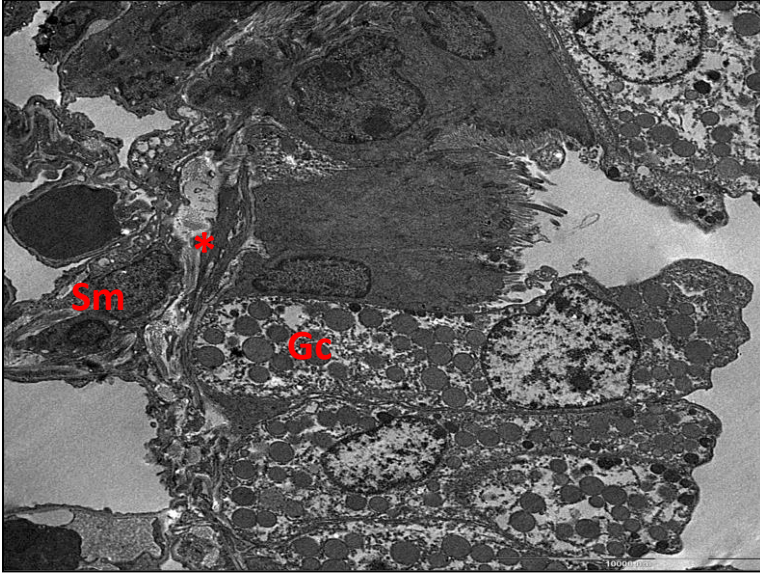
Resim 2. Kontrol grubunun (Grup I) HE boyalı akciğer kesitleri. Bronşiyol yapıları ve parankim olağan görünümündedir. Epitel yüksekliği normal, subepitelyal düz kaslar ince bir tabaka halinde gözlenmektedir.



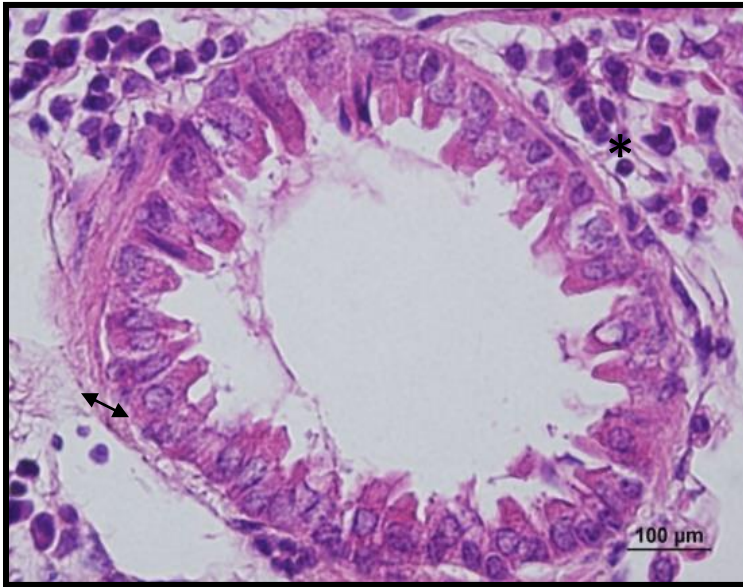
Resim 3. Kontrol grubunun (Grup II) PAS boyalı akciğer kesitleri: Goblet hücreleri minimal sayıda izlenmekte bazı bronşiyol kesitlerinde ise görülmemektedir.



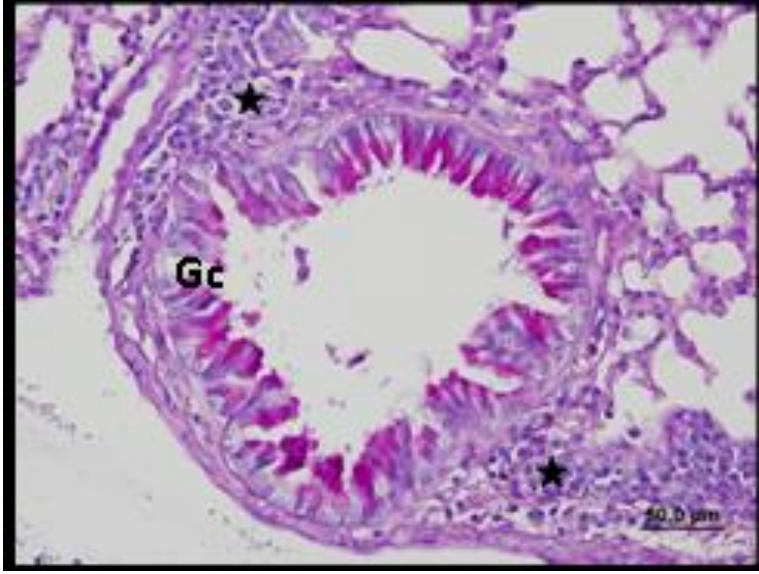
Resim 4. Kontrol grubunun (Grup I) toluidin mavisi boyalı akciğer kesitleri: Mast hücresi (siyah ok) akciğer parankiminde normal sayıda izlenmektedir.



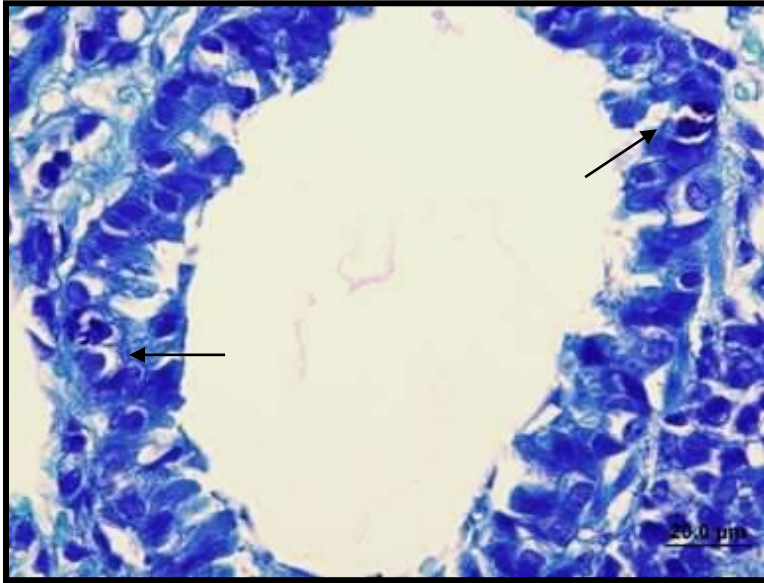
Resim 5. Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitlerinin EM görünümü: Subepitelyal düz kas kalınlığı olağan (Sm) ve goblet hücreleri (Gc) sağlıklı olarak izlenmektedir. Bazal membran (*) incedir.



Resim 6. Plasebo grubunun (Grup II) HE boyalı akciğer kesitleri: Epitel boyu kontrol grubuna göre daha yüksek görünmektedir. Düz kas tabakası kalınlaşmıştır (çift yönlü ok) ve peribronşiyal alanlarda yaygın mononükleer infiltrasyon (*) mevcuttur.



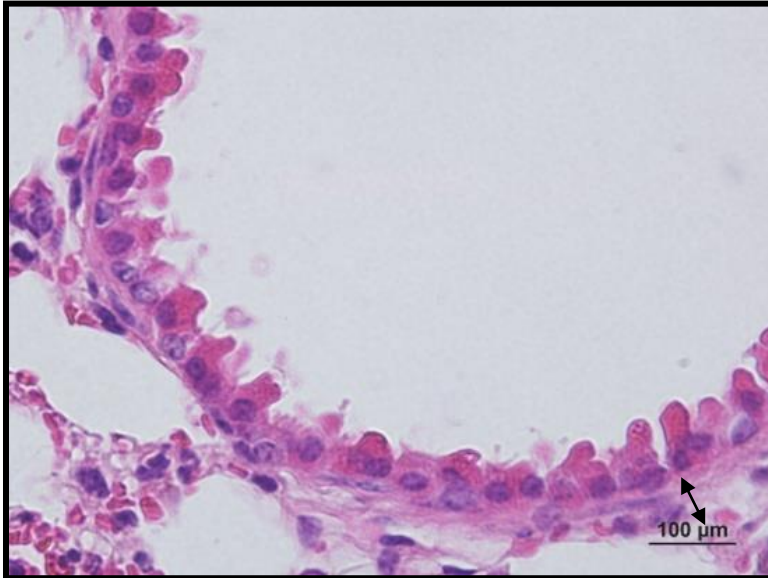
Resim 7. Plasebo grubunun (Grup II) PAS boyalı akciğer kesitleri: Goblet hücreleri artmış olarak izlenmektedir (Gc). Peribronşiyal alanda yaygın mononükleer infiltrasyon (*) görülmektedir.



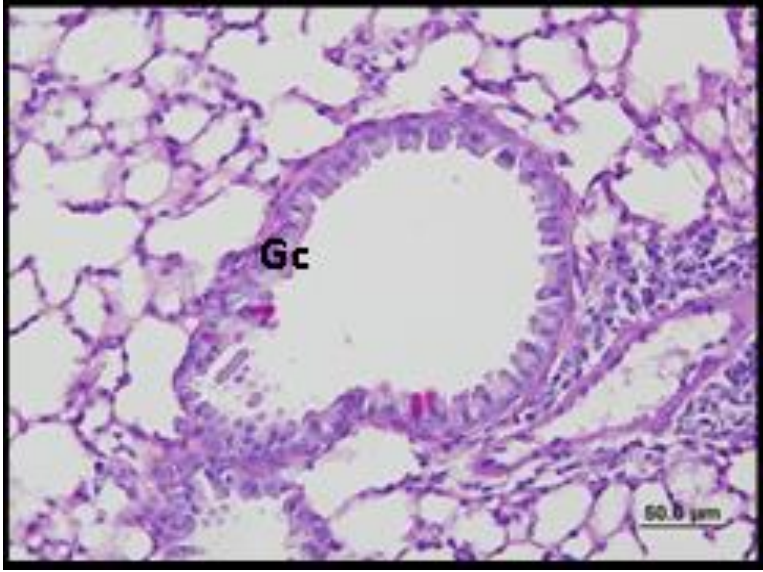
Resim 8. Plasebo grubunun (Grup II)'nin toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri: Mast hücreleri (siyah ok) artmış olarak izlenmektedir.



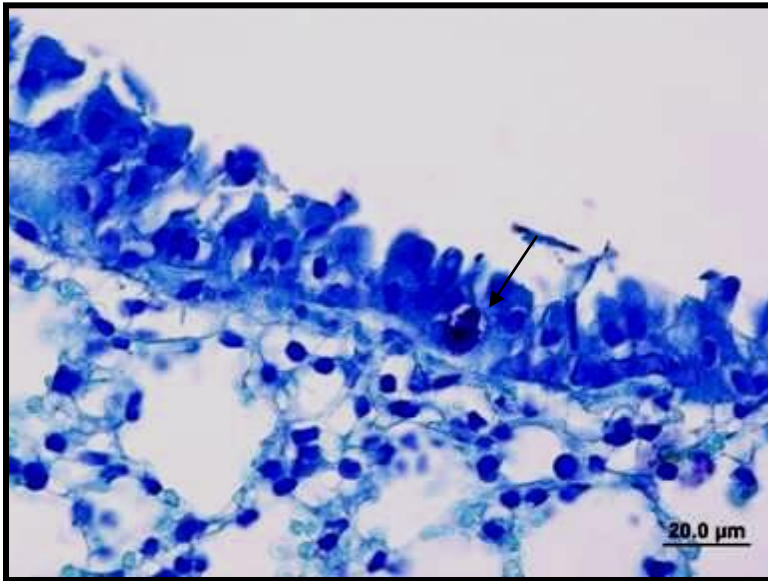
Resim 9. Plasebo grubunun (Grup II) akciğer kesitlerinin EM görünümü: Bazal membran (*) kalınlaşmış, goblet hücreleri (Gc) artmış, subepitelyal düz kas kalınlığı (Sm) artmış olarak izlenmektedir. Epitel hücrelerinin boyu artmıştır.



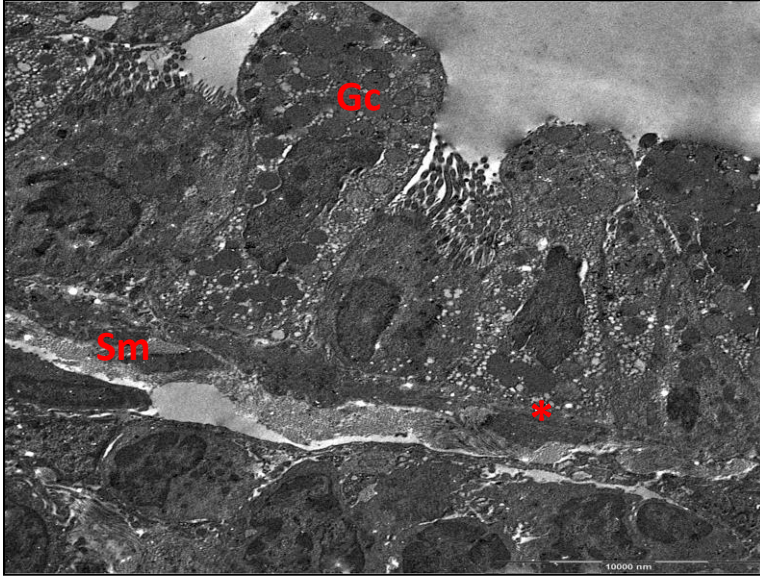
Resim 10. Dekametazon tedavisi verilen grubun (Grup III) HE ile boyalı akciğer kesitleri: Subepitelyal düz kas tabakasının kalınlığı (çift yönlü ok) ve epitel yüksekliği plasebo grubuna göre azalmış olarak izlenmektedir.



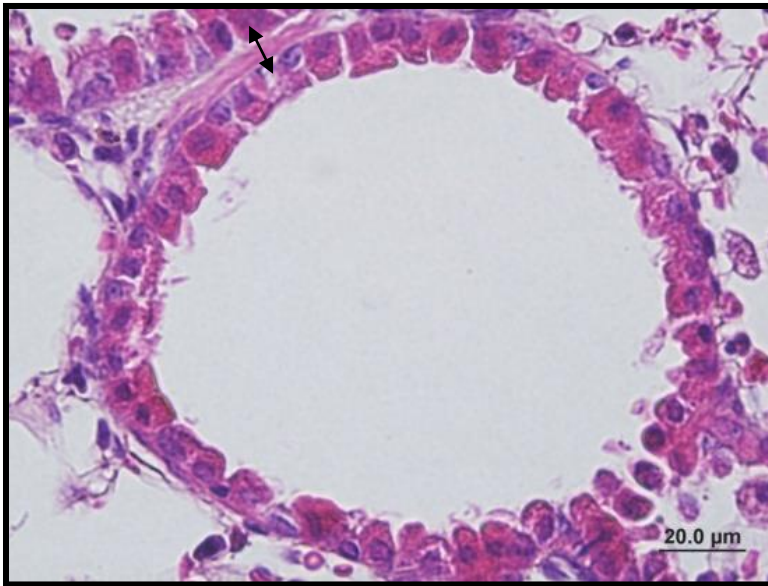
Resim 11. Dekametazon tedavisi verilen grubun (Grup III) PAS ile boyalı akciğer kesitleri: Goblet hücre sayısının (Gc) plasebo grubuna göre azaldığı görülmektedir.



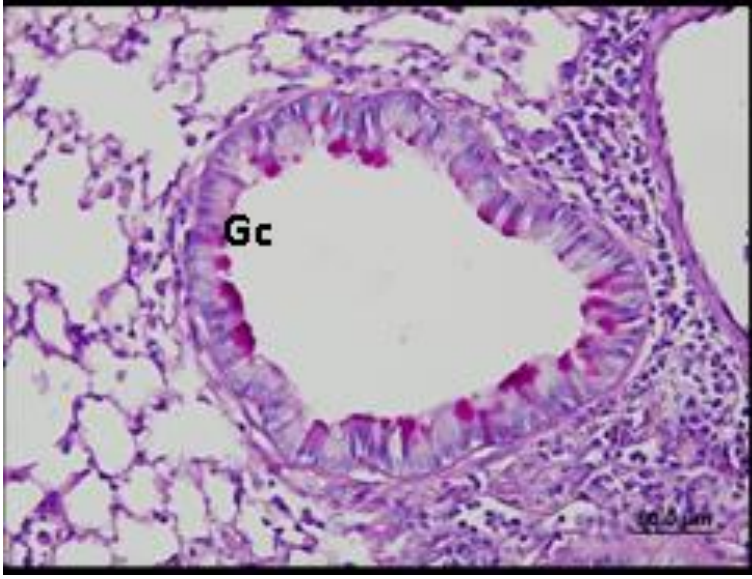
Resim 12. Dekametazon tedavisi verilen grubun (Grup III) toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri: Akciğer parankiminde mast hücrelerinin plasebo grubuna göre daha az sayıda (siyah ok) olduğu görülmektedir.



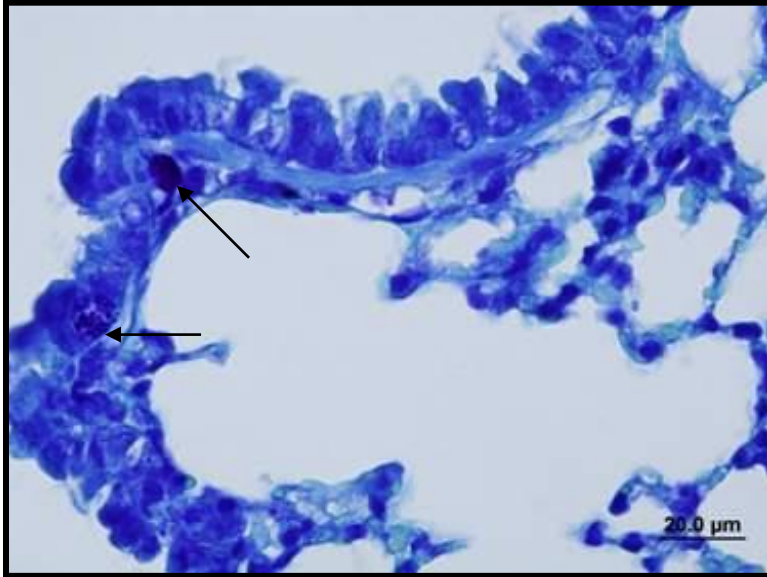
Resim 13. Deksaletazon tedavisi verilen grubun akciğer kesitlerinin EM görünümü: Bazal membran kalınlığı (*) ve subepitelyal düz kas kalınlığı (Sm) plasebo grubuna göre incedir, epitel hücreleri normal sağlıklı görünümündedir. Goblet hücreleri (Gc) az sayıda izlenmektedir.



Resim 14. Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) HE ile boyalı akciğer kesitleri: Subepitelyal düz kas tabakasının kalınlığı (çift yönlü ok) ve epitel yüksekliği plasebo grubuna göre azalmış olarak izlenmektedir.



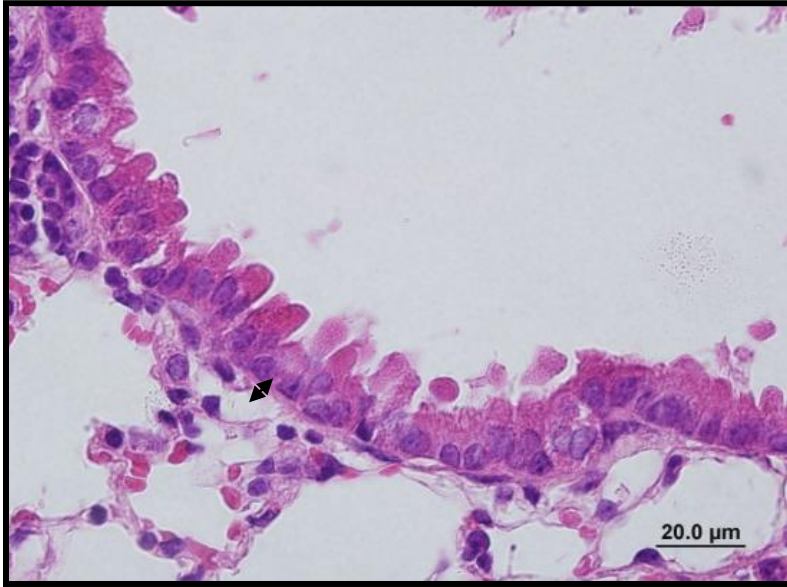
Resim 15. Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) PAS ile boyalı akciğer kesitleri: Goblet hücre sayısının (Gc) plasebo grubuna göre azaldığı gözlenmiş ancak bu azalma anlamlı bulunmamıştır.



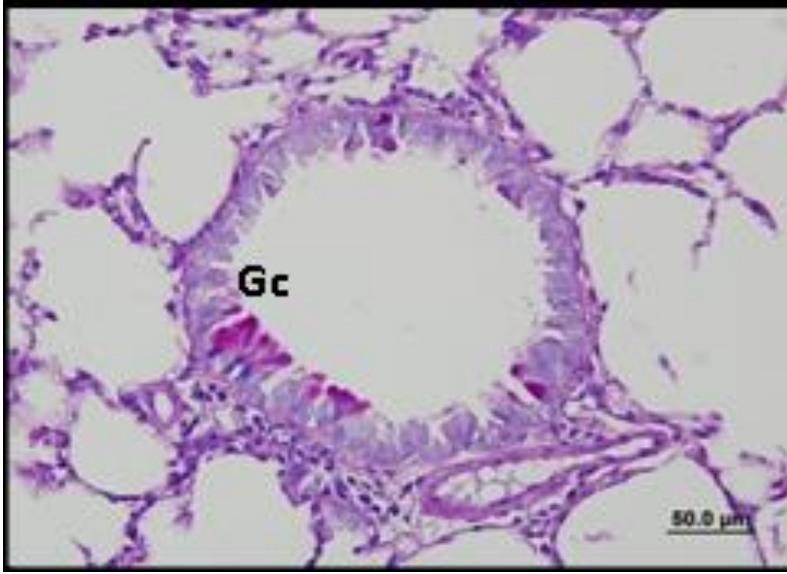
Resim 16. Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri: Mast hücre sayısının plaseboya göre azaldığı gözlenmiş (siyah ok) ancak bu azalma anlamlı bulunmamıştır.



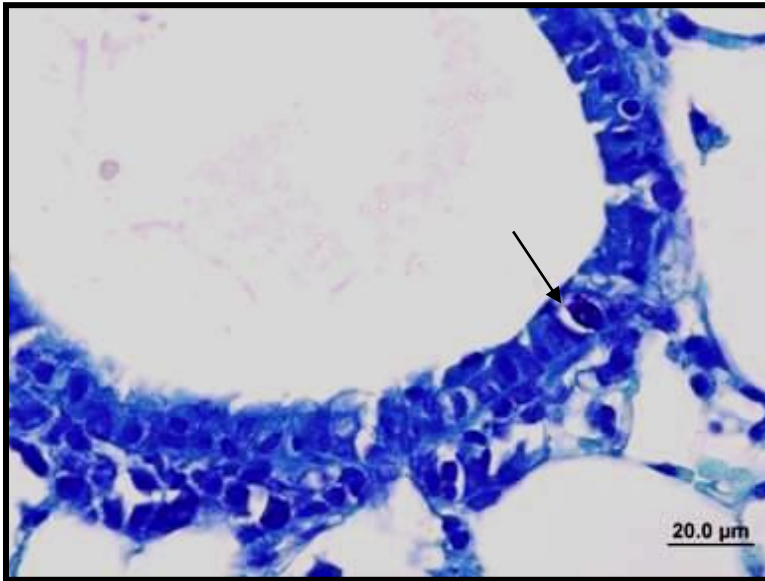
Resim 17. Partenolit tedavisi verilen grubun (Grup IV) akciğer kesitlerinin EM görünümü: Bazal membran (*) ve subepitelyal düz kas kalınlığı (Sm) plasebo grubuna göre incedir ve epitel hücreleri sağlıklı görünümündedir.



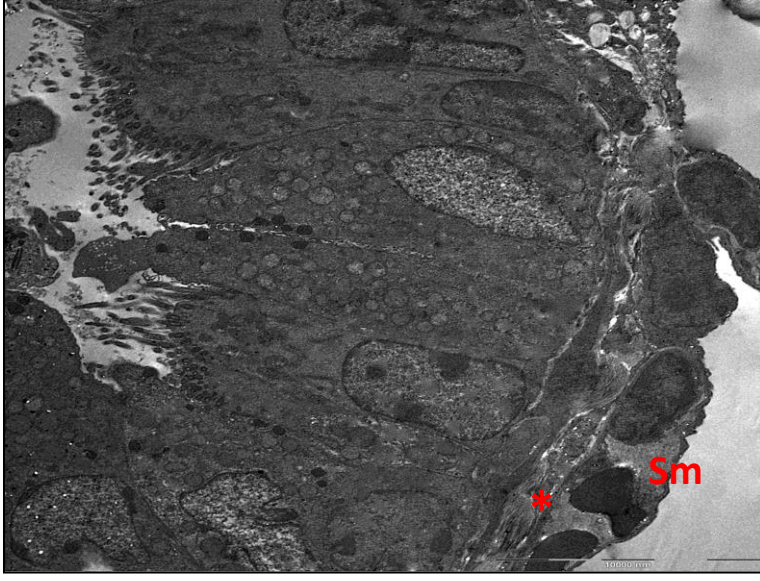
Resim 18. Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) HE ile boyalı akciğer kesitleri: Subepitelyal düz kas tabakasının kalınlığı (çift yönlü ok) ve epitel yüksekliği plasebo grubuna göre azalmış olarak izlenmektedir.



Resim 19. Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) PAS ile boyalı akciğer kesitleri: Goblet hücre sayısının (Gc) plasebo grubuna göre azaldığı gözlenmiştir.



Resim 20. Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) toluidin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri: Akciğer parankiminde mast hücrelerinin plasebo grubuna göre daha az sayıda (siyah ok) olduğu görülmektedir.



Resim 21. Partenolit ve deksametazon tedavileri verilen grubun (Grup V) akciğer kesitlerinin EM görünümü: Bazal membran (*) ve subepitelyal düz kas kalınlığının (Sm) plasebo grubuna göre daha ince olduğu görülmektedir.

Çalışma gruplarındaki farelerin akciğer dokusunda bakılan IL-4 ve IL-5 düzeyleri Tablo 10'da görülmektedir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 10. Çalışma gruplarının akciğer dokusunda bakılan IL-4 ve IL-5 düzeyleri

Gruplar	IL-4 (pg/ml) ort±SD	IL-5 (pg/ml) ort±SD
Kontrol	62.84±32.46*	40.44± 32.26*
Plasebo	133.26±74.96	179.39±92.39
Deksametazon	42.67±46.61*	163.39±59.62
Partenolit	51.52±34.04*	191.17±106.07
Deksametazon ve partenolit	37.30±16.88*	143.12±56.46

*p<0.05 (Plasebo ile karşılaştırıldığında)

Plasebo grubunun IL-4 ve IL-5 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, plasebo grubu verilerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmektedir (p=0.05 ve p=0.001). Akciğer dokusundaki IL-4 düzeylerinin deksametazon (p=0.05), partenolit (p=0.013) ve deksametazon ile partenolit alan (p=0.001) üç grupta da plasebo ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük olduğu görülmektedir. IL-5 düzeyleri ise deksametazon (p=0.95), partenolit (p=0.49) ve deksametazon ile partenolit alan (p=1.00) üç grupta da plasebo ile benzer bulunmuştur.

Deksametazon ile partenolit grubunun IL-4 ve IL-5 düzeyleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür (p=0.79, p=0.72). Deksametazon ile deksametazon ve partenoliti birlikte alan iki grubun IL-4 ve IL-5 düzeyleri arasında da anlamlı bir fark görülmemiştir (p=0.57, p=0.57).

5. TARTIşMA

Aşım, geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonu, havayollarında inflamasyon ve remodeling ile karakterize kronik bir hastalıktır (1). İnflamasyon aşım patogeneğinde önemli bir rol oynamakta ve günümüzde aşım tedavisinde kullanılmakta olan ilaçlar, havayolunda mevcut olan inflamasyonu baskılamayı amaçlamaktadır (128,129). Remodeling, hava yolu duvarındaki hücresel ve moleküler yapıların organizasyon ve içeriğindeki progresif yapısal değişiklikler olarak tanımlanır. Bazal membran kalınlaşması, subepitelyal fibrozis, havayolu düz kaslarında hipertrofi/hiperplazi, goblet hücre hiperplazisi ve anjiyogenez bu remodeling içinde yer almaktadır. Günümüzde kullanılan tedavilerin remodeling üzerine etkileri inflamasyona oranla daha azdır (130).

Aşım tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında en etkin olan grup inhale steroidlerdir (66). İnkhale steroidler, aşım semptomlarının azaltılması, yaşam kalitesinin arttırılması, solunum fonksiyonlarının düzeltilmesi, havayolu aşırı duyarlılığının azaltılması ve havayolu inflamasyonunun kontrol altına alınmasında etkili olduğu gösterilmiş ilaçlardır. İnkhale steroidlerin ses kısıklığı ve oral kandidiyazis gibi lokal ve hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın baskılanması gibi sistemik yan etkileri olabilmektedir. Sistemik yan etkiler daha çok yüksek dozlarda beklenirken, son zamanlarda düşük doz inhale steroidlerin dahi çocukluk çağında büyümede yavaşlama yapabileceği gösterilmiştir (131). Bu yan etkiler ve hastalardaki kortikofobi nedeniyle aşım tedavisinde uyum problemleri sıklıkla görölmektedir (132,133). Bu nedenle aşım tedavisinde inflamasyonun yanı sıra remodelingi de etkileyecek ve yan etkisi olmayan tedavi arayışları sürmektedir.

Aşımlı hastaların alternatif tedavi arayışları ölkemizde çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Ölkemizde yapılan çalışmalarda erişkin aşımlı hastalar arasında alternatif/tamamlayıcı tedavi kullanma oranı %50-%60 arasında, çocukluk çağı aşımında ise %45-50 arasında bulunmuştur. Aşımlı hastalar arasında en sık kullanılan alternatif tedaviler bitkisel ilaçlardır (88,89). Kullanılan bitkisel tedavilerin antiinflamatuvar özelliklerinin olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiş ancak bitkisel tedavilerin aşım patogeneğindeki remodeling sürecine etkilerini araştıran çok az çalışma yapılmıştır (134-136). Çalışmamızda asırlardır migren, artrit ve aşım için kullanılmakta olan *Tanacetum parthenium* bitkisinin aktif bileşeni olan partenolitin, OVA verilerek kronik aşım modeli oluşturulmuş BALB/c farelere uygulanarak, aşım nedeniyle oluşan kronik histolojik değişikliklere olan etkisinin araştırılması planlanmıştır.

Tanacetum parthenium (Feverfew; Gümüşdüğme) Asteraceae familyasında yer alan, Avrupa’da ve Kuzey Amerika’da yetişen, yaprakları asırlardır ateş düşürücü olarak kullanıldığı için İngilizce’de ‘feverfew’ adında anılan bir bitkidir. Seskiterpen laktonlar (SLs) Asteraceae familyasındaki bitkilerin aktif bileşenini oluştururlar. Partenolit, *Tanacetum parthenium* bitkisinin tüm seskiterpen içeriğinin %85’ini oluşturan en önemli bileşenidir. Partenolit, antiinflamatuvar, kemoterapötik, antikanser ve antimigren etkileri başta olmak üzere birçok farmakolojik etkiye sahiptir (94). Partenolit, antiinflamatuvar etkilerini NF- κ B inhibisyonu yolu ile proinflamatuvar sitokin ilişkili sinyal iletimini etkileyerek göstermektedir. (95-97). Partenolitin aynı zamanda, prostoglandin sentezini inhibe ederek de antiinflamatuvar etki gösterdiği düşünülmektedir (94,98,99).

Nükleer faktör- κ B’nin akciğer hastalıkları patogeneğinde kritik bir öneme sahip olduğu düşünülmektedir (137). Astımlı hastalarda havayolu epitelindeki NF- κ B aktivasyonun uzamış ve artmış olduğu gösterilmiştir (138). Daha önce yapılmış astımlı hayvan çalışmalarında NF- κ B aktivasyonu inhibe edildiğinde, hücrel infiltrasyonun, mukus üretiminin, Th2 sitokinlerin azaldığı gözlenmiştir (139). Bronş dokusundaki Klara hücresi spesifik IKK- β delesyonu olan farelerle yapılan başka bir çalışmada da OVA ile duyarlılaştırma sonrasında havayolu eozinofillerinin, peribronşiyal fibrozisin, eotaksin ve TARC kemokinin fonksiyonel IKK- β ’si olan kontrol grubuna göre azalmış olduğu görülmüştür (140). Havayolundaki NF- κ B aktivasyonunun ise allerjen ile duyarlılaştırılan farelerde akciğerdeki inflamasyonu ve havayolu aşırı duyarlılığını arttırdığı gözlenmiştir (141). Bu çalışmalar astım patogeneğinde NF- κ B yolağının önemini vurgulamış ve NF- κ B inhibisyonu sağlayan terapötikler ve mevcut terapötiklerin bu yolak üzerine etkileri ile ilgili çalışmaların yapılmasının önünü açmıştır (142). Astımın güncel tedavisinde önemli rolü olan glukokortikosteroidlerin NF- κ B yolağı üzerine etkileri ex vivo olarak çalışılmış ancak farklı sonuçlar elde edilmiştir (143,144). Güncel veriler glukokortikoidlerin NF- κ B aktivitesini bloke etmekte kısmi olarak etkili olduklarını, glukokortikoidlerin antiinflamatuvar etkinliklerini NF- κ B dışı diğer mekanizmalar ile gösterdiklerini desteklemektedir (142). Montelukast ile yapılan bir çalışmada ise montelukastın yüksek dozlarda IL-6, TNF- α , monosit kemoatraktan protein 1 (MCP-1) üretimi ile NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (145). NF- κ B aktivitesini inhibe eden decoy oligonükleotidler ve IKK- β inhibitörleri olan küçük moleküllerden biri olan 2-[(aminokarbonil)amino]-5-[4-florofenil]-3 tiyofenokarboksamid (TCPA-1) ile de hayvan astım modellerinde çeşitli çalışmalar yapılmış, bu çalışmalarda

inflamatuvar sitokinlerin azaldığı, mukus üretimi ve havayolu hiperreaktivitesi gibi çeşitli parametrelerde olumlu etkilerin gözlemlendiği bildirilmiştir (146,147).

Çalışmamızın konusu olan partenolit, NF-κB aktivitesini doğal olarak inhibe ettiği gösterilmiş olan bir moleküldür. Partenolitin kaynağı olan *Tanacetum parthenium* bitkisi yüzyıllardır astım tedavisinde kullanılıyor olmasına karşın bu konu ile ilgili bir bilimsel çalışma bulunmamaktadır. Partenolitin, insan solunum yolu epiteli kültürü ile yapılan bir çalışmada, NF-κB inhibisyonunu IL-8 gen ekspresyonunu değiştirerek gösterdiği bildirilmiştir (148). Kistik fibrozisli hastalardan elde edilen hücre ve hayvan çalışmalarında ise partenolitin yine IL-8 sekresyonunu ve NF-κB aktivasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etkilerini gösterdiği bildirilmiştir (119).

İnsanlardaki astımın remodeling sürecini taklit eden hayvan astım modelleri başarı ile oluşturulmaktadır (125). Çalışmamızda kullandığımız astım modeli de bu amaçla en sık uygulanan modellerdendir. Çalışmamızda bazal membran kalınlığı, subepitelyal düz kas kalınlığı, epitel yüksekliği, goblet hücre hiperplazisi ve mast hücre sayısı gibi histolojik parametrelerin plasebo grubunda kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. Bu veri bize astım modelinin ve remodeling ile ilişkili histolojik değişikliklerin çalışmamızda başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir.

Steroid tedavisinin astımda en etkili tedavi olduğu bilinmektedir. Biz de çalışmamızda partenolitin etkinliğini değerlendirmek ve karşılaştırmak amacıyla, daha önce yapılan hayvan çalışmalarında da altın standart tedavi olarak sıklıkla kullanılmış olan deksametazonu kullandık. Deksametazon grubu ile plasebo grubu karşılaştırıldığında tüm histolojik parametrelerde anlamlı bir azalma olduğu görüldü. Bu şekilde steroidin astım bulguları üzerine etkinliği deneysel çalışmamızda da ortaya konulmuş oldu.

Yaptığımız bu çalışmada partenolitin kronik astım fare modelindeki çoğu parametrede plasebo ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzelmeye neden olduğu görüldü. Partenolitin goblet hücre sayısı ve mast hücre sayısı dışındaki parametrelerde anlamlı iyileşme sağladığı, deksametazonun ise plaseboya oranla tüm histolojik parametrelerde iyileşme sağladığı saptandı. Yine partenolit ve deksametazon grupları birbirileri ile karşılaştırıldığında, bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısındaki iyileşmenin benzer olduğu, diğer parametreler üzerine ise deksametazonun daha etkin olduğu görülmüş oldu. Çalışmamızda cevap aradığımız bir başka soru da partenolitin deksametazon tedavisine ek olarak verilmesinin ek katkısı olup olmayacağı idi. Bu amaçla deksametazon ve deksametazon ile

birlikte partenolit alan gruplar karşılaştırıldı ancak ikili tedavi alan gruptaki iyileşmenin çoğu parametrede benzer olduğu, sadece deksametazon verilen grubun epitel yüksekliği ve goblet hücre sayısının iyileştirmede daha etkin olduğu görüldü. Bu sonuçlar ile de steroid tedavisine ek olarak verilecek partenolitin ek yarar sağlamadığı sonucuna varıldı.

Astım hayvan modeli çalışmalarında histolojik verilerin yanı sıra bronkoalveolar lavajda (BAL) hücre sayımı ve yüzdeleri, BAL veya akciğer dokusunda sitokin düzeyleri ve havayolu rezistansı ölçümleri yapılarak inflamasyon ve havayolu darlığı daha net ortaya konabilmektedir. Çalışmamızda inflamasyon histolojik yöntemler ve akciğer dokusunda bakılan IL-4 ve IL-5 düzeyleri ile ortaya konmuştur. Ancak deksametazon ve çalışma ilaçları ile IL-5 düzeylerinde beklenen azalma gösterilememiştir. Bu sonucun teknik nedenler ile ilişkili olabileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızda, BAL alımı sırasında yaşanan teknik sorunlardan ötürü çalışma planımızda olmasına rağmen hücre sayımı ve sitokin çalışmalarını gerçekleştiremedik. Bronkoalveolar lavaj sıvısında hücrelerin ve sitokinlerin değerlendirilememiş olması çalışmamızın kısıtlılıkları arasında sayılabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada partenolitin kronik astım oluşturulmuş deneysel fare modelinde histolojik parametrelerin çoğu üzerinde plaseboya oranla etkili olduğu bulunmuştur. Ancak bu etkinliğin steroid ile karşılaştırıldığında daha az olduğu, steroide ek olarak partenolit verilmesinin ise ek yarar sağlamadığı görülmüştür. Partenolitin astımdaki etkinliğinin yapılacak yeni çalışmalar ile desteklenmesi gereklidir.

6. SONUCLAR

1. Grup I (kontrol grubu) ve Grup II (plasebo grubu) karşılaştırıldığında; bazal membran kalınlığı ($p=0.000$), subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı ($p=0.000$), epitel yüksekliği ($p=0.000$), goblet hücre sayısı ($p=0.000$) ve mast hücre sayısını ($p=0.000$) içeren tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Bu sonuçlar astım modelinin çalışma grubundaki farelerde başarı ile oluşturulduğunu göstermiştir.
2. Plasebo grubu (Grup II) ile deksametazon grubunun (Grup III) histolojik verileri karşılaştırıldığında, deksametazon grubunda bazal membran kalınlığı ($p=0.000$), subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı ($p=0.000$), epitel yüksekliği ($p=0.000$), goblet hücre sayısı ($p=0.000$) ve mast hücre sayısının ($p=0.000$) anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir.
3. Plasebo grubu (Grup II) ile partenolit grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında, partenolit grubunda bazal membran kalınlığı ($p=0.001$), subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı ($p=0.000$) ve epitel yüksekliğinin ($p=0.000$) anlamlı olarak azaldığı, goblet hücre sayısı (0.128) ve mast hücre sayısı (0.058) açısından ise iki grup arasında fark olmadığı gösterilmiştir.
4. Partenolit grubu (Grup IV) ile deksametazon grubunun (Grup III) histolojik verileri karşılaştırıldığında, bazal membran kalınlığı ($p=0.329$) ve mast hücre sayısının ($p=1.000$) her iki grupta benzer olduğu, subepitelyal düz kas kalınlığı ($p=0.000$), epitel yüksekliği ($p=0.03$) ve goblet hücre sayısının ($p=0.000$) ise deksametazon grubunda daha az olduğu görülmüştür. Sonuç olarak partenolitin astımdaki etkinliğinin deksametazon kadar iyi olmadığı sonucuna varılmıştır.
5. Deksametazon grubu (Grup III) ile deksametazon ve partenoliti birlikte alan grubun (Grup V) verileri karşılaştırıldığında, bazal membran kalınlığı ($p=1.000$), subepitelyal düz kas kalınlığı ($p=1.000$), ve mast hücre sayısının ($p=1.000$) her iki grupta benzer olduğu, epitel yüksekliği ($p=0.03$) ve goblet hücre sayısının ($p=0.000$) ise deksametazon

grubunda daha az olduğu görölmüştür. Sonuç olarak deksametazon tedavisine ek olarak partenolit verilmesinin ek yararı olmadığı sonucuna varılmıştır.

6. Partenolit grubu (Grup IV) ile plasebo grubunun IL-4 ve IL-5 düzeyleri karşılaştırıldığında, partenolit grubunda IL-4 düzeyleri ($p=0.013$) anlamlı olarak düşük saptanmış, ancak IL-5 düzeyleri ($p=1.000$) açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır.
7. Partenolit grubu (Grup IV) ile deksametazon grubunun IL-4 ve IL-5 düzeyleri karşılaştırıldığında ise her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadığı görölmüştür ($p=0.79$, $p=0.72$)

7. KAYNAKLAR

1. Global strategy for asthma management and prevention. Global Initiative for Asthma (GINA): 2011 (update). Available from:<http://www.ginasthma.org>
2. Spector S. Noncompliance with asthma therapy--are there solutions? *J Asthma*. 2000;37:381-8.
3. Donald Y.M. Leung. Allergy and the immunologic basis of atopic diseases. In Robert M. Kliegman, Richard E. Behrman eds. *Nelson Textbook of Pediatrics* 18th ed. Philadelphia. Saunders: 2007. p 935-8.
4. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol. Rev* 1998; 50: 515–96.
5. Gangliardo R, Chanez P, Mathieu M, Bruno A ve ark. Persistent activation of nuclear factor-kappa B signaling pathway in severe uncontrolles asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1190-98.
6. Zhao S, Qi Y, Liu X, Jiang Q, ve ark. Activation of NF-kappa B in bronchial epithelial cells from children with asthma. *Chin Med J* 2001; 114: 909-11.
7. Das J, Chen CH, Yang L, Chon L, ve ark. A critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and Th2 differentiation in allergic airway inflammation. *Nat Immunol* 2001; 2: 45-50.
8. Yang L, Chon L, Zhang DH, Homer R, ve ark. Essential role of nuclear factor kappa B in the induction of eosinophilia in allergic airway inflammation. *J Exp Med* 1998; 188: 1739-50.
9. Hehner SP, Hofman TG, Droge W, Schmitz ML. The antiinflammatory sesquiterpene lactone parthenolide inhibits NF-kappa B by targeting the Ikappa B kinase complex. *J Immunol* 1999; 163: 5617-23.
10. Rungeler P, Castro V, Mora G, Goren N, ve ark. Inhibition of transcription factor NF-kappa B by sesquiterpene lactones: a proposed molecular mechanism of action. *Bioorg Med Chem* 1999; 7: 2343-52.
11. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004; 59: 469-78.
12. Beasley R. The global burden of Asthma Report, Global Initiative for Asthma (GINA). Available from:<http://www.ginasthma.org> 2004.

13. Kurt E, Metintas S, Basyigit I, Bulut I ve ark. Prevalence and risk factors of allergies in Turkey: Results of a multicentric cross-sectional study in children. *Pediatr Allergy Immunol* 2007; 18: 566-74.
14. Selcuk ZT, Demir AU, Tabakoglu E, Caglar T. Prevalence of asthma and allergic diseases in primary school children in Edirne, Turkey, two surveys 10 years apart. *Pediatr Allergy Immunol* 2010; 21: e717-7.
15. Karaman O, Turkmen M, Uzuner N. Allergic disease prevalence in Izmir. *Allergy* 1997; 52: 689-90.
16. Karaman O, Turgut CS, Uzuner N, Olmez D, ve ark. The determination of asthma, rhinitis, eczema, and atopy prevalence in 9- to 11-year-old children in the city of Izmir. *Allergy Asthma Proc* 2006; 27: 319-24
17. Holloway JW, Beghe B, Holgate ST. The genetic basis of atopic asthma. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 1023-32.
18. Wiesch DG, Meyers DA, Bleecker ER. Genetics of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104: 895-901.
19. Cookson WO, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM. Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome11q. *Lancet* 1989;1:1292-5.
20. Kabesch M, Schedel M, Carr D, Woitsch B, ve ark. IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 269-74.
21. Simpson A, Maniatis N, Jury F, Cakebread JA, ve ark. Polymorphisms in a disintegrin and metalloproteinase 33 (ADAM33) predict impaired early-life lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 55-60.
22. Israel E, Chinchilli VM, Ford JG, Boushey HA, ve ark. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet* 2004; 364: 1505-12.
23. Ito K, Chung KF, Adcock IM. Update on glucocorticoid action and resistance. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:522-43.
24. In KH, Asano K, Beier D, Grobholz J, ve ark. Naturally occurring mutations in the human 5-lipoxygenase gene promoter that modify transcription factor binding and reporter gene transcription. *J Clin Invest* 1997; 99: 1130-7.
25. Martine FD, Wright AL, Taussin LM, Holberg CJ, ve ark. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Eng J Med* 1995; 332: 133-8.

26. Lavoie KL, Bacon SL, Labrecque M, Cartier A, ve ark. Higher BMI is associated with worse asthma control and quality of life but not asthma severity. *Respir Med* 2006; 100: 648-57.
27. Pakhale S, Doucette S, Vandemheen K, Boulet LP, ve ark. A comparison of obese and non-obese people with asthma: exploring an asthma-obesity interaction. *Chest* 2010; 137: 1316-23.
28. Schaub B, von ME. Obesity and asthma, what are the links? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 185-93.
29. Noal RB, Menezes AM, Macedo SE, Dumith SC. Childhood body mass index and risk of asthma in adolescence: a systematic review. *Obes Rev* 2011; 12: 93-104.
30. Wahn U, Lau S, Bergman R, Kulig M, ve ark. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 763-9.
31. Sporik R, Holgate SK, Platts-Mills TA, Cogswell JJ. Exposure to house-dust mite allergen (Der p1) and the development of asthma in childhood. A prospective study. *N Engl J Med* 1990; 323: 502-7.
32. Hogaboam CM, Carpenter KJ, Schuh JM, Buckland KF. Aspergillus and asthma-any link? *Med Mycol* 2005; 43 Suppl1:S197-202.
33. Illi S, von ME, Lau S, Bergmann R, ve ark. Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: a birth cohort study. *BMJ* 2001; 322: 390-5.
34. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1501-7.
35. Jackson DJ. The role of rhinovirus infections in the development of early childhood asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 133-8.
36. Dezateux C, Stocks J, Dundas I, Fletcher ME. Impaired airway function and wheezing in infancy: the influence of maternal smoking and a genetic predisposition to asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 403-10.
37. Chaudhuri R, Livingstone E, McMahon AD, Thomson L, ve ark. Cigarette smoking impairs the therapeutic response to oral corticosteroids in chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1308-11.

38. Beuther DA, Sutherland ER. Overweight, obesity and incident asthma: a meta-analysis of prospective epidemiological studies. *Am J Respir Care Med* 2007; 175: 661-6.
39. Chen LL, Tager IB, Peden DB, Christian DL, ve ark. Effect of ozone exposure on airway responses to inhaled allergen in asthmatic subjects. *Chest* 2004; 125: 2328-35.
40. Marks GB, Colquhoun JR, Girgis ST, Koski MH, ve ark. Thunderstorm outflows preceding epidemics of asthma during spring and summer. *Thorax* 2001; 56: 468.
41. Zock JP, Vizcaya D, Le Moual N. Update on asthma and cleaners. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010;10:114-20.
42. Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1238-48.
43. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1109-17.
44. Lee TH, Anderson SD. Heterogeneity of mechanisms in exercise induced asthma. *Thorax* 1985;40:481-487.
45. Deal EC Jr, McFadden ER Jr, Ingram RH Jr, Strauss RH, ve ark. Role of respiratory heat Exchange in production of exercise induced asthma. *J Appl Physiol* 1979; 46: 467-75.
46. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 789- 815.
47. Bousquet J, Jeffery PK, Buse WW, Johnson M, ve ark. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodelling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1720-45.
48. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 58-65.
49. Kay AB, Phipps S, Robinson DS. A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol* 2004; 25: 477-82.
50. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 450-63.
51. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 702-8.
52. Peters-Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 3-7.
53. Wen el S. Mechanisms of severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1622-8.

54. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J* 2000; 15: 961-8.
55. Nockher WA, Renz H. The role of neurotrophins in the pathogenesis of asthma and related diseases: allergy and asthma as prototypic neuro-immune diseases? *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1266-8.
56. Leff AR. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy. *Annu Rev Med* 2001; 52: 1-14.
57. Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Aesif SW, Pantano C, ve ark. Nuclear factor kappaB, airway epithelium, and asthma: avenues for redox control. *Proc Am Thorac Soc* 2009; 6: 249-55.
58. James A. Airway remodeling in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2005;11:1-6.
59. Vignola AM, Mirabella F, Coston o G, Di Georgi R, ve ark. Airway remodelling in asthma. *Chest* 2003; 123: 417S-22S.
60. Li X, Wilson JW. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 229-33
61. Ordonez CL, Khashayar R, Wong HH, Ferrando R, ve ark. Mild and modarate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 517-23.
62. Nair SJ, Daigle KL, DeCuir P, Lapin CD, ve ark. The influence of pulmonary function testing on the management of asthma in children. *J Pediatr* 2005; 147: 797–801.
63. Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, et al. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report. *European Pediatric Asthma Group Allergy* 2008; 63:5-34.
64. Cockcroft DW, Murdock KY, Berscheid BA, Gore BP. Sensitivity and specificity of histamine PC20 determination in a random selection of young college students. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 23-30.
65. Host A, Andrae S, Charkin S, Diaz-Vazquez C, ve ark. Allergy testing in children: why, who, when and how? *Allergy* 2003; 58: 559–69.
66. Juniper EF, Kline PA, Van ieleghem MA, Ramsdale EH, ve ark. Effect of long-term treatment with an inhaled corticosteroid (budesonide) on airway hyperresponsiveness and clinical asthma in nonsteroid dependent asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 832-6.
67. The Childhood Asthma Mangement Program Research Group. Long term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma. *N Engl J Med* 2000; 343: 1054-63.

68. Jeffery PK, Godfrey RW, Adelroth E, Nelson F, ve ark. Effects of treatment on airway inflammation and thickening of basement membrane reticular collagen in asthma. A quantitative light and electron microscopic study. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 890-9.
69. Pauwels RA, Lofdahl CG, Postma DS, Tattersfield AE, ve ark. Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma. Formoterol and Corticosteroids Establishing Therapy(FACET) International Study Group. *N Eng J Med* 1997; 337: 1405-11.
70. Suissa S, Ernst P, Benayoun S, Balt an M, ve ark. Low dose inhaled corticosteroids and the prevention of death from asthma. *N Eng J Med* 2000; 343: 332-6.
71. Lipworth BJ. Leukotriene receptor antagonists. *Lancet* 1999; 353: 57-62.
72. Drazen JM, Israel E, O'Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Eng J Med* 1999; 340: 197-206.
73. Knorr B, Franchi LM, Bisgaard H, Vermeulen JH, ve ark. Montelukast, a leukotriene receptor antagonist, for the treatment of persistent asthma in children aged 2 to 5 years. *Pediatrics* 2001; 108: E48.
74. Reis TF, Chervinsky P, Dockhorn P, Shingo S, ve ark. Montelukast, a once daily leukotriene receptor antagonist, in the treatment of chronic asthma: a multicenter, randomized, double-blind trial. Montelukast Clinical Research Study Group. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1213-20.
75. Nelson HS, Weiss ST, Bleecker ER, Yancey SW, ve ark. The Salmeterol Multicenter Asthma Research Trial: a comparison of usual pharmacotherapy for asthma or usual pharmacotherapy plus salmeterol. *Chest* 2006; 129: 15-26.
76. Evans DJ, Taylor DA, Zetterstrom O, Chung KF, ve ark. A comparison of low dose inhaled budesonide plus theophylline and high dose inhaled budesonide for moderate asthma. *N Eng J Med* 1997; 337:1412-8.
77. Ukena D, Harnest U, Sakalauskas R, Magyar P, ve ark. Comparison of addition of theophylline to inhaled steroid with doubling of the dose of inhaled steroid in asthma. *Eur Respir J* 1997; 10: 2754-60.
78. Szeffler SJ, Nelson HS. Alterantive agents for antiinflammatory treatment of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: S23-35.
79. Humbert M, Beasley R, Ayres J, Slavin R, ve ark. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled

despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* 2005; 60: 309-16.

80. Halken S, Lau S, Valovirta E. New visions in specific immunotherapy in children: an iPAC summary and future trends *Pediatr Allergy Immunol* 2008; 19 (Suppl. 19): 60–70.
81. Nathan RA, Sorkness C, Kosinski M, Schat M ve ark. Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 59-65.
82. Liu AH, Zeiger R, Sorkness C, Mahr T,ve ark. Development and cross sectional validation of the Childhood Asthma Control Test. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 119: 817-25.
83. Boulet LP, Boulet V, Milot J.How should we quantify asthma control? A proposal. *Chest* 2002; 122: 2217-23.
84. Eisenberg DM. Unconventional medicine in the US. Prevalence, costs, patterns of use. *N Eng J Med* 1993; 328: 246-52.
85. Kalpaklıoğlu F. Astımda alternatif tedaviler. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1:64-72.
86. Argüder E, Bavbek S, Sen E, Köse K, ve ark. Is there any difference in the use of complementary and alternative therapies in patients asthma and COPD? A cross-sectional survey. *J Asthma*. 2009; 46: 252-8.
87. Tokem Y, Aytemur ZA, Yildirim Y, Fadiloglu C. Investigation into the use of complementary and alternative medicine and affecting factors in Turkish asthmatic patients. *J Clin Nurs*. 2012; 21: 698-707.
88. Babayigit A, Olmez D, Karaman O, Uzun N. Complementary and alternative medicine use in Turkish children with bronchial asthma. *J Alter Complement Med* 2008; 14: 797-9.
89. Orhan F, Sekerel BE, Kocabas CN, Sackesen C, ve ark. Complementary and alternative medicine in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90: 611-5.
90. Li XM. Treatment of asthma and food allergy with herbal interventions from traditional Chinese Medicine. *Mt Sinai J Med* 2011; 78: 697-716.
91. Chung Y, Dumont RC. Complementary and Alternative Therapies: Use in pediatric pulmonary medicine. *Pediatr Pulmonol* 2011; 46: 530-44.
92. Duke JA. *CRC Handbook of Medicinal Herbs*. Boca Raton, FL: CRC Pres; 1985.

93. Jackson B, McDonald RL. In: Dobelis IN, editor. Magic and Medicine of Plants. Pleasantville, NY: Reader's Digest Assoc.; 1986.
94. Pareek A, Suthar M, Rathore GS, Bansal V. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review. *Pharmacogn Rev* 2011; 5: 103-10.
95. Kwok BH, Koh B, Ndubuisi MI, Elofsson M, ve ark. The anti-inflammatory natural product parthenolide from the medicinal herb feverfew directly binds to and inhibits IkappaB kinase. *Chem Biol* 2001; 8: 759-66.
96. Sur R, Martin K, Liebel F, Lyte P, ve ark. Anti-inflammatory activity of parthenolide-depleted feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Inflammopharmacology* 2009; 17: 42-9.
97. Mathema VB, Koh YS, Thakuri BC, Silanpää M. Parthenolide, a sesquiterpene lactone, expresses multiple anti-cancer and anti-inflammatory activities. *Inflammation* 2012; 35: 560-5.
98. Makheja AN, Bailey JM. A platelet phospholipase inhibitor from the medicinal herb feverfew (*Tanacetum parthenium*). *Prostaglandins Leukot Med* 1982; 8: 653-60.
99. Pugh WJ, Sambo K. Prostaglandin synthetase inhibitors in feverfew. *J Pharmacol* 1998; 40: 743-5. Collier HO, Butt NM, McDonald WJ, Saeed SA. Extract of feverfew inhibits prostaglandin biosynthesis. *Lancet* 1980; 2: 922-3.
100. Juliana C, Fernandes-Alnemri T, Wu J, Datta P, ve ark. Anti-inflammatory compounds parthenolide and Bay 11-7082 are direct inhibitors of the inflammasome. *J Biol Chem*. 2010; 285: 9792-802.
101. Barsby RW, Salan U, Knight DW, Hoult JR. Feverfew and vascular smooth muscle: Extracts from fresh and dried plants show opposing pharmacological profiles, dependent upon sesquiterpene lactone content. *Planta Med* 1993; 59: 20-5.
102. Barsby RW, Knight DW, McFadzean I. A chloroform extract of the herb feverfew blocks voltage-dependent potassium currents recorded from single smooth muscle cells. *J Pharm Pharmacol* 1993; 45: 641-5.
103. Chavez M, Chavez P. Feverfew. *Hosp Pharm* 1999; 34: 436-61.
104. Heptinstall S, White A, Williamson L, Mitchell JR. Extracts of feverfew inhibit granule secretion in blood platelets and polymorphonuclear leucocytes. *Lancet* 1985; 1: 1071-4.
105. Hayes NA, Foreman JC. The activity of compounds extracted from feverfew on histamine release from rat mast cells. *J Pharm Pharmacol* 1987; 39: 466-70.

106. Zhang S, Ong CN, Shen SM. Critical roles of intracellular thiols and calcium in parthenolide-induced apoptosis in human colorectal cancer cells. *Cancer Lett* 2004; 208: 143-53.
107. Zhang S, Ong CN, Shen HM. Involvement of proapoptotic Bcl-2 family members in parthenolide induced mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Cancer Lett* 2004; 208: 143-53.
108. Ross JJ, Arnason JT, Birnboim HC. Low concentrations of the feverfew component parthenolide inhibit in vitro growth of tumor lines in acytostatic fashion. *Planta Med* 1999; 65: 126-9.
109. Miglietta A, Bozzo F, Gabriel L, Bocco C. Microtubule-interfering activity of parthenolide. *Chem Biol Interact* 2004; 149: 165-73.
110. Kapadia GJ, Azuine MA, Tokuda H, Hang E, et al. Inhibitory effect of herbal remedies on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-promoted Epstein-Barr virus early antigen activation. *Pharmacol Res* 2002; 45: 213-20.
111. Johnson ES, Kadam NP, Hylands DM, Hylands PJ. Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. *Br Med J* 1985; 291: 569-73.
112. Waller PC, Ramsay LE. Efficacy of feverfew as prophylactic treatment of migraine. *Br Med J* 1985; 291: 1128.
113. Groenewegen WA, Knight DW, Heptinstall S. Progress in the medicinal chemistry of the herb feverfew. *Prog Med Chem* 1992; 29: 217-38.
114. Pfaffenrath V, Diener HC, Fischer M, Friede M, et al. The efficacy and safety of Tanacetum Parthenium (feverfew) in migraine prophylaxis- a double blind, multicentre, randomized placebo-controlled dose-response study. *Cephalalgia* 2002; 22: 523-32.
115. Pittler MH, Ernst E. Feverfew for preventing migraine. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 1: 2286.
116. Patrick M, Heptinstall S, Doherty M. Feverfew in rheumatoid arthritis: A double blind, placebo controlled study. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 547-9.
117. Setty AR, Sigal AH. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: Mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Semin Arthritis Rheum* 2005; 34: 773-84.
118. Smith TH, Liu X. Feverfew extracts and the sesquiterpene lactone parthenolide inhibit intercellular adhesion molecule-1 expression in human synovial fibroblasts. *Cell Immunol* 2001; 209: 89-96.

119. Saadane A, Eastman J, Berger M, Bonfield TL. Parthenolide inhibits ERK and AP-1 which are dysregulated and contribute to excessive IL-8 expression and secretion in cystic fibrosis cells. *J Inflamm (Lond)* 2011; 8:26.
120. Saadane A, Masters S, DiDonato J, Li J, ve ark. Parthenolide inhibits I κ B kinase, NF- κ B activation, and inflammatory response in cystic fibrosis cells and mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 36: 728-36.
121. Miller LG. Herbal medicinals: Selected clinical considerations focusing on known or potential drug-herb interactions. *Arch Intern Med* 1998; 158: 2200-11.
122. Feverfew- a new drug or an old wives' remedy? *Lancet* 1985; 1: 1084.
123. Vickers HR. Feverfew and migraine. *Br Med J* 1985; 291:827.
124. Herz U, Lump U, Da Palma JC, Enssle K, ve ark. The relevance of murine animal models to study the development of allergic bronchial asthma. *Immunol Cell Biol* 1996; 74: 209-17
125. Temelkovski J, Hogan SP, Shepherd DP, Foster PS, ve ark. An improved murine model of asthma: selective airway inflammation, epithelial lesions and increased methacholine responsiveness following chronic exposure to aerosolised allergen. *Thorax* 1998; 53: 849-56.
126. Henderson WR Jr, Chiang GK, Tien YT, Chi EY. Reversal of allergen-induced airway remodeling by CysLT1 receptor blockade. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 718-28.
127. Smolinski AT, Pestka JJ. Comparative effects of the herbal constituent parthenolide (feverfew) on lipopolysaccharide-induced inflammatory gene expression in murine spleen and liver. *J Inflamm (Lond)* 2005; 29: 2-6.
128. Walsh GM. Targeting airway inflammation: novel therapies for the treatment of asthma. *Curr Med Chem* 2006; 13: 3105-11.
129. Kumar RK. Understanding airway remodelling in asthma: a basis for improvements in therapy? *Pharmacol Ther* 2001; 91:93-104.
130. Payne DN, Rogers AV, Adelroth E, Bandi V, ve ark. Early thickening of the reticular basement membrane in children with difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 78-82.
131. Mohn A, Verini M, Mele R, De Leonardis C, ve ark. Adrenal suppression from high-dose inhaled fluticasone propionate in children with asthma. *Eur Respir J* 2004; 23: 354-5

132. Boulet LP. Perception of the role and potential side effects of inhaled corticosteroids among asthmatic patient. *Chest* 1998; 113: 578-92.
133. Chan PW, DeBruyne JA. Parental concern towards the use of inhaled therapy in children with chronic asthma. *Pediatr Int* 2000; 42: 547-51.
134. Frieri M. Herbs therapies: What allergist immunologists should know regarding patient use of complementary and alternative medicine. *Allergy and Asthma Proc* 2001; 22: 209-15.
135. Babayigit Hocaoglu A, Karaman O, Erge Olmez D, Erbil G, ve ark. Glycyrrhizin and long term histopathological changes in a murine model of asthma. *Curr Therap Res* 2011; 72: 250-61.
136. Babayigit A, Olmez D, Karaman O, Ozogul C, ve ark. Effects of Ginkgo biloba on airway histology in a Mouse model of chronic asthma. *Allergy Asthma Proc* 2009; 30: 186-91.
137. Wright JG, Christman JW. The role of nuclear factor kappa B in the pathogenesis of pulmonary diseases: implications for therapy. *Am J Respir Med* 2003; 2: 211-9.
138. Kato A, Schleimer RP. Beyond inflammation: airway epithelial cells are at the interface of innate and adaptive immunity. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 711-20.
139. Poytner ME, Cloots R, van Woerkom T, Butnor KJ, ve ark. Nf-kappa B activation in airways modulates allergic inflammation but not hyperresponsiveness. *J Immunol* 2004; 173: 7003-9.
140. Broide DH, Lawrence T, Doherty T, Chao J, ve ark. Allergen -induced peribronchial fibrosis and mucus production mediated by IkappaB kinase beta-dependent genes in the airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 177723-28.
141. Scheller JR, Polosukhin VV, Mitchell D, Cheng DS, ve ark. Nuclear factor kappa B induction in airway epithelium increases lung inflammation in allergen- challenged mice. *Exp Lung Res* 2009; 35: 883-95.
142. Edwards MR, Bartlett NW, Clarke D, Birrell, ve ark. Targeting the NF- κ B pathway in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Therapeut* 2009; 121: 1-13.

- 143.** Hart L, Lim S, Adcock IM, Barnes PJ, ve ark. Effects of inhaled corticosteroid therapy on expression and DNA binding activity of nuclear factor kappaB in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161; 224-31.
- 144.** Wilson SJ, Wallin A, Della-Cioppa G, Sandstrom T, ve ark. Effects of budesonide and formoterol on NF-kappaB, adhesion molecules, and cytokines in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1047-52.
- 145.** Maeba S, Ichiyama T, Ueno Y, Makata H, ve ark. Effect of montelukast on nuclear factor kappaB activation and proinflammatory molecules. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94: 670-4.
- 146.** Birrell MA, Hardaker E, Wong S, McCluskie K, ve ark. IkappaB kinase-2 inhibitor blocks inflammation in human airway smooth muscle and a rat model of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 962-971.
- 147.** Desmet C, Gosset P, Pajak B, Cataldo D, ve ark. Selective blockade of NF-kappa B activity in airway immune cells inhibits the effector phase of experimental asthma. *J Immunol* 2004; 173: 5766-75.
- 148.** Mazor RL, Menendez IY, Ryan MA, Fiedler MA, ve ark. Sesquiterpene lactones are potent inhibitors of interleukin 8 gene expression in cultured human respiratory epithelium. *Cytokine* 2000; 12: 239-45.