

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI HASTALIKLARI
ANABİLİMDALI

METİL PALMİTATIN DENEYSEL ASTIM TEDAVİSİNDEKİ YERİ

Dr. CAN TEMİZ

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2013

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI HASTALIKLARI
ANABİLİMDALI

METİL PALMİTATIN DENEYSEL ASTIM TEDAVİSİNDEKİ YERİ

Dr. CAN TEMİZ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ATİLA AKKOÇLU**

UZMANLIK TEZİ

İZMİR – 2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgisi ve deneyimlerinden faydalandığım hocalarım başta Prof. Dr. Atila Akkoçlu olmak üzere Prof. Dr.Arif Hikmet Çımrına, Prof Dr. Oya İtile ,Prof Dr.Oğuz Kılınca ve Prof Dr. Can Seninç 'e sonsuz teşekkür ve minnet duygularıyla

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ŞEKİL LİSTESİ	ii
TABLO LİSTESİ.....	ii
RESİM LİSTESİ	iii
KISALTMALAR.....	iv
ÖZET	1
SUMMARY	2
BÖLÜM 1 GİRİŞ VE AMAÇ	3
BÖLÜM 2 GENEL BİLGİLER	6
2.1.Bronşiyal Astım	6
2.2.Bronşiyal Astım Patofizyolojisi.....	6
2.3.Astım Oluşumundan Sorumlu Medyatorler ve Salgılandığı Hücrelerin Solunum Yollarına Etkileri	8
2.3.1.Medyatorlerin salgılandığı hücreler	
2.3.2.Medyatorler	
2.4.Astım Tedavisi	12
2.4.1.Antiinflamatuvar tedavide kullanılan ajanlar	
2.4.2.Astım tedavisinde yeni yaklaşımlar	
BÖLÜM 3 GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1.Materyal ve Metot.....	22
3.2.İstatistiksel Değerlendirme	23
BÖLÜM 4 BULGULAR	24
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	32
BÖLÜM 6 SONUÇ	35
KAYNAKLAR.....	36

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA

Sekil 1.1. Metil palmitat

Sekil 2.1. NF-kB yolağı

Sekil 2.1. İnflamatuar hücreler

Sekil 2.2. Mast hücresi

Sekil 2.3. Makrofaj

Sekil 2.4. Eozinofil

Sekil 2.5. Bazofil

Sekil 2.6. Nötrofil

Sekil 2.7. Platelet

Sekil 2.8. Bradikinin oluşum yolağı

Sekil 2.9. Astım model planı

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Deney grupları ve sayıları

Tablo 2. Işıl mikroskopik doku takip protokolü

Tablo 3. Hematoksilen –Eozin boyama metodu

Tablo 4. PAS Boyama metodu

Tablo 5. Verilerin istatistiksel analizi

Tablo 6. İkili grupların Mann Whitney U testi ile karşılaştırılması

RESİM LİSTESİ

Resim 1.	Kontrol grubuna ait akciğer kesitleri (HE boyaması) Normal akciğer parankimi ve hava yolları	29
Resim 2.	Kontrol grubuna ait akciğer kesitleri (HE boyaması) Epitelyum boyu ve subepitelial kalınlık.....	29
Resim 3.	Kontrol grubuna ait akciğer kesitleri(PAS Boyaması)	29
Resim 4.	Kontrol grubuna ait akciğer kesitleri (Toluidin blue boyaması)	29
Resim 5.	Astım grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması) Genel	29
Resim 6.	Astım grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması) Epitelyum ve subepitelial kalınlık.....	29
Resim 7.	Astım grubuna ait Akciğer kesiti (PAS Boyaması)	30
Resim 8.	Astım grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması)	30
Resim 9.	Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması).....	30
Resim 10.	Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması) Epitelyum ve subepitelial kalınlık.....	30
Resim 11.	Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (PAS Boyaması)	30
Resim 12.	Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması)	30
Resim 13.	Palmitat grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması).....	31
Resim 14.	Palmitat grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması) Epitelyum ve subepitelial kalınlık.....	31
Resim 15.	Palmitat grubuna ait Akciğer kesiti (PAS Boyaması)	31
Resim 16.	Palmitat grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması).....	31

KISALTMALAR

5-HPETE	5-Hidropereoksieikosatetraenoik
5-LO	5-Lipooksijenaz
12-HETE	12- Hidroksieikosatetraenoik
Ach	Asetilkolin
CCl4	Karbontetra klorür
COX	Siklooksijenaz
Cys LT	Sisteinil lökotiren
DOX	Doksorubisin
EAR	Erken Astmatik Reaksiyon
ECP	Eizinoofilik Katyonik Protein
eGPx	Ekstraselüler glutatyon peroksidaz
FLAP	5-LO '1 aktive edici protein
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Glutatyon
IFO	ifosfamid
IgE	Immunglobulin E
IL	interlökin
INF- alfa	interferon alfa
INF-	gama interferon gamma
i.p.	intraperitoneal
LDH	Laktat dehidrogenaz
LPx	Lipid peroksidaz
LT	Lökotrien
MBP	Major basic protein

NO	Nitrik oksit
OVA	Ovalbumin
PAF	Platelet Activation Factor
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PG	Prostoglandin
PL	Fosfolipaz
sf	% 0.9 NaCl (serum fizyolojik)
SOD	Superoksit dismutaz
TH	T lenfosit
TxB2	Tromboxan B2
VCAM	Vasküler hücre adezyon molekülü

ÖZET

METİL PALMITATIN DENEYSEL ASTIM TEDAVİSİNDEKİ YERİ

Amaç:

BALB/c farelerde oluşturulmuş kronik astım modelinde metil palmitat molekülünün antiinflamatuvar ve antioksidan etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Metot: Yirmisekiz adet BALB/c fare dört gruba ayrıldı. : I; II; III; ve kontrol grubu. Tüm gruplar kontrol grubu hariç ovalbumin ile sensitize edilmiş ve sonrasında nenülizasyon işlemi ile astım oluşturulmuştur. Grup I astım oluşturulmuş fareler salin ile; Group II dexamethasone 1mg/kg; Group III MP 300 mikrogram/kg; intraperitoneal olarak son ay haftada 3 kez tedavi edilmiştir. Hayvanlar son ilaç uygulamasından 24 saat sonra sakrifiye edilmiştir. Histolojik havayolu bulguları mikroskopik inceleme ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: MP ile tedavi edilen astımlı farelerdeki histolojik parametreler grup I ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düzelme izlenmiştir. Grup III ile Grup II karşılaştırıldığında tüm histolojik parametreler benzer olarak izlenmiş, aralarında istatistiksel fark saptanmamıştır.

Sonuç:

MP'ın kronik astım oluşturulan farelerdeki histolojik bulguları düzelttiği izlenmiştir. Ancak MP tedavide kullanılması ve etkinliğinin daha iyi gösterilmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

SUMMARY

THE EFFECT OF METHYL PALMITATE ON TREATMENT OF EXPERIMENTAL ASTHMA

Objective:

It was aimed to determine the beneficial effects of methyl palmitate (MP) which were demonstrated to have antioxidant and anti-inflammatory effects on murine model of chronic asthma.

Methods:

Twenty-eight BALB/c mice were divided into four groups: I; II; III; and control group. All groups except control group were sensitised and challenged with ovalbumin. Mice with experimentally induced asthma in Group I received saline; Group II dexamethasone 1mg/kg; Group III MP 300 mikrogram/kg; intraperitoneally three times per week in the last four weeks of the challenge period. Animals were sacrificed 24h after the last administration of study drugs. Histological findings of airways were evaluated by light microscopic examination

Results:

Results: All histological parameters of asthma in the group treated with MP (Group III) were significantly ameliorated when compared with the group treated with saline (Group I). All histological parameters were similar between the group treated with MP (Group III) and the group treated with dexamethasone (Group II).

Conclusions:

We found that MP ameliorated histological changes of chronic murine model of asthma. Further studies are needed to evaluate the efficacy of MP in the treatment of asthma.

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

Astım her yaşta sık görülen akut ve kronik hastalıklardan olup, tekrarlayan solunum yolu semptomlarına neden olan inflamatuvar nitelikli bir hastalıktır. Solunum yolu inflamasyonu aynı zamanda solunum yolu aşırı duyarlılığına da neden olmaktadır (1). Astımın, nefes darlığı, hışıltılı solunum, göğüste sıkışma ve baskı hissi, öksürük, koyu kıvamlı balgam, öksürüğün inatçı olması ve gece uykudan uyandırması gibi semptomları vardır (2). Şikayetin olmadığı dönemler vardır ve bazı faktörler (allerjenler, iritanlar, egzersiz, virüs enfeksiyon ilaçları, emosyonel faktörler) ile provake olur (3). Astımın patofizyolojisinde, astımın temelini oluşturan alerjik duyarlılaşma güçlü bir genetik özellik taşır. Ev tozu akarlarının dışkılarındaki proteinlere, hamamböceği allerjenlerine, kedi, köpek ve diğer hayvan tüylerine, polenlere ve diğer allerjenlere belirli bir yoğunlukta ve sürede maruz kalınması, allerjenlerin antijen sunan hücreler tarafından sitokinlerin salınmasına neden olur. Bu sitokinler mukozal infiltrasyon yoluyla giren bu allerjenlere karşı IgE yapımı gibi proinflamatuvar süreci başlatırlar ve inflamatuvar plazma hücreleri, mast hücreleri ve eozinofillerin aktivasyonuna neden olurlar. Kişi bir kez duyarlılaştıktan sonra allerjenler sonraki her karşılaşmada, astım belirtileri ile sonuçlanan alerjik olaylar zinciri tetiklemiş olur (4). Solunum yolunun kronik inflamasyonu olan astım, birçok yapısal ve inflamatuvar hücrenin aktivasyonunu gerektirmektedir. Bütün bu hücrelerin salgıladığı, inflamatuvar medyatörler, sonuçta astımın tipik patofizyolojik değişikliklerini meydana getirmektedir. Astım çalışmaları sonucu 50 den fazla medyatör tanımlanmıştır (5). Bazı bitkiler veya onların saflaştırılmış bileşenleri yıllardan beri halk arasında tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Şimdilerde de klasik ilaçla tedavilerde yan etkilerin çok fazla ortaya çıkması ve sentetik ürünlerin maliyetinin yüksek olması sebebiyle, bitkisel kaynaklı ilaçların araştırılmasına ve tedaviye katkıda bulunmaları için üzerlerinde fazlaca çalışma yapılmasına yol açmıştır. Eozinofillerin, astımda en önemli efektör hücre olduklarına inanılır. Eozinofiller gerek granüllerinde depolanmış, gerekse membranlarından salıverilen medyatörleri aracılığıyla astmatik inflamasyonda rol oynarlar (6). Dolaşımdan solunum yollarına geçen eozinofiller aktive olduğunda çeşitli enzim, protein ve medyatörler salgılayarak doku hasarına neden olurlar. Epitel bütünlüğünün bozulması astımlı hastalarda solunum yolu aşırı duyarlılığının artmasına ve (7)solunum yolu obstrüksiyonu gibi değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olurlar (8). Astım patogenezinde solunum yolu

inflamasyonunun temel bozukluk olması nedeniyle tedavide inflamasyonun giderilmesi öncelikli amaçtır. Bu amaçla kullanılmakta olan kontrol edici ilaçlar arasında en başta kortikosteroidler gelmektedir. Çeşitli sebeplerden dolayı optimal düzeyde başaramayan astım kontrolü yeni ilaç yaklaşımlarını sürekli gündemde tutmaktadır (9) Astım, ataklarla seyreden kronik inflamatuvar solunum yolu hastalığıdır. Eozinofiller, T hücreleri, makrofajlar, dentritik hücreler, mast hücreleri inflamasyonda rol oynarlar. Astımda gözlenen epitel hücre hasarının majör nedenleri; akciğer dokusuna eozinofil infiltrasyonu ve daha sonra eozinofil degranülasyonu ile salınan toksik granül proteinleridir. Bu nedenle eozinofillerin matürasyonu, akciğer dokusuna migrasyonu veya fonksiyonlarının inhibe edilmesinin astım tedavisinde faydalı olacağı düşünülebilir. Metil palmitat endojen bir tür yağ asidi esteridir, antiinflamatuvar etkisini intrastoplazmik transkripsiyon faktörü olan NF kB ve apoptozisde etkili olan p 65 aktivitesini kısıtlayarak göstermektedir. Böylece pulmoner makrofaj aktivitesi ve buna bağlı sitokin aracılı inflamasyonun önüne geçmektedir. Buradan yola çıkarak metil palmitatın astım tedavisinde ki yerinin araştırılması düşünülmüştür.

Bronşiyal astım solunum yollarının tekrarlayan bir hastalığı olup, nefes darlığı (soluma güçlüğü), öksürük, hırıltı, hışıltı ve bazen de koyu kıvamlı balgam çıkarmayla seyreden, akut ya da subakut dönemlerle belirlenen bir hastalıktır. Belirtileri, bronş duvarındaki kasların yaygın kasılmasına bağlıdır. Kasılmayla birlikte bronş kanalını daraltan mukoza şişmesi (ödemi) gözlenir. Ayrıca, hafif yapışkan özellikte, koyu kıvamlı bir salgı üreten solunum yolları bezlerinin işlevi de artar (10).

Astım patogenezi araştırmak üzere birçok hayvan modelleri geliştirilmiştir. Özellikle fare modelinin astım immünoloji ve patogenezi ile ilgili çalışmalar için ideal olduğu ve tam olarak insan hastalığını yansıtmaya da hava yolu aşırı duyarlılığı ve allerjik pulmoner inflamasyonun immünobiyojisi hakkında bilinenlerin insanlar için de uygulanabileceği belirtilmiştir (90). Deneysel astım fare modeliyle ilgili yapılan çalışmalarda steroid tedavisini takiben hava yolunda eozinofillerin, lenfositlerin özellikle de CD4 seviyelerinin ve nitrik oksit (NO) üretiminin azaldığı gösterilmiştir (11).

Metil palmitat endojen bir tür yağ asidi esteridir antiinflamatuvar etkisini intrastoplazmik transkripsiyon faktörü olan NF kB ve apoptozisde etkili olan p 65 aktivitesini kısıtlayarak göstermektedir. Böylece pulmoner makrofaj aktivitesi ve buna

bağlı sitokin aracılı inflamasyonun önüne geçmektedir(12). Bleomycin induced pulmoner fibrosis fare modelinde anti inflamatuvar ve anti fibrotik etkinliği gösterilmiştir (13).Astım da etkinliği henüz incelenmemiştir.

Çalışmamızda deneysel astım modeli oluşturarak metil palmitat tedavisinin inflamasyona katılan mediatörler ve hava yolunda oluşan patolojik değişiklikler üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1.Bronşial Astım

Astım semptomları, nefes darlığı, hışıltılı solunum, göğüste sıkışma ve baskı hissi, öksürük, balgam, öksürüğün inatçı olması ve gece uykudan uyandırmasıdır. Astım semptomlarının özellikleri ise tekrarlayıcı niteliktedir, daha çok gece ve/veya sabaha karşı ortaya çıkar, nöbetler halinde olur, kendiliğinden veya ilaçlarla hafifler veya kaybolur, şikayetin olmadığı dönemler vardır ve bazı faktörler (allerjenler, iritanlar, egzersiz, virüs enfeksiyon ilaçları, emosyonel faktörler) ile provake olur (14).

Astımın prevalansı, dünyada prevalans farklılıklar göstermekle birlikte genel olarak batı toplumlarında daha yüksek doğu toplumlarında daha düşük bulunmaktadır. Astım için bilinen en büyük risk faktörü ailede astım varlığıdır. Yapılan çalışmalar bunun birçok genin kontrolünde olduğunu telkin etmektedir.

Son yıllardaki artıştan genetik faktörlerin rolü olamayacağı ve bunda bazı çevresel faktörlerin de rolü olabileceği sanılmaktadır. Dünyada sıklığı % 1,4 ile % 11.4 arasında saptanmıştır. Ülkemizde ise bu oran % 7.8-12.9 arasında bildirilmektedir. Kırsal bölgelerde daha az görülmektedir. Kırsal alandan kente göçenler ve bunların çocuklarında astım prevalansı artmaktadır. Multifaktoriyel veya poligenik geçişli bir hastalıktır (15).

Astımın etiyolojisinde otonomik, endokrinolojik, psikolojik, immünolojik, enfeksiyöz faktörler rol almaktadır (16).Astım oluşumundaki risk faktörleri ise kişisel, çevresel olabilir

2.2. ASTIMIN PATOFİZYOLOJİSİ

Astımın temelini oluşturan alerjik sensitizasyon (duyarlılaşma) güçlü bir genetik özellik tasır. IgE (immunglobulin E) / mast hücresi / Th2 lenfosit üçgeninin oluşturduğu immün cevabı geliştirme yatkınlığı atopik kişiler tarafından genetik olarak aktarılır. Ev tozu akarlarının dışkılarındaki proteinlere, hamamböceği allerjenlerine, kedi, köpek ve diğer hayvan tüylerine, polenlere ve diğer allerjenlere belirli bir yoğunlukta ve sürede maruz kalınması, allerjenlerin antijen sunan hücreler tarafından CD4+T lenfositlere sunulmasına ve takiben interlökin IL(interlökin)-3, IL-4, IL-5 ve diğer Th2 sitokinlerin

salınmasına neden olur. Bu sitokinler mukozal infiltrasyon yoluyla giren bu allerjenlere karşı IgE yapımı gibi proinflamatuvar süreci başlatırlar ve plazma hücreleri, mast hücreleri ve eozinofillerin aktivasyonuna neden olurlar. Kişi bir kez duyarlılaştıktan sonra allerjenler sonraki her karşılaşmada, astım belirtileri ile sonuçlanan alerjik olaylar zinciri tetiklemis olur (17).

Erken Faz: Allerjen ile karşılaşma sonucunda B lenfositleri tarafından salgılanan allerjen-spesifik IgE antikorları mast hücreleri ve bazofillerde bulunan yüksek affiniteli IgE reseptörlerine bağlanırlar. Bu olay alerjik sensitizasyon olarak bilinir. Aynı allerjen ile daha sonraki karşılaşmalarda, dakikalar içinde bir allerjen-antikor reaksiyonu oluşur. Eğer allerjen iki veya daha fazla IgE molekülü arasında köprü yapacak şekilde IgE moleküllerine bağlanırsa IgE reseptörleri hücre yüzeyine agrege olur, membran bağımlı proteolitik enzimler de aktive olarak hücre içinde bir dizi enzimatik olaylar başlar. Böylece enerji bağımlı, nonsitotik bir sürecin sonunda hücre içi granüller hücre membranı ile birleşir ve içeriklerini hücre dışına boşaltır (degranülasyon). Degranülasyon materyali histamin, triptaz, kimaz, kininojenaz, heparin gibi önceden sentez edilmiş medyatörleri içerir. Ayrıca mast hücreleri prostaglandin PGD₂ (prostoglandin) ve sülfido peptidil lökotrienleri de- LTC (lökotrien), LTE₄, LTD₄- bu sırada sentezleyerek salgılar.

Bu medyatörler damarlardan sızıntıya neden olarak astımın bulguları olan bronkospazm, mukozal ödem ve sekresyona yol açar. Bu medyatörler duyu sinirlerini de uyarak öksürük gibi reflekslerin uyarılmasına yol açar. Yukarıda bahsedilen bütün olaylar allerjen ile karşılaşmadan sonraki birkaç dakika içinde ortaya çıkar ve erken faz veya ani tip alerjik cevap olarak tanımlanır. Alerjik cevabın erken fazında oluşan karakteristik belirtiler dispne-vizing (bronkospazm, mukozal ödem), öksürük ve balgamdır.

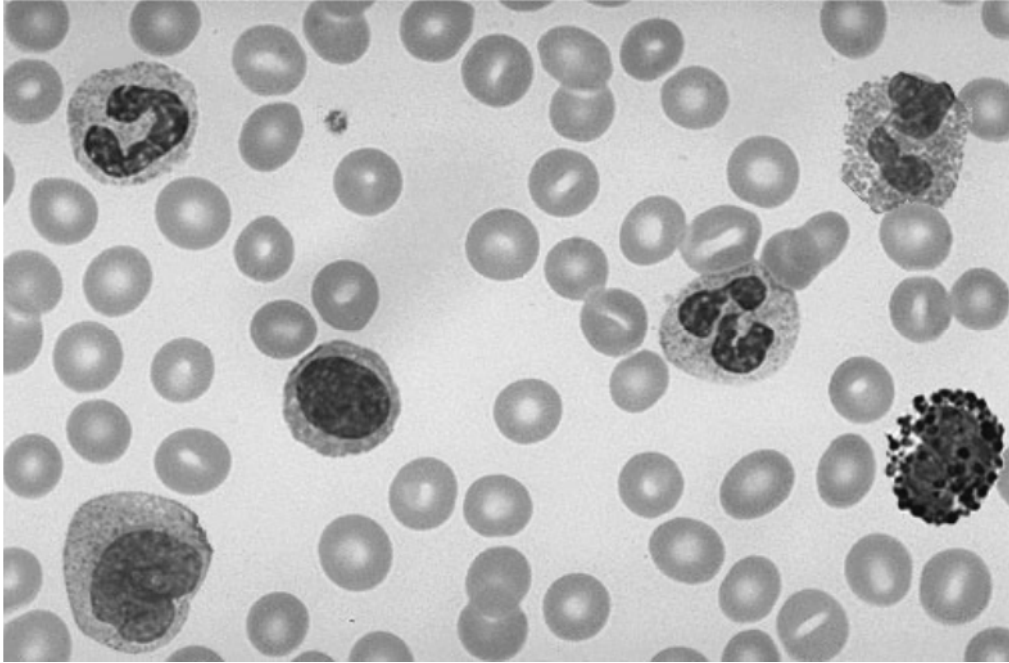
Geç Faz: Erken faz sırasında salgılanan mast hücre kökenli medyatörler (histamin, triptaz, kimaz, kininojenaz, heparin, PGD₂ ve sülfidopeptidil lökotrienler, gibi) postkapiller endotel hücreler üzerine etki ederek, dolaşan lökositlerin endotel hücrelerine adezyonunu kolaylaştıran VCAM (vasküler cell adhesion molecule=damar hücresi adezyon molekülü) ve E-selektin ekspresyonunu artırır. IL-5 gibi kemoatraktan sitokinler de eozinofiller, nötrofiller, bazofiller, T lenfositleri ve makrofajların mukozayı infiltre etmesini kolaylaştırırlar. Alerjen ile karşılaşmadan 4-8 saat sonra bu hücreler aktive olur ve erken fazın bir çok proinflamatuvar reaksiyonlarını reaktif eden inflamatuvar medyatörler

(histamin, kinin, TAME-esteraz, MBP (majör basic protein), eozinofil kökenli nörotoksin, gibi)salgılar. Bu hücre aracılıklı geç inflamatuvar reaksiyona geç faz cevabı denir. Geç faz reaksiyonda mukozal ödem ön plandadır. Sonuçta MBP, ECP (eozinofilik katyonik protein)ve lökotrienler gibi eozinofil kaynaklı mediyatörler kronik alerjik hastalığın klinik ve histolojik görünümü olan epitel hasarına yol açar (18).

2.3. Astım Oluşumunda Rolü Olan Medyatörler, Salgılandığı Hücreler ve Solunum Yollarına Etkileri

2.3.1. Mediyatörlerin salgılandığı hücreler

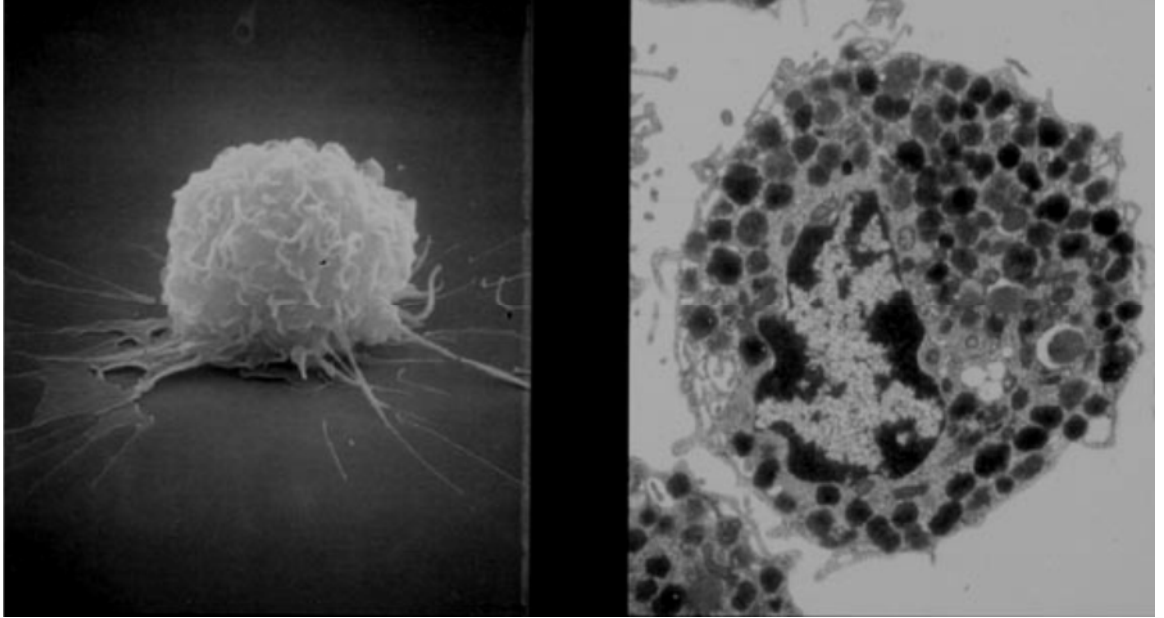
Astım patogenezinde rol alan hücreler, mast hücreleri,Bazofil, Eozinofil , Alveolar makrofaj , trombosit gibi primer efektör hücreler ile bunların etkinleşmesi sonucu ortama salınan medyatörler aracılığıyla olaya karışan nötrofil ,respiratuar epitelyum ve endotel hücreleri gibi sekonder efektör hücreler sayılabilir.



Şekil 2.1 İnflamatuvar Hücreler

Mast Hücresi

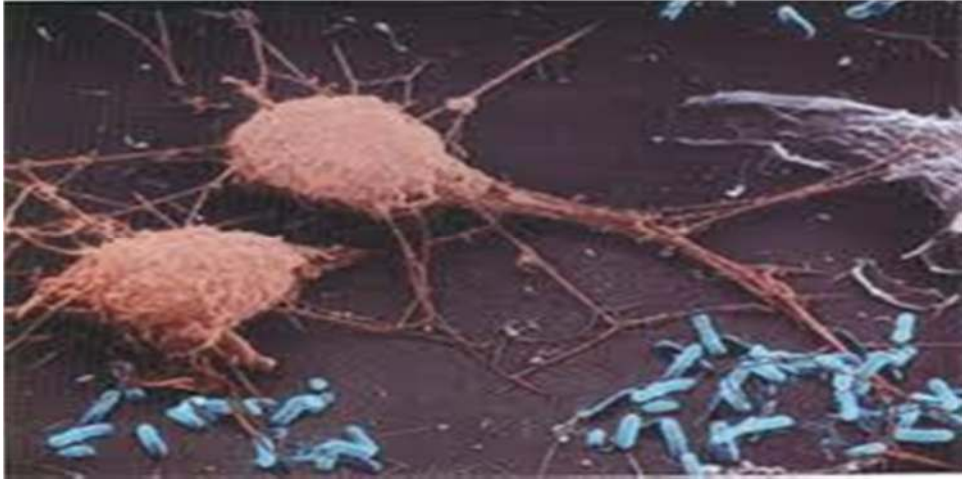
Kemik iliği prekürsör hücrelerinden köken alan mast hücreleri akciğerlerde solunum yolu lümeninde, epitelde, submukozada, ve akciğer parankiminde bulunur. inhale allerjenlerle uyarıldıklarında degranüle olurlar. Mast hücresinin yüzeyinde bulunan IgE moleküllerinin ilgili allerjen tarafından bağlanması sonucunda tirozinkinaz ve proteinkinaz C aktivasyonu ile daha önce sentezlenmiş olan histamin ve triptaz gibi medyatörler eksitozla hücre dışına verilir. Ayrıca prostoglandinler, lökotrienler ve PAF medyatörler sentezlenir ve salınır. Histamin ve lökotrienlerin etkisiyle EAR (Erken Astmatik Reaksiyon) karakterize eden bronkokonstrüksiyon ve ödem meydana gelir. Astmatiklerin BAL sıvısında mast hücrelerinin sayısı yüksek bulunmuştur, Mast hücrelerinden salınan maddeler; histamin, proteoglikanlar (heparin, kondroitinler), eikozonaitler (PGD2, LTC4, LTB4), enzimler (nötral proteazlar, beta-heksozaminidaz, betagalaktosidaz, peroksidaz, süperoksit dismutaz, sitokinler (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, INF-gama), PAF (19).



Şekil 2.2 Mast Hücresi

Makrofaj

Mononükleer fagositik hücreler kemik iliğinden köken alan mobil hücrelerdir. Astmalılardaki BAL sıvısında makrofaj sayılarının arttığı bulunmuştur. Akciğerde alveolar makrofajlar olarak bulunurlar, fonksiyonları çeşitlidir. Fagositoz ve pinositoz; infeksiyöz ajanların, toksik partiküllerin ve hücre artıklarının ortadan kaldırılmasında etkilidirler. Bundan başka bazı maddelerin sekresyonuna sebep olurlar ki bunlar, sitokinler, kemotaktik faktörler, growth faktör, lipid medyatörleri oksidanlardır. Bazı hücrelerle de etkileşme halindedirler ki bunlar da, T -lenfositlerine antijen sunumu, bağ dokusunun sentez-tamiri, kronik inflamasyonda fibrozisdir (20).

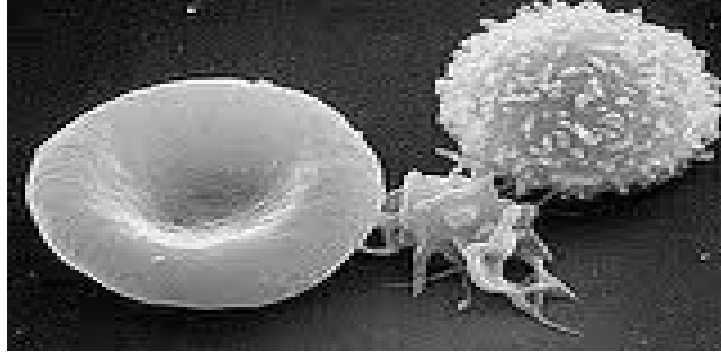


Şekil 2.3 Makrofaj

Eozinofil

Kemik iliğinden köken alan bir başka hücre de bunlardır. Periferik kan yanında, solunum yollarında ve BAL sıvısında eozinofil sayıları ile astım siddeti arasında anlamlı ilişkinin varlığı gösterilmiştir. Astmalıların submukozal biyopsilerinde saptanan eozinofillerin degranüle olduğu; allerjen maruziyeti sonrası eozinofillerin solunum yollarında belirginleştiği; bunun, allerjenle temastan sonraki 4-24 saat içinde olduğu bildirilmiştir. Eozinofiller gerek granüllerinde depolanmış, gerekse membranlarından salıverilen medyatörleri aracılığıyla astmatik inflamasyonda rol oynarlar (21). Dolaşımdan

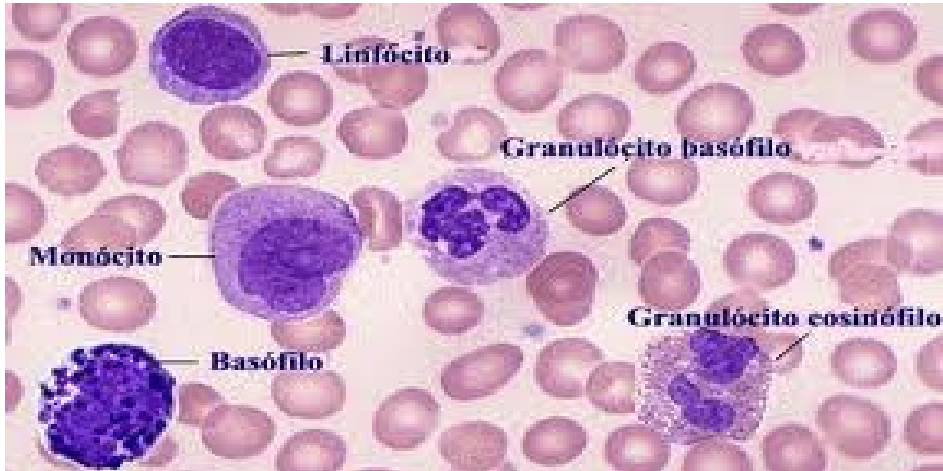
solunum yollarına geçen eozinofiller aktive olduğunda çeşitli enzim, protein ve medyatörler salgılayarak doku hasarına neden olurlar. Eozinofil kökenli bazik proteinler ve oksijen metabolitleri dokulara toksik etki yaparlar. Bronş epitelinde kolumnar hücreler ile bazal hücreler arasında bulunan desmozomları parçalayarak epitel bütünlüğünün bozulmasına ve epitel hücrelerinin lümene dökülmesine neden olurlar (22).



Şekil 2.4 Eozinofil

Bazofiller

Dokudaki mast hücrelerinin dolaşımdaki formu olarak kabul edilirler. Bazofiller her ne kadar morfolojik olarak mast hücrelerinden farklı ise de, her iki hücre de kemik iliğinde yapılır. Bazofiller differansiyonunu kemik iliginde tamamlar, diğeri ise dokularda tamamlar. Granülosit seri hücrelerin en küçüğüdür. Mast hücreleri ile benzeşen en önemli yönleri ise, IgE için yüksek affiniteli reseptörleri bulundurmalarıdır. Allerjik hastalıkların veya astımda, allerjene karşı IgE sınıfı antikor cevabının gelişimi önem taşır (23).



Şekil 2.5 Bazofil

2.4. Astımda Tedavi

Astım tedavisinin amacı, klinik kontrolün sağlanması ve bunun sürdürülmesidir. Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar kontrol edici ve rahatlatıcı (semptom giderici) ilaçlar olarak ikiye ayrılır (24).

Kontrol edici ilaçlar esas olarak antiinflamatuvar etkileri yoluyla astımın kontrol altında tutulmasını sağlamak üzere her gün ve uzun süre kullanılan ilaçlardır. Bu grup; inhaler ve sistemik steroidleri, lökotrien antagonistlerini, inhaler steroidler ile birlikte kullanılan uzun etkili inhaler beta2-agonistleri, yavaş salınan teofilin, kromonlar, anti-IgE ve sistemik steroid dozunun azaltılmasını sağlayan diğer tedavileri içerir. Inhaler steroidler günümüzde kullanılan en etkili kontrol edici ilaçlardır.

Rahatlatıcı ilaçlar hızla etki ederek bronkokonstriksiyonu düzelten, semptomları gideren ve gerektiğinde kullanılan ilaçlardır. Bu grup hızlı etkili inhaler beta2- agonistleri, inhaler kısa etkili antikolinergik ilaçları, kısa etkili teofilini ve kısa etkili oral beta2-agonistleri içerir. söz konusudur (25).

Kontrol Edici İlaçlar

İnhaler steroidler

İnhaler steroidler günümüzde persistan astımın tedavisinde kullanılan en etkili antiinflamatuvar ilaçlardır.

Çalışmalarda bu ilaçların astım semptomlarının (26), hava yolu aşırı duyarlılığının (27), hava yolu inflamasyonunun (28), atak sıklığının ve şiddetinin azaltılması (29), astıma bağlı mortalitenin azaltılması (30), yaşam kalitesinin, akciğer fonksiyonlarının artırılması, sonuç olarak astımın kontrol altına alınmasındaki etkinliği gösterilmiştir. Ancak bu ilaçlar astımda sürekli kullanım gerektirir, tedavi kesilecek olursa klinik kontrolde bozulma meydana gelir (31). İnhaler steroidler arasında güç ve biyoyararlanım açısından farklılıklar vardır; ancak astımda düz bir doz-yanıt ilişkisi görüldüğünden, bu farklılıkların taşıdığı klinik önem yalnızca az sayıda çalışmada doğrulanabilmiştir. Daha yüksek dozların kullanılması astım kontrolü açısından yalnızca küçük bir ek yarar sağlamakta ama yan etki

riskini artırmaktadır (32). İnhaler steroid tedavisine iyi uyum göstermeyenlerde ve sigara kullanan hastalarda daha yüksek dozlar gerekebilmektedir.

Kontrol sağlamak için, inhaler steroid dozunun artırılması yerine, ilk etapta inhaler steroide ikinci bir kontrol edici eklenebilir. Ancak yüksek doz inhaler steroid alan hastalarda ağır astım alevlenmeleri daha az görülmektedir(33).

Yan etkileri: İnhaler steroidlerin lokal yan etkileri orofaringeal kandidiyazis, ses kısıklığı (disfoni) ve üst solunum yolu iritasyonuna bağlı oluşan öksürüktür. ÖDİ'lerde bu yan etkilerin sıklığı, hava haznesi (spacer) kullanılarak azaltılabilir. İnhalasyon sonrasında ağzın yıkanması (su ile çalkalama, gargara yapılması ve tükürme oral kandidiyazisi azaltabilir. Farenkste değil akciğerlerde aktive olan ilaçların(örn. siklesonid) ve orofaringeal birikimi azaltan yeni formülasyonların ve cihazların kullanılması, bu tip yan etkileri hazne ya da ağız yıkama gereksinimi olmaksızın minimum düzeye indirir (34).

İnhaler steroidlerin akciğerlerden emilimi sistemik biyoyararlanımın bir bölümünden sorumludur. İnhaler steroidlerin yol açtığı sistemik istenmeyen etkiler, bu ilaçların dozuna, gücüne, uygulama için kullanılan cihaza, sistemik biyoyararlanımlarına, karaciğerdeki ilk geçiş metabolizmasına (inaktif metabolitlere dönüşme), sistemik olarak emilen (akciğerlerden ve olasılıkla bağırsaklardan) ilaç fraksiyonunun yarılanma ömrüne bağlıdır (35).

Bu nedenle çeşitli inhaler steroidlerin sistemik etkileri farklılıklar göstermektedir. Birkaç karşılaştırmalı çalışma, eş güçteki budesonid ve flutikazon propiyonat dozlarının daha az sistemik etkileri olduğunu göstermiştir (35-36).

Yüksek dozda uzun süre kullanılan inhaler steroidlerin sistemik yan etkileri ciltte incelme ve ekimoz (37), böbrek üstü bezlerinin baskılanması (38) ve kemik mineral yoğunluğunun azalmasıdır. Özellikle postmenopozal dönem kadınlarda kalsiyum ve D vitamini eklenmesi önerilmektedir. İnhaler steroidler kesitsel çalışmalarda, katarakt (39) ve glokom ile de ilişkilendirilmiştir; ancak prospektif çalışmalarda, posterior subkapsüler katarakt yaptığına dair kanıta rastlanmamıştır (40). İnhaler steroid kullanımının tüberküloz dahil akciğer enfeksiyonu riskini artırdığına ilişkin bir kanıt bulunmamaktadır ve aktif tüberkülozu olan hastalarda inhaler steroidler kullanılabilir (41).

Lökotrien Antagonistleri

Lökotrien antagonistlerinden sadece lökotrien reseptör antagonistleri (montelukast, ve zafirlukast) Türkiye’de bulunmaktadır. Klinik çalışmalar lökotrien antagonistlerinin küçük ve değişken bir bronkodilatör etkisinin olduğunu, öksürük dahil olmak üzere semptomları azalttığını (29), akciğer fonksiyonunda düzelme sağladığını ve hava yolu inflamasyonu ile astım alevlenmelerini azalttığını göstermiştir (41-42). Bu ilaçlar hafif persistan astımı olan erişkin hastalarda alternatif tedavi olarak (43), aspirine duyarlı bazı astımlılarda da inhaler steroidlere ek olarak kullanılabilir (44). Orta persistan astımda ve daha ileri evrede tek başına kullanılmaz ancak tedaviye eklenmesi orta ve ağır persistan astımda inhaler steroid dozunun azaltılmasını sağlayabilir (45) Allerjik rinit olgularında da etkinliklerinin gösterilmesi, allerjik rinit ile astım birlikteliğinin bulunduğu olgularda seçilmeleri veya eklenmelerini önermektedir (46).

Yan etkileri: Lökotrien antagonistleri iyi tolere edilir. Olgu sunumu olarak bildirilen Churg-Strauss sendromu gelişmesi ise sistemik ve/veya inhaler steroid dozunun azaltılmasıyla bu sendromun ortaya çıkmasına bağlanmaktadır.

Uzun etkili inhaler beta2-agonistler

Formoterol ve salmeterol gibi uzun etkili inhaler beta2-agonistler hava yolu inflamasyonunu etkilemediği için tek başına kullanılmamalıdır. İnhaler steroidlerle birlikte kullanıldığında en yüksek etkiyi gösterir.

İnhaler steroidlere uzun etkili inhaler beta2- agonistlerinin eklenmesi, gece ve gündüz semptomlarında, hızlı etkili inhaler beta2-agonisti kullanımında, alevlenme sayısında azalma ve akciğer fonksiyonlarında düzelme ile hızlı klinik kontrol sağlar. Kombinasyon tedavisinin bu etkilerine dayanarak geliştirilen steroid ve uzun etkili beta2-agonistlerinin (flutikazon+salmeterol, budesonid+formoterol, beklometazon+formoterol) sabit kombinasyon preparatları aynı zamanda tedaviye uyumu da artırabilmektedir (50). Bu iki uzun etkili beta2-agonistten formoterol hızlı başlangıçlı olduğundan semptom giderici olarak da kullanılabilir. Budesonid+formoterol kombinasyonunun hem semptom giderici, hem kontrol edici olarak kullanımıyla daha düşük steroid dozu kullanarak daha az alevlenme ve astım kontrolünde düzelme sağlanabilmektedir (41-46). Daha uzun süreli koruma sağladığı için uzun etkili beta2-agonistler egzersize bağlı bronkospazmı önlemede de kullanılabilir (47).

Yan etkileri: İnhaler beta2-agonistler yavaş salınımlı oral forma göre daha az sistemik yan etkiye (kardiyovasküler stimülasyon, iskelet kası tremoru ve hipopotasemi) yol açmaktadır. Beta2-agonistlerin düzenli olarak kullanılması taşifilaksiye (brokoprotektif, bronkodilatör ve yan etkilere karşı) yol açabilir (48).

Salmeterolün küçük bir hasta grubunda astıma bağlı ölüm riskinde olası bir artışa neden olması üzerine Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'nce (FDA) uzun etkili beta2-agonistlerin mutlaka hekim önerisiyle ve steroid ile birlikte kullanılması önerilmiştir. Astımlı hastalarda $\beta 2$ reseptör genindeki bazı varyasyonların kısa ve uzun etkili $\beta 2$ agonistlere verilen yanıtı etkilediğine dair veriler mevcuttur. Arginin homozigotlarında (B16 Arg/Arg) düzenli salbutamol kullanımı ile taşiflaksi gelişebileceği bildirilmiştir. Uzun etkili beta 2 agonistlerle genotip arasında benzer bir ilişki olup olmadığına dair çelişkili veriler vardır. Bu konudaki en geniş hasta grubunu içeren bir çalışmada; inhaler steroid ve uzun etkili beta2 agonist kullanan hastalarda farmakogenetik analiz yapıldığında arginin homozigotlarının ağır atak gelişme sıklığı açısından diğer genotiplerden farklılık göstermediği ortaya konmuştur. Bu sonuç uzun etkili beta2 agonist içeren tedavilerin uygulanmasında tolerans gelişimi ile ilgili endişeleri hafifletmiştir

Teofilin

Teofilin düşük dozlarda hafif antiinflamatuvar etkisi olan bir bronkodilatördür (49). Astımda yavaş salınımlı oral formlarda günde bir ya da iki doz kullanılabilirse de ilk seçenek kontrol edici ilaç olarak yeterli etkinlikte görülmemektedir. İnhaler steroidle kontrol sağlanamazsa teofilin eklenmesi yarar sağlayabilir ancak, uzun etkili inhaler beta2-agonist eklenmesine göre daha az etkilidir (50).

Yan etkileri: Antiinflamatuvar etkisi olan düşük teofilin dozlarında kullanılırsa yan etki sıklığı az olduğu için, doz aşımından kuşulanılmadıkça plazma teofilin düzeyi ölçümü gerekmez. Teofilin, özellikle yüksek dozlarda (>10 mg/kg/gün) önemli yan etkilere neden olabileceği için dikkatli doz seçimi ve plazma düzeyi izlemi gerektirir.

En sık görülen yan etkiler; bulantı ve kusma olup, bunun dışında gastrointestinal semptomlar, yumuşak dışkılama, kardiyak aritmi, konvülsif nöbet görülebilir. Bazı hastalarda yan etkiler zamanla kaybolabilir. Hızlı injeksiyonla uygulandığında ölüm de görülebilir. Teofilinin plazma düzeyini azaltan durumlar; ateşli hastalıklar, gebelik ve tüberküloz ilaçları iken, teofilin toksisitesi riskini artıran durumlar; karaciğer hastalığı,

konjestif kalp yetmezliği, simetidin, bazı kinolonlar ve bazı makrolidler gibi ilaçların kullanımıdır (51).

Uzun etkili oral beta2-agonistler

Uzun etkili oral beta2-agonistler salbutamol ve terbutalinin yavaş salınımlı formlarını içerir. Bu ilaçlar nadir durumlarda, ek bronkodilatasyon gerektiğinde kullanılır.

Yan etkileri: Yan etkileri kardiyovasküler stimölasyon (taşikardi), anksiyete ve iskelet kasında tremor olup inhaler beta2-agonistlere göre daha sık görülür. Teofilinle birlikte kullanıldığında istenmeyen kardiyovasküler reaksiyonlar oluşabilir. Düzenli monoterapi olarak kullanılması zararlıdır ve her zaman inhaler steroidler ile bir arada kullanılmalıdır.

Anti-IgE

Anti-IgE (omalizumab), inhaler steroidlerle kontrol altına alınamayan ağır allerjik astımı olan, perennial bir allerjene (akar, küf, ev hayvanı) duyarlı hastalarda endikedir (. Semptomların, rahatlatıcı ilaç kullanma gereksiniminin, ve alevlenmelerin azalmasını sağlayarak astım kontrolünde rolü olduğu gösterilmiştir (52). Serum total IgE düzeyi 30-700 I.U./ml olan, 12 yaş üzeri ergen ve erişkin astımlılarda kullanılabilir. Uygulama dozu hastanın kilosu ve serum total IgE düzeyine göre belirlenerek, 4 veya 2 haftada bir subkutan enjeksiyon şeklinde uygulanır. Tedavinin 16. haftasında hastanın klinik yanıtı semptomların, rahatlatıcı ilaç kullanımının ve alevlenmelerin azalmasına ve astım kontrolüne bakarak değerlendirilir. Yarar gören hastalarda tedaviye aynı dozda devam edilirken, yarar sağlanmamışsa tedavi sonlandırılır. Maliyeti çok yüksek bir tedavi seçeneğidir.

Yan etkileri: Çalışmalarda anti-IgE tedavisi oldukça güvenli görölmekle birlikte anafilaksi riski (1/1000) bildirildiğinden enjeksiyonlar uygun şartların sağlandığı merkezlerde yapılmalı ve uygulama sonrası hastalar en az iki saat bekletilmelidir (53).

Sistemik steroidler

Ağır ve kontrol altına alınamayan astımda 2 haftadan uzun süreli oral steroid tedavisi gerekebilir; ancak yan etki riski kullanımı sınırlar. Astımda uzun süreli sistemik steroid tedavisinin terapötik indeksi (etki/yan etki) uzun süreli inhaler steroide göre daha düşüktür (54). Uzun süre oral steroid verilecekse, sistemik yan etkileri azaltan önlemler alınmalıdır. Oral yolun çizgili kas üzerine etkisi daha az, yarılanma ömrü daha kısa ve doz uygulaması daha esnek olduğu için parenteral (İM ya da İV) yola tercih edilmelidir.

Yan etkileri: Sistemik yan etkiler osteoporoz, hipertansiyon, diyabet, hipotalamo-hipofizer-adrenal aksın baskılanması, obezite, katarakt, glokom, deride stria oluşumu ve deri incelmesi, kolay berelenme ve kas zayıflığıdır. Uzun süreli sistemik steroid kullanan astım hastaları osteoporoz açısından önleyici tedavi almalıdır. Oral steroidlerin kesilmesi nadir de olsa adrenal yetersizliğe neden olabilir ya da Churg-Strauss sendromu gibi altta yatan bir hastalığı ortaya çıkarabilir. Aynı zamanda tüberküloz, parazit enfeksiyonu, osteoporoz, glokom, diyabet, ağır depresyon ya da peptik ülseri mevcut olan astımlılarda sistemik steroid tedavisinde yakından ve dikkatli tıbbi gözetim önerilmektedir. Kısa süreli steroid tedavisi sırasında dahi ölümcül seyreden herpes virüs enfeksiyonları bildirilmiştir.

Kontrol edici diğer tedaviler

Steroide bağımlı ağır astımlılarda gerek duyulan oral steroid dozunu azaltabilme amacıyla çeşitli tedaviler önerilmiştir. Bu ilaçlar belli hastalarda ve uzman gözetiminde kullanılmalıdır. Düşük doz metotreksatın steroid dozunu azaltmada küçük bir genel yarar sağlarken yan etkilerinin görece sık olduğu, ilaçtan elde edilecek yararın, yaratabileceği yan etkilere değmeyeceği bildirilmiştir (55). Siklosporin, altın ve troleandromisinin (makrolid grubu) de aynı amaçla kullanımları söz konusudur.

Yan etkileri: Makrolidler bulantı, kusma, karın ağrısı ve karaciğer toksisitesine yol açar. Metotreksat gastrointestinal semptomlara, hepatik ve diffüz pulmoner parankimal hastalığa yol açabilir ve hematolojik ve teratojenik etkiler gösterebilir.

Allerjen immünoterapisi

Günümüzde allerjik astım tedavisinin temelini çevresel korunma ve ilaç tedavisi oluşturur. Allerjen immünoterapisinin erişkin astımında rolü sınırlıdır. Öncelikle allerjik duyarlanma deri testi ve/veya in vitro test ile gösterilmeli ve anamnezde de allerjenle temasın astım semptomlarına yol açtığı doğrulanmalıdır (56).

Uygulamada tek ve standardize bir allerjene duyarlı hastada, klinik açıdan önemli allerjenin standart ekstresi tolerans oluşturmak amacıyla giderek artan dozlarda verilir.

İmmünoterapi (IT) Uygulama Koşulları

Hastaya anafilaksi riski açıklanmalı ve yazılı onayı alınmalı, anafilaksi önlemlerinin alındığı merkezlerde ve allerji uzmanı tarafından uygulanmalıdır. Standart solüsyonlar kullanılmalıdır 12 ay sonra olumlu etki saptanmazsa IT kesilmelidir. Gebelikte immünoterapiye başlanmamalı, başlanmışsa doz artırımına gidilmemelidir. Tedaviye rağmen FEV1 değeri %70`den düşük olan astımlılarda immünoterapi düşünülmemelidir. Ayrıca otoimmün hastalıklar, hipertansiyon, psikolojik sorunu olan ve uyumsuz hastalarda immünoterapi kontrendikedir. İmmünoterapinin etkisinin diğer tedavilere kıyasla hafif kaldığı dikkate alınmalı ve karar verirken yarar/zarar oranına bakılmalıdır. Sıkı çevresel önlemlere ve düzenli koruyucu ilaç tedavisine rağmen astım kontrolü sağlanamadığı durumlarda düşünülmemelidir. Astımda İT`nin ilaç tedavisiyle karşılaştırıldığı çalışma yoktur. Tek alerjenle yapılması önerilmektedir (57).

Yan etkileri: Allerjen immünoterapisi uygulanırken lokal ve sistemik yan etkiler ortaya çıkabilir. Lokal olarak enjeksiyon bölgesinde kabarıklık, kızarıklık, geniş ve ağrılı reaksiyonlar ortaya çıkabilir. Sistemik reaksiyonlar da yaşamı tehdit edebilen anafilaktik reaksiyon ve şiddetli astım alevlenmeleridir. Ağır astımlı hastalar arasında immünoterapiye bağlı ölümler bildirilmiştir.

Semptom Giderici İlaçlar

Hızlı etkili inhaler beta2-agonistler

Astım alevlenmelerinde oluşan bronkospazmı gidermek ve egzersiz sırasında oluşacak bronkospazmı önlemek amacıyla kullanılırlar. Hızlı etkili inhaler beta2-agonistler yalnızca gerektiğinde ve gereken en düşük doz ve sıklıkta kullanılmalıdır. Ülkemizde bu gruba giren ilaçlardan salbutamol, terbutalin (kısa etkili beta agonistler) ve aynı zamanda uzun etkili bir beta2-agonist olan formoterol bulunmaktadır. Formoterol, yalnızca inhaler steroidle düzenli bir tedavi altındaki hastada semptom giderici olarak kullanılabilir (58). Kullanımın sıklaşması astım kontrolünde kötüleşme anlamına gelir ve tedavi yeniden

değerlendirilmelidir. Alevlenme sırasında beta2-agoniste hızlı bir yanıt alınamaması da kısa süreli oral steroid gereksinimine işaret edebilir.

Yan etkileri: Oral beta2-agonistlere benzeyen yan etkiler görülebilir. Ancak oral beta2-agonistler hızlı etkili inhaler beta2-agonistlere kıyasla tremor ve taşikardi gibi yan etkilere daha fazla yol açar.

Sistemik steroidler

Sistemik steroidler ağır astım ataklarının tedavisinde yararlıdır. Alevlenmenin ilerlemesini önler, acil servise başvuru ve hastaneye yatış gereksinimini azaltır, erken atak nüksünü önler ve morbiditeyi azaltır. Akut astımdaki etkileri kullanıldıktan 4-6 saat sonra belirgin hale gelir. Oral tedavi tercih edilir (59). Tipik olarak kısa süreli oral steroid tedavisinde 40-60 mg/gün prednizolon 5-10 gün süreyle verilir (60). Semptomlar azalır, akciğer fonksiyonu hastanın en iyi kişisel değerine yaklaştığında oral steroidler azaltılarak kesilir ve tedaviye inhaler steroidle devam edilir. İntramüsküler enjeksiyonlar, kısa süreli oral steroid tedavisinden üstün değildir.

Yan etkileri: Kısa süreli yüksek doz sistemik tedavinin yan etkileri nadirdir. Bu yan etkiler; geri dönüşlü glukoz metabolizması bozuklukları, iştah artışı, sıvı retansiyonu, vücut ağırlığında artış, aydede yüz, psikolojik durum değişiklikleri, hipertansiyon, peptik ülser ve aseptik femur nekrozu olarak sayılabilir (61).

Antikolinergik ilaçlar

Kısa etkili kullanılabilen tek antikolinergik inhaler ipratropiyum bromürün, astımlı hastada semptom giderici etkisi inhaler beta2-agonistler kadar güçlü değildir. Akut astım atağında inhaler beta2-agonistle birlikte inhaler ipratropiyum bromürün kullanılması, akciğer fonksiyonlarında anlamlı bir ek düzelme ve hastaneye yatışta azalma oluşturmaktadır (62). Ülkemizde salbutamol ile kombine olarak ÖDİ formunda ya da tek ilaç olarak nebul solüsyonu olarak bulunmaktadır.

Yan etkileri: İpratropiyum inhalasyonu ağızda kuruluk ya da acı bir tat ve prostatizm yakınmaları oluşturabilir. Mukus sekresyonunu azalttığı yönünde net bir kanıt yoktur.

Teofilin

Astımda semptom giderici olarak kısa etkili teofilin veya aminofilin kullanılabilir. Teofilinin alevlenme tedavisinde oynadığı rol tartışmalıdır. Kısa etkili teofilin hızlı etkili beta2-agoniste ek bir bronkodilatör yarar sağlamazken, solunum dürtüsünün uyarılması ve diyafram kas yorgunluğunun giderilmesi açısından yararı olabilir.

Yan etkileri: İstenmeyen etkilere yol açabileceği için yavaş salımlı teofilin tedavisi almakta olan hastalara kısa etkili teofilin verilecekse plazma düzeyi ölçülmelidir.

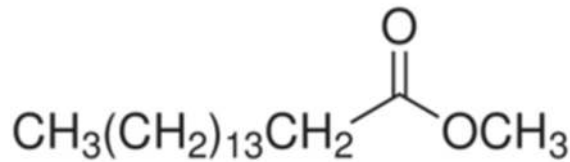
Kısa etkili oral beta2-agonistleri

Inhaler ilaç kullanamayan az sayıda hastada kullanılması uygun olabilir; ancak istenmeyen etki prevalansı daha yüksektir.

Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp

Astımda hastaların başvurduğu tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) uygulamaları; akupunktur, homeopati, yoga, bitkisel ilaçlar, diyet, ayurveda, iyonlaştırıcılar, osteopati, kiropratik manipülasyon, speleoterapi (mağara tedavisi), biyorezonans ve ozon tedavisi olarak sayılabilir. Erişkin astımında tamamlayıcı ve alternatif tıp uygulamalarının etkinliğiyle ilgili kanıt oluşturacak derecede araştırma olmayıp, etkileri kanıtlanamamıştır. TAT uygulayan terapistin psikoterapötik rolü önemli bir plasebo etkisi göstermektedir (63).

Yan etkileri: Akupunktura bağlı hepatit B, bilateral pnömotoraks ve yanıklar bildirilmiştir. Bazı bitkisel ilaçlar ise toksik alkaloidler içerdiklerinden farklı yan etki ve ilaç etkileşimine neden olmaktadır.

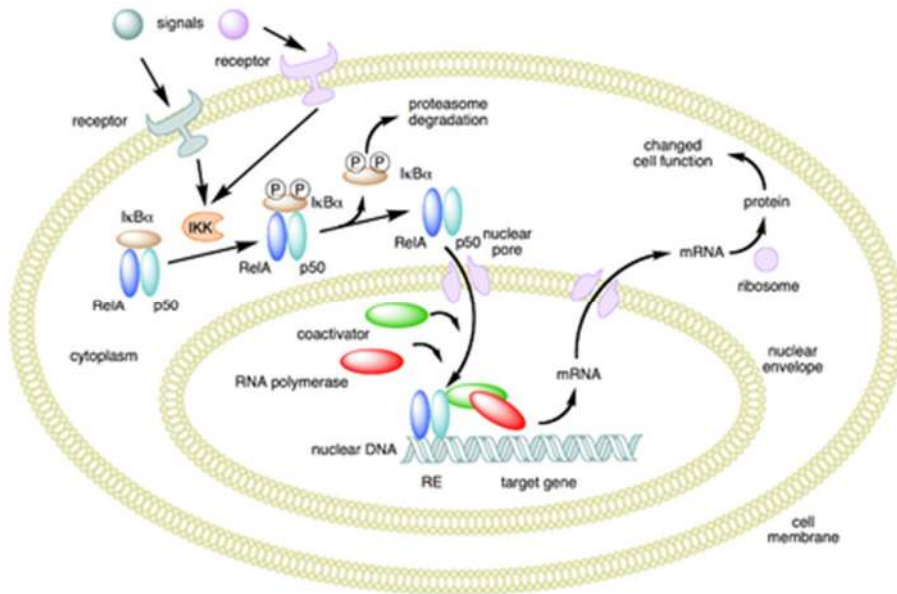


Metil Palmitat (MP)

Metil palmitat palmitik asidin metanol ile esterleştirilmesi yoluyla ya da hurma yağının vakum distilasyonu alkolozisi ile elde edilen bir moleküldür, katı halde bulunan bu tuz yağda çözünme özelliğine sahiptir.

Metil palmitat anti- inflamatuvar ve antifibrotik etkilere sahip bir moleküldür, Bu etkileri bleomisin ile indüklenmiş akciğer inflamasyonu ve fibrozisine uğratılmış ratlarda NF- κ B inhibisyonu ile gözlemlenmiş(64,73) ayrıca CCL4 ile Karaciğer fibrozisi oluşturulmuş ratlarda TGF -B aktivitesini azaltarak fibroziste anlamlı düzelme sağlamıştır.(65,76) Yine metil palmitatın anti -inflamatuvar etkisi farklı rat çalışmalarına konu olmuş bu çalışmalarda TNF -ALFA, IL-6 ve KC, pulmoner dokuda NF- κ B ekspresyonunu azaltarak etkili olduğu gözlemlenmiştir. (NF-KB hücrelerde DNA transkripsiyonunda görevli complex bir proteindir.

NF-KB hemen hemen tüm hayvan hücrelerinde bulunur, sitokin, serbest radikaller, radyasyon Okside LDL, bakterial ve viral antijenler gibi stres faktörleri karşısında verilecek cevabın tetiklenmesinde anahtar rol üstlenir. Normalde stoplazmada inaktif halde bulunan bu transkripsiyon faktörü aktive olduğunda çekirdeğe taşınır ve inflamasyonda aracılık eden mediatörlerin sentezi başlamış olur, NF-KB transkripsiyon faktörünün yanlış kodlanması ve aşırı uyarılması, malignite, Otoimmün hastalıklara zemin hazırlamaktadır



Şekil 1.2 NF- κ B Yolağı

Normalde NF-KB heterodimeri P50 ve Rel proteini arasında stoplazmada inaktif halde bulunmaktadır, çeşitli uyaranlar sonucunda fosforilasyona uğramakta bir seri yolak sonucunda aktive olan inhibitör kinaz enzimi bu kompleksi fosforillemekte aktive olan NF-KB stoplazmadan nucleusa geçerek transkripsiyona dolayısıyla inflamasyon ilişkili mediatör sentezine neden olmaktadır.

BÖLÜM 3

3.1.MATERYAL VE METOT

Deney hayvanları:

Deney için 6-8 haftalık 20-32 gr ağırlığındaki erkek BALB/c fareler kullanılması planlandı. Hayvanlar hijyenik makrolen kafesler içerisinde klimalı odalarda 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda muhafaza edildi. Adlibitum olarak beslenen 24 adet fare kullanıldı

Astım modelinin oluşturulması:

Temelkovski J ve arkadaşları tarafından tanımlanan astım modeli kullanılacaktır (66). BALB/c fareler ovalbumine yüksek Ig E yanıtı olan farelerdir (67). Çalışma gruplarındaki fareler 14 gün ara ile iki kez (Ovalbumin inhalasyonundan 21 ve 7 gün önce) 10µg intraperitoneal tavuk yumurta ovalbumin (OVA; Grade V, Sigma, St Louis, MO, USA) uygulanarak duyarlılaştırıldı. Kontrol grubundaki farelere aynı yol ve dozda salin solusyonu uygulanacaktır. Çalışma gruplarındaki farelere son immunizasyondan 7 gün sonra (21. günde) başlamak üzere, günde 30 dakika süre ile haftanın üç günü, 8 hafta boyunca steril salin içindeki % 2.5'lik ovalbumin solusyonundan oluşan aerosol inhale ettirilmesi planlandı. İnhalasyon uygulamaları bütün vücut inhalasyon sistemi ile uygulandı. Isının 20-25°C, relatif nem oranının ise %40-60 olması planlandı. Normal salin içerisinde %2.5'luk ovalbumin solusyonu, sıkıştırılmış havanın jet nebulizatöre verilmesi ve aracı tüpe enjekte edilmesi yöntemi ile inhale ettirilmesi düşünüldü. Bu nebulizatör sistemi ile verilen aerosol $\leq 4\mu\text{m}$ çapında ≥ 80 partikül ayrışmasına olanak sağlayacaktır. Partikül konsantrasyonu 10-20mg/m³ olması planlandı. Kontrol grubundaki farelere aynı sistem ile salin inhalasyonu yaptırılması düşünülmüştür.

Yöntem:

Fareler dört gruba ayrıldı. Birinci gruptaki fareler kontrol grubu olarak kabul edildi. İkinci gruptaki farelere Temelkovski ve arkadaşları tarafından tanımlanan protokol gereğince deneysel astım bronşiale modeli oluşturularak herhangi bir tedavi uygulanmadı. Üçüncü gruptaki farelere yine aynı protokol uygulanarak deneysel astım bronşiale oluşturulup arkasından 30 gün süre ile günlük 300 miligram/kg dozunda intraperitoneal

metil palmitat tedavisi verildi.. Dördüncü gruptaki farelere 1 mg/kg intraperitoneal deksametazone tedavisi verildi. Deneyin bitiminden sonra fareler sakrifiye edilerek akciğer dokuları histolojik olarak incelendi.

Histolojik incelemeler

Farelerin akciğer dokularının %10'luk tamponlanmış formalin ile şişirilmesi, bir gecelik fiksasyon sonrasında, sol akciğer orta zondan horizontal bir parça elde edilmesi planlandı. Parafine koyulan parçalar 5µm'lik kalın parçalar halinde ayrılması ve Hematoksilen-Eosin, Periodic Acid Schiff ile boyanması planlandı. Örneklerin havayolu inflamasyonu, subepitelyal düz kas kalınlıklarının değerlendirilmesi, mün sekrete eden goblet hücrelerin, eozinofil ve mast hücrelerinin sayılması düşünüldü. Havayollarındaki inflamatuvar ve epitelyal değişikliklerin ışık mikroskopu (morfometrik olarak) ile değerlendirilmesi planlandı.

3.2.İstatistik analiz:

Tüm istatistiksel işlemler SPSS 11.0 istatistik programında yapılacaktır. Çoklu grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis ve sonrasında ikili grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testleri, gruplar arası korelasyonlar Spearman korelasyon testi ile değerlendirilecektir. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ alınacaktır.

Tablo 1 Deney Hayvanları ve Sayıları

Deney ve kontrol grupları	Grup başına Hayvan adedi
Grup 1 sham grubu	3
Grup 2 Astım oluşturulup tedavisiz izlenecek grup	7
Grup 3 Astım oluşturulup 300 miligram/kg metil palmitat tedavisi verilecek grup	7
Grup 4 Astım oluşturulup 1 mg/kg deksametazone tedavisi verilecek grup	7
Kullanılan toplam Hayvan sayısı	24

BÖLÜM 4

BULGULAR

Histolojik Gereç ve Yöntem

Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü

%10'luk formaldehit ile tespit edilen doku örnekleri, fiksatiflerin uzaklaştırılması amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandıktan sonra dehidratasyon amacıyla 20'şer dakika %70'den %95'e artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 20'şer dakika 4 değişim aseton solusyonlarından geçirildikten sonra 2 değişim 30'ar dakika ksilolde tutuldu. 60°C'lik etüv içerisinde 2 değişim parafin uygulanıp 1'er saat parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisinde gömüldü (Tablo 1). Parafin bloklardan inceleme yapmak amacıyla mikrotom aracılığı ile 5µm'lik kesitler alındı.

Tablo 2: Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü

İşlem	Madde	Süre
Tespit	%10 formalin,	24 saat-48 saat
Fiksatifin uzaklaştırılması	Akar su	1 gece
Dehidratasyon	% 70 etil alkol	20 dk
	% 80 etil alkol	20 dk
	% 95 etil alkol	20 dk
	Aseton (4 değişim)	20 dk
Şeffaflaştırma	Ksilol	30 dk
	Ksilol	30 dk
Emdirme %60 C etüv	Parafin	1 saat
	Parafin	1 saat
Gömme	Parafin	

Hematoksilen-Eozin boyama metodu

Mikrotom aracılığı ile alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 20'ar dakika üç değişim e tabi tutuldu. Ardından dehidratasyon işlemi için %95'den %70'e azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 10

10 dakika akarsu altında yıkandı. 10 dakika hematoksilin ile boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika eozin boyası ile boyandı. Ardından sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim de tutulduktan sonra entellan ile kapatıldı (Tablo 2).

Tablo 3: Hematoksilin-Eozin boyama metodu

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C etüvde	1 gece
Deparafinizasyon	(3 değişim)	20 dk
Dehidratasyon	% 95 alkol	Yıkama
	% 80 alkol	Yıkama
	% 70 alkol	Yıkama
Yıkama	Akar su	10 dk
Boyama	Hematoksilen	10 dk
Yıkama	Akar su	10 dk
Boyama	Eosin	2 dk
Yıkama	Akar su	5 dk
	% 80 alkol	1 yıkama
	% 95 alkol	1 yıkama
Şeffaflaştırma	(3 değişim)	20 dk
Kapama	Entellan	

Periodik asid-schiff boyaması (PAS)

Alınan parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 1 saat (etüvde) diğer ikisi 30'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için 2 değişim absölü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirildi, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 3-5 dakika periyodik asit ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 1-2 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 20-25 dakika schiff boyası ile boyandı. Boyamadan sonra 5 dk akarsuda tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri Absölü alkol serilerinden geçirilen kesitler

şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilenle tutulduktan sonra entellan ile kapatıldı (Tablo 3)

Tablo 4: PAS boyama metodu

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C Etüvde	1 Gece
Deparafinizasyon	1 (Etüvde)	1 Saat
Deparafinizasyon	2-3 (Oda Isısında)	30 Dakika
Rehidratasyon	%100-100-96-80-70'lik Alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile Su	10 Dakika
Boyama	Periodik Asit	3-5 Dakika
Yıkama	Akarsu	1 Dakika
Boyama	Schiff	20-25 Dakika
Yıkama	Akar su	1-2 Dakika
Boyama	Hematoksilen	2 Dakika
Yıkama	Akarsu	5 Dakika
Dehidratasyon	% 60–70–80–96-100'lük Alkol	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1–2–3	20'şer Dakika
Kapama	Entellan	

Toluidin Blue Boyası

Deparafinize edilen doku kesitleri 30 dk toluidini blue boyasında bekletildi. Ardından ksilen serilerinden geçirilip entellan ile kapatıldı.

HE ile boyanan akciğer doku örneklerinin genel histolojik özellikleri incelendi. Her deneğe ait preparatlardan 5'er alanda epitel kalınlığı, subepitelial düz kas kalınlığı ölçüldü.

Fareler tek tek incelendiğinde her kesitte 2-3 hava yolu izlenmiştir. Her farede 20 kadar havayolu değerlendirilmeye alındı. Fotomikrograflar Olympus DP71 kamera ile çekildi. (Japan), ve Olympus DP70 model mikroskopla (Olympus Optical, Tokyo, Japan UTHSCSA Image Tool for Windows Version 3.00 software. Programı yardımı ile adapte edilerek değerlendirildi.

Ardışık 10 bölüm periyodik asit-Schiff (PAS toluidin mavi ve diğer 10 bölüm ile boyandı(PAS).

Fotomikrograflar toluidin mavisi ile boyandı her bölüm beş alandan rasgele alınmıştır.Mast hücre sayımı için, 16.400 µm² bir alanı temsil eden bir standart şeffaf

sayım çerçevesi yardımıyla her fotoğrafta sekiz alan her fare için incelendi. PAS ile boyanmış Goblet hücrelerinin her bir fare için 10 bölüm olarak numaralandırıldı. Her bölümde, üç ila beş rastgele seçilen havayolu fotoğraflandı. Tüm hava yollarının Circumferencesleri ölçüldü ve bu alanlarda goblet hücre sayıları kaydedildi. Standardizasyon için 100 mikron goblet hücre sayıları havayolu çevreleri toplam uzunluğuna ve toplam goblet hücre sayısının bölünmesi ile analiz edildi ve yüz ile çarpıldı.

Verilerin istatistiksel analizi

Çalışma sürecinde elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 bilgisayar paket programında yapıldı. Değerlendirmede ortalama, ve standart sapmalar belirlendi. Gruplar arası farklılık Kruskal Wallis, gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklandığı ise Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. Tüm sonuçlarda $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubunda solunum yolu epitelinin düzenli, bronş ve bronşiol yapılarının normal olduğu, perivasküler alan ve akciğer parankimasının normal görünümde olduğu gözlemlendi.

Astım grubunda epitel yapısının düzensizleştiği, perivasküler alanda ve akciğer parankimasında MNL infiltrasyonu olduğu, mast hücre sayısında artış olduğu ve bronş, bronşiol epitelinde mukus salgılayan goblet hücre sayısında artış olduğu gözlemlendi. Streoid ve palme grubunda ise astım grubuna göre MNL infiltrasyonu, epitel kalınlığı, goblet hücre sayısı ve mast hücre sayısında azalma olduğu gözlemlendi (Tablo: Histomorfometrik ölçümler)

Tüm gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal Wallis testi yapıldı. Epitel kalınlığı, subepitelial kalınlık, mast hücre sayısı ve goblet hücresi sayısı tüm gruplar arasında anlamlı olarak gözlemlendi ($p < 0.05$). İkili grupların karşılaştırılması ise aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

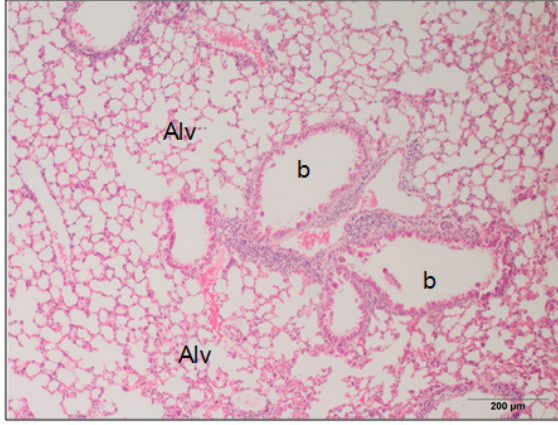
Tablo 6- İkili grupların Mann Whitney U Testi ile karşılaştırılması

	Epitel kalınlığı p	Subepitel Kalınlığı p	Mast hücre Sayısı p	Goblethücre Sayısı p
Kontrol-Astım	0.000	0.000	0.000	0.000
Kontrol-Streoid	0.640	0.009	0.013	0.030
Kontrol-Palme	0.140	0.640	0.004	0.018
Astım-Streoid	0.000	0.000	0.000	0.000
Astım-Palme	0.000	0.000	0.000	0.000
Streoid-Palme	0.557	0.087	1.000	0.087

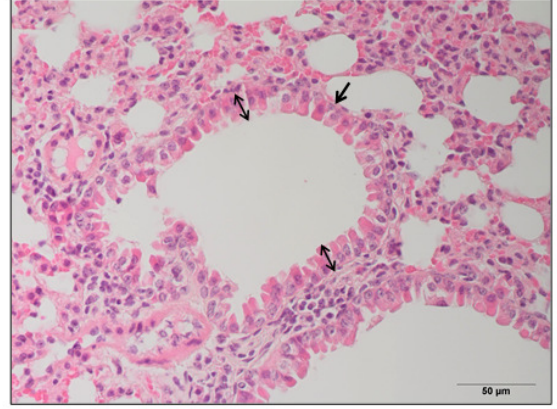
Tablo 7: Histometrik ölçümler

	Kontrol	Astım	Streoid	Palme
Epitel Kalınlığı (μm)	20.6± 3.86	33.9± 11.5	21.8± 6.84	22.2± 3.01
Subepitel kalınlığı (μm)	1.98± 0.71	5.07± 1.67	2.81± 1.06	2.13± 0.93
Mast hücre sayısı/16400 (μm^2)	0.44± 0.56	2.20± 1.14	1.02± 1.02	0.97± 0.79
Goblet hücre sayısı/100 (μm)	0.73± 0.70	2.88±1.49	1.29± 1.05	1.35± 0.93

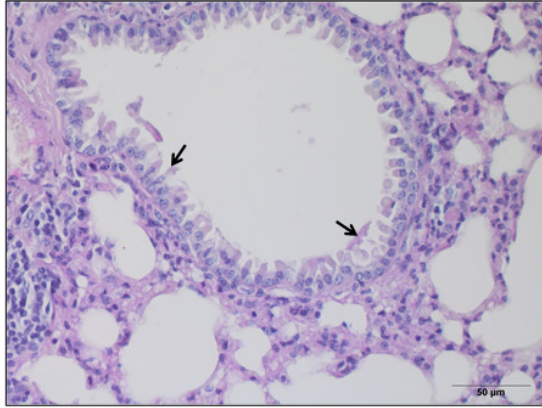
p<0.05 olan değerler anlamlıdır



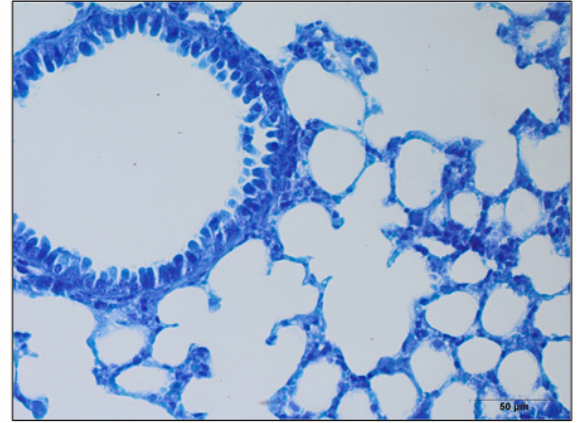
Resim 1: Kontrol grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Normal akciğer parenkimi ve hava yolları gözlenmektedir (Alv: Alveol, b: Bronşiol). Scale bar: 200 µm.



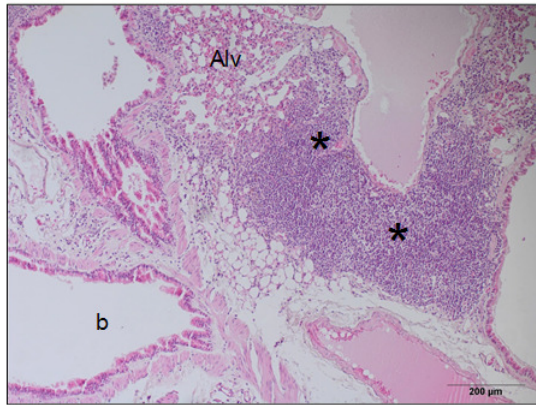
Resim 2: Kontrol grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Epitel boyunun ve subepitel kalınlığının normal olduğu gözlenmektedir. (Çift yönlü ok: Epitel kalınlığı, ok: Subepitel kalınlığı). Scale bar 50 µm.



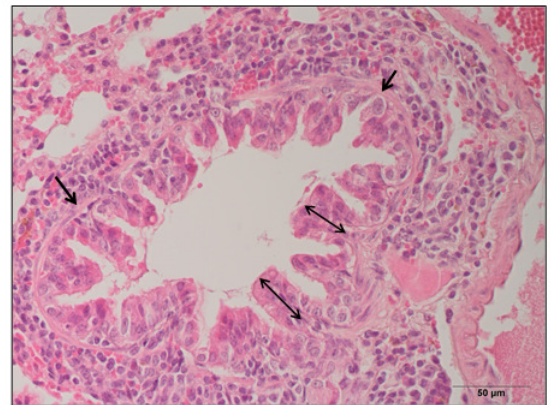
Resim 3: Kontrol grubuna ait Akciğer kesiti (PAS boyaması). Epitelde PAS pozitif az sayıda goblet hücresi ve PAS pozitif materyal gözlenmektedir. (ok: PAS pozitif goblet hücresi) Scale bar: 50 µm.



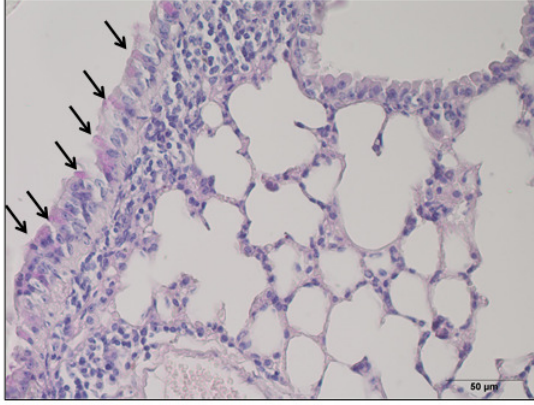
Resim 4: Kontrol grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması). Akciğer parenkimasında mast hücreleri gözlenmemektedir. Scale bar 50 µm.



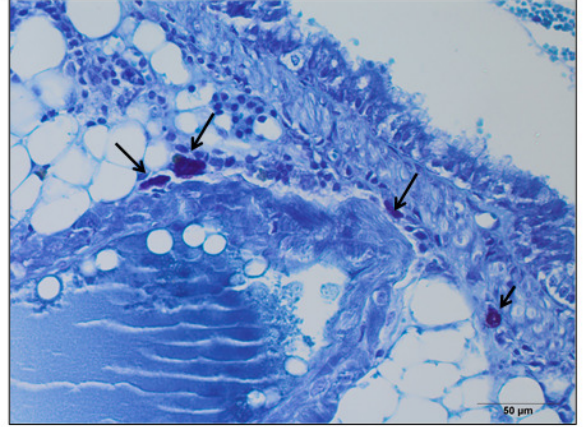
Resim 5: Astım grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Solunum yolları epitelinin düzensiz olduğu, akciğer parankimasının inflamatuvar hücreler içerdiği (*) gözlenmektedir. (Alv: Alveol, b: Bronşiol). Scale bar 200 µm.



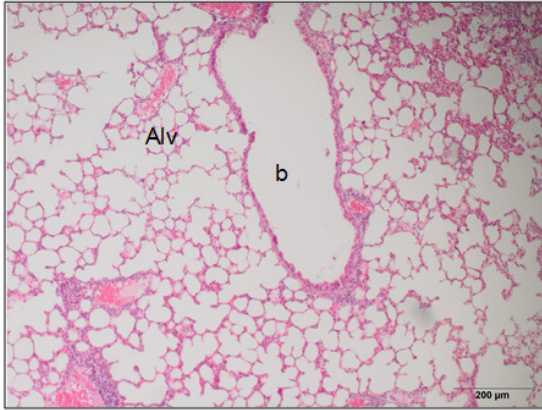
Resim 6: Astım grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Epitel boyunun ve subepitel kalınlığının normal olduğu gözlenmektedir. (Çift yönlü ok: Epitel kalınlığı, ok: Subepitel kalınlığı, Scale bar 50 µm).



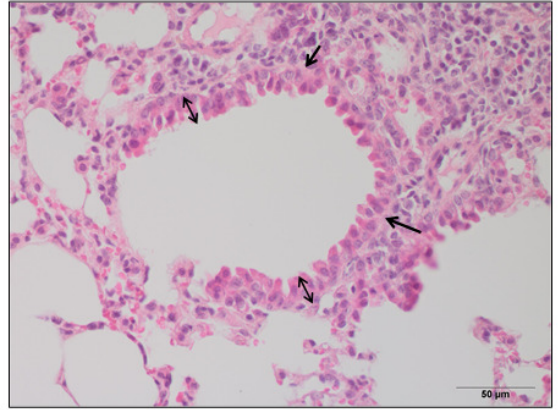
Resim 7: Astım grubuna ait Akciğer kesiti (PAS boyaması). Epitelde artmış PAS pozitif goblet hücreleri ve pas pozitif materyal gözlenmekte. (ok: PAS pozitif goblet hücresi, Scale bar:50 µm).



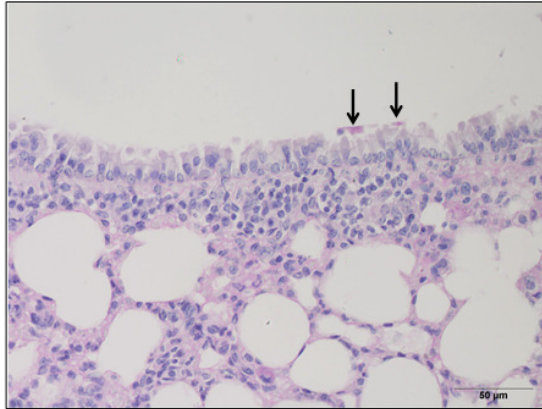
Resim 8: Astım grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması). Akciğer parenkimasında artmış mast hücreleri gözlenmekte (ok). Scale bar 50 µm.



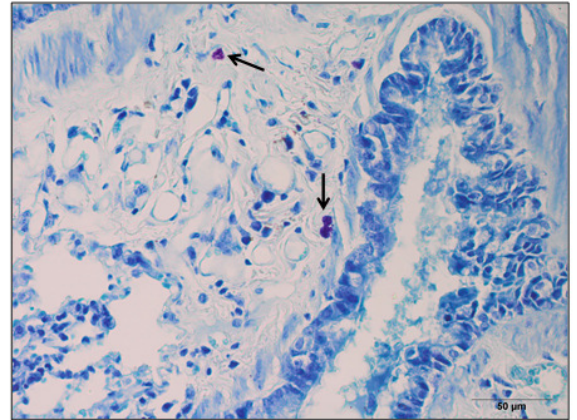
Resim 9: Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Normal akciğer parenkimi ve hava yolları gözlenmekte (Alv: Alveol, b: Bronşiol). Scale bar: 200 µm.



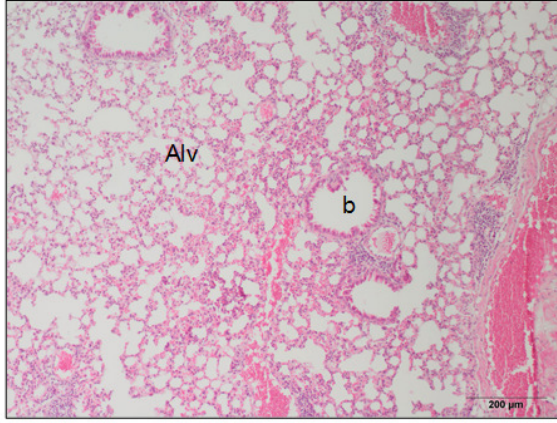
Resim 10: Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Epitel boyunun ve subepitel kalınlığının kontrol grubuna yakın olduğu gözlenmekte. (Çift yönlü ok: Epitel kalınlığı, ok: Subepitel kalınlığı) Scale bar 50 µm.



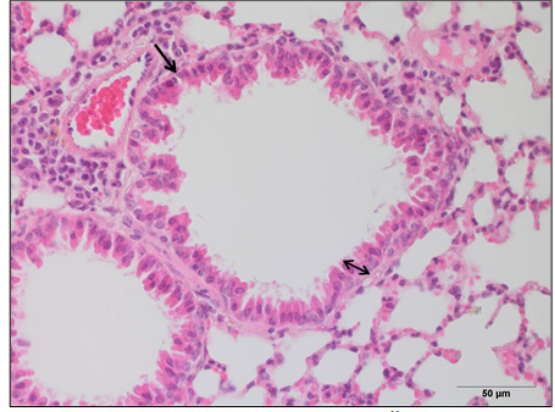
Resim 11: Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (PAS boyaması). Epitelde PAS pozitif az sayıda goblet hücreleri ve pas pozitif materyal gözlenmekte. (ok: PAS pozitif goblet hücresi, Scale bar:50 µm).



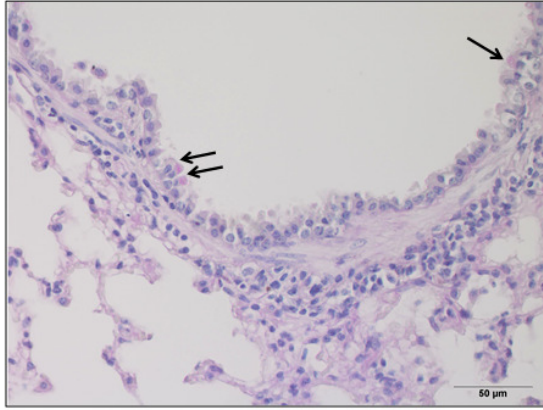
Resim 12: Steroid grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması). Akciğer parenkimasında az sayıda mast hücreleri gözlenmekte. Scale bar 50 µm.



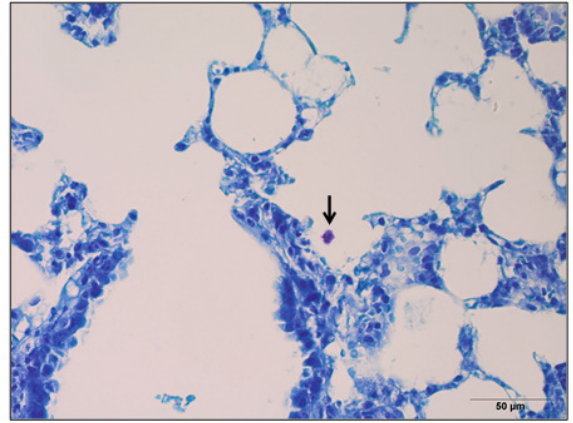
Resim 13: Palme grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Normal akciğer parenkimi ve hava yolları gözlenmekte (Alv: Alveol, b: Bronşiol, Scale bar: 200 µm)



Resim 14: Palme grubuna ait Akciğer kesiti (HE boyaması). Epitel boyunun ve subepitel kalınlığının normal olduğu gözlenmekte. (Çift yönlü ok: Epitel kalınlığı, ok: Subepitel kalınlığı, Scale bar 50 µm).



Resim 15: Palme grubuna ait Akciğer kesiti (PAS boyaması). Epitelde PAS pozitif az sayıda goblet hücreleri ve pas pozitif materyal gözlenmekte. (ok: PAS pozitif goblet hücresi, Scale bar:50 µm).



Resim 16: Palme grubuna ait Akciğer kesiti (Toluidin blue boyaması). Akciğer parenkimasında az sayıda mast hücresi gözlenmekte. Scale bar 50 µm.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bazı bitkiler veya onların saflaştırılmış bileşenleri yıllardan beri halk arasında tedavi amaçlı kullanılmışlardır. Şimdilerde de klasik ilaçla tedavilerde yan etkilerin çok fazla ortaya çıkması ve sentetik ürünlerin maliyetinin çok olması sebebiyle, bitkisel kaynaklı ilaçların araştırılmasına ve tedaviye katkıda bulunmaları için üzerlerinde fazlaca çalışma yapılmasına yol açmıştır. Metil palmitat antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal, immunomodulator özelliklerinden dolayı araştırılmakta ve çalışmalara devam edilmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz bulgular sayesinde metil palmitatın astım oluşumu üzerinde kuvvetli bir baskılayıcı etken olduğu bulundu. Biyokimyasal makroskobik-mikroskobik incelemeler sonucu metil palmitatın hem koruyucu hem de astımdan kaynaklanan patolojiyi önlediğini söyleyebiliriz. Metil palmitatın antiastmatik etkisini ortaya koyarken antioksidan özelliğini de devreye soktuğunu düşünüyoruz. Alerjenlere sıklıkla maruz kalındığında akciğerlerdeki hücrelerden, solunum yolu inflamasyonu esnasında reaktif oksijen bileşikleri veya reaktif nitrojen bileşikleri salınır. Serbest radikaller, akciğer bronşiallerinde makrofajların birikimi, nötrofillerin infiltrasyonunun artmasına sebep olur (68). Yine bu serbest radikaller lipidleri oksitleyerek lipid hiperperoksidlerine ve lipid radikallerine dönüştürür. Oksidatif hasarın sebebi, prooksidanlar (serbest radikaller) ile antioksidan medyatörler arasındaki denge değişikliğidir. Serbest radikaller baskın olunca, serbest radikaller asırı çoğalır ve vücudun koruma kapasitesini azaltırlar. Serbest oksijen radikalleri; superoksid $2(O^-)$, nitrit (NO) ve hidroksil (OH) iyonlarıdır. Bunlar saldırı hücrelerini elektrikle yüklerler, hücre membranını tamamen yıkarlar ve böylece nükleik asitler, proteinler, enzimler zarar görür, en sonunda da hücre tamamen ölür (69). Son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, immün sistemi baskı altında tutan kemoterapi, radyoterapi, infeksiyon gibi durumlarda, olgunlaşmamış miyeloid hücrelerde (NO) oluşumu sonucu kondüsyon düşüklüğü meydana gelir, immün sistem zayıflar. Çeşitli hastalıkların patolojisine yol açan serbest oksijen radikalleri ilginçtir ki hastalığın oluşumu ile beraber vücudun doğal korunma mekanizmasının, antioksidanların da yapımının uyarılmasını sağlarlar. Bu durumda vücudumuzun savunma mekanizması devreye girer ve düşük

molekül ağırlıklı antioksidanların (ki bunlar: glutatyon peroksidaz, superoksiddismutaz, katalaz) yapımını artırır. SOD enzimi dokulardan serbest oksijen radikallerinin temizlenmesini kataliz eden bir enzimdir. Bu enzimin antioksidan etki gösterdiği söylenebilir. GPx (Glutatyon peroksidaz) enzimleri de aynı şekilde serbest oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlayan enzimlerdir (69). GSH akciğerlerde önemli koruyucu özellik taşıyan bir antioksidandır. Akciğerlerdeki hücrelerde antioksidanları, proinflamatuvar medyatörleri, antiinflamatuvar ajanları ve büyüme faktörünün düzenlenmesini sağlarlar. Uyarılmış bir makrofaj temelde 2 ana mekanizmayı kullanarak inflamasyona katkıda bulunmaktadır. NF-kB yolu ve mitojen aktive protein kinaz yolu, bu iki mekanizmada çok sayıda ve çeşitte inflamatuvar sitokin, nitric oxide, prostaglandin gibi ortama salınmasına ve ifade olmasına neden olmaktadır. (70)

Spesifik NF-kB inhibitörlerinin gelişmesi inflamatuvar zemine oturan hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımlar doğuracaktır.

MP doğada bulunan bir yağ asidi metil esteridir. Kupffer hücreleri ve rat peritoneal makrofajları üzerinde suprese edici etkisi olduğu gösterilmiştir. (71)

Ancak endojen MP'nin biyolojik etkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Kupffer hücrelerinin inaktivasyonu graft yetmezliklerinden koruyucu olduğu gibi, parsiyel hepatektomi sonrası gelişen hücre proliferasyonunu baskılayıcı etkisinden söz edilebilir

Günümüz çalışmaları göz önüne alındığından MP'ın diğer makrofajlar üzerinde inhibitör etkisi olduğu söylenebilir, hatta MP genel bir makrofaj inhibitörüdür denilebilir. Bunlardan biride alveolar makrofajdır. Alveolar makrofajlarda lipopolisakkarit stimülasyonunun I κ B proteolizine ve NF-kB ilişkili translokasyon yolu ile inflamasyona neden olduğu iyi bilinmektedir. (72) Alveolar makrofaj bize ilaç ile ilişkili inflamatuvar cevap açısından mükemmel bir model teşkil etmektedir. Çalışmada önce alveolar makrofajlar için toksik olmayan MP dozu bulunmuş, sonrasında yürütülen çalışmada bu dozda alveolar makrofajın fagositik fonksiyonu üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde TNF- α ve nitrik oxide sekresyonunda azalttığı gösterilmiştir. (73) Önceki çalışmalarda MP'nin IL-6 düzeyinde artışa sebep olduğu ancak bunun MP toksisitesine hücrelerin verdiği bir cevap olduğu düşünülmüştür, IL-6 KC yenilenmesinde önemli bir sitokindir. Ancak alveolar makrofajlarda MP'nin IL-6 sekresyonunu suprese etmekte yetersiz kalmaktadır. IL-10 bulunduğu günden bu yana

bilinen en iyi inflammatuar yanıt baskılayıcı sitokindir. (73) Ancak MP 'ın lipopolisakkarit ile uyarılmış alveolar makrofajlardan IL-10 yapımını arttırdığı bilinmektedir. Böylece MP anti inflammatuar etkisini sadece proinflammatuar sitokinlerin NF-kB yolağı vasıtasıyla yapımını önlemekle kalmayarak, aynı zamanda anti inflammatuar sitokinlerin yapımını arttırarak dual bir etki yaratmaktadır. Proinflammatuar mediatör ekspresyonu NF –kB tarafından yürütülmektedir. MP 'ın anti inflammatuar etkisini anti NF –kB etkisi ile gösterdiğini biliyoruz NF –kB bu etkisini hücresele düzeyde bir dizi reaksiyonu tetikleyerek göstermektedir. Alveolar makrofajlardaki Ikbalfa proteininin fosforillenmesi inflamasyonu başlatan temel mekanizmadır Ikb bir inhibitör protein ailesidir. Alfa-beta ve epsilon alttipleri bulunmaktadır. Ikb rel homolog dimeri ile bağlanmakta ve bu dimerizasyon nücleer transferde rol almaktadır (74) Son yıllarda yapılan çalışmalarda lipopolisakkarit sitimülasyonunun Ikb alfa protein fosforilasyonuna böylelikle inflamasyona giden sürecin tetiğini çektiği düşünülmektedir. 0.5 mM MP 24 saatlik bir zaman diliminde Ikb alfa fosforilasyonunu regule ederek inflamasyonu engellemiştir. Denilebilirki MP aynı zamanda genel Ikb fosforilasyonunu inbitörüdür. MP 'ın klinik etkinliğinin keşfedilmesi ile çalışmalar artmaktadır. Bleomisin ile indüklenmiş akc inflamasyonu ve fibrozisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bleomisin hayvan çalışmalarında insandaki IPF modellemesi amacıyla akc fibrozisi yapılması için kullanılmaktadır. Bleomisin bu fibrotik etkisini NF-kB üzerinden gerçekleştirmektedir. (75) Akc mimarisinde fokal fibrozis ile karakterize destrüksiyon oluşturmaktadır. Sonuçta alveolar kollaps ve amfizamatoz süreç gelişmektedir. Bu etkisini büyük oranda aynı zamanda akc parankiminin biyokimyasal bir bilişeni olan hidroksiprolin seviyesini arttırarak gerçekleştirmektedir. MP uygulaması hücresele hidroksiprolin düzeylerinde anlamlı oranda azalma sağlamaktadır. Bu bulgular karbon tetraklorür ile oluşturulmuş kc fibrozisindeki iyileşmeyi desteklemekte ve tamamlamaktadır. (76) İnvivo ve invitro çalışmalar göstermektedirki MP potansiyel antiinflammatuar ve antifibrotik bir ajandır ve etkisini temel olarak NF-kB inhibisyonu üzerinden sağlamaktadır.

Gelecek klinik çalışmalar ajanın kullanımı ve aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

BÖLÜM 6

SONUÇ

Farelerde oluşturulmuş kronik astm modelinde metilpalmitatın histolojik bulguları düzeltmede ve steroid kadar etkili olduğu saptanmıştır. Ancak bu yeni molekülün ilaç olarak kullanılması ve etkinliğinin tam olarak değerlendirilebilmesi için ileri çalışmalar yapılmalı ve klinik gözlemlerle desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. **National Heart Lung and Blood Institue (NHLBI):** NHLBI/WHO Workshop Report: Global Strategies for Asthma management and Prevention. Global Initiative for Asthma Publication No: 95-3659 Bethesda, Md, 1995.
2. **W. S. Fred Wong, Khai Pang Leong.** Tyrosine kinase inhibitors: A new approach for asthma biohimica et biophysica acta. 2004;1697: 53-69.
3. **Cackraft DW:** Review article: Management of acute severe asthma. Ann Allergy. 95; 75:83-93.
4. **Carrbridge TC, Hall JB.** State of the art: The ossesment and management of adults with status astmaticus. Am J Respir Crit Care Med 1995;151: 1296-1316.
5. **Kalyoncu AF, oplu L, Seluk B.T.** Survey of allergic status of patients with bronchial asthma in Turkey. A multicenter study. Allergy 1995;50: 451-5.
6. **Wong W. S., Leong K.P.** Tyrosine kinase inhibitors:A new approach for asthma biohimica et biophysica acta. 2004;1697: 53-69.
7. **Ryland P. Byrd Jr, MD; Guha Krishnaswamy, MD; Thomas M. Roy, MD.** Difficult-to-manage asthma. Postgrauate Medicine 2000;108:6.
8. **Barnes PJ.** Pathophysiology of Asthma br J Clin Pharmacol. 1996 Jul; 42 (1):3-10.
9. **Salem M.L.** Immunomodulatory and therapeutic prperties of the Nigella sativa L.seed. International Immunopharmacology. 2005; 5: 1749-70.
10. **Bousquet J, Chanez P, Lacoste JV, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simmon-Lafontaine J, Godart P, et al.** Eosinophilic inflammation in asthma eosinophilic inflammation in asthma. N Enf J Med.1990 Oct 11; 323 (15): 1033-1039.
11. **Anon.** Ankara Tıp, Klinik _mmunoloji.1997; 111-5.
12. **Mahgoub A.A.** TQ protects against experimental colitis in rats. Toxicology Letters. 2003;143:133-143.
13. **Fabri L.M., Sterkk L.M.** Rational for a new approach in asthma treatment. Eur. Respir Rev 1997;7:253-8.
14. **Schleicher P. And Saleh M.** Black Cumin: The Magical Egyptian Herb for Allergies. Asthma and Immune Disorders. 1998:18-35.

15. **El Dakhakny M., Mady N.I., Halim M.A.** Nigella sativa L. Oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforschung* .2000 Sep;50(9):832-6.
16. **Badary O.A.**Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *J Ethnopharmacol.*1999 Nov 1;67(2):135-42.
17. **Meral I., Yener Z., Kahraman T., Mert N.** Effect of Nigella sativa on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2001 Dec;48(10):593-9.
18. **Zaou _A., Cherrah Y., Lacaille-Dubois M.A., Settaf A., Amarouch H., Hassan M.** Diuretic and hypotensive effects of Nigella sativa in the spontaneously hypertensive rat. *Therapie.* 2000 May-Jun; 55(3): 379-82.
19. **Barnes P.J., Chung K.F. and Page C.P.** _nflammatory mediators of asthma:an undate.The American Societyfor Pharmacology and experimental therapeutics. 1998;50 (4) : 515-572.
20. **Ming F. and Jamal Mustafa.** Adenosine-mediated bronchoconstruction and lung inflammation in an allergic mause model. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 2002; 15:147-155.
21. **Lemanske RF Jr, Busse WW.** Asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Feb;111(2 Suppl):S502-19.
22. **O'Byrne P.M.** Leukotrienes in the pathogenesis of asthma. *Chest.* 1997 Feb;111(2):27-34.
23. **Wenzel S.E.** Arachidonic acid metabolites: mediators of inflammation in asthma. *Pharmacotherapy.* 1997 Jan-Feb;17(1 Pt 2):3-12.
24. **Global Strategy for Asthma Management and Prevention.** Global Initiative for Asthma (GINA), 2009. Available from www.ginasthma.org
25. **Toraks Derneği,** Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Dergisi* 2000;1;4-31.
26. **National Institutes of Health.** Global strategy for asthma management and prevention (GINA). NIH Publication No.02-3659, 2002.

27. **Brown PH, Greening AP, Crompton GK.** Large volume spacer devices and the influence of high dose beclomethasone dipropionate on hypothalamo-pituitary-adrenal axis function. *Thorax* 1993;48:233-8.
28. **Lewis DA, Ganderton D, Meakin BJ, Brambilla G.** Modulite: a simple solution to a difficult problem. *Respiration* 2005;72 Suppl 1:3-5.
29. **Juniper EF, Kline PA, Vanzielegheem MA, et al.** Effect of long-term treatment with an inhaled corticosteroid (budesonide) on airway hyperresponsiveness and clinical asthma in nonsteroiddependent asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:832-6.
30. **Long-term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma.** The Childhood Asthma Management Program Research Group. *N Engl J Med* 2000;343:1054-63.
31. **Jeffery PK, Godfrey RW, Adelroth E, et al.** 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.
32. **Pauwels RA, Lofdahl CG, Postma DS, et al.** Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma. Formoterol and Corticosteroids Establishing Therapy (FACET) International Study Group. *N Engl J Med* 1997;337:1405-11.
33. **Suissa S, Ernst P, Benayoun S, Baltzan M, Cai B.** Low-dose inhaled corticosteroids and the prevention of death from asthma. *N Engl J Med* 2000;343:332-6.
34. **Waalkens HJ, Van Essen-Zandvliet EE, Hughes MD,** *Respir Med* 2008 Jan;102(1):143-9 et al. Cessation of longterm treatment with inhaled corticosteroid (budesonide) in children with asthma results in deterioration. The Dutch CNSLD Study Group. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1252-7.
35. **Jayasiri B, Perera C.** Successful withdrawal of inhaled corticosteroids in childhood asthma. *Respirology* 2005;10:385-8.
36. **Powell H, Gibson PG.** Inhaled corticosteroid doses in asthma: an evidence-based approach. *Med J Aust* 2003;178:223-5.

37. **Szeffler SJ, Martin RJ, King TS, et al.** Significant variability in response to inhaled corticosteroids for persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:410-8.
38. **Lipworth BJ.** Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: A systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999;159:941-55.
39. **Barnes PJ.** Efficacy of inhaled corticosteroids in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:531-8.
40. **Kamada AK, Szeffler SJ, Martin RJ, et al.** Issues in the use of inhaled glucocorticoids. The Asthma Clinical Research Network. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1739-48.
41. **Lee DK, Bates CE, Currie GP, et al.** Effects of high-dose inhaled fluticasone propionate on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in asthmatic patients with severely impaired lung function. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93:253-8.
42. **Mak VH, Melchor R, Spiro SG.** Easy bruising as a side-effect of inhaled corticosteroids. *Eur Respir J* 1992;5:1068-74.
43. **Effect of inhaled triamcinolone on the decline in pulmonary function in chronic obstructive pulmonary disease.** *N Engl J Med* 2000;343:1902-9.
44. **Pauwels RA, Yernault JC, Demedts MG, Geusens P.** Safety and efficacy of fluticasone and beclomethasone in moderate to severe asthma. Belgian Multicenter Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:827-32.
45. **Ernst P, Baltzan M, Deschenes J, Suissa S.** Low-dose inhaled and nasal corticosteroid use and the risk of cataracts. *Eur Respir J* 2006;27:1168-74.
46. **Cumming RG, Mitchell P, Leeder SR.** Use of inhaled corticosteroids and the risk of cataracts. *N Engl J Med* 1997;337:8-14.
47. **Garbe E, LeLorier J, Boivin JF, Suissa S.** Inhaled and nasal glucocorticoids and the risks of ocular hypertension or openangle glaucoma. *JAMA* 1997;277:722-7.
48. **Agertoft L, Larsen FE, Pedersen S.** Posterior subcapsular cataracts, bruises and hoarseness in children with asthma receiving long-term treatment with inhaled budesonide. *Eur Respir J* 1998;12:130-5.
49. **Toogood JH, Markov AE, Baskerville J, Dyson C.** Association of ocular cataracts with inhaled and oral steroid therapy during long-term treatment of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:571-9.

50. **Simons FE, Persaud MP, Gillespie CA, Cheang M, Shuckett EP.** Absence of posterior subcapsular cataracts in young patients treated with inhaled glucocorticoids. *Lancet* 1993;342:776-8.
51. **Bahceciler NN, Nuhoglu Y, Nursoy MA, et al.** Inhaled corticosteroid therapy is safe in tuberculin-positive asthmatic children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:215-8.
52. **Dicpinigaitis PV, Dobkin JB, Reichel J.** Antitussive effect of the leukotriene receptor antagonist zafirlukast in subjects with cough-variant asthma. *J Asthma* 2002;39(4):291-7.
53. **Lipworth BJ.** Leukotriene-receptor antagonists. *Lancet* 1999;353:57-62.
54. **Drazen JM, Israel E, O'Byrne PM.** Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med* 1999;340:197-206.
55. **Barnes NC, Miller CJ.** Effect of leukotriene receptor antagonist therapy on the risk of asthma exacerbations in patients with mild to moderate asthma: an integrated analysis of zafirlukast trials. *Thorax* 2000;55:478-83.
56. **Noonan MJ, Chervinsky P, Brandon M, et al.** Montelukast, a potent leukotriene receptor antagonist, causes doserelated improvements in chronic asthma. Montelukast Asthma Study Group. *Eur Respir J* 1998;11:1232-9.
57. **Reiss TF, Chervinsky P, Dockhorn RJ, et al.** 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.
58. **Leff JA, Busse WW, Pearlman D, et al.** Montelukast, a leukotriene-receptor antagonist, for the treatment of mild asthma and exerciseinduced bronchoconstriction. *N Engl J Med* 1998;339:147-52.
59. **Dahlen B, Nizankowska E, Szczeklik A, et al.** Benefits from adding the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton to conventional therapy in aspirin-intolerant asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1187-94.
60. **Laviolette M, Malmstrom K, Lu S, et al.** Montelukast added to inhaled beclomethasone in treatment of asthma. Montelukast/Beclomethasone Additivity Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1862-8.

61. **Lofdahl CG, Reiss TF, Leff JA, et al.** Randomised, placebo controlled trial of effect of a leukotriene receptor antagonist, montelukast, on tapering inhaled corticosteroids in asthmatic patients. *BMJ* 1999;319:87-90.
62. **Virchow JC, Prasse A, Naya I, Summerton L, Harris A.** Zafirlukast improves asthma control in patients receiving highdose inhaled corticosteroids. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:578-85.
63. **Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, et al.** World Health Organization; GA(2)LEN; AllerGen. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008;63 Suppl 86:8-160.
64. **Wechsler ME, Finn D, Gunawardena D, et al.** Churg-Strauss syndrome in patients receiving montelukast as treatment for asthma. *Chest* 2000;117:708-13.
65. **Wechsler ME, Pauwels R, Drazen JM.** Leukotriene modifiers and Churg-Strauss syndrome: adverse effect or response to corticosteroid withdrawal? *Drug Saf* 1999; 21:241-51.
66. **Herz U, Lumpp U, Da Palma JC, et al.** The relevance of murine animal models to study the development of allergic bronchial asthma. *Immunol Cell Biol* 1996; 74: 209-17.
67. **Hogan SP, Mould A, Kikutani H, et al.** Aeroallergen-induced eosinophilic inflammation, lung damage, and airways hyperreactivity in mice can occur independently of IL-4 and allergen specific immunoglobulins. *J Clin Invest* 1997; 99: 1329-39.
68. **Wilkinson Jr, Howell Cs, Lee Th.** Effects of monocyte and macrophage derived products on granulocyte function in asthma. *Int Arch Allergy Appl immunol* 1989; 90: 64.
69. **Rahman I., MacNee W.** Oxidative stres and regulation of glutatione in lung inflammation. *Eur Respir J.* 2000; 16: 534-554.
70. **Kleniewska P, Piechota-Polanczyk A, Michalski L, Michalska M, Balcerczak E, Zebrowska M, Goraca A.** Influence of Block of NF-Kappa B Signaling Pathway on Oxidative Stress in the Liver Homogenates. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:308358. doi: 10.1155/2013/308358. Epub 2013 Mar 14.

71. **Cai P, Kaphalia BS, Ansari GA** Toxicology. Methyl palmitate: inhibitor of phagocytosis in primary rat Kupffer cells 2005 Jun 1;210(2-3):197-204. Department of pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA
72. **Mantawy EM, Tadros MG, Awad AS, Hassan DA, El-Demerdash E.** Insights antifibrotic mechanism of methyl palmitate: impact on nuclear factor kappa B and proinflammatory cytokines. Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty Pharmacy, Ain Shams University, Cairo, Egypt Toxicol Appl Pharmacol. 2012 Jan 1;258(1):134-44. doi: 10.1016/j.taap.2011.10.016. Epub 2011 Nov 4.
73. **El-Demerdash E.** Anti-inflammatory and antifibrotic effects of methyl palmitate Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Ain Shams University, Cairo, Egypt. ebtehal_dm@yahoo.com Toxicol Appl Pharmacol. 2011 Aug 1;254(3):238-44. doi: 10.1016/j.taap.2011.04.016. Epub 2011 Apr 30.
74. **Saeed NM, El-Demerdash E, Abdel-Rahman HM, Algandaby MM, Al-Abbasi FA, Abdel-Naim AB.** Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethyl palmitate in different experimental rat models Department of Pharmacology & Toxicology, Faculty of Pharmacy, Egyptian Russian University, Cairo, Egypt. Toxicol Appl Pharmacol. 2012 Oct 1;264(1):84-93. doi: 10.1016/j.taap.2012.07.020. Epub 2012 Jul 25.
75. **Rodríguez-Rivera A, Galicia-Moreno M, Reyes-Gordillo K, Segovia J, Vergara P, Moreno MG, Shibayama M, Tsutsumi V, Muriel PJ** Appl Toxicol. Methyl palmitate prevents CCl(4)-induced liver fibrosis. Sección Externa de Farmacología, Cinvestav-IPN, México, D.F., México. 2008 Nov;28(8):1021-6. doi: 10.1002/jat.1368.
76. **Rodríguez-Rivera A, Galicia-Moreno M, Reyes-Gordillo K, Segovia J, Vergara P, Moreno MG, Shibayama M, Tsutsumi V, Muriel P.** Methyl palmitate prevents CCl(4)-induced liver fibrosis. Sección Externa de Farmacología, Cinvestav-IPN, México, D.F., México J Appl Toxicol. 2008 Nov;28(8):1021-6. doi: 10.1002/jat.1368