T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
ÇOCUK ALLERJİ-İMMUNOLOJİ BİLİM DALI

KRONİK ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN FARELERDE SİNOMENİN'İN AKCİĞERDE REMODELİNG VE T HELPER 2 SİTOKİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZM. DR. SAKİNE IŞIK

YANDAL UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Nevin UZUNER

İZMİR-2014

İÇİNDEKİLER **Sayfa**

İçindekiler i-ii

Tablolar Dizini iii

Şekiller Dizini iii

Resimler Dizini iv

Kısaltmalar v

Önsöz vi

Türkçe Özet vii

İngilizce Özet (Summary) viii

- **GİRİŞ VE AMAÇ** 1-2
- **GENEL BİLGİLER**

2.1. Astım Tanımı 3

2.2 Astım Sıklığı 3

2.3. Astımın gelişimini etkileyen faktörler 3

2.3.1. Konağa ait risk faktörleri 3

2.3.2. Çevresel faktörler 4-5-6

2.4. Astımın Patogenezi 7

2.4.1. Astımda havayolu inflamasyonu 7

2.4.1.1 Astımda rol oynayan inflamatuvar hücreler 7

2.4.1.2 Astım patogenezinde rol oynayan havayolu yapısal hücreleri 8

2.4.1.3 Astım patogenezinde rol oynayan temel mediatörler 9

2.4.2. Astımda hava yolunda görülen yapısal değişiklikler ve yeniden yapılanma (Remodeling) 10

2.4.3 Asımda havayolunda daralmaya neden olan faktörler 12

2.5. Astım Tanısı 12

2.6. Astım Tedavisi 13

2.6.1. Kontrol edici ilaçlar 13

2.6.2 Rahatlatıcı ilaçlar 15

2.6.3 Alerjen spesifik immunoterapi 15

2.7. Astımda tamamlayıcı ve alternative tedaviler 15

2.8 Sinomenium Acutum 16

2 .8.1. Yapısı 17

2.8.2. Sinomenin'in farmakolojik özellikleri 17

- **GEREÇ VE YÖNTEM**

3.1. Deney hayvanları 19

3.2. Çalışma grupları 19

3.3. Kronik astım modelinin oluşturulması 19

3.4. Çalışma ilaçlarının verilmesi 20

3.5. Hayvan yaşamını sonlandırma zamanı ve yöntemi 20

3.6. Histolojik incelemeler 20

3.7. Akciğer Dokusunda IL-4 ,IL-5 ve IL-13 Ölçümü 21

3.8 Serum örneğinde OVA spesifik IgE ölçümü 21

3.9. İstatistiksel analiz 21

- **BULGULAR** 22-41
- **TARTIŞMA** 42-45
- **SONUÇLAR** 46-47
- **KAYNAKLAR** 48-61

TABLOLAR DİZİNİ

No	Başlık	Sayfa
1	Astım gelişimini ve ortaya çıkışını etkileyen risk faktörleri	7
2	Astımda hava yolu daralmasında rol oynayan faktörler	12
3	Tüm grupların histolojik verileri	22
4	Grup I ile Grup II'nin histolojik verilerinin karşılaştırılması	23
5	Grup II ile Grup III'ün histolojik verilerinin karşılaştırılması	23
6	Grup II ile Grup IV'ün histolojik verilerinin karşılaştırılması	24
7	Grup III ile Grup IV'ün histolojik verilerinin karşılaştırılması	24
8	Tüm gruplara ait immunohistokimyasal boyanma verileri	25
9	Grup I ile Grup II'nin immunohistokimyasal verilerinin karşılaştırılması	25
10	Grup II ile Grup III'ün immunohistokimyasal verilerinin karşılaştırılması	26
11	Grup II ile Grup IV'ün immunohistokimyasal verilerilerin karşılaştırılması	26
12	Grup III ile Grup IV'ün immunohistokimyasal verilerinin karşılaştırması	27
13	Çalışma gruplarının akciğer dokusunda bakılan IL-4, IL-5, IL13 düzeyleri	40
14	Çalışma gruplarının serumunda bakılan Ova Spesifik IgE düzeyleri	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

No	Başlık	Sayfa
1	Sinomenin'in kimyasal yapısı	17
2	Kronik Astım Modeli Oluşturma Protokolü	20

RESİMLER DİZİNİ

No	Başlık	Sayfa
1	*Sinomenium Acutum* bitkisinin genel görünümü	19
2	Kontrol grubunun (Grup I) H&E boyalı akciğer kesiti.	27
3	Kontrol grubunun PAS boyalı akciğer kesitleri	28
4	Kontrol grubunun Toluidin mavisi boyalı akciğer kesitleri	28
5	Plasebo grubunun (Grup II) H&E boyalı akciğer kesitleri	29
6	Plasebo grubunun (Grup II) PAS boyalı akciğer kesitleri	29
7	Plasebo grubunun (Grup II) Toulidin mavisi boyalı akciğer kesitleri	30
8	Grup III'ün H&E boyalı akciğer kesitleri.	30
9	Grup III'ün PAS boyalı akciğer kesitleri.	31
10	Grup III'ün Toluidin mavisi boyalı akciğer kesitleri	31
11	Grup IV'ün H&E boyalı akciğer kesitleri	32
12	Grup IV'ün PAS boyalı akciğer kesitleri	32
13	Grup IV'ün Toulidin mavisi boyalı akciğer kesitleri	33
14	Grup I'in VEGF ile boyanan akciğer kesitleri	34
15	Grup II'nin VEGF ile boyanan akciğer kesitleri	34
16	Grup III'ün VEGF ile boyanan akciğer kesitleri	35
17	Grup IV'ün VEGF ile boyanan akciğer kesitleri	35
18	Grup I'in MMP-9 ile boyanan akciğer kesitleri	36
19	Grup II'nin MMP-9 ile boyanan akciğer kesitleri	36
20	Grup III'ün MMP-9 ile boyanan akciğer kesitleri	37
21	Grup IV'ün MMP-9 ile boyanan akciğer kesitleri	37
22	Grup I'in TGF-beta ile boyanan akciğer kesitleri	38
23	Grup II'nin TGF-beta ile boyanan akciğer kesitleri	38
24	Grup III'ün TGF-beta ile boyanan akciğer kesitleri	39
25	Grup IV'Ün TGF-beta ile boyanan akciğer kesitleri	39

KISALTMALAR

PG	Prostoglandin
LT	Lökotrien
IL	İnterlökin
OVA	Ova-albumin
ELİSA	Enzyme Linked İmmunosorbent Assay
MMP	Matriks Metallo Proteinaz
VEGF	Vasküler Endotelyal Growth Faktör
TGF	Transforming Growth Faktör
Th	T Helper
NF-K	Nükleer Faktör Kappa
TNF	Tümör Nekroz Faktör
IgE	Immunglobulin E
TARC	Timus ve aktivasyon ilişkili kemokin
Treg	Regulatuvar T hücre
GM-CSF	Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
FEV1	Forse expiratuvar Volum
PEF	Peak expiratuvar Flow
FVC	Forse Vital Kapasite
INF	Interferon
mRNA	Mikro Ribo Nükleik Asit
DMSO	Dimetil sülfoksit
SD	Standart Deviasyon
PAS	Periodik asit schiff
H&E	Hematoksilen & Eosin
BAL	Bronkoalveolar lavaj
IgG	Immunglobulin G
TIMP	Tissue Inhibitor Matriks Metallaproteinaz
FGF	Fibroblast Growth Faktör

ÖNSÖZ

Yan dal uzmanlık eğitimim sürecinde güleryüzünü ve yardımlarını esirgemeyen Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sn. Prof. Dr. Hale ÖREN'e, yan dal eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan Çocuk Alerji ve İmmunoloji BD Başkanı Sn. Prof. Dr. Özden ANAL ve Prof. Dr. Özkan KARAMAN'a, eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime ve tezime sunduğu katkıları yanısıra güleryüzü ve yardımlarını eksik etmeyen, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim herzaman desteğini arkamda hissettiğim değerli tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Nevin UZUNER'e, birlikte çalışmaktan büyük zevk duyduğum, bilgi ve tecrübelerinden kısa sürede olsa büyük ölçüde yararlandığım, güleryüzlü, hoşgörülü suna ablam'a (Sn. Doç. Dr. Suna ASİLSOY), tez çalışmamda gösterdiği yardımlardan dolayı Sn. Doç. Dr. Meral KARAMAN, Sn. Prof. Dr. Alper Bağrıyanık ve Sn. Dr. Serap Cilaker Mıcılı'ya

Aynı çalışma ortamını paylaştığım ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum başta Sn. Uzm. Dr. Şule ÇAĞLAYAN-SÖZMEN olmak üzere Çocuk Alerji-Immunoloji BD yan dal uzmanlarına ve Çocuk Alerji-Immunoloji BD Laboratuvar çalışanları Sn Dilek TEZCAN ve Sn. Sebahat KUMRAL'a ve tüm Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzman ve ve asistan hekimlerine ve personeline;

Ve bugüne kadar bana her türlü desteği veren sevgili anneme, eşime ve son 7 aydır hayatıma mutluluk getiren biricik yavrum Zeynep Nil'e

Saygı, sevgi ve teşekkürlerimle…

Uzm.Dr. Sakine IŞIK
28.12.2014

ÖZET

KRONİK ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN FARELERDE SİNOMENİN'İN AKCİĞERDE REMODELİNG VE T HELPER 2 SİTOKİN DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Giriş: Sinomenin, yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılan, *Sinomenium acutum*'dan izole edilen, aktif bir bileşendir. Daha önce yapılan bir çalışmada sinomenin'in farelerde kemik iliği kökenli mast hücrelerinden prostoglandin (PG) D2 ve lökotrien (LT) C4 salınımını inhibe ederek antialerjik etki sağladığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, kronik astım modeli oluşturulmuş farelerde sinomenin'in akciğer histolojisi ve sitokin düzeyleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Yirmi iki adet fare; grup I (Kontrol), II (plasebo), III ve IV olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışındaki tüm fareler intraperitoneal ovalbumin ve adjuvan olarak alüminyum hidroksit ile duyarlılaştırıldı ve daha sonra çalışmanın 24. gününden başlayarak 8 hafta boyunca haftada 3 gün aerosolize ovaalbumin ile verilererek model oluşturuldu. Akciğer histopatolojisi 100 mg/kg sinomenin, deksametazon ve plasebo verildikten sonra değerlendirildi. İnterlökin (IL) -4, IL-5, IL-13 düzeyleri akciğer homojenatlarından, OVA spesifik IgE düzeyi serumdan ELISA yöntemi ile çalışıldı. Sinomeninin remodelling ve apoptosis üzerine etkilerini değerlendirmek amacıyla matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), vasküler endotelyal growth faktör (VEGF), transforming growth faktör-β (TGF-β) ile immunohistokimyasal boyama yapıldı.

Bulgular: Işık mikroskobik değerlendirmede sinomenin tedavisi verilen grupta subepithelial düz kas kalınlığı ve mast hücre sayısında plasebo grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı azalma saptanmıştır. Akciğer homojenatlarında bakılan tüm T helper (Th)-2 sitokin ve serumda bakılan Ova Spesifik IgE düzeyi sinomenin tedavisi verilen grupta plasebo ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak azalmış saptanmıştır. İmmunohistokimyasal analizde MMP-9, VEGF, TGF- β ile boyanma plasebo ile karşılaştırıldığında sinomenin tedavisi alan grupta belirgin olarak azalmış bulunmuştur.

Sonuç: Çalışmamızda 100mg/kg sinomenin tedavisinin Th-2 sitokin düzeylerini azalttığı ve bazı kronik astıma ait histolojik değişiklikleri düzelttiği ve remodeling üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Anjiogenesis, Astım, Fare modeli, Remodeling, Sinomenin

SUMMARY

THE EFFECT OF SINOMENINE ON LUNG REMODELİNG AND T HELPER 2 CYTOKİNE LEVELS IN A MURINE MODEL OF CHRONIC ASTHMA

Background

Sinomenine is an active compound isolated from *Sinomenium acutum*, which has been successfully used for centuries in the treatment of various disease. In a study, anti-allergic effect of sinomenine by inhibition of prostaglandine D2 and leukotriene C4 in mouse bone marrow-derived mast cells was shown, previously. Using a murine model of chronic asthma, we investigated the effects of sinomenine on airway histology and cytokine level of asthmatic lung tissue.

Materials and Methods

Twenty-two mice were divided into four groups; group I (control), II (plasebo), III, IV. Mice except control were sensitized by an intraperitoneal injection of ovalbumin with alum adjuvant and then challenged with an aerosol of ovaalbumin on 3 days of the week for 8 weeks beginning from the 21st day of the study. Lung histology was eveluated after treatment with peroral 100 mg/kg sinomenine, dexamethazone and plasebo. Interleukin-4, IL-5,IL-13, levels were studied in lung homogenates and OVA spIgE level was studied in serum with ELISA. Immunohistochemical staining was done with matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor beta (TGF-β), for evaluation of effect's of sinomenine on remodeling.

Results

In light microscopic evaluation sinomenine group's subepithelial smooth muscle thickness and number of mast cells were reduced compared with placebo group. The number of eosinophils in BAL decreased significantly in group receiving sinomenine compared to placebo. There were significantly decreases of IL-4, IL-5, IL-13 and OVA sp IgE levels in sinomenine group compared with placebo. Immunohistochemical analyses, staining of MMP-9, VEGF, TGF- β were significantly decreases in sinomenine group compared with placebo.

Conclusion

In our study we demonstrated that 100mg/kg sinomenine treatment decreases Th-2 sitokin levels and alleviated some of the histologic changes in chronic asthma and has benefical effects on remodeling.

Key words: Angiogenesis, Asthma, Murine model, Remodeling, Sinomenine

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Astım, kronik enflamatuvar bir havayolu hastalığı olup, bu enflamasyon sonucunda gelişen havayolu hiperreaktivitesi geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonuna ve tekrarlayan hışıltı, nefes darlığı, öksürük gibi semptomlara neden olmaktadır (1). Aynı zamanda enflamasyon sonucunda havayollarında remodeling olarak adlandırılan kısmen geri dönüşümsüz birtakım değişiklikler oluşmaktadır (2).

Astımda havayollarının patolojik tamiri "havayolu remodelingi" olarak adlandırılan bazı yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Bu patolojik değişiklikler; goblet hücre metaplazisi, havayolu düz kas kitlesinde artma, kollajen gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin depolanmasında artmaya bağlı subepitelial kalınlaşma ve anjiogenesis ile karakterizedir (3). Ekstraselüler matriks, bileşenlerinin sentezi ve yıkımı arasındaki dengeye bağlı olarak varolan dinamik bir yapıdır. Ekstraselüler matriksin sentezi ve birikimi bazı büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir. Bunlardan TGF-β havayolu remodelingi ve pulmoner fibrosisten sorumlu tutulmuştur. TGF-β; makrofajlar, fibroblastlar, eozinofiller tarafından üretilmekte olup, major fibrojenik sitokin olarak bilinmektedir (4). Matriks metalloproteinazlar, ekstraselüler matriksin yıkımından sorumludurlar. Bunlardan MMP-3 ve MMP-9 astımdaki kronik havayolu yapısal değişiklikleri ile ilişkilidir. Bu enzimler yapısal ve inflamatuvar hücreler tarafından üretilirler ve proteoglikanları degrade ederler, böylelikle matrikse bağlı latent büyüme faktörlerini serbest bırakıp aktive etme kabiliyetleri sayesinde havayolu fibrosisi ve düz kas proliferasyonunu potansiyel olarak artırırlar (5,6). Anjiogenesis, küçük ve orta havayollarında vasküler alanda, kan akımında, mikrovasküler permeabilite ve ödem formasyonunda artmaya neden olmaktadır. VEGF anjiogenesis'e ait bu anormallikleri göstermede yardımcıdır (3). Apoptosis doku hemostazisi için gerekli bir mekanizma olmakla birlikte, kontrolsüz apoptosis astım patogenezine katkıda bulunabilir (7). Havayolu epitel hücreleri proinflamatuvar sitokinler ve oksijen radikalleri gibi çevresel uyaranlarla apoptosise duyarlıdır. Ağır astımlı hastalarda apoptosis göstergesi olarak, TUNEL ve caspas-3 pozitif boyanan epitel ve düz kas hücrelerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğu gösterilmiştir (8).

Astım kullanılan tedaviler mevcut enflamasyonu baskılamaya yöneliktir. Bu amaçla en sık kullanılan ve en etkili olan ilaçlar inhale steroidlerdir. İnhale steroidlerin yan etkileri genellikle lokal olmakla birlikte özellikle uzun dönem ve yüksek doz kullanımda nadiren

adrenal supresyon, büyüme geriliği ve kemik metabolizmasında bozukluk gibi ciddi sistemik yan etkiler görülebilmektedir. Astımda havayollarındaki enflamasyonu baskılayan, remodeling sürecini engelleyen, yan etki profili düşük olan tedavi seçenekleri halen araştırılmaktadır.

Sinomenin, *Sinomenium Acutum*'dan elde edilen ve Çin tıbbında yüzyıllardır başta romatoid artrit olmak üzere çeşitli otoimmun hastalıkların tedavisinde kullanılan bir alkoloid'dir. Daha önce yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar, antiallerjik, antiapoptotik ve immunsupresif etkileri gösterilmiştir (9-11). Sinomenin'in makrofajlardan sitokin ekspresyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sinomenin ile Nükleer faktör kappa- B (NF-κB) aktivitesinin belirgin olarak suprese olduğu gösterilmiştir (12). NF-κB, birçok hücre tipinde eksprese olan, fizyolojik ve patolojik koşullarda hücre içi sinyal iletiminden sorumlu olan IL-1,IL-2,IL-6, IL-8, TNF-α gibi sitokinler, eotaksin gibi kemokinler, çeşitli adhezyon moleküllerini kodlayan genlerin ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyon faktörü olup dendritik hücre farklılaşması ve maturasyonunda da kritik rol oynamaktadır (13,14). Astımda NF- κB yolağının aktif olduğu gösterilmiştir (15). Sinomenin'in ayrıca B lenfositlerden antikor salınımı, dalak hücrelerinin proliferasyonu, mast hücrelerinden Prostoglandin D2, Lökotiren C4 salınımı, apoptosis aracılığı ile CD4 (+) T hücre proliferasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (9, 16-18). Sinomenin'in bu özelliklerinden yola çıkarak, astım tedavisinde yararlı olabileceği düşünülebilir.

Bu çalışma da; kronik astım modeli oluşturulmuş BALB/c farelerde sinomenin'in akciğer de remodeling ve Th2 sitokin düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Astım tanımı

Astım havayollarında pek çok enflamatuvar hücrenin ve bu hücrelerden salınan mediyatörlerin rol oynadığı kronik inflamatuvar bir havayolu hastalığıdır. Hastalarda kronik inflamasyona sekonder olarak ortaya çıkan havayolu obstrüksiyonu; havayolu aşırı duyarlılığı ile birlikte nefes darlığı, sıklıkla gece yada sabah erken saatlerde ortaya çıkan öksürük, tekrarlayan hışıltı atakları gibi yakınmalara neden olmaktadır (1).

2.2 Astım sıklığı

Astım gelişmiş ülkelerde çocukluk çağında görülen en sık kronik hastalıktır. Astım dünya çapında bir sorundur ve tüm dünyada etkilenen 300 milyon bireyin bulunduğu tahmin edilmektedir. Çocuklar ve erişkinlerde astım prevelansını ölçmeye yönelik standardize yöntemlerin kullanılmasıyla dünyadaki astım prevalansı farklı ülkelerde %1-18 arasında değişiklik göstermektedir (19,20). Ülkemizde ilkokul çağı çocuklarda astım sıklığını araştıran çok merkezli bir çalışmada astım prevelansı kentte sırasıyla erkek ve kızlarda %8,5 -%11,2, kırsal kesimde ise %6,2-%7,5 oranında bulunmuştur (21). İzmir ilinde ise 6-13 yaş arası çocuklarda yapılan bir araştırmada, astımın kümülatif prevelansı %4,9 olarak bulunmuştur. Aynı bölgede dokuz yıl sonra yapılan ve 9-11 yaş arası çocukları kapsayan çalışmada ise, tekrarlayan hışıltı prevelansının %15,9, doktor tanılı astımın ise %4,8 oranında olduğu görülmüştür (22,23).

2.3 Astım gelişimini etkileyen faktörler

Astım riskini etkileyen faktörler, astımın gelişmesine yol açan faktörler ve astım semptomlarını tetikleyen faktörler olarak ikiye ayrılır; bazı faktörler her ikisine de yol açmaktadır. Astımın gelişmesine yol açan faktörler arasında bireysel faktörler (başlıca genetik faktörler) yer almaktadır; astım semptomlarını tetikleyen faktörler ise çoğunlukla çevresel faktörlerdir (24) (Tablo 1).

2.3.1 Konağa ait risk faktörleri

a. Genetik

Astımın kalıtsal bir bileşeni bulunmaktadır. Güncel veriler astım patogenezinde birden çok genin yer alabileceğini göstermektedir ve farklı etnik gruplarda farklı genler rol

oynayabilir (25,26). Astım gelişimi ile ilişkili genlerle ilgili araştırmalar dört ana alanda odaklanmıştır; alerjene özgü IgE antikorlarının üretimi (atopi), havayolu aşırı yanıtlılığının ortaya çıkışı; sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi inflamatuvar mediyatörlerin üretimi ve (astımda hijyen hipotezi ile ilişkili olarak) Th1 ve Th2 immun yanıtlar arasındaki oranın belirlenmesi (27). Çeşitli çalışmalarda 5.,11.,12. ve 13.kromozomlar üzerinde pek çok farklı gen bölgesinin astım patogenezi ile ilgili olduğu, çeşitli gen polimorfizmlerinin de atopi ve astım gelişimi, erken dönemde remodeling ile ilişkili olduğu saptanmıştır (26, 28-30).
Astıma yatkınlık sağlayan genlerin yanısıra, astım tedavisine verilen yanıtla ilişkili genlerde bulunmaktadır. Bu genlerin beta-2 agonist, glukokortikosteroidlere ve lökotrien modifiye edici ajanlara yanıtlarda bireysel farklılıkla ilişkili olduğu gösterilmiştir (31-33).

b. Cinsiyet

Erkek olmak, çocuklarda astım için bir risk faktörüdür. On dört yaşından önce, erkek çocuklarda astım prevelansı kızların neredeyse iki katı daha yüksektir (34). Çocukların yaşı büyüdükçe, cinsiyetler arasındaki fark azalmaktadır ve erişkinlik çağında astım prevelansı kadınlarda daha yüksektir. Cinsiyetle ilgili bu farkın nedeni belli değildir. Ancak doğumda erkeklerde akciğer boyutunun kızlara göre daha küçük, erişkin hayatta ise daha büyük olmasının bu farkı yarattığı düşünülmektedir (35).

c. Obezite

Astım obez bireylerde (Beden kitle indeksi>30 kg/m^2) de daha sık görülmektedir ve kontrol altına alınması daha zordur (36- 39, 40). Obezitenin genetik, hormonal, gelişimsel, nörojenik etkilerinin yanısıra akciğer mekaniği üzerindeki etkisine ve proinflamatuvar bir durumun gelişmesine bağlı olarak havayolu işlevlerini etkileyebileceği öne sürülmüştür (41, 43).

2.3.2 Çevresel risk faktörleri

a. Allerjenler ile temas:

İç ortamda ve açık havada bulunan alerjenlerin astım alevlenmelerine yol açtığı iyi bilinse de, astım gelişimindeki spesifik rolleri tam olarak anlaşılamamıştır. Doğum kohortlarında yapılan çalışmalar ev tozu akarları, kedi-köpek döküntüleri, ve Aspergillus küfüne duyarlılık 3 yaşına kadar çocuklarda astım benzeri semptomlar için bağımsız risk faktörleri olduğunu göstermiştir (44-46). Duyarlılık gelişimi alerjenin dozuna, maruziyet zamanına, çocuğun yaşına ve muhtemelen genetik özelliklere bağlıdır. Ev tozu akarları ve

hamam böceği alerjenleri gibi bazı alerjenler için, duyarlılık gelişme prevelansı maruziyet ile doğrudan bağıntılı gibi görünmektedir (44,47). Köpek ve kediler ile ilgili olarak, bazı epidemiyolojik çalışmalarda, bu hayvanlara yaşamın erken döneminde maruziyetin çocuğu alerjik duyarlılık yada astım gelişimine karşı koruyabileceği saptanmıştır ancak bu tür bir maruziyetin alerjik duyarlılık riskini artırabileceğini düşündüren çalışmalarda bulunmaktadır (48- 53).

b. İnfeksiyonlar

Atopi ve viral infeksiyonlar arasında karmaşık bir ilişki vardır. Atopi varlığının alt havayollarının viral enfeksiyonlara yanıtını ve viral enfeksiyonların da alerjik duyarlanma gelişimini etkileyebileceği kabul edilmektedir (54). Respiratuvar sinsityal virüs, parainfluenza virüs ve rinovirüs enfeksiyonlarının astım gelişimi tetikleyebileceği bildirilmektedir (55,56). Ancak literatürde aksini savunan yayınlarda mevcut olduğundan şuanda bu konuda kesin yargıya varmak mümkün görünmemektedir. Parazit enfeksiyonları genel olarak astıma karşı koruma sağlamamakla birlikte kancalı kurt (Ancylostoma) infeksiyonu astım riskini azaltabilir (57).

Hijyen hipotezi yaşamın erken dönemlerinde enfeksiyonlara maruz kalmanın, immun sistemde Th1/Th2 dengesinin Th1 lehine değişmesine ve böylece astım ve diğer alerjik hastalıklarınn prevelansının azalmasına neden olduğunu öne süren bir hipotezdir. Bu hipotezin halen araştırılmasına devam edilmekle birlikte, bu mekanizma ile aile büyüklüğü, doğum sırası, gündüz kreş/anaokuluna devam etme ve astım riski arasında gözlemlenen bağlantıları açıklayabilir.

c. Dış ve iç ortam hava kirliliği

Dış ortamdaki hava kirliliğinin astıma yol açma açısından rolü tartışmalıdır (58). Hava kirliliği olan çevrede büyüyen çocuklarda akciğer fonksiyonlarında azalma olmakla birlikte fonksiyonlardaki bu kaybın astım gelişimi ile ilişkisi bilinmemektedir (59).

İç ortam kirliliğine yol açan maddelerden ısıtma ve soğutma için kullanılan gazlar, biyolojik yakıtlardan kaynaklanan buhar, duman, is, küfler ve hamam böceği infestasyonlarınında benzer şekilde etkilerinin olduğu düşünülmektedir (1).

d. Sigara

Sigara kullanımı astımlı hastalarda akciğer fonksiyonlarında hızlı bir azalmaya yol açmakta ve astım şiddetini artırmaktadır.Ayrıca hastaların inhaler ve sistemik

glukokortikosteroid tedavisine daha az yanıt vermesine neden olabilmekte ve astımın kontrol altına alınabilme olasılığını azaltmaktadır (60).

Prenatal ve postnatal sigara dumanı maruziyeti erken çocukluk döneminde astım benzeri semptomlarının gelişme riskinde artış dahil olmak üzere zararlı etkilere yol açmaktadır (61,62). Sigara içen annelerin çocuklarında ilk bir yılında hışıltı gelişme olasılığı 4 kat yüksek bulunmuştur (63). Bununla birlikte alerjik hastalıkların riskinde artışa yol açtığına ilişkin kesin kanıtlar yoktur (64,65).

e. Diyet

Astım gelişimi ile ilgili olarak beslenmenin özellikle anne sütü ile beslenmenin rolü kapsamlı olarak araştırılmıştır ve veriler genel olarak işlenmemiş inek sütü yada soya proteini içeren mamalar ile beslenen bebeklerde anne sütü ile beslenenlerle karşılaştırıldığında erken çocukluk döneminde hışıltı insidansının daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır (66).

Yüksek oranda işlenmiş yiyecek tüketimi, azalmış antioksidan (meyve-sebze) alımı, artmış n-6 çoklu doymamış yağ asidi (margarin ve bitkisel yağlardan) ve azalmış n-3 çoklu doymamış yağ asidi alımının astım ve atopik hastalıkların gelişimine katkıda bulunduğunu düşündüren veriler bulunmaktadır (67).

f. Egzersiz

Egzersizin astımlı çocuklarda semptomları tetikleyebildiği bilinmektedir (68). Egzersiz sırasında solunumla birlikte su ve ısı kaybı artmakta, havayolundaki soğuma düz kas kasılması ve mukozal ödeme neden olmaktadır (69).

Tablo 1. Astım gelişimini ve ortaya çıkışını etkileyen risk faktörleri

A) Bireysel faktörler Genetik Atopiye yatkınlık sağlayan genler Havayolu aşırı duyarlılığına yatkınlık sağlayan genler Obezite Cinsiyet
B) Çevresel Faktöreler Alerjenler İç ortam (Ev tozu akarları, kürklü hayvanlar (kedi, köpek, fare), mantarlar, hamam böceği Dış ortam (Polenler, mantarlar, küfler, mayalar) Enfeksiyonlar (başlıca viral) Dış /iç ortam hava kirliliği Sigara dumanı maruziyeti Beslenme Egzersiz

2.4 Astım patogenezi

Astım çok sayıda inflamatuvar hücre ve mediatörün rol oynadığı ve birtakım karakteristik patofizyolojik değişikliklerin ortaya çıktığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Bu inflamasyon havayolu aşırı duyarlılığı ve semptomlara neden olmaktadır.

2.4.1. Astımda hava yolu inflamasyonu

Astımda hava yolu inflamasyonu tüm olgularda bulunan bir özelliktir. Astımda semptomlar epizodik olasa da ve inflamasyonun yoğunluğu ile astımın şiddeti arasındaki ilişki açıkça ortaya konulmuş olmasa da havayollarındaki inflamasyon süreklidir (70,71).

2.4.1.1 Astımda rol oynayan inflamatuvar hücreler

a.Mast hücreleri: Aktive mukozal mast hücrelerinden çeşitli bronkokonstrüktör mediatörler (histamin, sisteinil lökotrienler, prostoglandin PGD2) salgılanır (72). Bu hücreler yüksek affiniteli IgE reseptörleri aracılığı ile allerjenler ve osmotik uyarılar (egzersizin tetiklediği bronkokonstrüksiyon) tarafından aktive edilir. Havayolları düz kasında artmış mast hücre sayısı havayolu aşırı duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur (73). Bu hücreler sadece ani başlangıçlı hipersensitivite reaksiyonlarında değil geç faz inflamasyonda ve havayollarının yeniden yapılanmasında da (remodeling) önemli rol oynamaktadır (74).

b.Eozinofiller: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar ve havayolu epitel hücrelerine zarar verebilecek temel proteinleri salgılarlar. Büyüme faktörlerinin salınımı ve havayolu remodelingi ile ilişkilerinin olabilecekleri düşünülmektedir (75).

c.T lenfositler: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar. İnterlökin (IL) 4, 5, 9, 13 gibi spesifik sitokinlerin salınımına neden olarak eozinofilik inflamasyonu kontrol eder ve B lenfositlerden IgE yapımına neden olurlar (76). Regulatuvar T hücre (Treg) hücrelerinin sayısal azlığının veya fonksiyon bozukluğunun çevresel alerjenlere toleransı bozarak alerji ve astıma neden olduğu düşünülmektedir (77).

d.Dendritik hücreler: Havayolu mukoza yüzeyinden allerjenleri seçerek regülatuvar T hücreleri ile biraraya gelebileceği bölgesel lenf nodlarına göç ederler ve naif T hücrelerinden Th2 hücrelerinin oluşumunu uyarırlar (78).

e.Makrofajlar: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar ve düşük affiniteli IgE reseptörleri aracılığı inflamatuvar yanıtı artıran inflamatuvar mediyatörler ve sitokinler salgılamak üzere allerjenler tarafından aktive edilirler (79).

f.Nötrofiller: Ağır astımlı ve sigara içen astımlı hastaların havayolu ve balgamlarında artmış olarak bulunurlar. Ancak bu hücrelerin patofizyolojik rolleri belli değildir (80).

2.4.1.2 Astım patogenezinde rol oynayan havayolu yapısal hücreleri

Hava yollarının yapısal hücreleri çeşitli mediyatörler ve büyüme faktörleri salgılayarak astım patogenezine katkıda bulunurlar (1).

a.Havayolu epitel hücreleri: Astımda mekanik ortamı algılayarak pek çok inflamatuvar protein üretir ve sitokinler, kemokinler ve lipid mediyatörler salgılarlar.

b. Havayolu düz kas hücreleri: Düz kas hücrelerinin histamin ve lökotrienler gibi mediyatörler aracılığı ile kasılması bronkokonstrüksiyona neden olmaktadır. Ayrıca düz kas hücreleri tarafından üretilmekte olan çok sayıda proinflamatuvar mediyatör, sitokin ve büyüme faktörü havayolundaki enflamasyona katkıda bulunur. Düz kas hücreleri hipertrofiye uğrayarak remodeling sürecinde de görev alırlar (81).

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

d. Fibroblastlar ve myofibroblastlar: Kollajen ve proteoglikanlar gibi bağ doku komponentlerini salgılayarak hava yolu remodelinginde görev alırlar (1).

e. Havayolu sinirleri: Kolinerjik sinirler havayolundaki refleks tetikleyiciler ile aktive olarak bronkokonstrüksiyona ve mukus salgısına neden olabilir.Nörotropin gibi inflamatuvar uyarılar ile uyarılabilen duyusal sinirler de öksürük, göğüste sıkışma hissi gibi refleks değişikliklere neden olur ve inflamatuvar nöropeptidler salgılayabilirler (82).

2.4.1.3 Astım patogenezinde rol oynayan temel mediyatörler

Astım patogenezinde rol alan aktive olmuş mast hücreleri, T hücreleri, eozinofiller ve havayolunun yapısal hücreleri 100'den fazla farklı mediyatör salgılayarak kompleks inflamatuvar yanıtı meydana getirirler (1).

a. **Kemokinler:** İnflamatuvar hücrelerin havayoluna taşınmasında önem taşırlar ve başlıca havayolu epitel hücreleri tarafından salınırlar. Eotaksin, eozinofillerin timus ve aktivasyonun regüle ettiği kemokinler (TARC) ve makrofaj kökenli kemokinler ise Th 2 hücre göçüne neden olmaktadır (83).

b. **Sisteinil lökotrienler:** Mast hücreleri ve eozinofillerden köken alan güçlü bronkokonstrüktör ve proinflamatuvar mediatörlerdir. Bu mediatörler inhibe edildiklerinde akciğer fonksiyonlarında ve astım semptomlarında iyileşme görülen tek gruptur (84).

c. Sitokinler: Astımdaki inflamatuvar yanıtı ve ağırlığı belirlemede ana rol oynarlar. Astımda önemli rol oynayan sitokinler inflamatuvar yanıtı arttıran IL-1β, Tümör nekroz faktör (TNF)-α ve havayolundaki eozinofil yaşamını arttıran Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF)'dür. Th2 kökenli sitokinler; eozinofil farklılaşması ve yaşamı için gerekli olan IL-5, Th 2 hücre farklılaşması için önemli olan IL-4 ve Ig E yapımı için gerekli olan IL- 13'tür (86).

d. Histamin: Histamin mast hücrelerinden salınır. Bronkokonstrüksiyon ortaya çıkmasına ve inflamatuvar yanıt oluşumuna katkıda bulunur.

e. Nitrik oksit: Havayolu epitel hücrelerindeki nitrik oksit sentazın aktivasyonu ile oluşan potent bir vazodilatördür. Astımdaki inflamasyonu yansıtan ekshale nitrik oksit oranı, astım tedavi etkinliğini değerlendirmede artan oranlarda kullanılmaya başlanmıştır (83).

f. Prostaglandin D2: Başlıca mast hücrelerinden köken alan bir bronkokonstrüktördür ve havayoluna Th 2 hücre göçünde rol oynar (1).

2.4.2 Astımda havayolunda görülen yapısal değişiklikler ve yeniden yapılanma (Remodeling)

Astımda havayolu inflamasyonuna ek olarak havayolunun yeniden yapılanması veya remodeling olarak tanımlanan bir takım yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu değişiklikler havayolundaki inflamasyon sonucu ortaya çıkan hasarın tamir mekanizmalarından olmakla birlikte hastalığın şiddetinin artışına ve geriye dönüşümsüz havayolu darlığına neden olabilir (86).

a. Subepitalyal fibrozis ve bazal membran kalınlaşması: Astımda havayolu epitelinde bazal membran kalınlaşması karakteristik bir özelliktir. Astımlı hastalarda bazal membran altında kollajen liflerin ve proteoglikanların birikimi sonucu gelişen subepitelyal fibrozis daha semptomlar başlamadan bile saptanabilir. Majör fibrojenik sitokin olarak bilinen TGF- β makrofajlar, eozinofiller, T-B lenfositler, monositler, mast hücreleri gibi inflamatuvar hücrelerin yanısıra hava yolunun yapısal hücreleri olan düz kas hücreleri, fibroblastlar, epitelyal ve endotelyal hücreler tarafından sentez edilmekte olup sentezi alerjen maruziyeti ve sigara kullanımı gibi çevresel faktörler tarafından artmaktadır. TGF- β'nın 5 farklı izoformu olup bunlardan TGF- β1,TGF - β2 ve TGF- β3 farklı genler tarafından kodlanmakla birlikte aynı reseptörleri ve sinyal yolaklarını kullanmaktadır (87). Astımda TGF- β akciğer dokusunda kollajen-I, kollajen III, proteoglikan, fibronektin gibi ekstraselüler matriks bileşenlerinin artmasına neden olarak subepitelyal fibrozis gelişmesine neden olmaktadır (88).

Matriks metalloproteinazlar (MMP) matriksin olarakta bilinen, çinko içeren endopeptidazlardan olup ekstraselüler matriks remodelingi, hücre migrasyonu, hava yolu epitel tamirinden sorumlu anahtar enzimlerdir (89). Doğrudan alerjen maruziyeti ile ilişkili olarak astımlılarda nötrofillerden MMP-9 salınımı meydana gelmektedir. MMP'lar substratları baz alınarak 3 major fonksiyonel gruba ayrılmıştır. Kollajen I,II,III'e affinite gösteren intersitisyel kollajenazlar (MMP-1,8,13), laminin, fibronektin, proteoglikanlara spesifik olan stromelisin (MMP-3,10,11) ve tip IV ve V kollajenin yıkımında etkili olan jelatinazlar (MMP-2,9) (90). TGF- β 'yı da içeren sitokinler MMP-9 üretimi ve sekresyonunda önemli bir role sahiptir.

b. ***Havayolu düz kas tabakasında kalınlaşma:*** Düz kas hücrelerinin hipertrofisi ve hiperplazisi ile havayolu kalınlığı artar. Yapılan çalışmalarda, düz kas hücrelerinin havayolu remodelingini çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri veya matriks proteinleri salgılayarak ve adezyon moleküllerini eksprese ederek gerçekleştirdikleri bildirilmektedir (91).

c. ***Vasküler proliferasyon****:* Vasküler endotelyal büyüme faktörü aracılığıyla gelişen damar endotelinin proliferasyonu ve küçük damarların sayılarının artması, havayolu duvar kalınlığını arttıran bir faktördür (92). VEGF, vasküler permeabilite faktörü olarak da bilinen fizyolojik ve patofizyolojik anjiogenesiste anahtar role sahip en potent anjiojenik faktörlerdendir (93). VEGF ailesinde VEGF-A,B,C,D,E yer almaktadır. VEGF 'e ait 3 adet reseptör olup bunlardan VEGF-1,2 kan damarlarında, VEGF-3 ise lenfatik damarlarda yer almaktadır (94). Anjiostatik faktörler ile angiojenik faktörler arasındaki dengenin bozulması kan damarlarında aşırı proliferasyon ile karakterize hipertansiyon, diyabetik retinopati, kanser, psöriasis ve astım gibi çok sayıda hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (95-98). VEGF akciğer dokusunda alveolar epitelyal hücre, düz kas hücresi, fibroblastlar ve alveolar makrofajlar tarafından sentezlenmektedir (99). VEGF'in endotelyal hücre proliferasyonu ve migrasyonu, düz kas hücre proliferasyonu, vasküler permeabilite artışı, vasodilatasyon, mast hücre, bazofil ve eozinofil migrasyonunda rol alarak remodelinge katkıda bulunduğu gösterilmiştir.

d. ***Goblet hücre hiperplazisi:*** IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi Th2 sitokinlerin goblet hücre metaplazisine neden olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda astımda epiteldeki goblet hücrelerinin sayıları ve submukozal bezlerin büyüklükleri artar ve aşırı bir mukus sekresyonu olur (100).

2.4.3 Astımda hava yolundaki daralmaya neden olan faktörler

Hava yolundaki daralma astımdaki semptomlara ve fizyolojik değişikliklere neden olan bir sonuçtur. Astımda çok sayıda faktör hava yolu daralmasına katkıda bulunur. Tablo 2'de hava yolu daralmasına katkıda bulunan faktörler verilmiştir (1).

Tablo 2. Astımda hava yolu daralmasında rol oynayan faktörler

Düz kas konstraksiyonu: Çeşitli bronkokonstriktör mekanizmalara ve nörotransmitterlere yanıt olarak oluşan hava yolu düz kas kontraksiyonu, hava yolu daralmasındaki başlıca mekanizmadır ve bronkodilatörler ile büyük ölçüde düzeltilebilir.
Hava yolu ödemi: İnflamatuvar mediatörlere yanıt olarak artmış mikrovasküler sızıntıya bağlı olarak gelişir. Bu durum özellikle akut alevlenmeler sırasında önem kazanır.
Yapısal değişikliklere bağlı hava yollarında kalınlaşma: Sıklıkla remodeling olarak bilinir. Ağır astımda daha çok önem taşır ve güncel tedaviler ile tam olarak geriye döndürülemez.
Aşırı mukus sekresyonu: Havayolu lümeninin tıkanmasına yol açabilir. Lümende daralmaya neden olabilir. Artmış mukus sekresyonu ve inflamatuvar eksudasyonun bir sonucudur.
Havayolu aşırı duyarlılığı: Havayolu aşırı duyarlılığı astımdaki karakteristik fonksiyonel anormalliktir ve astımlı bir hastada normal bireyde zararsız olabilecek bir uyarana yanıt olarak hava yolunda daralma ile sonuçlanır. Havayolu aşırı duyarlılığı havayolundaki hem inflamasyon hemde onarım süreçleri ile ilişkilidir ve tedavi ile kısmen geri döndürülebilir.

2.5 Astım tanısı

Astım tanısı için genellikle anamnez, fizik muayene ve spirometrik testler yeterli olmaktadır. Tekrarlayan solunum sıkıntısı, öksürük atakları ve hışıltı yakınmalarının varlığında astım tanısı düşünülmelidir. Semptomların sigara, irritan, alerjen gibi tetikleyiciler artış göstermesi, gece yakınmaları ve uygun astım tedavisine cevap alınması astım tanısını desteklemektedir. Semptomların değişkenliği nedeni ile astımlı hastanın akciğer dinleme bulguları normal olabilir. Atak esnasında sibilan ronküs ve wheezing duyulabilirken, ciddi

ataklarda takipne, siyanoz, uykuya eğilim, yardımcı solunum kaslarının solunuma katılması gibi solunum sıkıntısı bulguları görülebilir. Spirometri, havayolu obstrüksiyonunu ve reversibilitesini göstermesi nedeniyle astım tanısı koyabilmek için önerilmektedir. Ancak spirometrik inceleme, kişinin çabasına bağlı olması ve kooperasyon gereksinimi nedeniyle 5 yaş altı çocuklarda ve koopere olamayan kişilerde yapılamamaktadır (101).

Solunum fonksiyon testinde normal erişkinlerde FEV1/FVC oranı %80'den, çocuklarda ise %90'dan yüksek olmalıdır. Bu değerlerin altındaki sonuçlar hava akımındaki azalmayı düşündürmektedir. FEV1'de spontan olarak veya bronkodilatör inhalasyonu sonrasında en azından %12'lik bir düzelme olması astım tanısını desteklemektedir (102).

Ayrıca pefmetre ile yapılan PEF ölçümü, tanıda ve izlemde kullanılabilmektedir. Kişinin kendi pefmetresini kullanarak yaptığı, asemptomatik dönemdeki en iyi ölçüm temel alınır. Aynı gün içinde sabah ve akşam ölçümlerinde PEF değerinin %20'den fazla değişmesi astımı düşündürmekte, hastanın kendi değerlerini takip etmesi astımın kontrolüne yardımcı olmaktadır (1).

Astımla uyumlu yakınmaları olup fizik muayene bulguları ve solunum fonksiyon testleri normal olan olgularda astım tanısı konulmasında bronş provokasyon testlerinden yararlanılır. İnhale metakolin, histamin havayolunu direkt olarak uyaran testler, mannitol ve egzersiz ise indirekt uyaran testler arasında sayılabilir.

2.6 Astım tedavisi

Astım tedavisinde amaç klinik kontrolün sağlanması ve devam ettirilmesidir. Tedavide kullanılan ilaçlar atak esnasında kullanılan ve bronkospazmı düzelten rahatlatıcı ilaçlar ve günlük olarak kullanılan ve antiinflamatuvar etkileri ile inflamasyonu kontrol altına alıp astım ataklarını ve hastaneye başvuruları azaltan ilaçlar olmak üzere iki grupta incelenmektedir (1).

2.6.1 Kontrol edici ilaçlar

a. İnhale Steroidler

İnhale kortikosteroidler günümüzde astım tedavisinde kullanılan en etkili kontrol edici ilaçlardır. Steroidlerin inflamatuvar hücre fonksiyon ve aktivasyonunun azalması, vasküler kaçağın stabilizasyonu, mukus üretiminde azalma, beta$_2$ adrenerjik cevabın artışı gibi etkileri mevcuttur. İnhale steroidler ile tedavi, astım semptomlarını kontrol etmekte, alevlenme sıklığını ve ciddiyetini azaltmakta ve yaşam kalitesini, solunum fonksiyonlarını, bronş aşırı

duyarlılığını düzeltmektedir (1). İnhale steroid kullanımı ile en sık görülen lokal yan etkiler orofarengeal kandidiasis, disfoni ve irritasyona bağlı öksürüktür. Uzun dönem ve yüksek dozda kullanımı hipotalamohipofizer aks da baskılanma, kemik mineral yoğunluğunda azalma ve ve büyüme geriliğine neden olabilmektedir (1).

b. Lökotrien antagonistleri

Lökotrien antagonistleri; lökotrien sentez inhibisyonu yapanlar (zileuton) ve lökotrien reseptör antagonistleri (montelukast, zafirlukast, pranlukast) olmak üzere iki grupta incelenir. Bu grupta yer alan ilaçların öksürük de dahil olmak üzere klinik semptomları azalttığı, akciğer fonksiyonlarını düzelttiği, bronkodilatatör etkinliği olduğu, havayolu inflamasyonu ve astım alevlenmelerini azalttığı klinik çalışmalarda gösterilmiştir (103,104) .Bu ilaç grubu hafif persistan astımda alternatif ilaç olarak kullanılabilir ancak düşük doz inhale kortikosteroidler ile karşılaştırıldığında etkinliklerinin daha az olduğu bilinmektedir (1).

c. Uzun etkili beta-2 agonistler

Salmeterol, formoterol uzun etkili beta 2 agonistlerdir ve güçlü bronkodilatasyon yaparlar. Orta doz steroidlere yanıt alınamayan 5 yaş üstü hastalarda hastalarda inhale steroidlere ek olarak uzun etkili beta-2 agonist eklenmesi tercih edilmelidir. Bu ilaç grubu daima steroidlerle kombine kullanılmalı, asla tek başına kullanılmamalıdır (1).

d. Kromonlar

Kromolin sodyum ve nedokromil sodyum, kronik astım tedavisinde benzer özellikleri olan yan etkileri oldukça az iki farklı antiinflamatuvar ilaçtır. Mast hücresini stabilize eder ve hem erken hem de geç faz reaksiyonu önlerler. Ancak son yıllarda yapılan metaanaliz çalışmalarında plasebodan fazla bir üstünlüklerinin olmadığı gösterilmiştir (1).

e. Metilksantinler

Teofilin, metilksantin grubundan hafif antiinflamatuvar etkisi olan bronkodilatatör bir ilaçtır. Çocuklar ve erişkinlerde yavaş salınımlı teofilin preparatları kontrol edici ilaç olarak

kullanılabilmektedir. Teofilin serum düzeyi yaş, diyet, hastalık durumu, ilaç etkileşimleri gibi çeşitli değişkenlerden etkilenebilir (105).

f. Sistemik steroidler

Astımlı çocuklarda oral steroidlerin kullanımı uzun dönemde görülen yan etkilerinden dolayı sadece akut astım atakları sırasında kısa süreli olarak ve ağır ve kontrol altına alınamayan astımlılarla sınırlandırılmıştır (1).

g. Anti IgE tedavisi

Anti IgE (omalizumab) sadece yüksek serum IgE düzeyi olan hastalar için kullanılabilen bir tedavi seçeneğidir. İnhale steroidler ile kontrol altına alınamayan ağır alerjik astımlı hastalarda kullanılabilir (106).

2.6.2 Rahatlatıcı ilaçlar

Bronş düz kasında gevşemeye neden olarak semptomları düzeltirler. Kısa etkili beta 2 agonistler, sistemik steroidler, teofilin, kısa etkili oral beta 2 agonistler ve antikolinerjik ajanlar bu grupta yeralmaktadır (1). Kısa etkili beta 2 agonistler en etkili bronkodilatatör ilaçlar olup akut astım atağında ilk önce kullanılması gereken ilaçlardır (1).

2.6.3 Alerjen spesifik İmmunoterapi

Alerjen maruziyeti ile semptomları oluşan, tek veya az sayıda allerjen duyarlılığı olan, optimal tedaviye rağmen semptomları devam eden veya tedavinin yan etkilerinin ortaya çıktığı hastalarda alerjen spesifik immunoterapi denenebilir**.** Tedavinin başarısı için uygun hasta seçimi şarttır. İmmunoterapide amaç kişinin duyarlı olduğu alerjenleri artan dozlarda vererek zaman içinde alerjen spesifik T hücre toleransını sağlamak ve böylece mediyatör salınımını ve doku enflamasyonunu azaltmaktır. Subkutan ve sublingual yollarla uygulanabilmektedir (107).

2.7 Astımda tamamlayıcı ve alternatif tedaviler

Dünya sağlık örgütü verileri toplumun %80 ‘inin hastalıklardan korunma ve tedavi için alternatif yöntemlere başvurduklarını göstermektedir (108). Ülkemizde yapılan çalışmalarda erişkin astımlı hastalar arasında alternatif /tamamlayıcı tedavi kullanma oranı %50-60 (109-

110), çocukluk çağı astımında ise bu oran %45-50 arasında bulunmuş olup en sık kullanılan alternatif tedavinin ise bal, bıldırcın yumurtası ve bitkisel ilaçlar olduğu ortaya konmuştur (111-112). Bitkisel ilaçların birçok çalışmada alternatif/tamamlayıcı tedaviler arasında ilk sırada yer aldığı bilinmektedir. Bitkiler biyolojik aktivitesi bulunan doğal kimyasal maddeler içermekte ve astımında içinde bulunduğu birçok kronik hastalıkta kullanılmaktadır. Hint, Çin ve Japon tıbbında kullanılan ve astımda etkinliği araştırılan bitkisel ilaçlardan bazıları; Ling Zhi, Gan Cao, Atropa Belladonna, Gingo biloba, Sanguinaria, Lobelia ve Ku Shen'dir (113-114). Astımda alternatif/tamamlayıcı tedavilerin bir kısmı ile az da olsa objektif düzelmeler gözlenirken sübjektif yararların daha belirgin olduğu düşünülmektedir. Bitkisel ilaçlar ile yapılacak klinik çalışmalar neticesinde bu ilaçların etkileri ve yan etkileri daha net ortaya konularak güncel tedavilere bu ilaçların eklenmesi mümkün olacaktır (115).

2.8 Sinomenium Acutum

Sinomenin, Japonya ve Çin gibi doğu asya ülkelerin de yetişen *Sinomenium Acutum* adı verilen bir bitkinin alkaloid yapıdaki aktif bileşeni olup bu ülkelerde 2000 yıldır romatoid artrit başta olmak üzere romatizmal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Resim 1) (116). Sinomenin ile ilgili bilimsel araştırmalar 100 yıl kadar önce başlamış olup ilk olarak 1920 yılında sinomenin'in kan basıncı üzerine etkileri araştırılmıştır (117).

Resim 1. *Sinomenium Acutum* bitkisinin genel görünümü

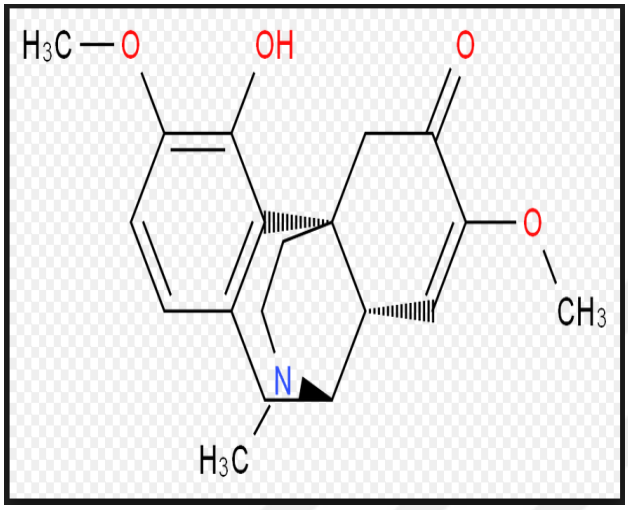


2.8.1 Yapısı

Kimyasal açılımı; (7,8-didehydro-4-hydroxy-3, 7- dimethoxy-17-methyl-morphinane-6-one)

Kimyasal formülü; $C_{19}H_{23}NO_4$, Molekül ağırlığı=329) (Şekil 1)

Şekil 1. Sinomenin'in kimyasal yapısı



2.8.2 Sinomenin'in Farmakolojik özellikleri

Sinomenin'in daha önce yapılan çalışmalarda çok geniş farmakolojik etkinliği olduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında antiinflamatuvar (17), antiromatizmal (9), analjezik (118), antiaritmik (119), immunsupresif (120, 121, 122) ve antialerjik (18), anti-anjiojenik (123) etkiler bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda sinomenin'in etkilerini lenfosit proliferasyonu, makrofaj migrasyonu, TNF-alfa, IL-1 beta, IL-8, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokin üretimi, mast hücrelerinden prostaglandin (PG) D2 ve lökotrien (LT) C4 üretimi inhibisyonu yolu ile göstermektedir (18,124,125). Ayrıca sinomenin'in T lenfosit alt tiplerinden CD4/CD8 oranını modifiye ettiği ve dalak hücrelerinin apoptozisini uyardığı bilinmektedir (126).

İmmunsupresif ve antiromatizmal etki: Sinomenin romatoid artrit gibi otoimmun hastalıkların tedavisinde immunsupresif olarak mükemmel bir klinik etki ve nispeten az bir yan etki ile kullanılmaktadır. İmmunsupresif etki mekanizması olarak yapılan in vitro çalışmalarda CD4 (+) T lenfosit proliferasyonunun apoptosis aracılığı ile inhibisyonu (127), B lenfositlerden antikor üretimi, makrofaj migrasyonu ve makrofajlardan PGE3, LT C4, TNF-alfa gibi proinflamatuvar sitokin salınımının NF-κB bağlanmasını baskılamak suretiyle inhibisyonu olduğu ileri sürülmüştür (121, 122,128). Farelerde kollajen ile indüklenen artrit

modelinde sinomenin'in antiromatizmal etkinliğini Th1 ve Th2 immun yanıtları baskılayarak gösterdiği ortaya konulmuştur (129).

Anti-alerjik etki

İnvitro olarak yapılan bir çalışmada farelerin kemik iliğinden elde edilen mast hücrelerinin alerjik bir mediatör ile uyarılmasından sonra sinomenin ilave edildiğinde bu hücrelerden PGD2, LTC4, IL-6 üretiminin baskılandığı ortaya konulmuştur (18). OVA ile uyarılarak alerjik rinit modeli oluşturulan farelerde sinomenin tedavisi verilen grupta plasebo ile karşılaştırıldığında nazal histolojik bulgularda düzelme ve anti OVA-IgE, IL-4, INF-gama düzeylerinde azalma olduğu ve sinomenin'in Th1/Th2 imbalansını düzeltmek suretiyle etki gösterdiği ileri sürülmüştür (130).

Analjezik etki

Sinomenin morfin ile benzer kimyasal yapıya sahip olup daha önce yapılan çalışmalarda analjezik etkinliği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada sinomenin'in duyusal hiperaljezi ve kronik ağrı ile ortaya çıkan depresyonu azaltmak suretiyle nöropatik ağrı üzerine olumlu etkilerinin olduğu ortaya konulmuş olup bu çalışmada kronik periferal mononöropati tedavisinde yeni bir analjezik olarak kullanılabileceği ve yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu ileri sürülmüştür (131).

Klinik veriler

Son 30 yıldır sinomenin'in romatoid artritli hastalarda mükemmel terapotik etkinlik ve nispeten az yan etki ile kullanılmaktadır. Sinomenin'in romatoid artritli hastalarda klinik etkinliği %80 oranında bulunmuş olup Çin de günümüzde romatoid artrit tedavisinde en sık reçete edilen ilaçtır (132). Cheng ve arkadaşlarının sinomenin tedavisi verilerek 3 ay boyunca takip ettiği 25 mezengial proliferatif nefritli hastada sinomenin'in T-bet mRNA ekspresyonu ve T-bet/GATA-3 oranını ve serum INF-gama oranını azalttığı ve klinik tabloyu düzelttiği ileri sürülmüştür (133).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Deney Hayvanları

Çalışma için 20-25 gr ağırlığında, 6-8 haftalık, *ad libitum* olarak beslenen 22 adet BALB/C fare kullanıldı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarlarından temin edilen fareler hijyenik makrolen kafeslerde, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda muhafaza edildi. Çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulun'dan 05/2013 protokol numarası ile 13.02.2013 tarihinde onay alındı.

3.2 Çalışma Grupları

Çalışmaya dahil edilen 22 adet BALB/C fare 4 gruba ayrıldı.

Grup I: Oda havasında kalan, herhangi bir tedavi verilmeyen ve astım modeli oluşturulmayan, kontrol grubu

Grup II: Kronik astım oluşturularak, sinomenin çözücüsünün verildiği, plasebo grubu

Grup III: Kronik astım modeli oluşturularak 100 mg/kg dozda peroral sinomenin tedavisi verilen grup

Grup IV: Kronik astım modeli oluşturularak 1 mg/kg intraperitoneal deksametazon tedavisi verilen grup

3.3 Kronik Astım Modelinin Oluşturulması

Temelkovski ve arkadaşları tarafından tanımlanan kronik astım fare modeli kullanıldı (134). Kontrol grubu dışında kalan her 3 gruba (Grup II,III,IV) çalışmanın 0. ve 14. günlerinde sensitizasyon amacıyla 10 µg/0,1 ml tavuk yumurtası ovaalbumini (OVA; Grade V, Sigma, St Louis, MO, USA) ve adjuvan olarak kullanılan aliminyum hidroksit intraperitoneal olarak uygulandı. Sensitizasyonu sağlanan farelere çalışmanın 21. gününden itibaren, 8 hafta boyunca, haftada 3 kez, 30 dakika süreyle, steril salin içerisindeki %2,5 'luk ovaalbumin solusyonu jet nebülizatör inhale ettirildi. İnhalasyon uygulamaları 40x30x20 cm boyutlarında fiberglas bir kabin içerisinde, tüm vücut inhalasyon sistemi ile uygulandı.

Kontrol grubundaki farelere 0. ve 14. günlerde intraperitoneal olarak 0,1 ml salin uygulandı. Daha sonra çalışmanın 21. gününden itibaren, 8 hafta boyunca, haftada 3 gün, 30 dakika süreyle steril salin inhalasyonu, tüm vücut inhalasyon sistemi ile sağlandı.Şekil 2'de kronik astım modeli oluşturma protokolu verilmiştir.

Şekil 2. Kronik Astım Modeli Oluşturma Protokolü



3.4. Çalışma İlaçlarının Uygulanması

Ovaalbumin inhalasyonunun son haftasında plasebo grubundaki farelere sinomenin çözücüsü olan dimetil sülfoksit (DMSO) 200 µl peroral, grup III' deki farelere sinomenin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH) 100 mg/kg/gün peroral, grup IV'deki farelere 1 mg/kg/gün deksametazon intraperitoneal yol ile 5 gün boyunca, günde tek doz uygulandı. Sinomenin üretici firmanın önerisi doğrultusunda DMSO ile çözülerek uygulandı.

3.5 Hayvan Yaşamını Sonlandırma Zamanı Ve Yöntemi

Farelere son tedavinin uygulanmasından 24 saat sonra intraperitoneal yol ile ketamin (35-50 mg/kg) ksilazin (5-10 mg/kg) anestezisi uygulandı ve anestezi altında sakrifiye edildi.

3.6 Histolojik incelemeler

Tüm farelerin sol akciğer orta zonundan alınan doku örnekleri, tedavi gruplarını bilmeyen iki histolog tarafından incelendi. Işık mikroskopik değerlendirme için %10 formaldehit içerisine akciğer doku örnekleri alındı.

3.7 Akciğer Dokusunda IL-4, IL-5 ve IL-13 Ölçümü

Sakrifiye edilen farelerin sağ akciğer üst lobu 2 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı ve oda ısısı ile temas etmeden -80°C'da çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü -80 °C'dan çıkarılan dokular +4°C de çözüldü. Daha sonra buz üzerine alınan örneklerden 60-80 mg lık parça önceden soğutulmuş içinde 5 mm çapında paslanmaz çelik boncuk ve 1:7 oranında fosfat tampon (pH: 7.2) olan tüpe alındı. Mikrosantrifüj tüpleri önceden soğutulmuş Tissuelyser LT raklarına alınıp TissueLyser (Qıagen-Almanya) doku homojenizasyon cihazına yerleştirildi. Frekans 50, zaman 5 dakikaya ayarlandı. Elde edilen homojenat +4°C de 5000 g de 10 dakika (Sigma, 2K15C) santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatanlardan IL-4, IL-5 ve IL-13 düzeyleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda ELISA yöntemiyle çalışıldı (eBioscience Mouse ELISA Kit, USA) . ELISA plakları 450 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirildi. (BioTek Synergy HT, USA).

3.8 Serum Örneğinde OVA Spesifik IgE Ölçümü

Sakrifikasyon öncesi farelerden intrakardiak yoldan alınan kan örnekleri 1,5 mL'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı, 5000 g de 10 dakika (Sigma, 2K15C) santrifüj edildi, serumları ayrıldı. Serum örnekleri -80°C'da çalışma gününe kadar saklandı. Çalışma günü -80 °C'dan çıkarılan örnekler +4°C de çözüldü. Daha sonra OVA spesifik IgE (SunReed Mouse OVA sIgE, Shanghai) düzeyleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda ELISA yöntemiyle çalışıldı. ELISA plakları 450 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirildi. (BioTek Synergy HT, USA)

3.9 İstatiksel analiz

İstatiksel analiz için SPSS 15 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illionis, USA) kullanıldı. Veriler ortalama (Ort) ± Standart deviasyon (SD) olarak verildi. Normal dağılım gösteren tüm grupların verilerinin karşılaştırılması için Bonferonni düzeltmeli tek yönlü ANOVA testi (tek yönlü varyans analizi) kullanıldı. IL-4,IL-5,IL-13, Spesifik IgE ölçümlerinde çoklu grup

ortalamaları karşılaştırmaları Kruskal Wallis, ikili grup ortalamaları karşılaştırmaları Mann Whitney U testi ile yapıldı. $p < 0,05$ ise istatiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma sonunda toplam 22 adet farenin verileri incelendi. Tüm grupların histolojik verileri Tablo 3'de ortalama (Ort) ± standart deviasyon (SD) olarak gösterilmiştir.

Tablo 3. Tüm grupların histolojik verileri

	Grup I **Kontrol grubu** **(Ort±SD)**	**Grup II** **Plasebo grubu** **(Ort±SD)**	**Grup III** **SİNOMENİN 100 mg/kg grubu** **(Ort±SD)**	**Grup IV** **Deksametazon grubu** **(Ort±SD)**
Subepitelyal düz kas kalınlığı(µm)	1,55±0,49	4,62±1,85	3,56±1,54	2,88±1,53
Epitel yüksekliği (µm)	15,3±4,6	30,1±7,06	26,9±5,17	22,9±6,6
Goblet hücre sayısı/100 (µm)	0,85±0,89	2,96±2,02	2,55±1,73	1,17±1,05
Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	0,53±0,74	0,53±0,74	2,17±1,49	1,67±1,30

Kontrol grubu (Grup I) ile plasebo grubunun (Grup II) histolojik verileri karşılaştırıldığında ; bazal membran kalınlığı (p=0,000), epitel yüksekliği (p=0,000), subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı (p=0,000), mast hücre sayısı (p=0,000), ve goblet hücre sayısı (p=0,000)'nı içeren tüm parametrelerin plasebo grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar kronik astım modelinin çalışma grubundaki farelerde başarı ile oluşturulduğunu göstermiştir. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort ± SD) ve p değerleri Tablo 4'de sunulmuştur.

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

	Grup I (Kontrol) (Ort±SD)	**Grup II (Plasebo) (Ort±SD)**	**P**
Subepitelyal düz kas kalınlığı(µm)	1,55±0,49	4,62±1,85	**0,000**
Epitel yüksekliği (µm)	15,3±4,6	30,1±7,06	**0,000**
Goblet hücre sayısı/100 (µm)	0,85±0,89	2,96±2,02	**0,000**
Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	0,53±0,74	2,75±0,88	**0,000**

Plasebo grubu (Grup II) ile 100 mg/kg sinomenin (Grup III) verilen grubun histolojik verileri karşılaştırıldığında ise; sinomenin uygulanan grupta subepitelyal düz kas kalınlığı (p=0,03), epitel yüksekliği (p=0,01), mast hücre sayısı (p=0,03) plasebo grubuna göre anlamlı olarak azalmış bulunurken goblet hücre sayısında anlamlı fark saptanmadı (p=0,35). Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (ortalama ± SD) ve p değerleri Tablo 5'de sunulmuştur.

Tablo 5. Grup II ile Grup III'ün histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Grup II (Plasebo) (Ort±SD)	**Grup III (Sinomenin 100 mg/kg) (Ort±SD)**	**P**
Subepitelyal düz kas kalınlığı(µm)	4,62±1,85	3,56±1,54	**0,03**
Epitel yüksekliği (µm)	30,1±7,06	26,9±5,17	**0,01**
Goblet hücre sayısı/100 (µm)	2,96±2,02	2,55±1,73	0,35
Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	2,75±0,88	2,17±1,49	**0,03**

Plasebo grubu (Grup II) ile deksametazon grubu (Grup IV)'nun histolojik verileri karşılaştırıldığında ise; sub epitelyal düz kas kalınlığı (p=0,00), epitel yüksekliği (p=0,00), goblet hücre sayısı (p=0,00), mast hücre sayısı (p=0,00) deksametazon grubunda anlamlı olarak azalmış olduğu gösterildi. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort±SD) ve p değerleri Tablo 6 'de sunulmuştur.

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

	Grup II (Plasebo) (Ort±SD)	**Grup IV (Deksametazon) (Ort±SD)**	**P**
Subepitelyal düz kas kalınlığı(µm)	4,62±1,85	2,88±1,53	**0,00**
Epitel yüksekliği (µm)	30,1±7,06	22,9±6,6	**0,00**
Goblet hücre sayısı/100 (µm)	2,96±2,02	1,17±1,05	**0,00**
Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	2,75±0,88	1,67±1,30	**0,00**

100 mg/kg sinomenin tedavisi verilen grup (Grup III) ile deksametazon grubu (Grup IV)'nun histolojik verileri karşılaştırıldığında; epitel yüksekliği (p=0,01) ve goblet hücre sayısı (p=0,03)'nın deksametazon grubunda sinomenin verilen gruba göre anlamlı olarak daha fazla azaldığı, her iki grup arasında; sub epitelyal düz kas kalınlığı (p=0,06) ve mast hücre sayısı (p=0,18) açısından anlamlı fark olmadığı görülmüştür. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort ± SD) ve p değerleri Tablo 7' de sunulmuştur.

Tablo 7. Grup III ile Grup IV histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Grup III (Sinomenin 100 mg/kg) (Ort±SD)	**Grup IV (Deksametazon) (Ort±SD)**	**P**
Subepitelyal düz kas kalınlığı(µm)	3,56±1,54	2,88±1,53	0,06
Epitel yüksekliği (µm)	26,9±5,17	22,9±6,6	**0,01**
Goblet hücre sayısı/100 (µm)	2,55±1,73	1,17±1,05	**0,03**

Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	2,17±1,49	1,67±1,30	0,18

Tüm gruplara ait akciğer doku örnekleri; anjiogenesis göstergelerinden Vasküler endotelyal growth faktör (VEGF), Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9), Transforming growth faktör-beta (TGF-β) antikorları ile immunohistokimyasal olarak boyanarak incelendi. Tüm gruplara ait immunohistokimyasal boyanma verileri (Ort ± SD) Tablo 8 'da sunulmuştur.

Tablo 8. Tüm gruplara ait immunohistokimyasal boyanma verileri

	Grup I (Kontrol)	**Grup II (Plasebo)**	**Grup III (Sinomenin 100 mg/kg)**	**Grup IV (Deksametazon)**
VEGF	0,14±0,37	1,57±0,53	0,71±0,75	0,85±0,69
MMP-9	0,57±0,53	2,28±0,75	1,28±0,48	1,14±0,37
TGF- β	0,28±0,48	2,28±0,48	1,42±0,53	1,28±0,48

Kontrol grubu (Grup I) ile plasebo grubu (Grup II) 'na ait immunohistokimyasal boyanma verileri karşılaştırıldığında; Kontrol grubunda, VEGF (p=0,00), MMP-9 (p=0,00), TGF- β (p=0,00) ile immunohistokimyasal boyanma plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort ± SD) ve p değerleri Tablo 9'da sunulmuştur.

Tablo 9. Grup I ile Grup II'nin immunohistokimyasal verilerinin karşılaştırılması

	Grup I (Kontrol)	**Grup II (Plasebo)**	**p**
VEGF	0,14±0,37	1,57±0,53	**0,00**
MMP-9	0,57±0,53	2,28±0,75	**0,00**
TGF- β	0,28±0,48	2,28±0,48	**0,00**

Plasebo grubu (Grup II) ile sinomenin 100 mg/kg verilen grubun (Grup III) immunhistokimyasal boyanma verileri karşılaştırıldığında; Sinomenin uygulanan grupta VEGF (p=0,04), MMP-9 (p=0,02), TGF- β (p=0,01) ile immunhistokimyasal boyanma plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort ± SD) ve p değerleri Tablo 10'da sunulmuştur.

Tablo 10. Grup II ile Grup III'ün immunohistokimyasal verilerinin karşılaştırılması

	Grup II (Plasebo)	**Grup III (Sinomenin 100 mg/kg)**	**p**
VEGF	1,57±0,53	0,71±0,75	**0,04**
MMP-9	2,28±0,75	1,28±0,48	**0,02**
TGF- β	2,28±0,48	1,42±0,53	**0,01**

Plasebo grubu (Grup II) ile deksametazon verilen grubun (Grup IV) immunohistokimyasal boyanma verileri karşılaştırıldığında; Deksametazon uygulanan grupta (Grup IV), MMP-9 (p=0,00), TGF- β (p=0,00) ile immunohistokimyasal boyanma plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanırken, VEGF (p=0,05) ile boyanma açısından iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort ± SD) ve p değerleri Tablo 11'da sunulmuştur.

Tablo 11. Grup II ile Grup IV'ün immunohistokimyasal verilerilerin karşılaştırılması

	Grup II (Plasebo)	**Grup IV (Deksametazon grubu)**	**p**
VEGF	1,57±0,53	0,85±0,69	0,05
MMP-9	2,28±0,75	1,14±0,37	**0,00**
TGF- β	2,28±0,48	1,28±0,48	**0,00**

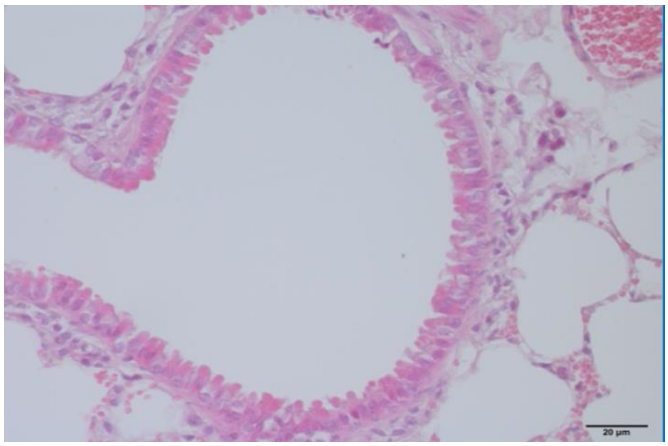
Sinomenin 100 mg/kg verilen grup (Grup III) ile deksametazon grubunun (Grup IV) immunohistokimyasal boyanma verileri karşılaştırıldığında; Her iki grup arasında VEGF (p=0,67), MMP-9 (p=0,53), TGF- β (p=0,59) ile immunohistokimyasal boyanma açısından anlamlı fark saptanmadı. Her iki grubun karşılaştırılan parametreleri (Ort ± SD) ve p değerleri Tablo 12'da sunulmuştur.

Tablo 12. Grup III ile Grup IV'ün immunohistokimyasal verilerinin karşılaştırması

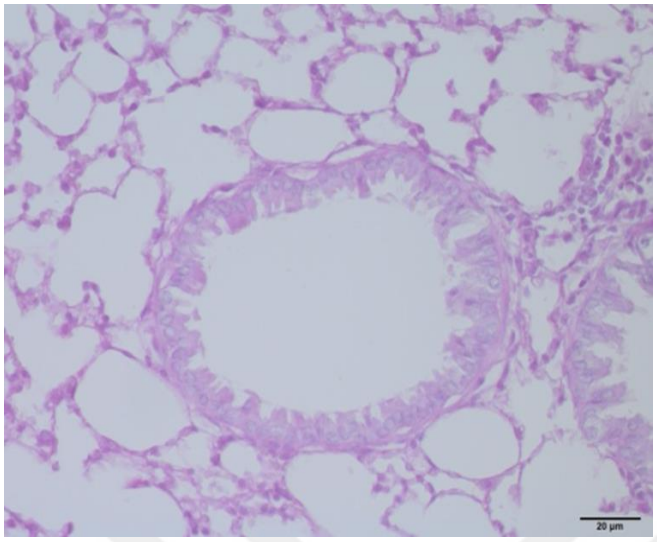
	Grup III (Sinomenin 100 mg/kg)	**Grup IV (Deksametazon grubu)**	**p**
VEGF	0,71±0,75	0,85±0,69	0,67
MMP-9	1,28±0,48	1,14±0,37	0,53
TGF- β	1,42±0,53	1,28±0,48	0,59

Tüm grupların ışık mikroskopik görünümleri aşağıda verilmiştir (Resim 1-25)

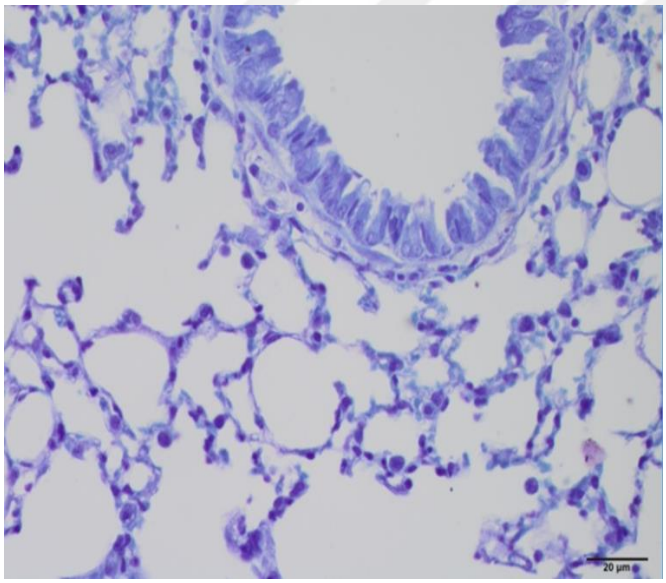
Işık mikroskopik çalışmalarda kontrol grubunda histolojik bulgular normal saptanmıştır (Resim 2-4).



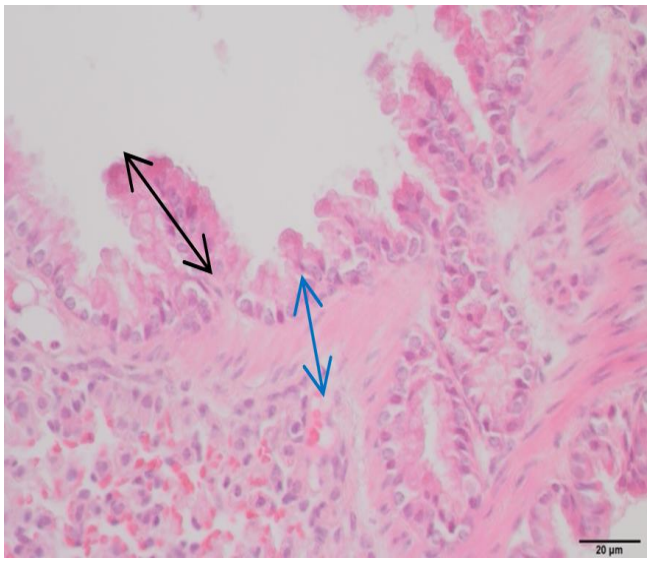
Resim 2. Kontrol grubunun (Grup I) H&E boyalı akciğer kesiti. Bronş ve bronşial yapılar ve parankim normal görünümdedir. Epitel yüksekliği normal, subepitelyal düz kas ince bir tabaka halinde gözlenmektedir.



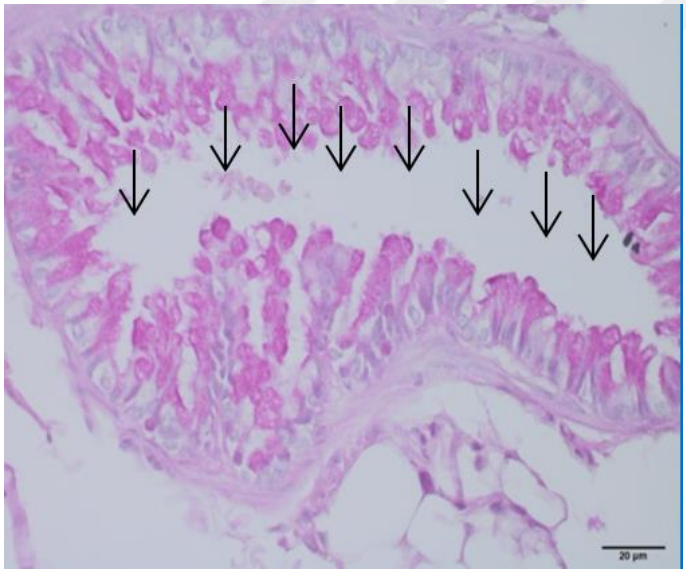
Resim 3. Kontrol grubunun (Grup I) PAS boyalı akciğer kesitleri. Goblet hücreleri minimal sayıda izlenmektedir.



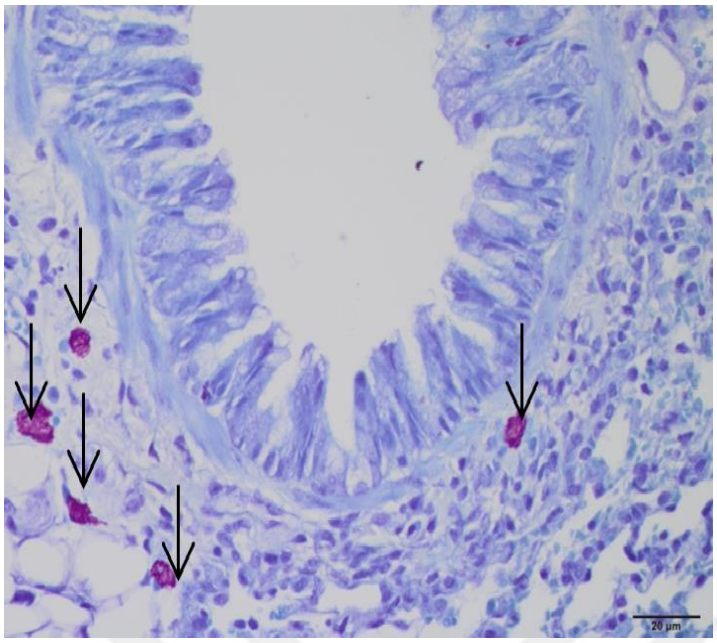
Resim 4. Kontrol grubunun (Grup I) toludin mavisi boyalı akciğer kesitleri. Mast hücreleri akciğer parankiminde normal sayıda izlenmektedir.



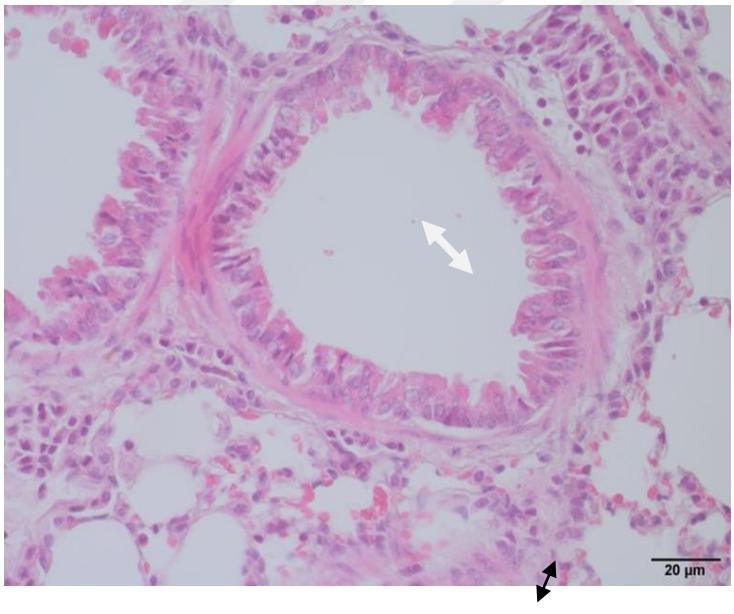
Resim 5. Plasebo grubunun (Grup II) H&E boyalı akciğer kesitleri. Epitelyal (çift başlı siyah ok) ve subepitelyal kas tabakasının (çift başlı mavi ok) kalınlaştığı görülmektedir.



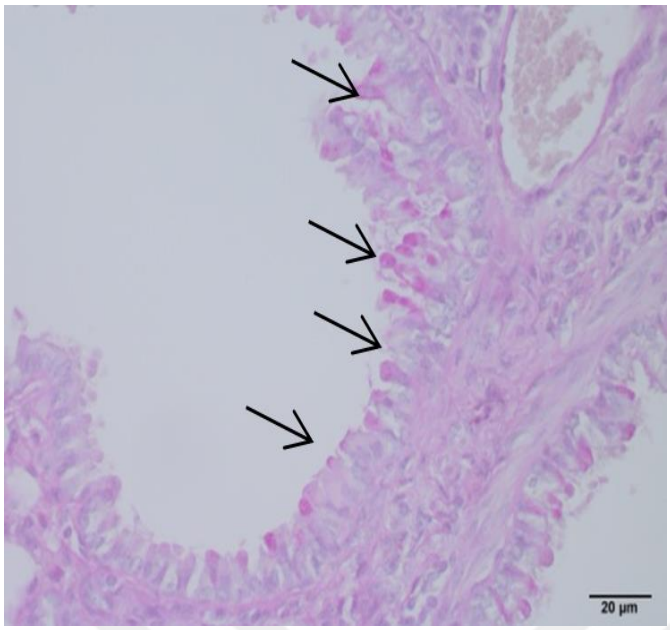
Resim 6. Plasebo grubunun (Grup II) PAS boyalı akciğer kesitleri. Akciğer parankiminde goblet hücre sayıları artmış olarak izlenmektedir (oklar).



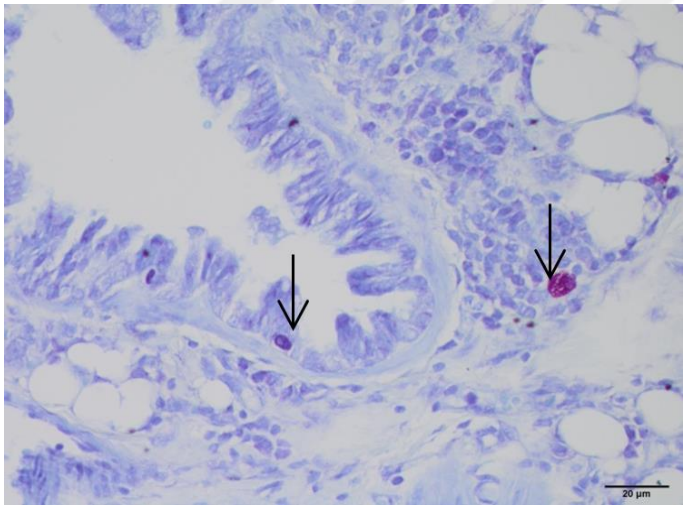
Resim 7. Plasebo grubunun (Grup II) toludin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri. Akciğer parankiminde mast hücre sayısında artış (oklar) gözlenmektedir.



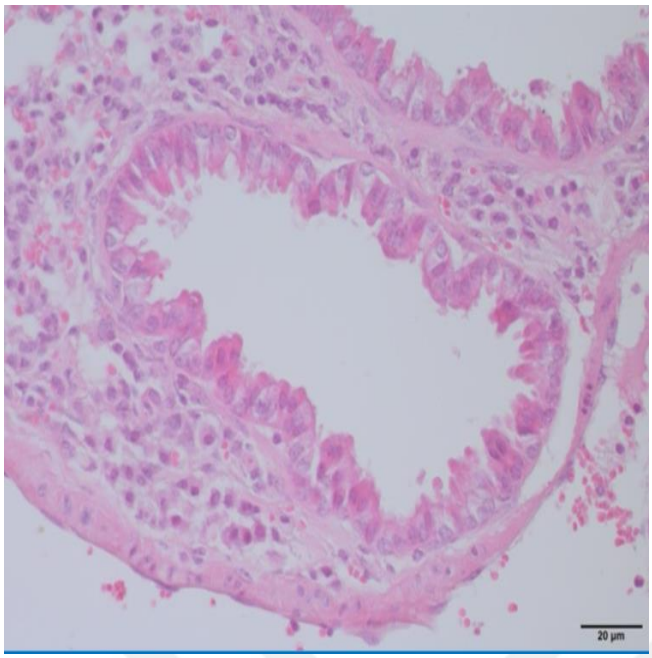
Resim 8. Sinomenin tedavisi verilen grubun (Grup III) H&E boyalı akciğer kesitleri. Epitelyal yükseklik (çift başlı beyaz ok) ve subepitelyal düz kas kalınlığının (çift başlı siyah ok) plasebo grubuna (Grup II) göre azaldığı gözlenmektedir.



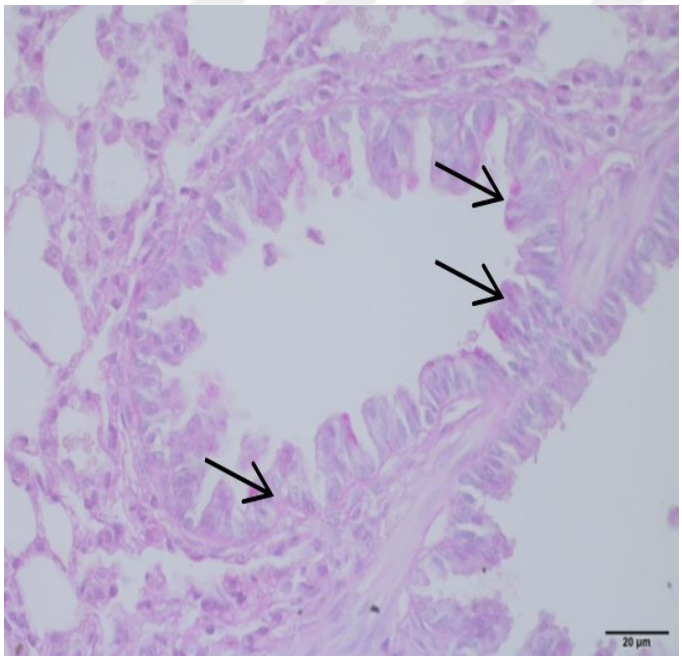
Resim 9. Sinomenin tedavisi verilen grubun (Grup III) PAS boyalı akciğer kesitleri. Goblet hücre sayısının (oklar) plasebo grubuna (Grup II) göre azalmış olduğu ancak bu azalma anlamlı bulunmamıştır.



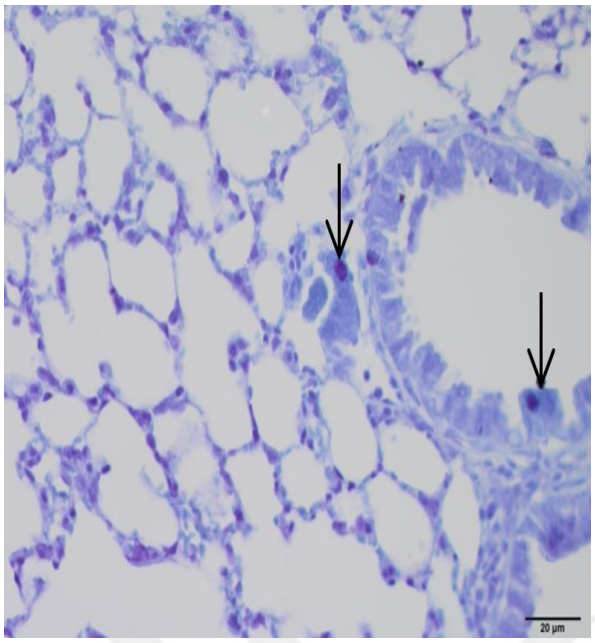
Resim 10. Sinomenin tedavisi verilen grubun (Grup III) toludin mavisi ile boyalı akciğer kesitleri. Mast hücre sayılarında (oklar) plasebo grubuna (Grup II) göre azalma olduğu gözlenmektedir.



Resim 11. Deksametazon tedavisi verilen grubun (Grup IV) H&E boyalı akciğer kesitleri. Epitelyal yükseklik ve subepitelyal düz kas tabakası kalınlığının plasebo grubuna (grup II) göre azaldığı görülmektedir.



Resim 12. Deksametazon tedavisi verilen grubun (Grup IV) PAS boyalı akciğer kesitleri. Goblet hücre sayısında (oklar) plasebo grubuna (grup II) göre azalma gözlenmektedir.



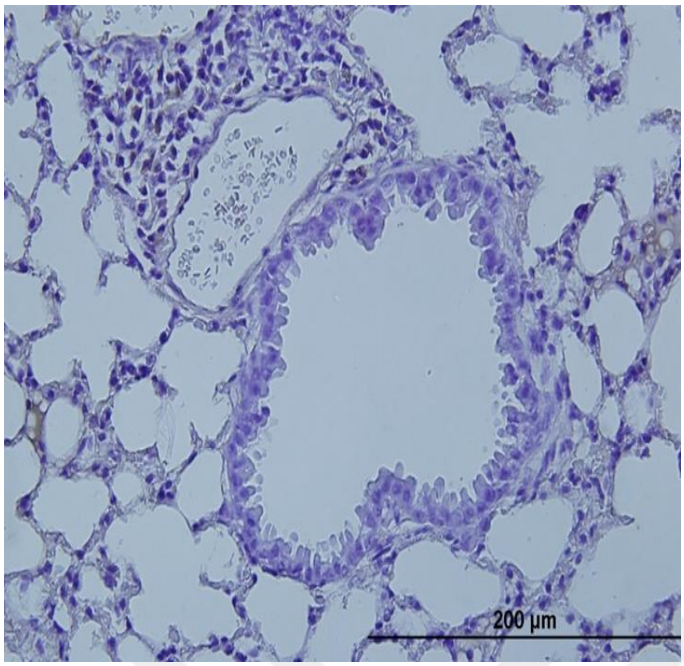
Resim 13. Deksametazon tedavisi verilen grubun (Grup IV) toludin mavisi boyalı akciğer kesitleri. Mast hücre sayısında (oklar) plasebo grubuna (grup II) göre azalma gözlenmektedir.

Tüm grupların immunohistokimyasal boyanma görünümleri aşağıda verilmiştir (Resim 14-25)

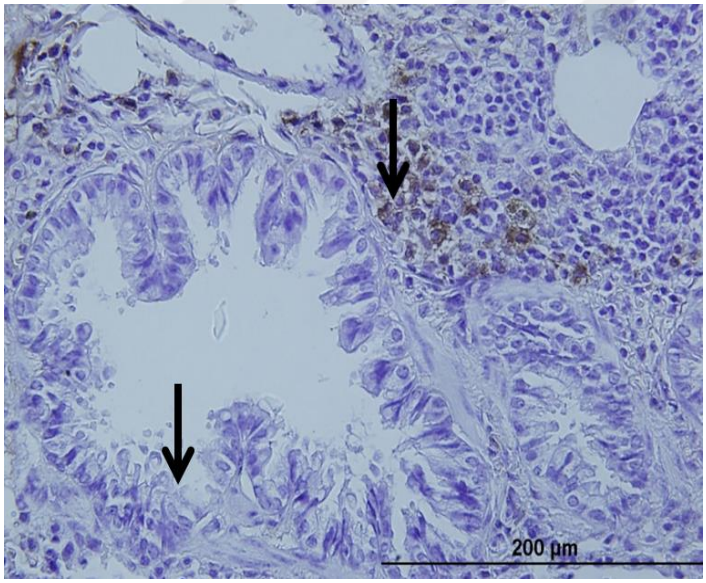
TGF-β ile boyanma, hem bronş-bronşiol epitelinde hemde akciğer parankimindeki hücrelerde gözlenmiştir.

VEGF ile boyanma, bronş ve bronşiol epitelinde gözlenmezken, inflamasyon alanlarında, akciğer parankiminde ve kapillerler de gözlenmiştir.

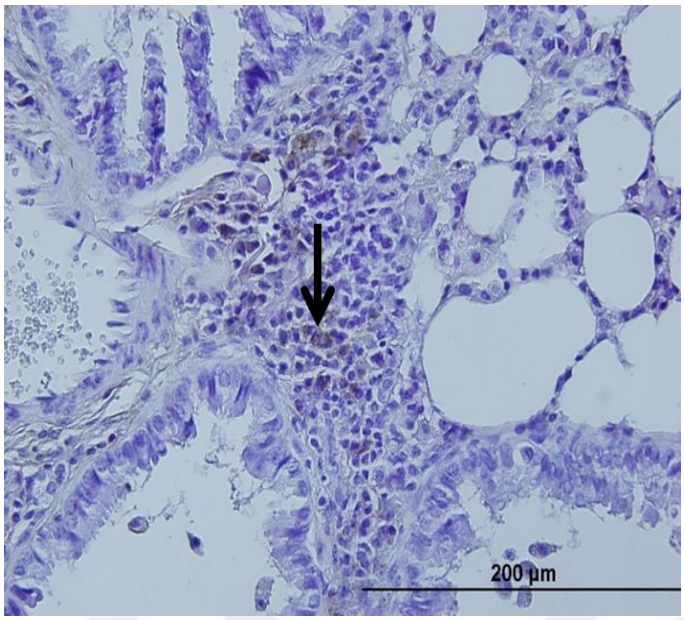
MMP-9 ile boyanma, hem bronş-bronşiol epitelinde hemde akciğer parankimindeki hücrelerde gözlenmiştir.



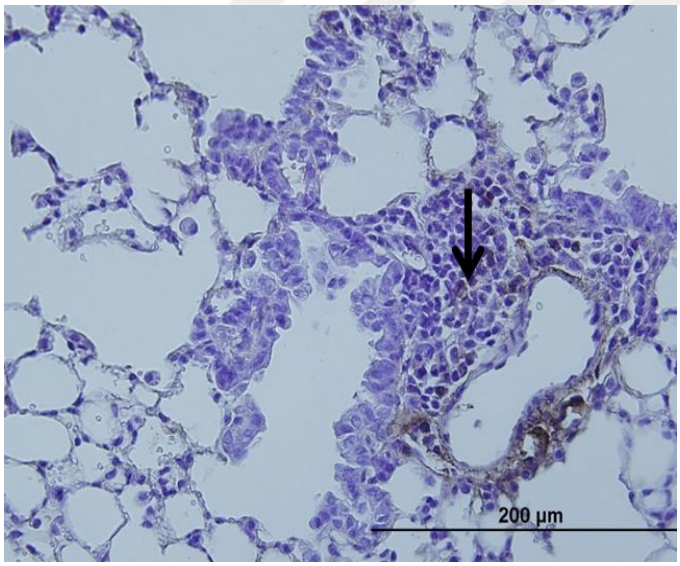
Resim 14. Kontrol grubunun (Grup I) VEGF ile boyanan akciğer kesitlerinin görünümü. Kontrol grubunda (Grup I) VEGF ile boyanma, plasebo grubuna (Grup II) göre anlamlı olarak az saptandı.



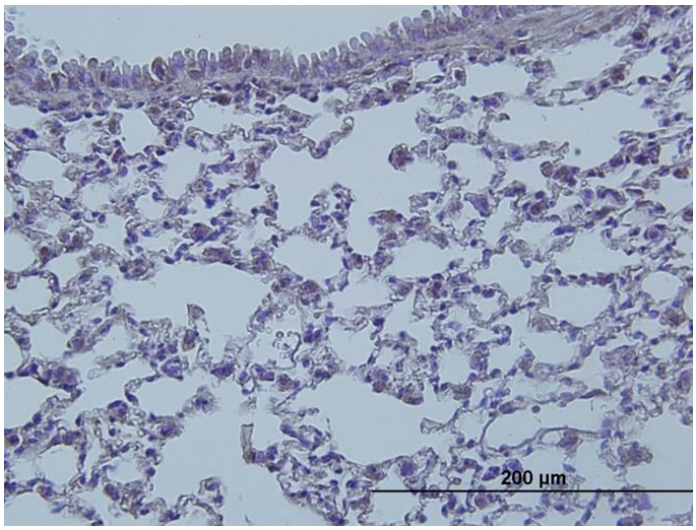
Resim 15. Plasebo grubunu (Grup II) VEGF ile boyanan (oklar) akciğer kesitlerinin görünümü.



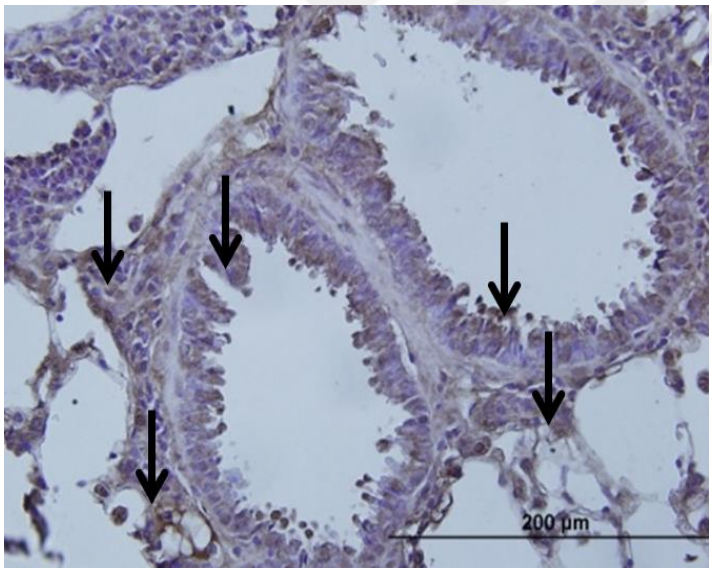
Resim 16. Sinomenin tedavisi verilen grubun (Grup III) VEGF ile boyanan (ok) akciğer kestilerinin görünümü. Grup III'de VEGF ile boyanma plasebo grubuna (Grup II) göre anlamlı olarak azalmış saptandı.



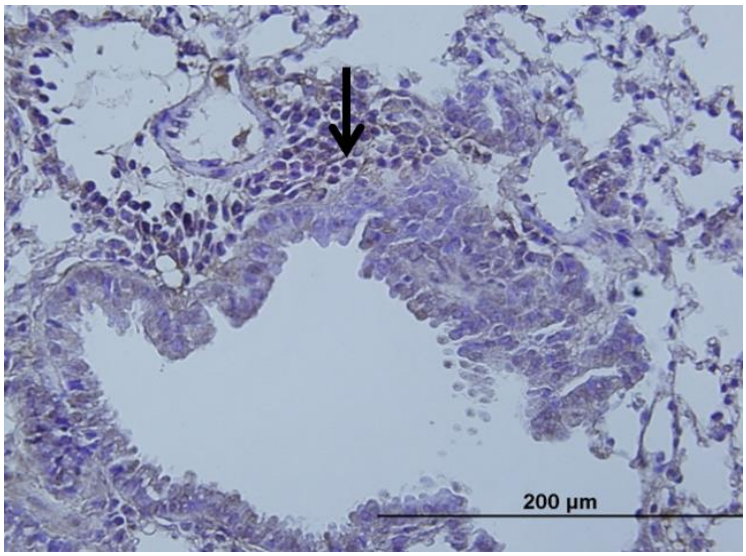
Resim 17. Deksametazon tedavisi verilen grubun (Grup IV) VEGF ile boyanan (ok) akciğer kesitlerinin görünümü. Grup IV ile sinomenin tedavisi verilen grup (Grup III) arasında VEGF ile boyanma açısından anlamlı fark saptanmadı.



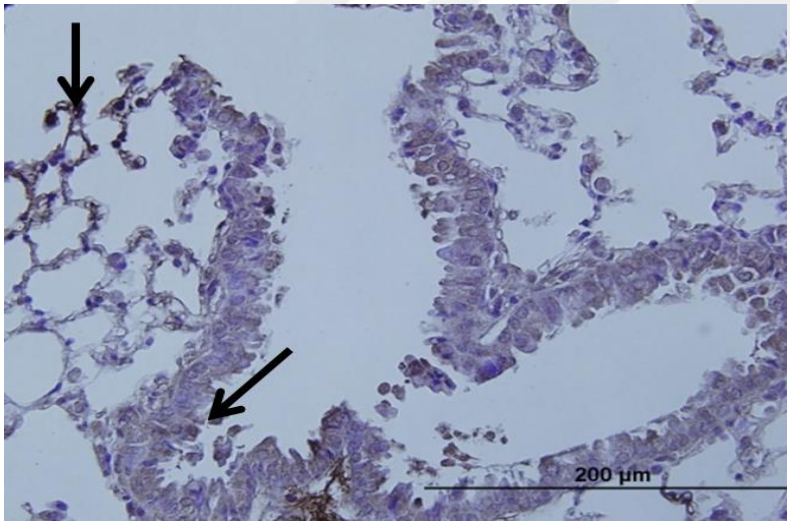
Resim 18. Kontrol grubunun (Grup I) MMP-9 ile boyanan akciğer kesitlerinin görünümü. Kontrol grubunda (Grup I) MMP-9 ile boyanma, plasebo grubuna (Grup II) göre anlamlı olarak az saptandı.



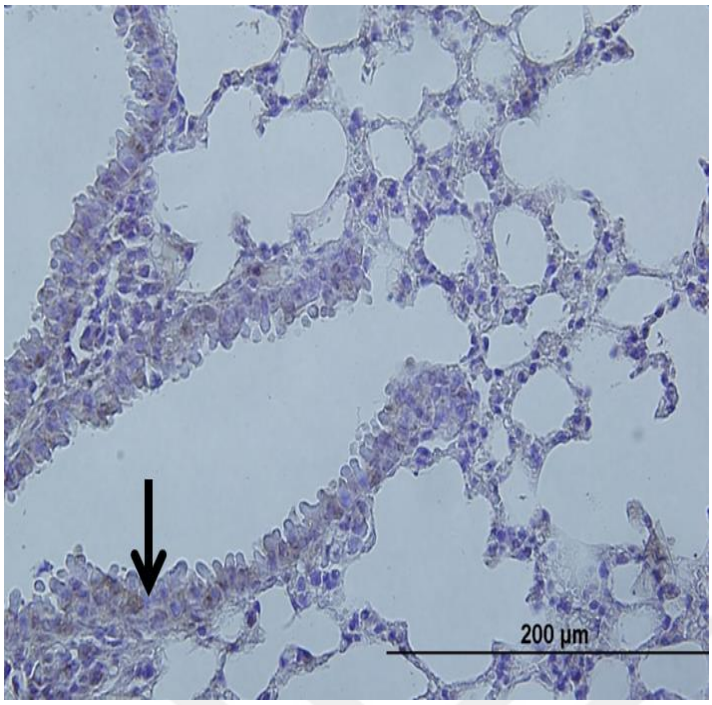
Resim 19. Plasebo grubunun (Grup II) MMP-9 ile boyanan (oklar) akciğer kesitlerinin görünümü.



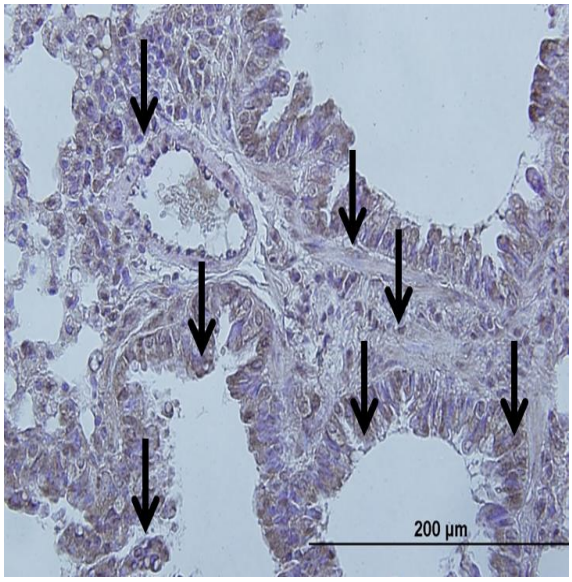
Resim 20. Sinomenin tedavisi verilen grubun (Grup III) MMP-9 ile boyanan (ok) akciğer kestilerinin görünümü. Grup III'de MMP-9 ile boyanma plasebo grubuna (Grup II) göre anlamlı olarak azalmış saptandı.



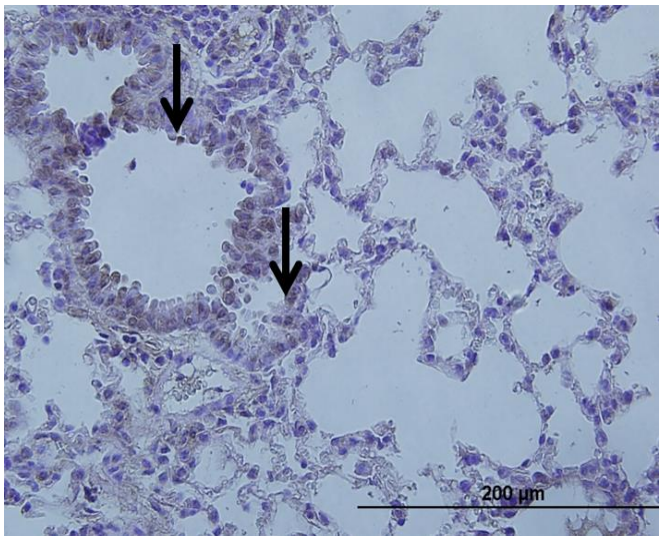
Resim 21. Deksametazon tedavisi verilen grubun (Grup IV) MMP-9 ile boyanan (oklar) akciğer kesitlerinin görünümü. Grup IV ile sinomenin tedavisi verilen grup (Grup III) arasında MMP-9 ile boyanma açısından anlamlı fark saptanmadı.



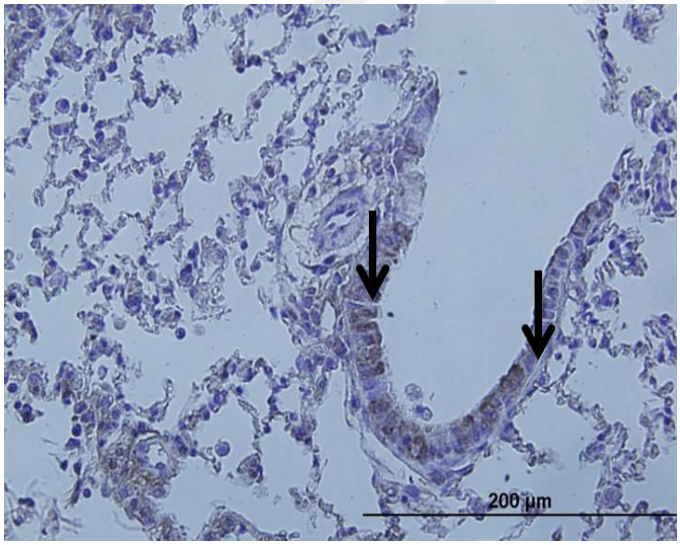
Resim 22. Kontrol grubunun (Grup I) TGF-β ile boyanan (ok) akciğer kesitlerinin görünümü. Kontrol grubunda (Grup I) TGF-β ile boyanma, plasebo grubuna (Grup II) göre anlamlı olarak az saptandı.



Resim 23. Plasebo grubunun (Grup II) TGF-β ile boyanan (oklar) akciğer kesitlerinin görünümü.



Resim 24. Sinomenin tedavisi verilen grubun (Grup III) TGF-β ile boyanan (oklar) akciğer kestilerinin görünümü. Grup III'de TGF-β ile boyanma plasebo grubuna (Grup II) göre anlamlı olarak azalmış saptandı.



Resim 25. Deksametazon tedavisi verilen grubun (Grup IV) TGF-β ile boyanan (oklar) akciğer kesitlerinin görünümü. Grup IV ile sinomenin tedavisi verilen grup (Grup III) arasında TGF-β ile boyanma açısından anlamlı fark saptanmadı.

Çalışma gruplarındaki farelerin akciğer dokusu homojenatlarında ELISA yöntemi ile bakılan IL-4,IL-5,IL-13 düzeyleri ve yine ELISA yöntemiyle serumda bakılan Ova spesifik IgE düzeyleri Tablo 13 ve Tablo 14'de verilmiştir.

Tablo 13. Çalışma gruplarının akciğer dokusunda bakılan IL-4, IL-5, IL-13 düzeyleri

Gruplar	**IL-4 (pg/ml) (Ort±SD)**	**IL-5 (pg/ml) (Ort±SD**	**IL-13(pg/ml) (Ort±SD**
Grup I (Kontrol)	0,051±0,028 *	0,063±0,026*	0,055±0,012*
Grup II (Plasebo)	0,635±0,175	0,777±0,302	0,675±0,176
Grup III (100 mg/kg sinomenin)	0,253±0,046*	0,323±0,053*	0,282±0,042*
Grup IV (Deksametazon)	0,325±0,055*	0,403±0,043	0,382±0,087*

- p <0,05 anlamlı (Plasebo ile karşılaştırıldığında)

Tablo 14. Çalışma gruplarının serumunda bakılan Ova Spesifik IgE düzeyleri

Gruplar	**Ova spesifik IgE (Ort±SD**
Grup I (Kontrol)	0,053±0,025*
Grup II (Plasebo)	1,594±0,352
Grup III (100 mg/kg sinomenin)	0,175±0,064*
Grup IV (Deksametazon)	0,148±0,030*

- p <0,05 anlamlı (Plasebo ile karşılaştırıldığında)

Plasebo grubunun IL-4,IL-5,IL-13 ve Ova Spesifik IgE düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, plasebo grubuna ait verilerin kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır (sırasıyla p=0,01, p=0,01, p=0,01, p=0,01, p=0,01).

IL-4, IL-13, Ova Spesifik IgE düzeyleri açısından deksametazon grubuna ait veriler plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanırken (sırasıyla p=0,01, p=0,01, p=0,03, p=0,01), IL-5 düzeyi (p=0,06) iki grupda benzer değerlerde bulunmuştur.

IL-4, IL-5, IL-13, Ova Spesifik IgE düzeyleri açısından sinomenin tedavisi verilen gruba ait veriler, plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (sırasıyla p=0,01, p=0,01, p=0,01, p=0,01, p=0,01).

IL-4, IL-5, IL-13, Ova Spesifik IgE düzeyleri açısından sinomenin tedavisi verilen grup ile deksametazon tedavisi verilen grup karşılaştırıldığında, IL-4 ve IL-5 düzeyleri deksametazon grubunda, sinomenin tedavisi verilen gruba göre anlamlı olarak düşük saptanırken (sırasıyla p=0,03,0,02), IL-13, Ova Spesifik IgE açısından her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p= 0,05, 0,87, 0,33).

5. TARTIŞMA

Astım remodeling, havayollarında inflamasyon ve bunların sonucunda reversibl havayolu obstrüksiyonu ile karakterize kronik bir hastalıktır (1). Astım patogenezinde en önemli öğelerden biri inflamasyon olup günümüzde astım tedavisinde kullanılan ilaçlar bu inflamasyonu baskılamaya yöneliktir (135,136). Remodeling, havayollarındaki yapısal hücrelerin ve ekstrasellüler matriks elemanlarının yapı, organizasyon ve fonksiyonlarının farklılaşması ile gerçekleşen değişikliklerdir. Goblet hücre hiperplazisi, bazal membranda kalınlaşma, subepitelyal fibrozis, havayolu düz kaslarında hipertrofi/hiperplazi ve anjiogenezis remodeling süresince oluşmaktadır (2). Astım tedavisinde amaç havayollarındaki inflamasyonu baskılamak ve remodelingi engellemektir. Ancak günümüzde kullanılan tedavilerin remodeling üzerine etkileri inflamasyonu baskılamaya oranla daha azdır (137).

Günümüzde astım tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında en sık kullanılan ve en etkili olan ilaç grubu inhale steroidlerdir (138). İnhale steroidlerin astımlı hastalarda semptomların azaltılması, yaşam kalitesinin artırılması, solunum fonksiyonlarının düzeltilmesi, havayolu aşırı duyarlılığının azaltılması ve havayolu inflamasyonunun kontrol altına alınmasında etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Özellikle çocukluk çağında uzun ve yüksek doz kullanımda ses kısıklığı, oral kandidiyasis gibi lokal yan etkilerinin yanısıra hipotalamo-hipofizer aksın baskılanması gibi sistemik yan etkiler görülebilmektedir. Gerek sistemik ve lokal yan etkileri gerek ailelerde mevcut olan kortikofobi nedeniyle bu ilaçlara tedavi uyumu azalmaktadır (139,140). Bu nedenlerden dolayı astımlı hastalarda inflamasyonu baskılayan, remodelingi engelleyen ve yan etkisi olmayan tercihen nonsteroid yapıda alternatif tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda erişkin astımlı hastalarda alternatif tedavi kullanma oranı %50-60 iken çocukluk yaş grubunda bu oran %45-50 arasında bulunmuştur. Alternatif tedaviler arasında en sık kullanılan ilaçlar ise bitkisel olanlardır (111,112). Bitkisel tedavilerin antiinflamtuvar etkinliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiş olmakla birlikte remodeling üzerine etkileri pek araştırılmamıştır (142-1-143). Çalışmamızda, sinomenin'in BALB/C cinsi farelere OVA verilerek oluşturulan kronik astım modelinde akciğer histolojisi ve Th2 sitokin düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması planlanmıştır.

Sinomenin (7,8-didehydro-4hydroxy-3,7-dimethoxy-17-methylmorphinan-6,one) doğu asya yerlileri arasında 2000 yıldır geleneksel olarak başta romatizma ve artrit gibi otoimmun hastalıkların tedavisinde bitkisel ilaç olarak başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. S*inomenium*

acutum bitkisinin alkaloid yapıda ki aktif bileşeni (116) olup daha önce yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar (17), anti-romatizmal (122), immunsupresif (120,121,144), analjezik (118), etkileri gösterilmiştir. Sinomenin'in bu etkilerini TNF-alfa, IL-1 Beta, IL-8, IL-6 gibi makrofajlardan ve mast hücrelerinden salınan proinflamatuvar sitokinlerin ve B lenfositlerden salınan antikorların üretiminin ve dalak hücrelerinin ve lenfositlerin proliferasyonunun engellenmesi aracılığı ile gösterdikleri ortaya konmuştur (9,17,121,128,145). Sinomenin'in NFκB aracılı inflamatuvar yanıtı baskıladığı ve böylelikle IL-1β ve TNF-α mRNA ekspresyonunu azalttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (12). Sinomenin'in immunsupresif etki mekanizma ile ilgili yapılmış çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunlardan birinde sinomenin'in primer CD4 (+) T lenfositlerin apoptozunu caspase-3 aracılığı ile uyararak immunsupresif etki yarattığı gösterilmiştir (127). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışma da düşük doz siklosporin ile kombine olarak kullanıldığında sinerjist etki göstererek immun yanıtı baskıladığı ve kardiyak allograftın sağ kalımını uzattığı ortaya konmuştur (120). Yoshino ve arkadaşları tarafından artrit modeli oluşturulan farelerde yapılan bir çalışma da sinomenin'in IgG, IgG2a,IgG1 ve IgE antikorların ve INF-gama ve IL-5 gibi sitokinlerin sekresyonlarını baskıladığı gösterilmiştir (146). Sinomenin'in son 30 yıl içinde romatoid artrit ve mezengial proliferatif nefritte terapötik etkinlikleri ve düşük yan etkileri açık klinik çalışmalar da doğrulanmıştır (133,147,148).

Astım hava yollarında inflamasyon ve remodeling ile karakterizedir. Havayolu remodelingi'nin hava yollarında yapısal ve geometrik değişikliklere neden olan çok aşamalı bir süreç olduğuna ve buna bağlı bazı sonuçlar ortaya çıktığına dair giderek artan kanıtlar vardır. Havayolu remodelingi patolojik olarak başta kollajen, proteoglikan ve glikoprotein gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin birikimine bağlı subepiteliyal kalınlaşma, havayolu düz kas kitlesinde artma, goblet hücre metaplazisi ve anjiogenezis ile karakterizedir. Hava yolu remodelingine katkıda bulunan çeşitli mekanizmalar olmasına rağmen en önemlisinin ekstraselüler matriksin üretimi ve birikiminin kontrolu ile ilgili olduğu ileri sürülmüştür (149). Ekstraselüler matriks bileşenlerinin yıkımında azalma ile artmış üretimi anormal birikime neden olarak havayolu duvarı kalınlığında artma ile sonuçlanmaktadır. Ekstraselüler matriks dinamik bir yapı olup bileşenlerinin sentezi ve yıkımı arasındaki denge homeostazisinin idamesi için gereklidir. MMP-9 ekstraselüler matriks proteinlerini parçalayan major proteolitik enzimlerden biridir (150). MMP 3 alt tipi mevcut olup, bunlar; kollajenaz, jelatinaz ve streomelisindir. MMP'ların major inhibitörleri MMP doku inhibitörleridir (TIMPs). Ekstraselüler matriks üretimi ve birikiminde bazı büyüme faktörleri rol almaktadır (151). Bunlar arasında TGF-β havayolu remodelingi ve pulmoner fibrosisden sorumludur (152,153).

TGF-β başlıca makrofajlar, epitelyal hücreler, eozinofiller ve fibroblastlar tarafından üretilmekte olup en önemli fibrojenik sitokindir (154-158). TGF-β'nın aynı zaman da eozinofillerin degranülasyonunu inhibe etmekte ve apoptozisini artırarak yaşam süresini kısaltmaktadır (159,160). Daha önce yapılan bir çalışma da astımlı bireylerde balgam ve BAL sıvısında MMP-9, TIMP-1, TGF-β ve fibronektin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (161,162). Başka bir çalışma da ise MMP-9, TIMP-1, TGF-β ve fibronektin düzeylerinin steroid tedavisi ile azaldığı gösterilmiştir (163). Matriks metalloproteinazlar ile inhibitörleri arasında ki denge doku tamiri ve remodelinginde kritik bir öneme sahip olup bu denge havayolu duvarında ekstraselüler matriks birikimi ve yıkılmasında önemli rol oynamaktadır. Liu ve arkadaşları'nın yaptığı bir çalışma da sıçanlarda oluşturulan artrit modelinde Sinomenin tedavisi verilen grupta sinovyal doku da kartilaj dokunun dekstrüksiyonu ile ilişkili proteinazlardan MMP-9 proteinin ekspresyonunun ve aktivitesinin baskılandığı gösterilmiştir (164). Başka bir çalışma da ise sinomenin'in MMP-2 ve MMP-9 ekspresyonunu azaltarak makrofajların invazyon ve migrasyon kapasitesini etkilediği saptanmıştır (165). Bizim çalışmamızda kronik astım modeli oluşturulan ve sinomenin tedavisi verilen grupta akciğer dokusunda MMP-9, TGF-β antikorları ile immunohistokimyasal boyanmanın plasebo grubuna göre belirgin azaldığı gösterilmiştir.

Astımda havayollarının remodelinginde göze çarpan patolojik bulgulardan biride artmış anjiogenesisdir. Anjiogenesis astımlı hastaların hava yollarında, esas olarak bazal laminanın altında havayolunu çevreleyen parankim ile kas tabakası arasındaki boşlukta önceden mevcut olan damarlardan yeni damar oluşumu şeklinde gözlemlenmiştir. Bu değişiklikler orta ve küçük havayollarında vasküler alanda, kan akımında, mikrovasküler permeabilitede ve ödem formasyonun da artmaya neden olarak havayolu kalınlığında artma ile sonuçlanmaktadır. VEGF 'in bu anormalliklerde rol oynadığı gösterilmiştir (166). Daha önce yapılan çalışmalarda fare astım modelinde bronşial epitel, alveolar epitel ve vasküler endotelde VEGF ekspresyonunda artma olduğu ve VEGF ekspresyonun vaskülarite yüzdesi ile pozitif korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur. Astımlı olguların hava yolundan alınan sekresyonlarda kontrol gruba göre daha fazla VEGF ve anjiogenin saptanmış ve artmış vasküler alanın hava yolu hastalığı ciddiyeti, hava yolu obstrüksiyonun derecesi ve hava yolu kalibrasyonunda artışa yol açtığı ileri sürülmüştür (167). Yapılan bir çalışmada sinomenin'in de invitro ve in vivo olarak bFGF ile indüklenen anjiogenesisi inhibe ettiği gösterilmiştir (123). Bizim çalışmamızda kronik astım modeli oluşturulan ve sinomenin tedavisi verilen

grupta akciğer dokusunda VEGF antikoru ile immunohistokimyasal boyanmanın plasebo grubuna göre belirgin azaldığı gösterilmiştir

Xiao ve arkadaşları tarafından OVA ile uyarılarak oluşturulan allerjik rinit fare modelinde sinomenin tedavisi verilen fare grubunda sinomenin'in Th1/Th2 imbalansını düzeltmek suretiyle nasal mukozada eozinofil infiltrasyonunu ve serumda anti OVA IgE, IL-4, INF-gama düzeylerini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak azalttığı gösterilmiştir (130). Mast hücreleri alerjik hastalıkların patogenezinde önemli bir yere sahip olup aktive olduklarında histamin, serotonin, serin proteaz gibi biyolojik olarak aktif moleküller salgılayarak klinik bulguların ortaya çıkmasına neden olurlar. Yapılan bir çalışma da sinomenin'in fare kemik iliği kökenli mast hücrelerinden prostoglandin D2 ve lökotrien C4 salınımını inhibe ederek antialerjik etki ortaya çıkardığı gösterilmiştir (18). Bizim çalışmamızda kronik astım modeli oluşturulan ve sinomenin tedavisi verilen grupta BAL IL-4, IL-5, IL-13, akciğer NO düzeyinde ve serum OVA spesifik IgE düzeylerinde plasebo grubuna göre anlamlı azalma saptanmıştır.

6. SONUÇLAR

1. Grup I (kontrol grubu) ve Grup II (plasebo grubu) karşılaştırıldığında; 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 sinomenin grubunun (Grup III) histolojik parametreleri karşılaştırıldığında sinomenin grubunda (Grup III); subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı (p=0.03), epitel yüksekliği (p=0.01), ve mast hücre sayısının (p=0.03) anlamlı olarak azalmış olduğu ancak goblet hücre sayısı (p=0.35) açısından heriki grup arasında anlamlı fark olmadığı gösterildi.

3. Deksametazon grubu (Grup IV) ile plasebo grubunun (Grup II) histolojik parametreleri karşılaştırıldığında deksametazon grubunda (Grup IV); subepitelyal düz kas tabakası kalınlığı (p=0.000), epitel yüksekliği (p=0.010), goblet hücre sayısı (p=0.000) ve mast hücre sayısının (p=0.000) anlamlı olarak azalmış olduğu gösterildi.

4. Sinomenin grubu (Grup III) ile deksametazon grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında epitel yüksekliği (p=0,01) ve goblet hücre sayısı (p=0,03)'nın deksametazon grubunda sinomenin verilen gruba göre anlamlı olarak daha fazla azaldığı, her iki grup arasında; sub epitelyal düz kas kalınlığı (p=0,06) ve mast hücre sayısı (p=0,18) açısından anlamlı fark olmadığı görüldü.

5. IL-4, IL-5, IL-13, NO, Ova Spesifik IgE düzeyleri açısından sinomenin tedavisi verilen gruba ait veriler, plasebo grubu ile karşılaştırıldığında, sinomenin tedavisi verilen grupta bu sitokinler plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır (sırasıyla p=0,01, p=0,01, p=0,01, p=0,01, p=0,01).

6. IL-4, IL-5, IL-13, NO, Ova Spesifik IgE düzeyleri açısından sinomenin tedavisi verilen grup ile deksametazon tedavisi verilen grup karşılaştırıldığında, IL-4 ve IL-5 düzeyleri

deksametazon grubunda, sinomenin tedavisi verilen gruba göre anlamlı olarak düşük saptanırken (sırasıyla p=0,03,0,02), IL-13, NO, Ova Spesifik IgE açısından her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p= 0,05, 0,87, 0,33).

7. Plasebo grubu (Grup II) ile sinomenin grubunun (Grup III) immunhistokimyasal boyanma verileri karşılaştırıldığında; Sinomenin uygulanan grupta Caspas-3 (p=0,04), Tunnel (p=0,01), VEGF (p=0,04), MMP-9 (p=0,02), TGF- β (p=0,01) ile immunhistokimyasal boyanma plasebo grubuna göre anlamlı olarak düşük saptandı.

8. Bu çalışmanın sonuçları sinomeninin astımlı havayollarında kronik değişiklikler ve yeniden yapılanma üzerine iyileştirici etkileri olduğunu göstermiştir. Ancak sinomenin'in akciğerde inflamasyon ve yeniden yapılanma üzerine etkilerini değerlendirecek uzun süreli, ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Global strategy for asthma management and prevention. Global Initiative For Asthma (GINA):2011 (update). Available from:http://ginasthma.org.
2. James A. Airway remodeling in asthma. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2005;5:731-64.
3. Manuyakorn W, Howarth PH, Holgate ST. Airway remodelling in asthma and novel therapy.Asian Pac J Allergy Immunol. 2013 Mar;31(1):3-10.
4. Halwani R, Al-Muhsen S, Al-Jahdali H, Hamid Q. Role of transforming growth factor-β in airway remodeling in asthma. Am J Respir Cell Mol Biol. 2011 ;44(2):127-33.
5. Belleguic C, Corbel M, Germain N, Léna H, Boichot E, et al. Increased release of matrix metalloproteinase-9 in the plasma of acute severe asthmatic patients. Clin Exp Allergy. 2002;32(2):217-23.
6. Dahlen B, Shute J, Howarth P. Immunohistochemical localisation of the matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-9 within the airways in asthma. Thorax. 1999;54(7):590-6.
7. Persson C Airway, apoptosis, and asthma. Clin Exp Allergy. 2013 Sep;43(9):1083-5
8. Bucchieri F, Puddicombe SM, Lordan JL, Richter A, Buchanan D, et al: Asthmatic bronchial epithelium is more susceptible to oxidant-induced apoptosis. Am J Respir Cell Mol Biol 2002, 27(2):179-185.
9. Liu L, Buchner E, Beitze D, Schmidt-Weber CB, Kaever V, et al. Amelioration of rat experimental arthritides by treatment with alkaloid sinomenine. Int J Immunopharmacol. 1996;18:529-43.
10. Yamasaki H. Pharmacology of sinomenine, anti rheumatic alkaloid from sinomenium acutum. Acta Med. 1976;30:1-20.
11. Kondo Y, Takano F, Yoshida K, Hojo H. Protection by sinomenine against endotoxin-induced fulminant hepatitis in galactosamine-sensitized mice. Biochem Pharmacol. 1994;44:1223-6.
12. Wang Y, Fang Y, Huang W, Zhou X, Wang M, Zhong B, Peng D. Effect of sinomenine on cytokine expression of macrophages and synoviocytes in adjuvant arthritis rats. J Ethnopharmacol. 2005;98:37-43.

13. Zhao Y, Li J, Yu K, Liu Y, Chen X. Sinomenine inhibits maturation of monocyte-derived dendritic cells through blocking activation of NF-κB . Int Immunopharmacol. 2007;7 (5):637-45.
14. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators os asthma: an update. Pharmacol. Rev. 1998;50:515-96.
15. Gangliardo R, Chanez P, Mathieu M, Bruno A, et al. Persistent activation of nuclear factor- kappa B signaling pathway in severe uncontrolles asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2003;168:1190-98.
16. Hojo H, Kondo Y, Umeda H, Tahira T, Hashimoto Y. Effect of sinomenine on antibody responses in mice. J Immunopharmacol. 1985;7(1):33-42.
17. Liu L, Riese J, Resch K, Kaever V. Impairment of macrophage eicosanoid and nitric oxide production by an alcaloid from Sinomenium acutum. Arzneimittelforschung. 1994;44:1223-6.
18. Oh YC, Kang OH, Choi JG, Brice OO, Lee YS, et al. Anti-allergic effects of sinomenine by inhibition of prostaglandin D_2 and leukotriene C_4 in mouse bone marrow-derived mast cells. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2011;33(2):266-70.
19. 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.
20. Beasley R. The global burden of Asthma report, Global Initiative for Asthma (GINA). Available from:http://www.ginasthma.org 2004.
21. Kurt E, Metintas S, Basyiğit I, Bulut I ve ark. Prevelance and risk factors of allergies in Turkey: Result of multicentric cross sectinal study in children. Pediatric Allergy and Immunol 2007;18:566-74.
22. Karaman O, Turkmen M, Uzuner N. Allergic disease prevelance in Izmir. Allergy 1997;52:689-90.
23. Karaman O, Turgut CS, Uzuner N, Olmez D, ve ark. The determination of asthma, rhinitis, eczema, and atopy prevelance in 9- to 11- year old children in the city of İzmir. Allergy Asthma Proc 2006;27:319-24.
24. Busse WW, Lemanske RF, Jr. Asthma. N Engl J Med 2001;344 (5):350-62.
25. Halloway JW, Beghe B, Holgate ST. The genetic basis of atopic asthma. Clin Exp Allergy 1999;29(8):1023-32.
26. Wiesch DG, Meyers DA, Bleecker ER. Genetics of asthma. J Allergy Clin Immunol 1999;104 (5):895-901.
27. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. BMJ 1989;299 (6710):1259-60.

28. Cookson WO, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM. Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome11q. Lancet 1989;1:1292-5.
29. Kabesch M, Schedel M, Carr D, Woitsch B, et al. IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma. J Allergy Clin Immunol 2006; 117:269-74.
30. 30-Simpson A, Maniatis N, Jury F, Cakebread JA, et al. Polymorphisms in a disintegrin and metalloproteinase 33 (ADAM33) predict impaired early-life lung function. Am J Respir Crit Care Med 2005; 172:55-60.
31. Israel E, Chichilli VM, Ford JG, Boushey HA, Cherniack R, Craig TJ, et al. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype –stratified, randomised, placebo controlled cross-over trial. Lancet 2004;364 (9444):1505-12.
32. Ito K, Chung KF, Adcock IM. Update on glucocorticoid action and resistance. J Allergy Clin Immunol 2006;117 (3):522-43.
33. In KH, Asano K, Beier D, Grobhol J, Finn PW, Silverman EK, et al. Naturally occuring mutations in the human 5-lipoxygenase gene promoter that modify transcription factor binding and reporter gene transcription. J Clin Invest 1997;99 (5):1130.
34. Horwood LJ, Fergusson DM, Shannon FT. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. Pediatrics 1985;75 (5):859-68.
35. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ. Asthma and wheesing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. N Engl J Med 1995;332 (3):133-8.
36. Beuther DA, Sutherland ER. Overweight , obesity and incident asthma: a meta-analysis of prospective epidemiologic studies. Am J Respir Crit Care Med 2007;175 (7):661-6.
37. Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. J Allergy Clin Immunol 2005;115 (5):897-909.
38. Saint –Pierre P, Bourdin A, Chanez P, Daures JP, Godard P. Are overweight asthmatics more diffucult to control? Allergy 2006;61 (1):79-84.
39. Lavoie KL, Bacon SL, Labrecque M, Cartier A, Ditto B. Higher BMI is associated with worse asthma control and quality of life but not asthma severity. Respir Med 2006;100 (4):648-57.
40. Noal RB, Menezes AM, Macedo SE, Dumith SC. Childhood body mass index and risk of asthma in adolescence: a systematic review. Obes Rev 2011 Feb;12 (2):93-104.

41. Beuther DA, Weiss ST, Sutherland ER. Obesity and asthma. Am J Respir Crit Care Med 2006;174 (2):112-9.
42. Schaub B, von ME. Obesity and asthma, what are the links? Curr Opin Allergy Clin Immunol 2005;5 (6):185-93.
43. Weiss ST, Shore S. Obesity and asthma: directions for research. Am J Respir Crit Care Med 2004;169 (8):963-8.
44. Wahn U, Lau S, Bergmann R, Kulin M, Forster J, Bergmann K, et al. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. J Allergy Clin Immunol 1997;99 (6 Pt 1):763-9.
45. Sporik R, Holgate ST, Platts Mills TA, Cogswell JJ. Exposure to house dut mite allergen (Der P I) and the development of asthma in childhood. A prospective study. N Engl J Med 1990;323 (8):502-7.
46. Hogaboam CM, Carpenter KJ, Schuh JM, Buckland KF. Aspergillus and asthma—any link? Med Mycol 2005;43 Supp 1 S197-202.
47. Huss K, Adkinson NF, Jr. Eggleston PA, Dawson C, Van Natta ML, Hamilton RG. House dust mite and cockroach exposure are stronge risk factors for positive Allergy skin test responses in the Childhood Asthma Management Program. J Allergy Clin Immunol 2001; 107 (1):48-54.
48. Platts- Mills T, Vaughan J, Squillace S, Woodfolk J, Sporik R. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population –based cross sectional study. Lancet 2001;357 (9258):752-6.
49. Ownby DR, Jhonson CC, Peterson EL. Exposure to dogs and cats in the first year of life and risk of allergic sensitization at 6 to 7 years of age. JAMA 2002;288 (8):963-72.
50. Gern JE, Reardon CL, Hoffjan S, Nicolae D, Li Z, Roberg KA et al. Effects of dog ownership and genotype on immune development and atopy in infancy. J Allergy Clin Immonol 2004;113 (2):307-14.
51. Celedon JC, Litonjua AA, Ryan L, Platts-Mills T, Weiss ST, Gold DR. Exposure to cat allergen, maternal history of asthma, and wheezing in first 5 years of life. Lancet 2002;360 (9335):781-2.
52. Melen E, Wickman M, Nordvall SL, van Hage-Hamsten M, Lindfors A. Influence of early and current environmental exposure factors on sensitization and outcome of asthma in pre-school children. Allergy 2001; 56 (7):646:52.

53. Almqvist C, Egmar AC, van Hage-Hamsten M, Berglind N, Pershagen G, Nordvall SL, et al. Heredity, pet ownership, and confounding control in a population –based birth cohort. J Allergy Clin Immunol 2003;111 (4):800-6.
54. Zambrano JC, Carper HT, Rakes GP et al. Experimental rhinovirus challenges in adults with mild asthma: response to infection in relation to IgE. J Allergy Clin Immunol 2003;111:1008-16.
55. Illi S, von ME, Lau S, Bergmann R et al. Early childhood infectious disease and the development of asthma up to school age: a brith cohort study. BMJ 2001;322:390-5.
56. Jackson DJ. The role of rhinovirus infections in the development of early childhood asthma. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2010;10:133-8.
57. Leonardi –Bee J, Pritchard D, Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic rewiev and metaanalyses. Am J Respir Crit Care Med 2006 Sep 1;174 (5):514-23.
58. American Thoracic Society. What constitutes an adverse health effect of air pollution ? O fficial statement of the American Thoracic Society. Am J Respir Crit Care Med 2000;161 (2 Pt 1):665-73.
59. Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, Vora H, Thomas D, Berhane K, et al. The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age. N Engl J Med 2004;351 (11):1057.
60. Pedersen SE, Bateman ED, Bousquet J, Busse WW, Yoxall S, Clark TJ. Determinants of response to fluticasone propionate and salmeterol/fluticasone propionate combination in the Gaining Optimal Asthma Control Study. J Aller Clin Immunol 2007; 120:1036-42.
61. Cohen RT, Raby BA, Van Steen K, Fuhlbrigge AL, Celedon JC, Rosner BA, Strunk RC, Zeiger RS, WeissST; Childhood Asthma Management Program Research Group. In utero smoke exposure and impaired response to inhaled corticosteroids in children with asthma. J Allergy Clin Immunol. 2010 Sep;126 (3):491-7.
62. Burke H, Leonardi-Bee J, Hashim A, Pine –Abata H, Chen Y, Cook DG, Britton JR, McKeever TM. Prenatal and passive smoke exposure and incidence of asthma and wheeze: systematic review and meta-analyses. Pediatrics 2012;Apr;129 (4):735-44.
63. 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 (2):403-10.

64. Strachan DP, Cook DG. Health effects of passive smoking. 5. Parental smoking and allergic sensitization in children. Thorax 1998;53 (2):117-23.
65. Kulig M, Luck W, Lau S, Niggemann B, Bergmann R, Klettke U, et al. Effect of pre- and postnatal tobacco smoke exposure on specific sensitization to food and inhalent allergens during the first 3 years of life. Multicenter Allergy Study Group, Germany. Allergy 1999;54 (3):220-8.
66. Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast- feeding in the development of allergies and asthma. J Allergy Clin Immunol 2005;115 (6):1238-48.
67. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. J Allergy Clin Immunol 2005;115 (6):1109-17.
68. Lee TH, Anderson SD. Heterogeneity of mechanisms in exercise induced asthma. Thorax 1985;40:481-87.
69. Deal EC Jr, MvFadden ER Jr, Ingram RH Jr, Strauss RH, et al. Role of respiratory heat Exchange in production of exercise induced asthma. J Appl Physiol 1979;46:467-75.
70. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistance and progression. Annu Rev Immunol 2004;22:789.
71. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Jhonson M, Vignola AM. Asthma. From bronkocontriction to airways inflammation and remodeling. Am J Respir Crit Care Med 2000;161 (5):1720-45.
72. Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldeston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. Mast cells as " tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. Annu Rev Immunol 2005;23:749-86.
73. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction ofairway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? J Allergy Clin Immunol 2004;114:58-65.
74. Okayama Y, Ra C, Saito H. Role of mast cells in airway remodeling. Curr Opin Immunol 2007;19:687-93.
75. Kay AB, Phipps S, Robinson DS. A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. Trends Immunol 2004;25:477-82.
76. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. J Allergy Clin Immunol 2003;111:450-63.
77. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. J Allergy Clin Immunol 2003;111:450-63.

78. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. Curr Opin Immunol 2004;16:702-8.
79. Peters-Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. Am J Respir Cell Mol Biol 2004;31:3-7.
80. Wenzel S. Mechanisms of severe asthma. Clin Exp Allergy 2003;33:1622-8.
81. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? Eur Respir J 2000;15:961-8.
82. Groneberg DA, Quarcoo D, Frossard N, Fischer A. Neurogenic mechanisms in bronchial inflammatory diseases. Allergy 2004;59 (11):1139-52.
83. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. Pharmacol. Rev 1998;50:515-96.
84. Leff AR. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy. Annu Rev Med 2001;52:1-14.
85. Barnes PJ. Cytokine modulators as novel therapies for asthma. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2002;42:81-98.
86. James A. Airway remodeling in asthma. Curr Opin Pulm Med 2005;11:1-6.
87. Bierie B, Moses HL. TGFbeta: the molecular Jekyll and Hyde of cancer. Nat Rev Cancer. 2006;6:506–520
88. Al-Alawi M, Hassan T, Chotirmall SH. Transforming growth factor β and severe asthma: A perfect storm. Respir Med. 2014 Oct;108(10):1409-1423.
89. L.M. Crosby, C.M. Waters. Epithelial repair mechanisms in the lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010; 298 (6):715-31.
90. Li F, Li XF, Hu XF, Wang XX, Xu K, Chen Z. The serum matrix metalloproteinase-9 level and its significance in rheumatoid arthritis. Chin J Rheumatol 2005; 9: 554–6. Chinese.
91. Vignola AM, Mirabella F, Coston OG, Di Georgi R et al. Airway remodeling in asthma. Chest 2003;123:417-22.
92. Li X, Wilson JW. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156: 229-33.
93. Ribatti D. The crucial role of vascular permeability factor/ vascular endothelial growth factor in angiogenesis: a historical review. Br J Haematol 2004; 128:303–9.
94. Veikkola T, Karkkainen M, Claesson-Welsh L, Alitalo K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. Cancer Res 2000; 60:203-212.

95. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. Nat Med 2003; 9:669-676.
96. Zarei M, Khazaei M, Sharifi MR, Pourshanazari AA. Coronary angiogenesis during experimental hypertension: it is reversible? JRMS 2011; 16:269-275.
97. Amjadi F, Javanmard SH, Zarkesh-Esfahani H, Khazaei M, Narimani M. Leptin promotes melanoma tumor growth in mice related to increasing circulating endothelial progenitor cells numbers and plasma NO production. J Exp Clin Cancer Res 2011; 30:21.
98. Khazaei M, Fallahzadeh AR, Sharifi MR, Afsharmoghaddam N, Javanmard SH, Salehi E. Effects of diabetes on myocardial capillary density and serum angiogenesis biomarkers in male rats. Clinics (Sao Paulo) 2011; 66:1419-1424.
99. Mura M, dos Santos CC, Stewart D, Liu M. Vascular endothelial growth factor and related molecules in acute lung injury. J Appl Physiol 2004; 97:1605–17.
100. Ordonez CL, Khashayar R, Wong HH, Ferrando R, et al. 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.
101. 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.
102. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. Am Rev Respir Dis 1991;144:1202-18.
103. Lipworth BJ. Leukotriene receptor antagonists. Lancet 199;353:57-62.
104. Drazen JM, Israel E, O' Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leucotriene pathway. N Engl J Med 1999;340:197-206.
105. Weinberger M, Hendeles L. Theophylline in asthma. N Engl J Med 1996;334:1380-94.
106. Busse W, Corren J, Lanier BQ, McAlary M, et al. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. J Allergy Clin Immunol 2001;108:184-90.
107. 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.
108. Eisenberg DM. Unconventional medicine in the US. Prevelance , costs, patterns of use. N Engl J Med 1993;328:246-52

109. Argüder E, Bavbek S, Sen E, Köse K et al. 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.

110. Tokem Y, Aytemur ZA, Yıldırım Y, Fadiloğlu C. Investigation into the use of complementary and alternative medicine and affecting factors in Turkısh asthmatic patients. J Clin Nurs 2012;21:698-707.

111. Babayiğit A, Olmez D, Karaman O, Uzuner N. Complementary and alternative medicine use in Turkısh children with bronchial asthma. J Alter Complement Med 2008;14:797-9.

112. Orhan F, Sekerel BE, Kocabas CN, Sackesen C et al. Complemantary and alternative medicine in children with asthma. Ann Allergy Asthma Immunol 2003;90:611-5.

113. Li XM. Treatment of asthma and food allergy with herbal interventions from traditional Chinese Medicine. Mt Sinai J Med 2011;78:697-716.

114. Chung Y, Dumont RC. Complementary and alternative therapies: Use in pediatric pulmonary medicine. Pediatr Pulmonol 2011;46:530-44.

115. Kalpaklıoğlu F. Astımda alternatif tedaviler. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2005;1:64-72.

116. Yamasaki H. Pharmacology of sinomenine, an anti-rheumatic alkaloid from *Sinomenium acutum.* Acta Med Okayama, 1976;30: 1–20.

117. Mayeda H. The release of histamine by sinomenine. Jpn. J. Pharmacol 1953;3: 62–72.

118. Xu SF, Shen XT, Li ZL, Wu BY, Jang CS. On the mechanism of sinomenine “analgesia” Sheng Li Xue Bao, 1964;27: 281–91.

119. D.H. Zhao, X.M. Yang, Z.B. Li, B.H. Sheng. Antiarrhythmic effects of sinomenine hydrochloride. Yao Xue Xue Bao,1985; 20: 856–58

120. Candinas D, Mark W, Kaever V, Miyatake T, Koyamada N, Hechenleitner P, Hancock WW. Immunomodulatory effects of the alkaloid sinomenine in the high responder ACI-to-Lewis cardiac allograft model. Transplantation. 1996 Dec 27;62(12):1855-60.

121. Hojo H, Kondo Y, Umeda H, Tahira T, Hashimoto Y. Effect of sinomenine on antibody responses in mice. J Immunopharmacol 1985;7 (1):33-42.

122. Liu L, Resch K, Kaever V. Inhibition of lymphocyte proliferation by the anti-arthritic drug sinomenine. Int J Immunopharmacol,1994; 16: 685–91.

123. Kok TW, Yue PY, Mak NK, Fan TP, Liu L, Wong RN.The anti-angiogenic effect of sinomenine. Angiogenesis 2005;8(1):3-12.

124. S. Tu, Y. Hu, F. Lu. Effect of Sinomenine on IL-8, IL-6, IL-2 produced by peripheral blood mononuclear cells. J Tongji Med Univ 1999;19 : 257–59.

125. Wang Y, Fang YF, Huang WH, Zhou X, Wang MH, Zhou B, et al. Effect of sinomenine on cytokine expression of macrophages and synoviocytes in adjuvant arthritis rats. J Ethnopharmacol 2005;98:37-43.

126. J.H. Liu, W.D. Li, H.L. Teng, Z.B. Lin. Immunopharmacological action of sinomenine, an alkaloid isolated from *Sinomenium acutum*, and its mechanism of action in treating rheumatoid arthritis. Yao Xue Xue Bao, 2005;40: 127–31.

127. Shu L, Yin W, Zhang J, Tang B, Kang YX, Ding F, Hua ZC. Sinomenine inhibits primary CD4+ T-cell proliferation via apoptosis. Cell Biol Int. 2007 Aug;31(8):784-9.

128. Kim HM, Moon PD, Chae HJ, Kim HR, Chung JG, Kim JJ, et al. The stem of Sinomenium acutum inhibits mast cell mediated anaphylactic reactions and tumor necrosis factor alpha production from rat peritoneal mast cells. J Ethopharmacol 2000; 70:135

129. Feng H, Yamaki K, Takano H, Inoue K, Yanagisawa R, Yoshino S. Effect of sinomenine on collagen-induced arthritis in mice. Autoimmunity. 2007 Nov;40(7):532-9.

130. Chen Z, Tao Z, Zhang N, Ren J, Deng Y, Xiao B The role of sinomenine in treatment of allergic rhinitis mice model and its mechanism. Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi. 2013 Jan;27(2):81-4.

131. Zhu Q, Sun Y, Zhu J, Fang T, Zhang W, Li JX. Antinociceptive effects of sinomenine in a rat model of neuropathic pain. Sci Rep 2014; 1: 7270.

132. X.Y. Ke, M.X. Yu, M. Jiang. Clinical observation on treatment of rheumatoid arthritis with sinomenine. Bei Jing Yi Xue, 1986;8 :186–88.

133. Cheng Y, Zhang J, Hou W, Wang D, Li F, Zhang Y, Yuan F. Immunoregulatory effects of sinomenine on the T-bet/GATA-3 ratio and Th1/Th2

cytokine balance in the treatment of mesangial proliferative nephritis. Int Immunopharmacol. 2009 Jul;9(7-8):894-9.

134. Temelkovski J, Hogan SP, Shepherd DP, et al. 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.

135. Walsh GM. Targeting airway inflammation: novel therapies for the treatment of asthma. Curr Med Chem 2006;13:3105-11.

136. Kumar RK. Understanding airway remodeling in asthma: a basis for improvements in therapy; Pharmacol Ther 2001;91:93-104.

137. Payne DN, Rogers AV, Adelroth E, Bandi V, et al. Early thickening of the reticular basement membrane in children with diffucult asthma. Am J Respir Crti Care Med 2003;167:78-82.

138. Juniper EF, Kline PA, Van İeleghem MA, Ramsdale EH, et al. Effect oflong 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.

139. Chan PW, DeBruyne JA. Parental concern towards the use of inhaled therapy in children with chronic asthma. Pediatr Int 2000;42:547-51.

140. Panettieri RA Jr. Airway smooth muscle: an immunomodulatory cell. J Allergy Clin Immunol, 2002;110:269-74.

141. 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.

142. Babayiğit Hocaoğlu A, Karaman O, Erge Olmez D, Erbil G, et al. Glyeyrrhizin and long term histopathological changes in a murine model of asthma. Cuur Therap Res 2011;72:250-61.

143. Babayiğit A, Olmez D, Karaman O, Ozogul C, et al. Effects of Ginkgo biloba on airway histology in a mouse model of chronic asthma. Allergy Asthma Proc 2009 ; 30:186-91.

144. W. Mark, S. Schneeberger, R. Seiler, D.M. Stroka, A. Amberger, F. Offner, *et al.* Sinomenine blocks tissue remodeling in a rat model of chronic cardiac allograft rejection Transplantation, 2003;75: 940–945.

145. Kondo Y, Takano F, Yoshida K, Hojo H. Protection by sinomenine against endotoxin induced fulminant hepatitis in galactasamine- sensitized mice. Biochem Pharmacol 1994;48:1050-2.

146. Feng H, Yamaki K, Takano H, Inoue K, Yanagisawa R, Yoshino S. Suppression of Th1 and Th2 immune responses in mice by Sinomenine, an alkaloid extracted from the chinese medicinal plant Sinomenium acutum. Planta Med. 2006 Dec;72(15):1383-8.

147. XY Ke, Xiu MX. Treatment of rheumatoid arthritis by sinomenine. Beijing Yi Xue 1986;3:186-7.

148. Shi PM, Ma ZX, Zhang WZ. Therapeutic efficacy of sinomenine on 60 theumatoid arthritis cases. Xien Yİ Xue 1985;3:292-3.

149. Vignola AM, Kips J, Bousquet J. Tissue remodeling as a feature of persistent asthma. J Allergy Clin Immunol 2000;105(6 Pt 1):1041–1053.

150. H.Emonard J, Grimaud A. Matrix metalloproteinases. A rewiev. Cel Mol Biol 1990;36:131-53

151. Kovacs E, DiPietro L. Fibrogenic cytokines and connective tissue production. Faseb J 1994;8:854–861.

152. Khalil N, O_Connor RN, Unruh HW, Warren PW, Flanders KC, Kemp A et. al. Increased production and immunohistochemical localization of transforming growth factor-beta in idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol 1991;5:155–162.

153. Corrin B, Butcher D, McAnulty BJ, Dubois RM, Black CM, Laurent GJ et al. Immunohistochemical localization of transforming growth factor-beta 1 in the lungs of patients with systemic sclerosis, cryptogenic fibrosing alveolitis and other lung disorders. Histopathology 1994;24:145–150.

154. Elovic A, Wong DT, Weller PF, Matossian K, Galli SJ. Expression of transforming growth factors-alpha and beta 1 messenger RNA and product by eosinophils in nasal polyps. J Allergy Clin Immunol 1994;93:864–869.

155. Brach MA, Sott C, Kiehntopf M, Herrmann F. Expression of the transforming growth factor-alpha gene by human eosinophils is regulated by interleukin- 3, interleukin-5, and granulocytemacrophage colony-stimulating factor. Eur J Immunol 1994;24:646–650.

156. Kadin M, Butmarc J, Elovic A, Wong D. Eosinophils are the major source of transforming growth factor-beta 1 in nodular sclerosing Hodgkin's disease. Am J Pathol 1993;142:11–16.

157. Ohno I, Lea RG, Flanders KC, Clark DA, Banwatt D, Dolovich J et al. Eosinophils in chronically inflamed human upper airway tissues express transforming growth factor beta 1 gene (TGF beta 1). J Clin Invest 992;89:1662–1668.

158. Border W, Noble N. Transforming growth factor b in tissue fibrosis. N Engl J Med 1994;331:1286–1292.

159. Atsuta J, Fujisawa T, Iguchi K, Terada A, Kamiya H, Sakuma S. Inhibitory effect of transforming growth factor beta on cytokine-enhanced eosinophil survival and degranulation. Int Arch Allergy Immunol 1995;108(Suppl. 1): 31–35.

160. Alam R. Transforming growth factorb abrogates the effects of hematopoietins on eosinophils and induces their apoptosis.J Exp Med 1994;179:1041–1045. Mmp-9-lit-37

161. Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, Profita M, Chanez P, Bellia V et al. Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. Am J Resp Crit Care Med 1998;158: 1945–1950.

162. Vignola A, Chanez P, Chiappara G, Merendino A, Zinnanti E, Bousquet J et al. Release of transforming growth factor-b and fibronectin by alveolar macrophages in airway diseases. Clin Exp Immunol 1996;106:114–119.

163. Profita M, Gagliardo R, Di Giorgi R, Bruno A, Riccobono L, Bonanno A, Bousquet J, Vignola AM. In vitro effects of flunisolide on MMP-9, TIMP-1, fibronectin, TGF-beta1 release and apoptosis in sputum cells freshly isolated from mild to moderate asthmatics. Allergy. 2004 Sep;59(9):927-32.

164. Zhou H, Wong YF, Wang J, Cai X, Liu L. Sinomenine ameliorates arthritis via MMPs, TIMPs, and cytokines in rats. Biochem Biophys Res Commun. 2008 Nov 14;376(2):352-7

165. Ou YQ, Chen LH, Li XJ, Lin ZB, L WD Sinomenine influences capacity for invasion and migration in activated human monoc ytic THP-1 cells byinhibiting the expression of MMP-2, MMP-9, and CD147. Acta Pharmacol Sin. 2009 Apr;30(4):435-41

166. Ribatti D, Puxeddu I, Crivellato E, Nico B, Vacca A, Levi-Schaffer F. Angiogenesis in asthma. Clin Exp Allergy. 2009;39:1815-21.

167. Koumoundouros E, Bischof RJ, Meeusen EN et al., Chronic airway disease: deteriorating pulmonary function in sheep associated with repeated challenges of house dust mite. Exp Lung Res, 2006;32:321-30