

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

**METAKOLİNLE ATAK GELİŞTİRİLEN KRONİK
ASTIMLI BALB/C FARELERDE NEBULİZE
SİLDENAFİLİN AKCİĞER HİSTOLOJİSİ,
OKSİJEN SATURASYONU VE KAN GAZI
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Uzm. Dr. DUYGU ERGE

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Özkan Karaman

İZMİR-2010

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

**METAKOLİNLE ATAK GELİŞTİRİLEN KRONİK
ASTIMLI BALB/C FARELERDE NEBULİZE
SİLDENAFİLİN AKCİĞER HİSTOLOJİSİ,
OKSİJEN SATURASYONU VE KAN GAZI
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Uzm. Dr. DUYGU ERGE

Danışman: Prof. Dr. Özkan Karaman

İZMİR-2010

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ.....	III
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
RESİM LİSTESİ.....	IV
KISALTMALAR.....	V
ÖNSÖZ.....	VII
TÜRKÇE ÖZET.....	VIII
İNGİLİZCE ÖZET.....	X
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bronşial astımın tanımı.....	3
2.2. Bronşial astımın sıklığı.....	3
2.3. Astımın gelişimini ve ortaya çıkışını etkileyen faktörler.....	4
2.4. Astımın patogenezi.....	7
2.4.1. Astımdaki hava yolu inflamasyonu.....	8
2.4.2. Hava yollarındaki yapısal değişiklikler ve yeniden yapılanma (Remodeling).....	12
2.4.3. Astımda hava yollarındaki daralmaya neden olan faktörler.....	16
2.4.4. Astımda hava yolu aşırı duyarlılığı.....	17
2.5. Astımda Tanı.....	18
2.5.1. Hikaye.....	18
2.5.2. Fizik muayene.....	19
2.5.3. Astımda kullanılan laboratuvar bulguları.....	19
2.6. Bronşial astımda tedavi.....	21
2.6.1. İlaçların uygulama yolları.....	22
2.6.2. Astımda kullanılan kontrol edici ilaçlar.....	22
2.6.3. Astımda kullanılan rahatlatıcı ilaçlar.....	25
2.7. Astım kontrolü.....	25
2.7.1. Astım kontrolünün sağlanması.....	26
2.7.2. Astım tedavi basamakları.....	26
2.7.3. Astım kontrolünün devam ettirilmesi.....	27
2.8. Astım atağı.....	28

2.8.1. Astım atak tedavisinde kullanılan ilaçlar	30
2.8.2. Astım atağının tedavisi	32
2.8.3. Astım atak tedavisinde kullanılan alternatif tedaviler	35
2.8.3.1. Akut astım tedavisinde fosfodiesteraz inhibitörlerinin rolü	35
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	39
3.1. Deney hayvanları	39
3.2. Çalışma grupları	39
3.3. Kronik astım modelinin oluşturulması	40
3.4. Metakolin ile akut astım oluşturulması	41
3.5. Çalışma ilaçlarının verilmesi	41
3.6. Hayvan yaşamını sonlandırma zamanı ve yöntemi	42
3.7. Histolojik incelemeler	42
3.8. İstatiksel analiz	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR	63
7. KAYNAKLAR	64

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Astım gelişimini ve ortaya çıkışını etkileyen risk faktörleri

Tablo 2. Astımda hava yollarındaki inflamatuvar hücrelerin özellikleri

Tablo 3. Astım patogeneğinde rol oynayan hava yolunun yapısal elemanları

Tablo 4. Astımda rol oynayan ana mediatörlerin özellikleri

Tablo 5. Astımda hava yolu daralmasında rol oynayan faktörler

Tablo 6. Astım kontrol derecesinin belirlenmesi

Tablo 7. Astım tedavi basamakları

Tablo 8. Atak şiddetinin sınıflandırılması

Tablo 9. Fosfodiesteraz ailesi

Tablo 10. Grup 1 ve Grup 2'ye ait histolojik parametreler

Tablo 11. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in histolojik bulguları

Tablo 12. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in kalp hızları

Tablo 13. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in oksijen saturasyonları

Tablo 14. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in kan gazı değerleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Allerjik astımdaki inflamasyon

Şekil 2. Astımda hava yolu düz kas hücrelerinden salınan mediatörler

Şekil 3. Astım hava yollarında remodelingi başlatan ve arttıran faktörler

Şekil 4. Astımdaki inflamasyon, hava yolu duyarlılığı ve semptom ilişkisi

Şekil 5. Astım atağının evdeki tedavisi

Şekil 6. Astım atağının hastanedeki tedavisi

Şekil 7. Kronik astım modeli oluşturma protokolü

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Astımda hastalığın ağırlığı ile ilişkili progresif epitel hasarı

Resim 2. Çalışmada kullanılan BALB/c fareler

Resim 3. O₂ saturasyonu bakılmak üzere cildi traş edilmiş fareler

Resim 4. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (H&E)

Resim 5. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (H&E)

Resim 6. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS)

Resim 7. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin Blue)

Resim 8. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü

Resim 9. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (H&E)

Resim 10. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS)

Resim 11. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin Blue)

Resim 12. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü

Resim 13. Sildenafil grubunun (Grup 3) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS)

Resim 14. Sildenafil grubunun (Grup 3) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS)

Resim 15. Sildenafil grubunun (Grup 3) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin Blue)

Resim 16. Sildenafil grubunun (Grup 3) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü

Resim 17. Budesonid grubunun (Grup 4) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS)

Resim 18. Budesonid grubunun (Grup 4) akciğer ışık mikroskopi (Toluidin Blue)

Resim 19. Budesonid grubunun (Grup 4) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü

Resim 20. Plasebo grubunun (Grup 5) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS)

Resim 21. Plasebo grubunun (Grup 5) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin Blue)

Resim 22. Plasebo grubunun (Grup 5) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü

KISALTMALAR

ADAM: Bir disintegrin ve metalloproteaz

ATP: Adenozin trifosfat

β : Beta

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

cGMP: Siklik guanasin monofosfat

FEV1: Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm

FVC: Zorlu vital kapasite

GINA: Global Initiative for Asthma

GM-CSF: Granulosit makrofaj koloni stimule edici faktör

H&E: Hematoksilen ve eosin

IGF: İnsulin benzeri büyüme faktörü

ISAAC: International Study of Asthma and Allergies in Childhood

IgE: İmmunglobulin E

IL: İnterlökin

İV: İntravenöz

İM: İntramusküler

LIF: Lökosit inhibitör faktör

MCP: Monosit kemotaktik protein

μm : Mikrometre

nm: nanometre

NO: Nitrik oksit

O₂: Oksijen

OVA: Ovalbumin

ÖDI: Ölçülü doz inhaler

PAS: Periodic asit shiff

PDE: Fosfodiesteraz

PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

PEF: Zirve akım hızı

PGE: Prostaglandin E

PLA2: Fosfolipaz A2

RANTES: Regulated on activation T-cell expressed and secreted

SFT: Solunum fonksiyon testleri

SCF: Kök hücre faktörü

TARC: Timus ve aktivasyon ile düzenlenen kemokin

TAT: Tamamlayıcı ve alternatif tıp

TGF- β : Tümör büyüme faktörü β

Th: T helper

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

ÖNSÖZ

Yan dal uzmanlık eğitimim boyunca sağladıkları imkanlardan dolayı Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hale Ören'e ve eski Anabilim Dalı Başkanlarına, eğitimim ve çalışmalarımnda her türlü yardım ve desteği benden esirgemeyen tez danışmanım Pediatrik Allerji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özkan Karaman'a, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Nevin Uzuner'e, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında görev alan tüm hocalarıma, tez çalışmamda gösterdiği yardımlarından dolayı Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Osman Yılmaz'a, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Candan Özoğul'a, Doç. Dr. Alper Bağrıyanık'a, Yrd. Doç. Dr. Güven Erbil'e ve; birlikte hayvan deneylerini yürüttüğümüz çalışma arkadaşım Uzm. Dr. Arzu Babayiğit Hocaoğlu'na,

Tez çalışmamdaki yardımlarından dolayı Multidisipliner Deney Hayvanları laboratuvarının tüm çalışanlarına;

Ve bugüne kadar bana her türlü desteği veren aileme ve arkadaşlarıma;

Saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

METAKOLİNLE ATAK GELİŞTİRİLEN KRONİK ASTIMLI BALB/C FARELERDE NEBULİZE SİLDENAFİLİN AKCİĞER HİSTOLOJİSİ, OKSİJEN SATURASYONU VE KAN GAZI PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Amaç: Sildenafil erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan bir fosfodiesteraz 5 inhibitörüdür. Fosfodiesteraz 5'in inhibisyonu siklik guanozin monofosfat düzeylerinde artışa neden olur. Siklik guanozin monofosfat ile astım patofizyolojisinde anahtar bir düzenleyici rol oynayan siklik adenozin monofosfatın benzer etkileri, siklik guanozin monofosfat yolu ile astım tedavisi için yeni ilaç geliştirme olasılığını arttırmaktadır. Bu çalışmada literatürde ilk kez metakolinle atak provoke edilen kronik astımlı farelerde nebulize sildenafili kullanmayı ve nebulize sildenafilin akciğer histolojisi, oksijen saturasyonları ve kan gazı parametreleri üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

Metotlar: Otuzbeş BALB/c fare her bir grupta 7 fare olacak şekilde 5 gruba ayrıldı (Grup 1-5). Grup 1 (kontrol) dışındaki tüm farelerde 74 gün boyunca ovalbumin uygulamaları ile kronik astım modeli oluşturuldu. Grup 2'ye başka bir ilaç verilmedi. Grup 3, 4 ve 5'teki farelerde çalışmanın 75. gününde metakolin inhalasyonları ile astım atağı oluşturuldu. Sonrasında nebulize sildenafil (0.07 mg/ml), nebulize budesonid (0.25mg/ml) ve nebulize salin sırası ile Grup 3, 4 ve 5'e verildi. Metakolin inhalasyonları öncesi ve sonrasında ve tedavilerden 15 dakika sonra farelerin kalp hızları ve oksijen saturasyonları ölçüldü. Tedavilerden bir saat sonra fareler anestezi sonrası kalplerinden kan alınarak sakrifiye edildi ve kan örnekleri kan gazı analizi için kullanıldı. Grup 1 ve 2'deki fareler de yine aynı metodla sakrifiye edildi. Tüm farelerin akciğer histolojileri ışık ve elektron mikroskopi ile incelendi.

Bulgular: Grup 1'in bazal membran, düz kas ve epitel kalınlıkları, mast ve goblet hücre sayıları Grup 2'ninkilerden anlamlı olarak düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.001$, $p=0.000$). Grup 3'ün bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı, Grup 5'in bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısından anlamlı şekilde düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.001$). Grup 5'in düz kas kalınlığı, Grup 3'ünkinden anlamlı olarak düşüktü ($p=0.000$). Grup 4'ün bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı Grup 5'inkilerden anlamlı olarak düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.000$). Grup 4'ün düz kas kalınlığı, Grup 3'ünkinden anlamlı şekilde düşüktü ($p=0.000$). Oksijen saturasyonları, kalp hızları ve kan gazı parametreleri tedavilere göre gruplar arasında farklılık göstermemekte idi.

Sonuç: Sonuçlarımız kronik astım modelinin başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir. Nebulize sildenafil plaseboya göre bazal membran kalınlığında ve mast hücre sayısında anlamlı azalma sağlamıştır. Nebulize budesonid sadece düz kas kalınlığını nebulize sildenafille göre anlamlı olarak azaltmıştır bunun dışında tüm parametreler iki grup arasında benzerdir. Her üç tedavi de farelerin kalp hızı, oksijen saturasyonu ve kan gazı parametreleri arasında farklılık meydana getirmemiştir. Nebulize sildenafilin akut astım tedavisindeki etkinliğini göstermek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Nebulize sildenafil, kronik astım, astım atak, BALB/c fare, akciğer histolojisi, ışık mikroskopi, elektron mikroskopi, kan gazı, oksijen saturasyonu

ABSTRACT

EFFECTS OF NEBULIZED SILDENAFIL ON LUNG HISTOLOGY, OXYGEN SATURATION AND BLOOD GAS PARAMETERS IN CHRONIC ASTHMATIC BALB/C MICE THAT ATTACK WAS DEVELOPED WITH METHACOLINE

Objective: Sildenafil is a phosphodiesterase 5 inhibitor, which is used for the treatment of erectile dysfunction. The inhibition of phosphodiesterase 5 leads to an increase in cyclic guanosine monophosphate levels. Similar activities of cyclic guanosine monophosphate and cyclic adenosine monophosphate that plays a key regulatory role in the pathophysiology of asthma, raise the possibility of a new drug development for the treatment of asthma via cyclic guanosine monophosphate way. In this study, we aimed to use the nebulized sildenafil in chronic asthmatic mice in which an attack was provoked by methacoline and investigate the effects of sildenafil on lung histology, oxygen saturation and blood gas parameters for the first time in the literature.

Methods: Thirty five BALB/c mice were divided into 5 groups each containing 7 mice (Group 1-5). In all mice, except Group 1 (control), the model of chronic asthma was established with ovalbumin administrations during 74 days. No other drug was given to Group 2. In Group 3, 4 and 5, asthma attack was developed by methacoline inhalations on day 75. After methacoline inhalations; nebulized sildenafil (0.07 mg/ml), nebulized budesonide (0.25mg/ml) and nebulized saline were given to Group 3, 4 and 5, respectively. Heart rates and oxygen saturations were measured before and after the methacoline inhalations and 15 minutes after the treatments. One hour after the treatments, mice were sacrificed after anesthesia by blood suction from the hearts and the blood samples were used for blood gas analysis. The mice in Group 1 and 2 were also sacrificed by the same method. Lung histologies of all mice were examined by light and electron microscopies.

Results: Basement membrane, subepithelial smooth muscle layer, and epithelium thicknesses as well as numbers of mast cells and goblet cells were significantly lower in Group 1 than in Group 2 (respectively $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.001$, $p=0.000$). Basement membrane thickness and number of mast cells were significantly lower in Group 3 than in Group 5 (respectively $p=0.000$, $p=0.001$). Subepithelial smooth muscle layer thickness was significantly lower in Group 5 than in Group 3 ($p=0.000$). Basement membrane thickness and number of mast cells were

significantly lower in Group 4 than in Group 5 (respectively $p=0.000$, $p=0.000$). Subepithelial smooth muscle layer thickness was significantly lower in Group 4 than in Group 3 ($p=0.000$). Oxygen saturations, heart rates, and blood gas parameters did not show difference between groups according to the treatments.

Conclusion: Our results show that the model of chronic asthma was successfully established. Nebulized sildenafil decreased basement membrane thickness and number of mast cells significantly compared to placebo. Nebulized budesonide decreased only subepithelial smooth muscle layer thickness more than nebulized sildenafil, otherwise all the parameters were similar between the two groups. All the three therapies did not make difference in heart rates, oxygen saturations and blood gas parameters of mice. Further studies are needed to show the efficacy of nebulized sildenafil in the treatment of acute asthma.

Key words: Nebulized sildenafil, chronic asthma, asthma attack, BALB/c mice, lung histology, light microscopy, electron microscopy, blood gas, oxygen saturation.

1. GİRİŞ VE AMAC

Astım hışıltı, öksürük, nefes almada güçlük ve göğüste daralma gibi semptomlarla karakterize bir hastalıktır. Bu semptomların, hava yolu epitelinin bozulmasında rol oynayan bir uyarıcı ile duyarlı bireylerin karşılaşmaları sonucu gelişen hava yolu inflamasyonuna bağlı görüldüğü düşünülmektedir. Sonrasında sırası ile eozinofilik infiltrasyon, bronş düz kas kasılması, hava yolu aşırı duyarlılığı ve hava yolu obstruksiyonu görülebilir (1). Kronik inflamasyon en sonunda düz kas hipertrofisi, anjiogenezis ve artmış vaskülarite, kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu, goblet hücre hiperplazisi, kollajen depolanması, bazal membranda kalınlaşma ve hava yolu duvar elastisitesinin azalması gibi sonuçları içeren remodelinge neden olur. Bu değişiklikler geri dönüşümsüzdür ve astımdaki hava yolu disfonksiyonunda önemli bir role sahiptir (2).

Her ne kadar astımdaki hava yolu inflamasyonu ve remodelingin moleküler mekanizmaları kompleks ve heterojen ise de; belli sinyal iletim yollarının anlaşılması, uygun ilaç tedavisi için hedef molekülleri belirlemede ve bunların verilmiş yollarını saptamada önemli olabilir. Günümüzdeki astım tedavileri inflamasyonu azaltarak dolaylı olarak hava yolu remodelingini kontrol edebilmektedir. Bu yaklaşım sadece belli oranda başarılıdır. Gerçekte remodelingin spesifik komponentlerini hedef alan yaklaşımlar ile yapısal değişimler önlenilmekte ve akciğer fonksiyonları korunabilmektedir (3). Bu nedenle yeni tedavi arayışları sürmektedir.

Son on yılda selektif fosfodiesteraz (PDE) inhibitörleri ile inflamatuvar hücre aktivasyonunun düzenlenmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. PDE inhibisyonu ile artan siklik adenosin monofosfat (cAMP), inflamatuvar yanıtı baskılamaktadır. Bundan yola çıkarak da PDE inhibitörlerinin cAMP hidrolizini önleyerek astım gibi inflamatuvar hastalıklarda kullanılabilmesi düşüncesi doğmuştur (4). Teofilin astımda yaklaşık 40 yıldır kullanılmakta olan selektif olmayan bir PDE inhibitörüdür. Yüksek dozlardaki ciddi yan etkileri ve sınırlı etkinliği nedeni ile son yıllarda daha spesifik PDE inhibitörleri geliştirilmektedir (3).

Bir PDE4 inhibitörü olan rolipram'ın cAMP düzeylerini arttırarak allerjen provakasyonu sonucu gelişen hava yolu inflamasyonunu, hava yolu aşırı duyarlılığını, erken ve geç astmatik yanıtı azalttığı hayvan modellerinde gösterilmiştir (5). PDE4 inhibisyonu sonucu artan cAMP düzeyleri; inflamatuvar hücre aktivitesinin baskılanması yanında protein kinaz C ve protein kinaz

G aracılıklı bronkodilatasyona da neden olmaktadır (6). Bu etkisi akut astımda da kullanılabilceği dūřüncesini doğurmuştur.

cAMP astım patogeneğinde önemli rol oynar (7). cAMP ve siklik guanasin monofosfat (cGMP) yolları arasında iletişim olduğu bilinmektedir (8). cAMP ve cGMP'nin benzer antiinflamatuvar etkileri, cGMP yolu ile tedavinin de astımda umut vaad edebileceğini dūřündürtmektedir (9). Akciđer dokusu PDE'lardan zengin bir dokudur. Hava yolu epitel hücrelerinde ağırlıklı olarak bulunan PDE'lar PDE4 ve PDE5'tir. PDE4 cAMP'nin, PDE5 ise cGMP'nin büyük kısmını hidrolize eder (10). PDE5 inhibisyonunun bronkodilatasyona neden olduğu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (11). Sildenafil erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan bir PDE5 inhibitörüdür (12). İntraperitoneal sildenafil hayvan çalışmalarında hava yolu aşırı duyarlılığını ve lökosit infiltrasyonunu inhibe etmiştir (13).

Nebulize sildenafil literatürde iki çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışmalardan biri akut pulmoner hipertansiyonlu kuzulardaki kullanımımıdır (14). Nebulize sildenafil ayrıca kronik obstrüktif akciğer hastalığı oluşturulan farelerde de kullanılmıştır (15). Çalışmamızla birlikte literatürde ilk kez metakolinle akut astım geliştirilen kronik astımlı BALB/c farelerde nebulize sildenafilin uygulanması ve nebulize sildenafilin akciğer histolojisi, oksijen saturasyonları ve kan gazı parametreleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bronşial astımın tanımı

Astım, pek çok hücre ve hücreyel elementin rol aldığı, hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Kronik inflamasyon, özellikle gece veya sabaha karşı gelişen, tekrarlayıcı özellik gösteren öksürük, göğüste sıkışıklık hissi ve hışıltılı solunumla karakterizedir ve hava yollarında aşırı duyarlılığa neden olur. Bu ataklar kendiliğinden veya ilaçlar ile düzelen değişken hava yolu obstrüksiyonu ile seyreder (16).

2.2. Bronşial astımın sıklığı

Astım çocukluk çağı kronik hastalıklarının en sık görülenidir (17). Dünyadaki astım prevalansı ülkeler arasında değişmekle birlikte %1 ile %18 arasında farklılık göstermektedir. Astım gelişmiş ülkelerde gelişmekte olan ülkelere göre daha sık görülmektedir (18). Yaşam şeklinin değişmesi ve çevresel maruziyet ile ilişkilendirilen bu durum batılılaşma olarak ifade edilmektedir. Bununla birlikte hangi faktörlerin astım gelişimine neden olduğu net değildir (19).

Uluslararası Çocukluk Çağı Astım ve Allerji Çalışma grubu [International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)] tarafından belirtildiği üzere çocukluk çağında en yüksek astım prevalansının görüldüğü ülkeler Avustralya, Yeni Zelanda ve İngiltere'dir (20). Elli altı ülkeden 150 merkezin katıldığı ISAAC çalışmasında 13-14 yaşlarındaki çocuklarda en yüksek hışıltı prevalansı %32.6 ile Yeni Zelanda'da bulunmuştur (21).

Dünyada şu an yaklaşık 300 milyon kişinin astımlı olduğu ve prevalansın her 10 yılda %50 oranında arttığı bildirilmektedir (22). Ülkemizde astım prevalansı %2.8-%14.5 arasında değişmektedir (23,24). Karaman ve arkadaşlarının 1992-1993 yıllarında İzmir ilinde yürüttükleri bir çalışmada okul çocuklarında ankete dayalı astım prevalansı %4.9 olarak bulunmuştur (25). Karaman ve arkadaşları tarafından 2002 yılında tekrar edilen prevalans çalışmasında okul çocuklarında ankete dayalı hışıltı prevalansının %15.9, doktor tanılı astım prevalansının ise %4.8 ile artmış olduğu görülmüştür (26). Öneş ve arkadaşları son dokuz yıl içinde İstanbul'daki çocuklarda astım prevalansının %9.8'den %17.8'e yükseldiğini göstermişlerdir (27).

Prevalanstaki artışla birlikte astımla ilişkili morbidite, mortalite ve ekonomik yük de yıllar içinde artmıştır. Yılda yaklaşık 180.000 kişi astıma bağlı ölmektedir. Batı ülkelerinde astımlı hastaların yıllık mali gideri 300-1300 dolar arasında değişmektedir (22,28). Astım Amerika'daki <18 yaş çocuklarda hastaneye yatışın ikinci sıklıktaki nedenidir (29).

2.3. Astım gelişimini ve astımın ortaya çıkışını etkileyen faktörler

Astım riskini etkileyen faktörler; astım gelişimini etkileyenler ve astım semptomlarını tetikleyenler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Astım gelişimini etkileyenler konağa ait risk faktörleridir ve öncelikle genetik yapı ile ilişkilidir. Astım semptomlarını tetikleyenler ise çevresel risk faktörlerini içerir. Tablo 1’de astımın etyolojisinde rol oynayan risk faktörleri verilmiştir (30).

2.3.1. Konağa ait risk faktörleri

a. Genetik

İkizler ve birinci derece akrabalar üzerinde yapılan çalışmalar astımın genetik bir temelini olduğunu düşündürmektedir (31). Astımın patogenezinde çok sayıda gen rol oynamaktadır (32). Astıma yatkınlık yaratan genler dışında astım tedavisine yanıt ile ilişkili genler de tanımlanmıştır. Örneğin beta (β) adrenoreseptörü kodlayan genlerdeki varyasyonlar, bireylerin β_2 agonistlere yanıtlarındaki farklılıkları belirlemektedir (33). Astım genleri arasında en çok çalışılanlardan biri CD14’tür (34). Baldini ve arkadaşları CD14’ün 159. pozisyonda tek bir nükleotid polimorfizminin astım gelişimi ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (35).

b. Cinsiyet

Yaşamın ilk on yılında astım prevalansı erkeklerde daha yüksektir (36). Çocuklar büyüdükçe iki cins arasındaki farklılık azalmakta ve erişkin dönemde astım kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir. Bu durum doğumda erkeklerin bronş çaplarının kızlarıkinden daha küçük olması ancak erişkin dönemde bu farklılığın tam tersine dönmesi ile ilişkilendirilmektedir (37).

c. Obezite

Obezitenin astım için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Leptin benzeri mediatörler solunum fonksiyonlarını etkileyebilmekte ve astım gelişme olasılığını artırabilmektedir (38).

2.3.2. Çevresel faktörler

a. Allerjenler

İnfant döneminde allerjenlere maruziyet erken duyarlanmaya neden olmakta, duyarlanan çocukların yüksek düzeydeki allerjenle karşılaşması da astımın persiste etmesine yol açmaktadır (39). Özellikle ev içi allerjenlerle temas allerjik astım için önemli bir risk faktörüdür (40). Allerjenle temas ve sensitizasyon arasındaki ilişki; allerjenin tipine, dozuna, temas süresine, çocuğun yaşına ve genetik yapısına bağlı olarak değişmektedir. Ev tozu akarları ve hamamböceği allerjenleri gibi bazı allerjenler için duyarlanma, temas ile direk olarak ilişkilidir (41).

b. İnfeksiyonlar

Hijyen hipotezi; astım ve allerjinin patogenetik mekanizmaları hakkında yeni araştırmalara olanak sağlamıştır. Gebelik boyunca fetus immünesinden T helper 2 (Th2) hücreler ağırlıklı olarak sorumludur. Erken çocuklukta geçirilen bazı infeksiyonlar Th2 cevabını Th1'e dönüştürebilirler. Bu nedenle Th1 cevabını uyaran infeksiyonların astım ve allerji gelişimini engelleyici olabildikleri düşünülmektedir (42).

Çiftlikte yaşamının astım ve allerji gelişiminden koruduğuna yönelik çok sayıda çalışma vardır (43). Bu durumun çiftlik ortamında yüksek düzeylerde bulunan canlı ve cansız mikroplar ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (44). Bazı araştırmacılar astım sıklığının kırsal kesimde daha düşük bulunmasını bu çevrelerdeki endotoksin varlığı ile ilişkilendirmişlerdir (45).

İnfant döneminde geçirilen kızamık gibi bazı viral infeksiyonların astım gelişimine karşı koruyucu rol oynadıkları ileri sürülmektedir (46). Atopi, astım ve allerjik rinit prevalansı *Hepatitis A*, *Toxoplasmosis gondii* ve *Helicobacter pylori* seropozitif bireylerde anlamlı olarak düşük bulunmuştur (47,48). Parazit enfeksiyonlarının astım ve allerjiden koruduğuna dair çok sayıda çalışma mevcuttur (49). Tüberkülozun astım ve allerji gelişiminden koruduğuna dair çalışmalar da vardır (50). Çocuklarda yapılan uzun dönem prospektif çalışmalar *Respiratuvar sinsityal virus* ile enfekte çocukların %40'ında hışıltının devam ettiğini veya bunların geç çocukluk döneminde astım hastası olduklarını göstermiştir (51).

c. Sigara

Pasif sigara içiciliği çocukluk çağında astım semptomlarının gelişmesinde en çok sorumlu olan çevresel risk faktörüdür (52). Sigara dumanı oksidatif stresi artırır ve hava yolunda

inflamasyonu stimüle eder. Anneleri sigara içen infantlarda yaşamın ilk yılında tekrarlayan hışıltı gelişme riski dört kat fazla bulunmuştur (53). Çocuklarda pasif sigara içiciliğinin astım ataklarını tetiklediği gösterilmiştir (54).

ç. Hava kirliliği

Hava kirliliğinin akciğerlere direk toksik etkisi dışında oksidatif stresi ve hava yolu inflamasyonunu tetiklediği ve genetik olarak yatkın bireylerde astıma neden olabileceği gösterilmiştir (55). Hava kirliliğinin olduğu ortamda yaşayan çocuklar daha sık astım atağı geçirmektedirler (56).

d. Diyet

Atopik yatkınlığı olan çocuklarda anne sütünün atopik hastalık gelişiminden koruduğu gösterilmiştir (57). İnek sütü bazlı veya soya protein içeren formula ile beslenen süt çocuklarında anne sütü ile beslenenlere göre erken çocukluk döneminde hışıltı gelişimi daha fazla bulunmuştur (58). Hazır gıdaların fazla miktarda kullanıldığı batı diyetleri ve düşük antioksidan, yüksek n-6 çoklu doymamış yağ asidi ve düşük n-3 çoklu doymamış yağ asidi içeren diyetlerle beslenenlerde astım gelişiminin daha fazla olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (59).

e. İrritanlar

Çocuklarda parfüm, toz, klor gibi birçok irritan, astım semptomları ile ilişkili bulunmuştur. Tüm irritanlar için mekanizma aynı olmayabilir, nöral ve/veya oksidatif yollar etkin olabilir (60).

f. Stres

Psikolojik faktörler özellikle de kronik stres astımı etkileyebilmektedir (61).

g. Egzersiz

Egzersiz, astımlı çocukların çoğunda astım semptomlarını tetikleyebilmektedir (62). Hava yolu ısısındaki ve/veya su kaybından kaynaklanan hava yolu osmolaritesindeki değişiklikler bronkokonstrüksiyon ve bronkospazma neden olan belli başlı mekanizmalardır (63).

ğ. Hava şartları

Aşırı sıcaklık, yüksek nem gibi farklı hava koşulları astımı etkileyebilmektedir (64).

Tablo 1. Astım gelişimini ve ortaya çıkışını etkileyen risk faktörleri

Konağa ait risk faktörleri
Genetik yatkınlık
• Atopiye yatkınlık yaratan genler
• Hava yolu aşırı duyarlılığına yatkınlık yaratan genler
Obezite
Cinsiyet
Çevresel faktörler
Allerjenler
• Ev içi: Ev tozları, tüylü hayvanlar, hamamböceği allerjisi, mantarlar, küfler, mayalar
• Ev dışı: Polenler, mantarlar, küfler, mayalar
Enfeksiyonlar (Özellikle viral)
Mesleki duyarlılaştırıcılar
Sigara (Pasif ve aktif içicilik)
Hava kirliliği
Diyet
İrritanlar
Stres
Egzersiz
Hava şartları

2.4. Astımın patogenezi

Astım özellikle çocukluk çağında kompleks bir hastalıktır çünkü antijen sunumu, T hücre fonksiyonları ve antikor yapımı gibi immün sistemin birçok elemanı immatürdür ve bunlar atopik yanıtı hızlandırır (64). Yaşamın ilk yıllarındaki immün sistem olgunlaşmasının ve akciğer gelişiminin derecesi astım gelişimi açısından önemlidir (65). Astımda çok sayıda inflamatuvar

hücre ve mediatör rol oynar ve karakteristik patofizyolojik değişiklikler görülür.

2.4.1. Astımdaki hava yolu inflamasyonu:

Astımda hava yolu inflamasyonu değişmez bir özelliktir. Astımda hava yolu inflamasyonu persistan olup semptomlar epizodiktir. Astımın ağırlığı ile inflamasyonun yoğunluğu arasındaki ilişki net olarak gösterilememiştir (66). İnflamasyon çoğu hastada tüm hava yollarını etkilemekte ancak fizyolojik etkileri orta büyüklükteki bronşlarda en belirgin olarak ortaya çıkmaktadır.

a. İnflamatuvar hücreler:

T hücreleri astım patofizyolojisinde önemli bir rol oynarlar. İmmunglobulin E (IgE) dönüşümünde gerekli olan interlökin 13 (IL-13), IL-4 ve eozinofiliden sorumlu IL-5, Th2 tip lenfositlerin ürünleridirler. Th1 ve Th2 sitokinler arasındaki dengenin değişmesi astımdaki immunolojik bozukluğu tanımlamada uzun süredir kullanılmaktadır (67). T hücrelerine antijen sunan dendritik hücrelerin de Th1/Th2 arasındaki bu dengenin bozulmasında rol oynadığı gösterilmiştir (68). Dendritik hücre fonksiyonları çok küçük çocuklarda yetersizdir. T regülator hücreler inflamasyonu düzenleyerek ve baskılayıcı sitokinler salarak immun yanıtı baskılamaktadırlar (69).

T hücreleri ile birlikte eozinofiller ve nötrofiller de çocukluk çağı astımında epiteli infiltre ederler ve inflamasyona neden olurlar (70). Nötrofilik inflamasyon artmış hastalık ağırlığı ile ilişkili bulunmuştur (71). Eozinofilik inflamasyon atopi ve persistan astım semptomları ile ilişkilidir (72).

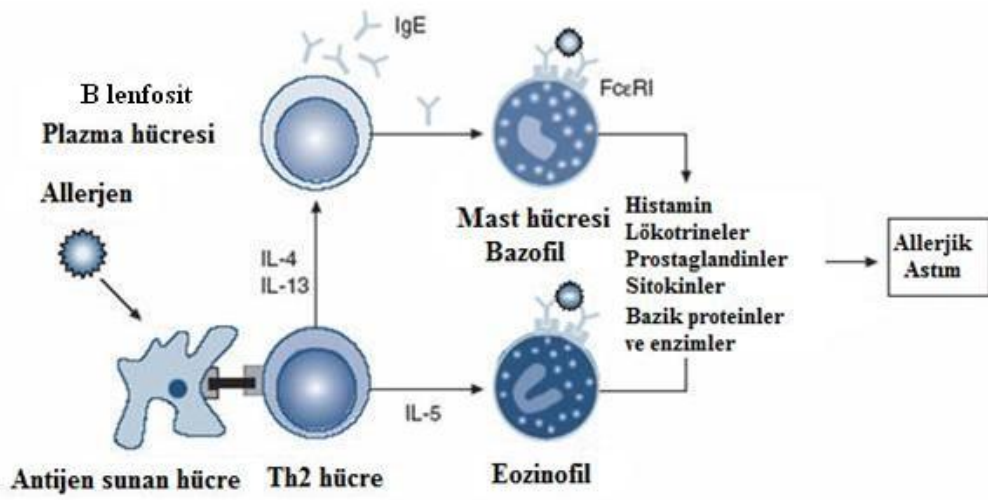
Astımda rol oynayan inflamatuvar hücrelerin özellikleri Tablo 2’de verilmiştir (16).

Tablo 2. Astımda hava yollarındaki inflamatuvar hücrelerin özellikleri

<p>Mast hücreleri: Mukozal mast hücreleri yüksek afiniteli IgE reseptörleri aracılığı ile allerjenler ve ozmotik uyarılar (egzersizin tetiklediği bronkokonstrüksiyon) tarafından aktive edilir (73). Aktive mast hücrelerinden bronkokonstrüktör mediatörler salınır (histamin, sisteinil lökotrienler, prostoglandin D2) (74). Hava yolları düz kasında artmış mast hücre sayısı hava yolu aşırı duyarlılığı ile ilişkilendirilebilir (73).</p>
<p>Eozinofiller: Hava yollarında artmış sayıda bulunurlar. Major bazik protein salınımına neden olarak hava yolu epitel hücrelerinde hasarlanmaya yol açarlar. Büyüme faktörlerinin salınımı ve hava yolu remodelingi ile ilişkilerinin olabileceği düşünülmektedir (75).</p>
<p>T lenfositler: Hava yollarında artmış sayıda bulunurlar. IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 gibi spesifik sitokinlerin salınımına neden olarak eozinofilik inflamasyonu kontrol eder ve B lenfositlerden IgE yapımına yol açarlar (76).</p>
<p>Dendritik hücreler: Hava yolu yüzeyinden allerjenleri seçerek T regülatuvar hücreleri ile bir araya gelebileceği bölgesel lenf nodlarına göçeder ve naif T hücrelerinden Th2 hücrelerinin oluşumunu stimüle ederler (77).</p>
<p>Makrofajlar: Hava yollarında artmış sayıda bulunurlar ve düşük afiniteli IgE reseptörleri aracılığı ile allerjenler tarafından aktive edilebilirler ve inflamatuvar mediatörlerin ve sitokinlerin salınımına yol açarlar (78).</p>
<p>Nötrofiller: Ağır astımlı ve sigara içen astımlı hastaların hava yolu ve balgamlarında artmış olarak bulunurlar ancak bu hücrelerin patofizyolojik rolü net olarak bilinmemektedir (79).</p>

Allerjik astımdaki inflamasyonun şematik gösterimi Şekil 1’de verilmiştir (80).

Şekil 1. Allerjik astımdaki inflamasyon



b. Hava yolunun yapısal elemanları:

Hava yollarının yapısal hücreleri inflamatuvar mediatörler üreterek inflamasyonun sürekli olarak devam etmesine katkıda bulunurlar. Hava yolu epitel hücreleri, düz kas hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar ve miyofibroblastlar, hava yolu sınırları başlıca yapısal elemanları oluştururlar. Astım patogeneğinde rol oynayan hava yolunun yapısal elemanları Tablo 3'te verilmiştir (16).

Bronş epiteli dıştan gelen uyarıya reaksiyon vererek ve aynı zamanda inflamasyon ve remodeling işlemlerini düzenleyerek astımda temel rolü oynar (81).

Tablo 3. Astım patogeneğinde rol oynayan hava yolunun yapısal elemanları

Hava yolu epitel hücreleri: Mekanik çevrelerini algılayarak astımdaki çok sayıda inflamatuvar proteini ortaya çıkarırlar. Sitokinleri, kemokinleri ve lipit mediatörleri salarlar. Virüsler ve hava kirliliğine yol açan maddeler epitel hücreleri ile ilişkiye girerler.
Hava yolunun düz kas hücreleri: Epitel hücrelerine benzer inflamatuvar proteinleri ortaya çıkarırlar (82).
Endotel hücreleri: Bronşial dolaşımdaki endotel hücreleri inflamatuvar hücrelerin dolaşımdan hava yoluna taşınmasında rol oynarlar.
Fibroblastlar ve miyofibroblastlar: Hava yolu remodelinginde rol oynayan kollajen ve proteoglikan gibi konnektif doku komponentlerini üretirler.
Hava yolu sınırları: Kolinerjik sınırlar hava yollarındaki refleks tetikleyiciler ile aktive olabilirler, bronkokonstriksiyon ve mukus sekresyonuna neden olurlar. Nörotrofinler gibi inflamatuvar uyarılar ile duyarlılaşan duyuşal sınırlar; refleks değişikliklere ve öksürük, göğüste daralma gibi bulgulara neden olurlar ve inflamatuvar nöropeptitleri salabilirler (83).

c. Ana mediatörler:

Astım ile ilişkili 100'den fazla farklı mediatör bulunduğu ve hava yollarındaki kompleks inflamatuvar yanıtı oluşturdıkları gösterilmiştir. Kemokinler, sisteinil lökotrienler, sitokinler, histamin, nitrik oksit (NO), prostaglandin D2 (PGD2) astımdaki ana mediatörlerdir. Tablo 4'te astımda rol oynayan ana mediatörlerin özellikleri verilmiştir (16).

Tablo 4. Astımda rol oynayan ana mediatörlerin özellikleri

Kemokinler: İnflamatuvar hücrelerin hava yoluna taşınmasında önemlidirler ve başlıca hava yolu epitel hücreleri tarafından ortaya çıkarılırlar. Eotaksin eozinofiller için relatif olarak seçicidir, bununla birlikte timus ve aktivasyon ile düzenlenen kemokin (TARC) ve makrofaj kökenli kemokinler Th2 hücrelerini taşırlar (84).
Sisteinil lökotrienler: Mast hücreleri ve eozinofillerden köken alan potent bronkokonstriktör ve proinflamatuvar mediatörlerdir. Baskılanmaları durumunda solunum fonksiyonları ve astım semptomlarında düzelme görülen tek mediatördürler (85).
Sitokinler: Astımdaki inflamatuvar yanıtı ve ağırlığı belirlemede ana rol oynarlar. Anahtar sitokinler inflamatuvar yanıtı arttıran IL-1 β , tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve hava yolundaki eozinofil yaşamını arttıran granulosit makrofaj koloni stimule edici faktördür (GM-CSF). Th2 kökenli sitokinler; eozinofil farklılaşması ve yaşamı için gerekli olan IL-5, Th2 hücre farklılaşması için önemli olan IL-4 ve IgE yapımı için gerekli olan IL-13'tür (86).
Histamin: Histamin mast hücrelerinden salınır ve bronkokonstrüksiyon ve inflamatuvar yanıtı katkıda bulunur.
Nitrik oksit: Hava yolu epitel hücrelerindeki NO sentazın aktivasyonu ile oluşan potent bir vazodilatördür (87). Astımdaki inflamasyonu yansıtan ekshale NO astım tedavi etkinliğini değerlendirmede kullanılmaktadır (88).
Prostaglandin D2: Başlıca mast hücrelerinden köken alan bir bronkokonstriktördür ve hava yolundaki Th2 hücre göçünde rol oynar.

2.4.2. Hava yollarındaki yapısal değişiklikler ve yeniden yapılanma (Remodeling):

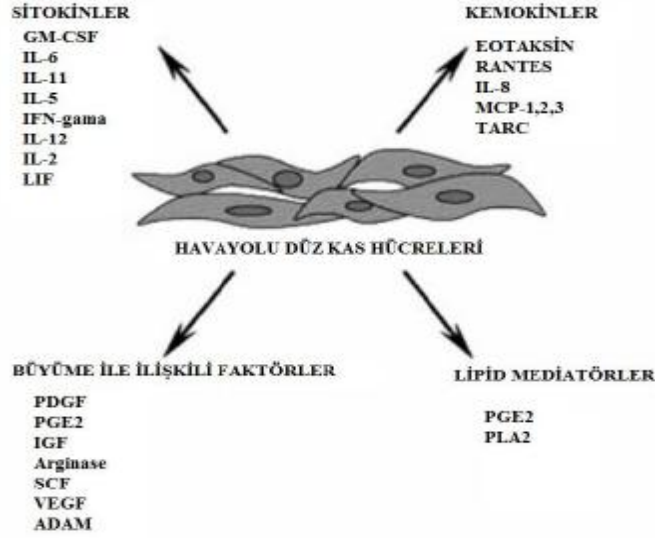
İnflamasyona ek olarak astımlı hastaların hava yollarında yapısal değişiklikler de görülmektedir (89). Hava yolu remodelingi astımlı hastaların hava yolundaki kronik, muhtemelen geri dönüşümsüz olan bu değişikliklerin genel adıdır. Bu değişiklikler düz kas hipertrofisi, anjiyogenezis, artmış vaskülarite, goblet hücre hiperplazisi, kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu, kollajen depolanması, bazal membran kalınlaşması ve hava yolu duvar elastisitesinin azalmasıdır (1). Önceleri hava yolu remodelinginin inflamasyona ikincil olarak

gelişen bir tamir yanıt olduğu ve persistan inflamasyona bağlı olarak geç dönemde ortaya çıktığı düşünülmekte idi. Yakın dönemde yapılan çalışmalar hava yolu remodelinginin hastalığın başlangıcından itibaren görüldüğünü ve astımın karakteristik bir özelliği olduğunu göstermektedir (90). Her ne kadar bu değişiklikler tüm yaşlarda tanımlanmış olsalar da çocuk hastalarda daha az oranda gösterilmiştir (91). İnhal steroidler ile erken tedavi bu değişikliklerin gidişini değiştirmemektedir (92). Bu değişikliklerden bazıları hastalığın ağırlığı ile ilişkilidir ve hava yolunda geri dönüşümsüz daralmaya neden olur (16).

a. Subepitelyal fibrozis: Bazal membran kalınlaşması astımın karakteristik bir özelliğidir. Ig, kollajen 1, kollajen 3, tenaskin ve fibronektinin bazal membran altında depolanması ile oluşur. Artmış hücre dışı matriks depolanması; yapısal ve inflamatuvar hücreler tarafından üretilen tümör büyüme faktörü β (TGF- β) ve IL-11 gibi sitokin ve büyüme faktörlerinin reseptörlerindeki artma sonucu gelişen fibroblast aktivasyonuna bağlıdır (93). Aktive miyofibroblastlar tarafından üretilen bu proteinler subepitelyal fibrozise neden olur (94).

b. Hava yolu düz kas kitlesinde artma: Hava yolu düz kas hücreleri hem hipertrofi hem de hiperplaziye bağlı olarak artarlar ve hava yolu duvarının kalınlaşmasına katkıda bulunurlar (95). Hava yolu düz kas hücre sayısındaki artma; bölünme oranlarındaki artış (96), apoptoz oranlarında azalma (97) ve de mezenşimal hücrelerin hava yolu düz kas kümelerine göçü sonucu meydana gelebilir (98). Artan düzeylerdeki gerilmenin, TGF- β , IL-1 β ve kardiotropin seviyelerinin insan hava yolu düz kas hücrelerindeki hipertrofik etkilere neden olabileceği düşünülmektedir (99). Astımdaki düz kas hücreleri kemokin ve sitokinleri üretmedeki artmış kapasiteleri nedeni ile inflamatuvar hücreler olarak değerlendirilmektedirler. Hava yolu remodelingi sekrete edilen bu inflamatuvar mediatörlerin bir sonucu olabilir. Şekil 2’de astımda hava yolu düz kas hücrelerinden salınan mediatörler verilmiştir (90,100).

Şekil 2. Astımda hava yolu düz kas hücrelerinden salınan mediatörler



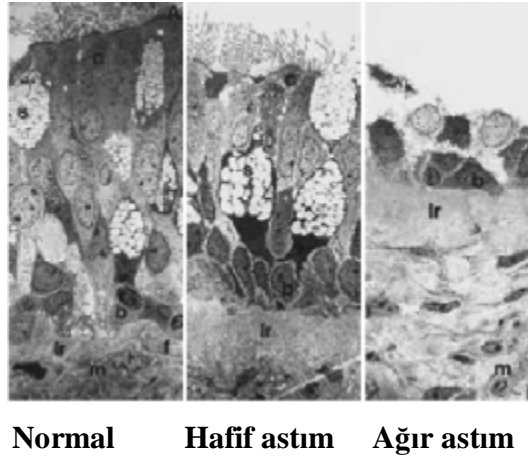
[**Kısaltmalar:** Lökosit inhibitör faktör (LIF), Timus ve aktivasyon düzenleyici kemokin (TARC), Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), Prostaglandin E2 (PGE2), Kök hücre faktörü (SCF), Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), Bir disintegrin ve metalloproteaz (ADAM), Fosfolipaz A2 (PLA2), Monosit kemotaktik protein (MCP), Regulated on activation T-cell expressed and secreted (RANTES), İnsulin benzeri büyüme faktörü (IGF)]

c. Hava yolu duvarındaki kan damarlarında artış: Angiogenезin bir sonucu olarak ortaya çıkan hava yolu duvarındaki mikrovasküler değişiklikler, hava yolu duvarındaki ödeme katkıda bulunabilir. Hava yolu vaskülaritesindeki artış hafif astımlıların bronkoskopik biyopsilerinde (101) ve yeni tanı alan hastaların bronş mukozalarında bronkovideoskop teknikle gösterilmiştir (102). Bu artan vaskülarite, vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) artmış ekspresyonu ile yakın ilişkilidir (103).

ç. Goblet hücre hiperplazisi: Hava yolu remodelinginin bir bulgusu da hava yolu epitelindeki goblet hücresi sayısındaki ve submukozal bezlerin boyutlarındaki artışa bağlı olarak aşırı mukus yapımıdır. IL-9 ve IL-13 mukus yapımını indükleyebilir. Mukus aşırı yapımı hava yolu obstruksiyonuna neden olur (104).

d. Epitelde ayrılma: Epitel ayrılması hava yolu remodelinginin karakteristik bir özelliğidir (105). Epitel hasarı devam eden inflamasyonun (106) veya bronkokonstruksiyona bağlı olarak ortaya çıkan mekanik stresin sonucu olabilir (107). Yakın dönemde yapılan çalışmalar astımlı olguların epitel hücrelerinin fenotip değiştirerek sitokin, kemokin ve profibrotik büyüme faktörlerini üretme yeteneği kazandıklarını göstermiştir (108). Resim 1’de normal ve astımlı bireylerde görülen ilerleyici epitel hasarı görülmektedir (109).

Resim 1. Astımda hastalığın ağırlığı ile ilişkili ilerleyici epitel hasarı



e. Kıkırdağa ait değişiklikler: Hava yolu kartilajı, hava yolu duvar sertliği ve bütünlüğünün önemli bir belirleyicisidir. Dolayısı ile kartilajdaki yapısal ve fonksiyonel değişiklikler hava yolu fonksiyonuna etki edecektir. Astımlıların hava yollarında kartilaj hacminde azalma ve fibronektin depolanması görülmektedir (110).

2.4.2.1. Hava yolu Remodelinginin Patogenezi

Th2 hücreler astımdaki hava yolu remodelinginin çok sayıda bulgusuna öncülük ederler (111). Hava yolundaki eozinofilik inflamasyon Th2 inflamasyonun bir sonucudur. Eozinofiller kemik iliğinde IL-4, IL-13 ve GM-CSF etkisi ile gelişirler. Th2 aracılıklı sitokinler aynı zamanda eozinofillerin hareketlerini kontrol ederler (112).

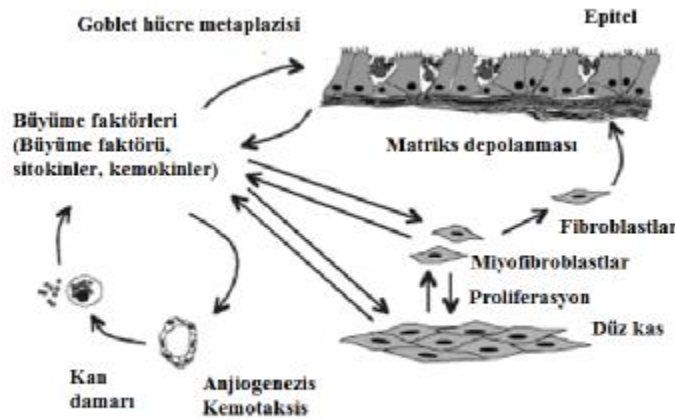
Eozinofiller en potent profibrotik sitokin olan TGF- β 'nın başlıca kaynağıdır. Th2 sitokinler aynı zamanda hava yolu remodelingi ile ilişkili olan lökotrienlerin yapımını da desteklerler (113).

Mast hücreleri IgE ile bağlanarak aktive olunca degranule olarak lipid mediatörlerin, çeşitli sitokinlerin ve kemokinlerin meydana gelmesine neden olurlar. IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi Th2 sitokinler goblet hücre metaplazisine sebep olurlar (114).

IL-9 hava yolu epitel hücrelerindeki mukus gen ekspresyonunu indüklemeye başlıca role sahiptir (115).

Bununla birlikte Th2 inflamasyonunun hava yolu remodelingindeki tek neden olmadığı düşünülmektedir. Çünkü astımdaki yapısal değişikliklerin kortikosteroidlere yanıtız olduğu bilinmektedir (116). Aynı zamanda çocukluk çağı astımında remodelingin erken dönemde başladığı, inflamasyona paralel olarak geliştiği ve hatta persistan inflamasyon için gerekli olduğu bildirilmektedir (117). Artmış remodeling görülen ağır astımda eozinofilik değil de nötrofilik inflamasyonun görülmesi de Th2 inflamasyon dışında da remodelinge neden olan yollar olduğunu düşündürmektedir (90). Goblet hücre metaplazisi, subepitelyal matriks depolanması, fibroblast, miyofibroblast proliferasyonu, lökosit infiltrasyonu, anjiogenezis ve düz kas proliferasyonunu içeren remodelingin şematik gösterimi Şekil 3'te verilmiştir (118).

Şekil 3. Astım hava yollarında remodelingi başlatan ve arttıran faktörler



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 5'te hava yolu daralmasına katkıda bulunan faktörler verilmiştir (16). Yakın dönemde yapılan bir çalışma,

akciğer dokusunu da içeren periferik hava yollarının astımlılardaki hava yolu obstruksiyonunda rol oynayan en belli başlı bölge olduğunu göstermiştir. Yanai ve arkadaşları orta ve ağır astımlı hastalarda hafif astımlılar ve sağlıklı bireyler ile karşılaştırınca distal hava yollarının toplam akciğer rezistansına dramatik katkılarının olduğunu saptamışlardır (119).

Tablo 5 . Astımda hava yolu daralmasında rol oynayan faktörler

Düz kas kontraksiyonu: Çok sayıda bronkokonstriktör mediatör ve nörotransmitterlere yanıt olarak gelişen hava yolu düz kas kontraksiyonu, hava yolu daralmasındaki başlıca mekanizmadır ve bronkodilatörler ile büyük oranda geri dönüşümlüdür.
Hava yolu ödemi: İnflamatuvar mediatörlere yanıt olarak gelişen artmış mikrovasküler kaçış nedeni ile oluşur. Bu durum özellikle akut ataklar sırasında önem kazanır.
Yapısal değişikliklere bağlı hava yollarında kalınlaşma: Sıklıkla remodeling olarak bilinir. Ağır hastalıkta önem kazanır ve günümüzdeki tedaviler ile tam olarak geri döndürülemez.
Mukus hipersekresyonu: Lümeninde daralmaya neden olabilir. Artmış mukus sekresyonu ve inflamatuvar eksudaların bir ürünüdür.

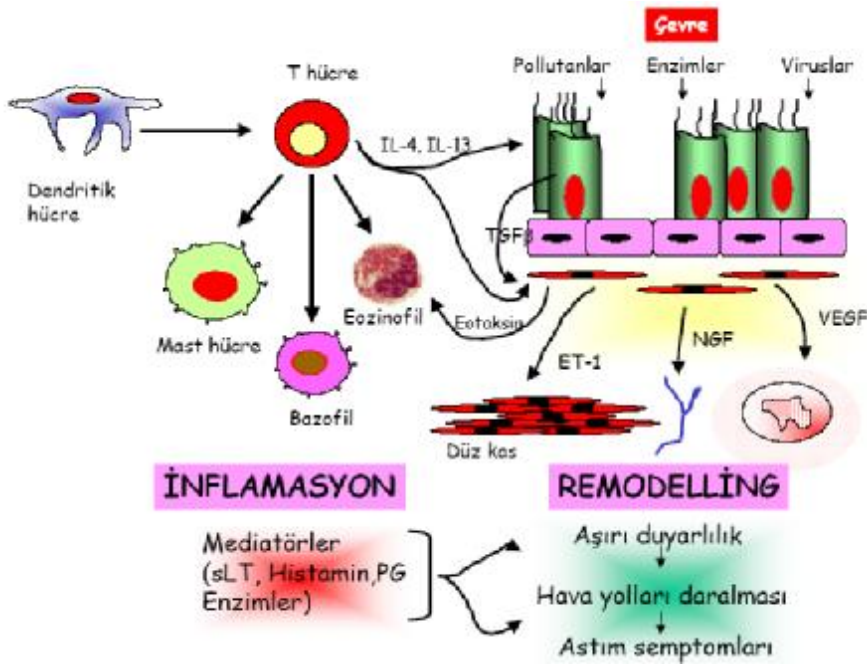
2. 4. 4. Astımda hava yolu aşırı duyarlılığı

Hava yolu aşırı duyarlılığı astımın önemli bir özelliğidir. Hava yolu aşırı duyarlılığı, normal bir kişide zararsız olan uyarının astımlı bir hastada hava yolunda daralma yapması olarak tanımlanır. Hava yolunun nöral regülasyonu kolinerjik eksitator, adrenerjik inhibitör ve nonadrenerjik, nonkolinerjik sinir yollarını içerir (120).

Hava yolu aşırı duyarlılığı hem inflamasyona hem de hava yollarındaki tamire bağlı olarak gelişir ve tedavi ile kısmen geri dönüşümlüdür. Mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Şekil 4’te astımdaki inflamasyon, hava yolu duyarlılığı ve semptom ilişkisi verilmiştir (121).

Hava yolu düz kas hücrelerinin hacmi ve kontraktilesindeki artış aşırı daralmaya neden olur (122). Ek olarak hava yolu duvarındaki ödeme bağlı kalınlaşma ve duvardaki yapısal değişiklikler hava yolundaki daralmayı artırır. Hava yolu düz kası ve çevresindeki parankim arasında kalan adventisya tabakasındaki kalınlaşma da hava yolu düz kasının hava yolunu daraltıcı etkisini artırır (123).

Şekil 4. Astımdaki inflamasyon, hava yolu duyarlılığı ve semptom ilişkisi



2. 5. Astımda tanı:

Astımın tanısı için genellikle anamnez, fizik muayene ve spirometrik testler yeterli olmaktadır.

2.5.1. Hikaye:

Birçok hastalıkta olduğu gibi astım tanısında da doğru ve detaylı alınmış bir anamnez büyük önem taşımaktadır. Astım tanısı, çoğu zaman tekrarlayan solunum sıkıntısı, öksürük atakları ve hışıltı yakınmalarının varlığında konur. Bu semptomların değişken olması, sigara, duman, keskin kokular, egzersiz ile ve geceleri kötüleşmesi ve uygun astım tedavisine yanıt vermesi astım tanısını desteklemektedir. Astımlı hastalarda solunum yolu viral enfeksiyonları, hava kirliliği, egzersiz, soğuk hava, allerjen teması, ilaçlar ve emosyonel faktörler yakınmaların artmasına neden olan bazı tetikleyici faktörlerdir.

Şikayetlerin mevsimsel değişkenliği, ailede atopik veya astımlı birey varlığı da astım tanısını düşündürülen önemli bulgulardır. Anamnez alınırken küçük çocuklarda perinatal, maternal ve çevresel faktörler ayrıntılı olarak sorgulanmalıdır.

Büyük çocuklarda, öykü, fizik muayene bulguları ve solunum fonksiyon testleri ile astım tanısı koymak daha kolay iken, küçük çocuklarda hışıltı ile giden diğer hastalıklardan ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Martinez tarafından infantil astım tanısı koymak için bazı kriterlerin kullanılması önerilmiştir. Buna göre iki major (ilk iki major kriterden en az biri olmalı)

veya bir major iki minör kriter olması astımı öngörmede yüksek duyarlılığa sahiptir (124).

Major kriterler:

- 1 Bronşiolit ya da şiddetli vizing nedeniyle hastanede yatma öyküsü
- 2 Son altı ayda en az üç kere vizingin eşlik ettiği alt solunum yolu infeksiyonu
- 3 Ailede astım öyküsü
- 4 Bebekte atopik dermatit

Minör kriterler:

- 1 Soğuk algınlığı olmaksızın burun akıntısı
- 2 Soğuk algınlığı olmaksızın vizing
- 3 Eozinofili (> %5)
- 4 Erkek cinsiyet

2.5.2. Fizik Muayene:

Semptomların değişkenliği nedeni ile astımlı hastanın dinleme bulguları normal olabilir. En sık saptanan muayene bulgusu akciğer oskültasyonunda sibilan ronküs, hışıltı duyulmasıdır. Hışıltı, astımın en tipik bulgusu olmakla birlikte ciddi astım ataklarında bu bulgu mevcut olmayabilir ancak bu durumda genellikle siyanoz, uykuya eğilim, taşikardi gibi diğer fizik muayene bulguları mevcuttur. Bu durumda, yardımcı solunum kasları solunuma katılır, subklaviküler, juguler ve interkostal kaslarda çekilmeler gözlenir, ağır atak sırasında intratorasik basınç artışı nedeni ile boyun venleri dolgunlaşabilir ve pulsus paradoksus ortaya çıkabilir (16).

2.5.3. Astım tanısında kullanılan laboratuvar bulguları

a. Solunum fonksiyon testleri:

Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1) ve zorlu vital kapasite (FVC), zorlu ekspiratuvar manevra esnasında spirometri ile ölçülür. FEV1/FVC oranı hava akımındaki azalmanın değerli bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Erişkinlerde FEV1/FVC oranı %80'den, çocuklarda ise %90'dan yüksek olmalıdır. Bu değerlerin altındaki sonuçlar hava akımındaki azalmayı düşündürmektedir (16). FEV1'de bronkodilatör inhalasyonu sonrasında en az %12'lik bir düzelme olması astım tanısını desteklemektedir (125). Bronkodilatör inhalasyonu sonrası zirve akım hızında (PEF) en az %15 düzelme olması da tanı için yeterli kabul edilmektedir (126). PEF izlemi, astımdaki hava yolu obstrüksiyonunun gün içinde değişkenlik göstermesini esas alan ve sabah-akşam değerleri arasındaki farkın ortaya konmaya çalışıldığı bir testtir. Onbeş gün süre

ile pefmetre ile sabah ve akşam ölçümleri kaydedilmektedir. Günlük PEF değişkenliğinin %20'den daha fazla olması astım için tanısaldır ve değişkenliğin büyüklüğü hastalık ağırlığı ile orantılıdır. PEF değişkenliği: $\frac{\text{En yüksek PEF değeri} - \text{En düşük PEF değeri}}{[(\text{En yüksek PEF değeri} + \text{En düşük PEF değeri}) \times 1/2]} \times 100$ (127).

b. Bronş provokasyon testleri:

Hafif-orta şiddette yakınmaları olup, fizik muayene bulguları ve solunum fonksiyon testleri (SFT) normal olan olgularda astım tanısını koymada bronşial provokasyon testlerinden yararlanılır. Bu amaçla birçok provokasyon yöntemi kullanılır. En sık kullanılanlar; metakolin, histamin ve egzersiz provokasyon testleri olup, soğuk hava, allerjen uygulanması ile de provokasyon yapılabilir (128). Bu ölçümler astım tanısı için sensitifler ancak spesifiteleri düşüktür (129). Bu durum, negatif testin persistan astım tanısını dışlamada faydalı olduğunu ancak pozitif testin hastanın her zaman astım olduğunu göstermediğini ifade etmektedir. Çünkü hava yolu aşırı duyarlılığı allerjik rinitte (130), bronşektazide ve kronik obstruktif akciğer hastalığında da görülebilmektedir (131). Astımlı bazı çocuklar sadece egzersizle indüklenen semptomlara sahiptirler. Bu grupta egzersiz testi tanıda faydalıdır. Altı dakikalık koşu protokolü klinik pratikte oldukça kolay uygulanmaktadır. Yapılan zorlu egzersizi takiben tekrarlanan SFT'de FEV1 değerinde %20'den fazla düşme olması astım tanısını destekler (132).

c. Deri testleri:

Uygun teknikle hazırlanmış standardize spesifik allerjenin lokal uyarısı ile deriye uygulanan provokasyon testleridir. Deriye verilen allerjen derideki mast hücrelerinin yüzeyindeki antijen spesifik Ig E moleküllerine bağlanarak, histamin ve diğer mediatörlerin salınımına neden olur (133).

Epidermal deri testleri; akarlar, ot, ağaç ve tahıl polenleri, yabancı otlar, tüyler, hayvan epitelleri, mantarlar, kakao, hamam böceği, lateks antijenleri, pozitif kontrol olarak histamin, negatif kontrol olarak salin kullanılarak her iki kolun volar yüzünde veya sırtta epikutanöz prik yöntemle uygulanmaktadırlar (134). Prik testi metoduna göre ön kolun volar yüzüne veya sırtta allerjen ekstraktı damlatılır, bir lanset ile bu damlanın içinden yüzeye dar açı yapılacak şekilde epidermise ulaşılır, lansetin ucu yukarı doğru kanatmadan hafifçe çekilir (135). Sonuçlar 10-20 dakika sonra Aas ve Belin kriterlerine göre değerlendirilmektedir (134). Testin duyarlılığı %95'in

üstündedir (133). Özelliği; kolay ve hızlı uygulanabilmesi, ucuz ve yüksek sensitiviteye sahip olmasıdır. Yine de yanlış negatif ve yanlış pozitif sonuçlar olabilir (136). Buna göre histamin kadar ödem yapan reaksiyon (3+), histaminin iki katı büyüklüğünde ödem yapan reaksiyon (4+), histaminin yarısı kadar ödem yapan reaksiyon (2+), negatif ve (2+) arasında kalan reaksiyon ise (1+) olarak kabul edilmektedir. İnfant ve küçük çocuklarda histamin ve allerjenlerle deri reaktivitesi düşüktür. Bu nedenle, altı aydan küçük çocuklarda, yaygın egzema ve dermatografizmi olanlarda, aşırı duyarlılık nedeni ile anafilaksi riski taşıyanlarda, serumda allerjen spesifik IgE tayini yapılabilir (137).

Prik testin negatif olduğu, ancak öykünün pozitif olduğu durumlarda intradermal testlerin yapılması tavsiye edilmektedir. İntradermal testte prik testte kullanılan konsantrasyonun dilüe edilmiş formları (1:100/1:1000) kullanılır. Allerjen ekstresi 0.5-1 mL tüberkülin enjektörü ile 26-37 Gauge iğne kullanılarak intradermal olarak uygulanmaktadır. İğnenin ucu cilde 45°'lik açı ile tutulur, yaklaşık 0.01- 0.05 mL allerjen 2-3 mm çaplı bir kabarcık oluşturacak kadar enjekte edilir. Prik testlerin en önemli dezavantajı yalancı negatif sonuç elde etme oranının daha yüksek oluşu iken, intradermal testlerde yalancı pozitiflik oranı prik teste göre daha fazladır (138).

ç. Total eozinofil:

Eozinofillerin; hava yolu epitel hasarında rol oynadığı, akciğer fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkileri gösterilmiştir. Martinez ve arkadaşları tarafından artmış eozinofil sayısının, çocuklarda gelecekteki artmış astım riskinin bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir (124).

d. İmmunglobulin E:

Çocukluk çağındaki IgE düzeyleri; yaş, genetik yapı, çevresel etkenler ve paraziter hastalıklar gibi birçok faktöre bağlıdır (139). Bazı çalışmalarda, artmış IgE; astım ciddiyeti, tekrarlayan hışıltı ve bronş hiperreaktivitesi gelişimi için risk faktörü olarak bulunmuştur (140).

2.6. Bronşial astımda tedavi

Astım tedavisinin amacı klinik kontrolü sağlamak ve devam ettirmektir. Tedavide kullanılan ilaçlar rahatlatıcılar ve kontrol edici ilaçlar olarak iki gruptur. Kontrol ediciler özellikle antiinflamatuvar etkileri ile astımı klinik kontrol altında tutan, günlük alınan ve uzun dönem

kullanılan ilaçlardır. Rahatlatıcılar ihtiyaç halinde kullanılan, bronkokonstruksiyonu hızlıca düzelterek semptomları düzelten ilaçlardır (16).

2.6.1. İlaçların uygulama yolu:

İnhalasyon yolu ile tedavi tüm yaşlardaki çocuklarda temeldir. Etkatif tedavi için farklı yaş gruplarında farklı inhalelerin seçimi önemlidir (141). Genel olarak ölçülü doz inhalelerin (ÖDİ) aracı tüp ile kullanımı; uyumunun daha iyi olması, akciğerde daha iyi depolanması, daha az yan etki yaratması ve daha ucuz olması nedeni ile nebulize tedaviye tercih edilmektedir. Aracı tüpler normalde orofarinkste depolanacak olan ilaç partiküllerinin tutulmasını sağlayarak oral ve gastrointestinal emilimi ve sistemik dağılımı azaltırlar. Nebulizatörler pahalıdır, vakit gerektirirler, inhale ilaçları kullanamayan hastalarda kullanılmalıdır (16,142).

2.6.2. Astımda kullanılan kontrol edici ilaçlar:

Çocuklarda kontrol edici ilaçlar inhale ve sistemik steroidleri, lökotrien düzenleyicileri, uzun etkili inhale $\beta 2$ agonistleri, teofilini, kromonları ve uzun etkili oral $\beta 2$ agonistleri içerir.

a. İnhalasyon glukokortikosteroidler:

İnhale steroidler en etkili kontrol edici ilaçlardır ve tüm yaşlardaki çocukların tedavisinde önerilmektedirler. Çocuklarda yapılan çalışmalar düşük doz inhale steroidlerin (örn 100-200 μ g budesonid/gün) semptomlarda ve SFT'de belirgin ve hızlı bir düzelme sağladığını göstermiştir. Hafif hastalık, bu dozlarda çoğunlukla kontrol edilebilmektedir (143). Az miktarda hasta daha yüksek inhale steroid dozlarına ihtiyaç duymaktadır. İnhalasyon steroidlerle tedavi, astım semptomlarını kontrol etmekte, alevlenme sıklığını azaltmakta ve yaşam kalitesini, solunum fonksiyonlarını, bronş aşırı duyarlılığını, egzersizin indüklediği bronkokonstruksiyonu düzeltmektedir. Semptom kontrolü ve solunum fonksiyonlarında düzelme hızla olmakta (bir-iki hafta sonra), hava yolu aşırı duyarlılığı ise aylar sonra düzelmektedir (144).

İnhale steroidler tedavinin ilk yılında büyüme hızında geçici bir duraksamaya neden olmaktadır (16,145). 200 μ g ve altında budesonid kullanımı ile hipotalamo-pitüiter-adrenal aks süpresyonu gelişmemektedir (144). Ancak çok yüksek doz inhale steroid kullanımı ile çocuklarda adrenal kriz bildirilmiştir (146). Olguların şeklinde inhale steroidlere bağlı agresif davranışlar, hiperaktivite, insomnia bildirilmiştir (144). İnhalasyon steroidlere bağlı görülebilen oral kandidiasis, aracı tüp kullanımı ve ağız çalkalama ile azaltılabilir (147).

b. Lökotrien düzenleyiciler:

Lökotrien düzenleyiciler astım hastalarında klinik fayda sağlamaktadırlar ancak bu etkinlikleri düşük doz inhale steroidlerden genellikle daha az olmaktadır (148). Düşük doz inhale steroidler ile astımı kontrol altına alınamayan çocuklarda inhale steroidlere ek olarak verilen lökotrien düzenleyiciler klinik düzelme sağlayabilmekte, alevlenmeleri azaltabilmektedir. Egzersizin indüklediği bronkokonstrüksiyonu saatler içinde kısmen önleyebilmektedirler (149). Aynı zamanda bu ilaçların intermittan astım öyküsü olan 2-5 yaş arasındaki çocuklarda virüslerle tetiklenen astım alevlenmelerini azalttığı gösterilmiştir (150). Çocuklarda herhangi bir yan etkileri bildirilmemiştir.

c. Uzun etkili β 2 agonistler:

Astımı kontrol altına alınamayan >5 yaş çocuklarda idame tedavide inhale steroide ek olarak veya ağır egzersiz öncesinde tek doz şeklinde kullanılabilir. Tek başına uzun etkili β 2 agonistlerle idame tedavisi önerilmemektedir (151). Kullanımları ile SFT'de belirgin düzelme sağladığı ispatlanmıştır (152). Beş yaş altı çocuklarda kullanımına dair yeterli veri bulunmamaktadır (16). Uzun etkili β 2 agonistler çocuklarda iyi tolere edilmekle birlikte doktor tarafından önerildiği şekilde, uygun dozda inhale steroidle birlikte tercihan tek bir inhaler içinde verilmelidir.

ç. Teofilin:

Astımlı çocuklarda tek başına veya inhale-oral steroidlere ek olarak verildiğinde etkili olduğu gösterilmiştir. Gece ve gündüz semptomlarını kontrol etmede ve solunum fonksiyonlarını düzeltmede plasebodan üstündür (153). Ancak teofilinin etkinliği düşük doz inhale steroidten daha azdır. Çocuklarda teofilinin kullanımını öneren çoğu klinik veri, teofilinin terapötik aralıkta (5-20 μ g/ml) kullanıldığı çalışmalardan elde edilmiştir.

Teofilin eliminasyonu bireyler arasında on kata kadar farklılık gösterebilmektedir bu nedenle kan düzeyinin bakılması önemlidir. En sık görülen yan etkiler iştahsızlık, bulantı, kusma, baş ağrısıdır. Santral sinir sistemi stimülasyonu, çarpıntı, taşikardi, aritmi, karın ağrısı, ishal ve nadiren gastrointestinal sistemde kanamaya neden olabilir. Çok yüksek dozlarda kullanımı fatal olabilir (16).

d. Kromonlar (Sodyum kromoglikat ve nedokromil sodyum):

Sodyum kromoglikat ve nedokromil sodyumun çocuklardaki astımın uzun süreli tedavisinde rolleri sınırlıdır. Sodyum kromoglikatla uzun süreli tedavinin plasebo ile tedaviden

üstün olmadığı bir metaanalizde gösterilmiştir (154).

Tek doz halinde verilen sodyum kromoglikat ve nedokromil sodyumun egzersiz veya soğuk hava ile meydana gelen bronkospazmı azalttığı gösterilmiştir (155). Sodyum kromoglikat ile tedavi edilen hastaların az bir kısmında öksürük, boğazda irritasyon, bronkokonstrüksiyon görülebilir. Kötü tat, başağrısı, bulantı nedokromilin en sık görülen yan etkileridir (156).

e. Uzun etkili oral β_2 agonistler:

Yavaş salınan preparatlardan salbutamol, terbutalin, bambuterol gibi uzun etkili oral β_2 agonistlerle tedavi astımın gece semptomlarını azaltır (157). Kardiovasküler stimülasyon, anksiyete, tremor gibi yan etkilerinden dolayı kullanımları tavsiye edilmemektedir (158).

f. Sistemik steroidler:

Astımlı çocuklarda oral steroidlerin kullanımı, uzun dönemde görülen yan etkilerinden dolayı sadece akut astım ataklarına ve ağır astımlılara sınırlandırılmıştır (16).

g. Anti IgE tedavisi:

Anti IgE (omalizumab) sadece yüksek serum IgE düzeyi olan hastalar için kullanılabilen bir tedavi seçeneğidir. İnhal steroidler ile kontrol altına alınamayan ağır allerjik astımlı hastalarda kullanılabilir. Kullanımı ile birlikte daha az astım semptomu görüldüğü, rahatlatıcı ilaç ihtiyacının azaldığı ve daha az atak yaşandığı bildirilmiştir (159).

Yaşları 11-50 arasında olan ve halen steroid (inhale ve/veya oral) ve uzun etkili β_2 agonist tedavisi alan astımlı hastalarda tedaviye eklenmesi güvenilir bulunmuştur (160).

ğ. Allerjen spesifik immunoterapi:

Uygun immunoterapi tedavisi için allerjik yakınmalardan sorumlu olduğu düşünülen iyi tanımlanmış tek bir allerjenin tespiti ve toleransın indüklenmesi amacı ile bu allerjenin giderek artan dozlarda verilmesi gerekmektedir. Spesifik immunoterapinin plasebo ile karşılaştırıldığı 75 randomize kontrollü çalışmanın değerlendirildiği bir Cochrane analizinde bu tedavinin allerjene spesifik ve nonspesifik hava yolu aşırı duyarlılığını düzelttiği, semptom skorlarını ve medikal tedavi ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir (161).

Bununla birlikte faydaları yanında yan etki riskleri ve uzun süreli bir tedavi oluşunun getirdiği sıkıntılar değerlendirilmelidir. Spesifik immunoterapi; allerjenlerden sıkı bir şekilde korunan ve inhale steroid dahil ilaç tedavilerine rağmen astımı kontrol altına alınamayan hastalar için düşünülmelidir (162). Spesifik immunoterapi uygulanmasına bağlı olarak lokal ve sistemik yan etkiler görülebilir. Erken dönemde enjeksiyon alanına lokalize kızarıklık, kabarıklık

olabileceği gibi büyük, ağrılı, geç allerjik yanıtı düşündüren reaksiyonlar da görülebilir. Sistemik etkiler yaşamı tehdit eden anafilaktik reaksiyonları ve ağır astım ataklarını içerir (16).

2.6.3. Astımda rahatlatıcı ilaçlar:

a. Hızlı başlangıçlı inhale $\beta 2$ agonistler ve kısa etkili oral $\beta 2$ agonistler:

Kısa etkili inhale $\beta 2$ agonistler, günümüzdeki en etkili bronkodilatör ajanlardır. Tüm yaşlardaki çocuklarda akut astımın tedavisinde öncelikle tercih edilen ilaç grubunu oluşturmaktadırlar. İn hale yolla, oral ve intravenöz yola göre daha düşük dozlarda ilaç kullanılmakta, daha az yan etki görülmekte ve bronkodilatasyon daha hızlı oluşmaktadır (163). İskelet kas tremoru, baş ağrısı, çarpıntı ve hafif ajitasyon yüksek doz $\beta 2$ agonistler ile görülen en sık yan etkilerdir (164).

2.7. Astım kontrolü:

Her hasta; tedavi rejiminin belirlenmesi, tedavi uyumu ve astım kontrol derecesi açısından değerlendirilmelidir. Astım kontrol derecesini belirlemeye yarayan Global Initiative for Asthma (GINA) 2008 rehberliğinde düzenlenen Tablo 6 aşağıda verilmiştir (16).

Tablo 6. Astım kontrol derecesinin belirlenmesi

Astım Kontrol Derecesi			
Karakteristik	Kontrol altında (hepsi)	Kısmen kontrol altında	Kontrolsüz
Günlük semptomlar	Yok (haftada ≤ 2)	Haftada >2	Herhangi bir haftada kısmen kontrol altında olma kriterlerinden ≥ 3 görülmesi
Aktivite kısıtlaması	Yok	Herhangi biri	
Gece semptomları	Yok	Herhangi biri	
Rahatlatıcı ilaç ihtiyacı	Yok (haftada ≤ 2)	Haftada >2	
Solunum fonksiyonları	Normal	$< \%80$	
Atak	Yok	Yılda ≥ 1	

2.7.1. Astım kontrolünün sağlanması:

Hastanın astım kontrolünün derecesi ve almakta olduğu tedavi, ilaç seçimini belirler. Örneğin hasta o an almakta olduğu ilaç ile kontrol altında değil ise, astım kontrol altına alınıncaya dek tedavide basamak arttırılır. Astımda en az üç ay kontrol sağlanmış ise tedavide basamak inilir ve kontrolün sağlandığı en düşük doz ile devam edilir. Basamak 1'den Basamak 5'e kadar olan basamaklarda artan etkinlikteki tedavi seçenekleri sunulmaktadır (16).

2.7.2. Astım tedavi basamakları:

a. Basamak 1 (İhtiyaç halinde rahatlatıcı ilaç): Haftada ≤ 2 , kısa süreli (birkaç saat) gündüz semptomu olan Basamak 1'deki hastaların çoğu için önerilen tedavi ihtiyaç halinde hızlı etkili inhale $\beta 2$ agonisttir (165). Lökotrien düzenleyiciler, kromonlar alternatif ilaçlardır (166,167).

b. Basamak 2 (Tek kontrol edici ilaç + rahatlatıcı ilaç): Basamak 2'den 5'e kadar tüm basamaklarda kontrol edici ilaç tedavisi ile beraber ihtiyaç halinde rahatlatıcı ilaç kullanılır. Basamak 2'de tüm yaş grupları için düşük doz inhale steroidler ilk seçenekte düşünülmesi gereken ilaçlardır (168). Lökotrien düzenleyiciler alternatif kontrol edici ilaçlardır (169).

c. Basamak 3 (Rahatlatıcı ilaç + bir veya fazla kontrol edici ilaç): Adolesanlar için önerilen tedavi düşük doz inhale steroid ve uzun etkili inhale $\beta 2$ agonist kombinasyonudur (170). Özellikle ≤ 5 yaş çocuklar için kombinasyon tedavisi çok fazla çalışılmamıştır (171). Çocuklar için önerilen başka bir alternatif de inhale steroidleri orta doza yükseltmektir (172). Bu basamaktaki diğer bir seçenek de düşük doz inhale steroidi lökotrien düzenleyiciler ile kombine etmektir (173). Alternatif olarak düşük doz yavaş salımlı teofilin de kullanılabilir (174).

ç. Basamak 4 (Rahatlatıcı ilaç + iki veya fazla kontrol edici ilaç): Bu basamakta tercih edilen tedavi orta veya yüksek doz inhale steroidlerin uzun etkili inhale $\beta 2$ agonistler ile kombinasyonudur (16). Orta doz inhale steroid ve uzun etkili $\beta 2$ agonist ve/veya üçüncü bir kontrol edici ilaca rağmen (lökotrien düzenleyiciler veya yavaş salımlı teofilin) astım kontrolünün sağlanamaması durumunda 3-6 aylık bir süre için yüksek doz inhale steroidlerin verilebileceği bildirilmektedir (175).

d. Basamak 5 (Rahatlatıcı ilaç + ek kontrol edici ilaçlar): Diğer kontrol edici ilaçlara oral steroidlerin eklenmesi yararlı olabilir ancak bu durumda ciddi yan etkiler gözlenebileceğinden 4. basamakta astımı hiç kontrol altına alınamayan, günlük aktiviteleri kısıtlayan semptomları olan ve sık atak geçiren hastalar için düşünülmalıdır (176). Astım tedavi basamakları Tablo 7'de verilmiştir (16).

Tablo 7. Astım tedavi basamakları

Azaltma		TEDAVİ BASAMAKLARI			Arttırma
Basamak 1	Basamak 2	Basamak 3	Basamak 4	Basamak 5	
Astım eğitimi, çevre kontrolü					
Gerektiğinde hızlı etkili β 2 agonist					
	Birini seç	Birini seç	Bir veya fazla ekle	Bir veya ikisini ekle	
	Düşük doz inhale steroid	Düşük doz inhale steroid + uzun etkili β 2 agonist	Orta - yüksek doz inhale steroid + uzun etkili β 2 agonist	Oral steroid (en düşük doz)	
	Lökotrien düzenleyici	Orta - yüksek doz inhale steroid	Lökotrien düzenleyici	Anti IgE tedavisi	
		Düşük doz inhale steroid + lökotrien düzenleyici	Yavaş salımlı teofilin		
		Düşük doz inhale steroid + yavaş salımlı teofilin			

2.7.3. Astım kontrolünün devam ettirilmesi

Astım kontrolü sağlandıktan sonra kontrolün devamlılığı ve maliyeti azaltan, güvenilirliği arttıran ve hastalık için gerekli olan en düşük dozun tespiti için izlem gereklidir (16).

Astım tedavisinde basamak azaltılması için son öneriler şu şekildedir:

- Orta veya yüksek doz inhale steroidler tek başına kullanılıyor ise üç ay aralar ile dozda %50 azaltma yapılmalıdır (177).
- Düşük doz inhale steroidler ile kontrol sağlanmış ise tedavi günde tek doza düşülebilir (178).
- Astım kontrolü inhale steroid ve uzun etkili β 2 agonist ile sağlandı ise, önerilen öncelikle inhale steroid dozunu %50 azaltmaktır. Bir başka alternatif de kombinasyon tedavisini tek doza düşmektir.
- Hastanın astımı en düşük doz kontrol edici ilaç ile kontrol altında ise ve bir yıl boyunca astım

semptomları tekrar etmedi ise tedavinin kesilmesi önerilir.

2.8. Astım atağı

Astım atağı veya akut astım; nefes almada zorluk, öksürük, hışıltı ve göğüste sıkışma gibi semptomlarla karakterizedir. Astım ataklarında PEF veya FEV1 gibi akciğer fonksiyonlarının ölçümü ile gösterilebilen ekspiratuvar hava akımında azalma mevcuttur (179). Bu ölçümler hava akımındaki kısıtlamanın ağırlığını semptomlara göre daha güvenilir şekilde gösterirler. Bununla birlikte semptomlar, alevlenmenin başlangıcını göstermede daha sensitif olabilirler çünkü semptomları genellikle PEF'te bozulma takip eder (180).

Allerjenler, hava kirliliği, solunum yolu enfeksiyonları, egzersiz, hiperventilasyon, duygusal stres, hava değişikliği, gastroözefageal reflü, hormonal değişiklikler, bazı besinler, katkı maddeleri ve ilaçlar astım atağını tetikleyebilmektedir.

Atakta kısa öykü alınmalı, fizik muayene ve laboratuvar çalışmalarından da yararlanılarak atak şiddeti belirlenmelidir. Tablo 8'de GINA 2008 rehberliğinde atak şiddetinin sınıflandırılması verilmiştir (16). Atağın başlama zamanı ve nedeni, semptomların ağırlığı, kullanılmakta olan ve atak nedeniyle başlanan ilaçlar ve dozları, tedavi yanıtları, astımla ilişkili ölüm için risk faktörleri sorgulanmalıdır.

Tablo 8. Atak Şiddetinin Sınıflandırılması

	Hafif	Orta	Ağır	Hayatı tehdit edici
Nefes darlığı	Yürürken Yatabilir	Konuşurken (kısa ağlama, beslenme güçlüğü) Oturmayı yeğler	Dinlenirken Beslenemez Dik oturur	
Konuşma	Cümlelerle	Birkaç sözcükle	Kelimelerle	
Bilinç	Ajite olabilir	Genellikle ajitedir	Genellikle ajitedir	Konfüzyona eğilimli
Solunum hızı Normal solunum hızları: < 2 ay < 60/dk 2-12 ay < 50/dk 1-5 yaş <40/dk 6-8 yaş <30/dk	Artmış	Artmış	Genellikle >30/dk	
Yardımcı solunum kas kullanımı	Genellikle yok	Genellikle	Genellikle	Paradoksal solunum
Hışıltı	Orta, sıklıkla sadece ekspiryum sonunda	Yüksek sesle	Genellikle yüksek sesle	Hışıltı duyulmaz
Nabız/dk Normal kalp hızları: 2-12 ay <160/dk 1-2 yaş <120/dk 2-8 yaş <110/dk	< 100	100-200	> 120	Bradikardi
Pulsus paradoksus	Yok < 10 mmHg	Olabilir 10-25 mmHg	Genellikle 20-40mmHg	Olmaması solunum kas yorgunluğunu düşündürür
PEF (ilk bronkodilatör sonrası) % beklenen veya % kişisel en iyisi	> % 80	% 60-80	< % 60	
PaO ₂ ve/veya PaCO ₂ (Oda havası)	Normal (Genellikle test gerekli değil) <45 mmHg	> 60 mmHg <45 mmHg	< 60mmHg (muhtemel siyanoz) ≥ 45mmHg (muhtemel solunum yetmezliği)	
SaO ₂ (oda havası)	> % 95	% 91-95	< %90	

Öncesinde entübasyon ve mekanik ventilasyon gerektiren atağı olanlar, astım nedeni ile son yıl içinde acil servise başvuran veya hastaneye yatırılanlar, oral glukokortikosteroidi kullanmakta olan veya yeni kesen hastalar, o esnada inhale steroid tedavisi almayanlar, aşırı doz kısa etkili β_2 agonist alanlar (ayda >1 tüp), psikiatrik hastalığı olan ve astım tedavi planına uyum göstermeyen hastalar astımla ilişkili ölüm için risk altındadırlar.

Fizik muayenede kalp ve solunum hızı belirlenmeli, pulsus paradoksus, aksesuar kasların kullanımı değerlendirilmeli ve pnömoni, atelektazi, pnömotoraks gibi komplikasyonlar teşhis edilmelidir (16). Oksijen (O_2) saturasyonunun <%92 olması hastaneye yatış gereksiniminin önemli bir belirleyicisi olarak kabul edilmektedir (181). Akciğer filminin çekilmesi parankim hastalığını düşündürecek fizik muayene bulgularının olmaması halinde rutin olarak önerilmemektedir (182). İlk tedaviye yanıt vermeyen, PEF değerleri beklenen değerlerin %30-50'si olan, yüksek akımlı O_2 verildiği halde O_2 saturasyonu <%90, PaO_2 <60 mmHg, $PaCO_2$ >45 mmHg saptanan hastalar için kan gazı ölçümü önerilmektedir (16,183).

2.8.1. Astım atak tedavisinde kullanılan ilaçlar:

a. O_2 Tedavisi:

O_2 saturasyonu \geq %95 tutulmaya çalışılmalıdır. Destekleyici O_2 nazal kanül veya maske ile verilmeli, O_2 tedavisi oksimetreye göre ayarlanmalıdır (16,184).

b. β_2 Agonist Tedavisi (İnhale/Parenteral):

ÖDI + aracı tüp, kuru toz inhaler, nebulizer yardımı ile kullanılan β_2 agonist solusyonları gibi inhaler yolla kullanılanlar ve kısa etkililer tercih edilmelidir (16). ÖDI + aracı tüp ile verilen β_2 agonist tedavisinin en az nebulizatör tedavisi kadar etkili bronkodilatasyona neden olduğu saptanmıştır (185). Hafif ve orta atakta ÖDI + aracı tüp 20 dakika ara ile üç kez 2-4 püskürtme verilmeli, klinik cevaba göre 1-4 saat aralıklarla devam edilmelidir. Daha şiddetli ataklarda 10 püskürtmeye kadar çıkılabilir.

Nebulizatörle verildiği zaman 0.15 mg/kg/doz (min: 1.25- maks 5 mg/doz) 20 dakika ara ile üç kez verilmeli ve klinik cevaba göre 1-4 saat aralıklarla devam edilmelidir (186). Standart tedaviye yanıt vermeyen ağır ataklarda nebulizatör ile sürekli inhalasyon uygulanmalıdır (salbutamol 0.5 mg/kg/saat, maks: 15mg/saat) (187). Ağır ataklarda sürekli inhale β_2 agonist

tedavisinin aralıklı tedaviye göre PEF'i daha fazla düzelttiği ve hastanede kalış süresini kısalttığı gösterilmiştir (188). Uzun etkili bronkodilatatör formoterolün etkisi hızlı başlar, yan etkileri arttırmaksızın kısa etkili β_2 agonistlere eş etkinlik sağlayabilir ancak pahalıdır (187). Ağır astım ataklarında intravenöz β_2 agonistlerin rutin kullanımını destekleyen bir veri yoktur (189).

c. Epinefrin:

Akut anjioödem veya anafilakside subkutan veya intramusküler epinefrin (adrenalin) kullanılabilir ancak akut astımda rutin olarak önerilmez (16).

ç. Antikolinergikler:

Kolinergik bronkospazmı önler. Nebulize β_2 agonist ve ipratropium bromide kombinasyonu tek ilaç kullanımına göre daha iyi bronkodilatasyon sağlamaktadır (190). Ancak hastanede kalış süresini veya yoğun bakıma yatış ihtiyacını azalttığı gösterilmediğinden atak nedeniyle hastanede yatan hastalar için standart tedavi olarak kabul edilmemektedir (191).

d. Sistemik Steroidler:

Atakta verilen kısa süreli sistemik kortikosteroidler inflamatuvar yanıtı engelleyerek ve bronş düz kasında β_2 reseptör cevabını artırarak etki gösterirler (16,192). Orta ve ağır astım ataklarında, özellikle de hızlı etkili β_2 agonistlerle düzelme kalıcı değilse, atak hasta oral kortikosteroid alırken geçirilmişse, daha önceki ataklarda oral kortikosteroid ihtiyacı olmuşsa kullanımı önerilmektedir (16). Oral yol İV yol kadar etkili, daha az invaziv ve ucuz olduğundan tercih edilmelidir (193). Hafif persistan astımlı çocukların alevlenmelerinde 1mg/kg/gün'lük oral steroid dozu çoğunlukla yeterlidir (194). İV giriş istenirse ve gastrointestinal emilim bozukluğu varsa İV, acil servisten taburcu edilen ve uyumu konusunda endişe duyulan hastalar için de İM yol kullanılabilir. Çocuklarda oral steroidin 3-5 günlük kullanımı yeterlidir ve dozun azaltılarak kesilmesi gerekmemektedir (195).

e. İnhal Steroidler:

Astım atağı nedeniyle acil servise başvuran hastalardan prednisolon ve inhale steroid ile taburcu edilenlerin sadece prednisolon ile taburcu edilenlere göre relaps oranının daha düşük olduğu gösterilmiştir (196). Ancak çalışmalar ağır astım atağında inhale veya nebule steroidlerin

sistemik steroidler yerine önerilmemesi gerektiğini göstermektedir (197).

f. Magnezyum:

Fizyolojik kalsiyum antagonistidir. Düz kaslarda kalsiyum içeri alımını etkileyerek kaslarda relaksasyona yol açar. Akut atakta rutin olarak kullanılması önerilmez. Başlangıç tedaviye yanıt vermeyen, 1. saatin sonunda beklenen FEV1 değeri %60 üzerine çıkarılamayan hastalarda önerilmektedir (198). İV 40 mg/kg (maks: 2gr) infüzyon halinde 20 dk'dan uzun sürede verilir. En sık bildirilen yan etki hipotansiyondur (199). Nebulize salbutamolün normal salin yerine izotonik magnezyum sulfatla birlikte verilmesinin daha etkili olduğu gösterilmiştir (200).

g. Metilksantinler:

Kısa etkili β_2 agonistlerin daha etkin ve daha güvenilir olması nedeni ile teofilin akut astım tedavisindeki rolü kısıtlıdır (201). Ağır ve fatal olabilen yan etkilere sahiptir (202).

ğ. İnhaler Heliox:

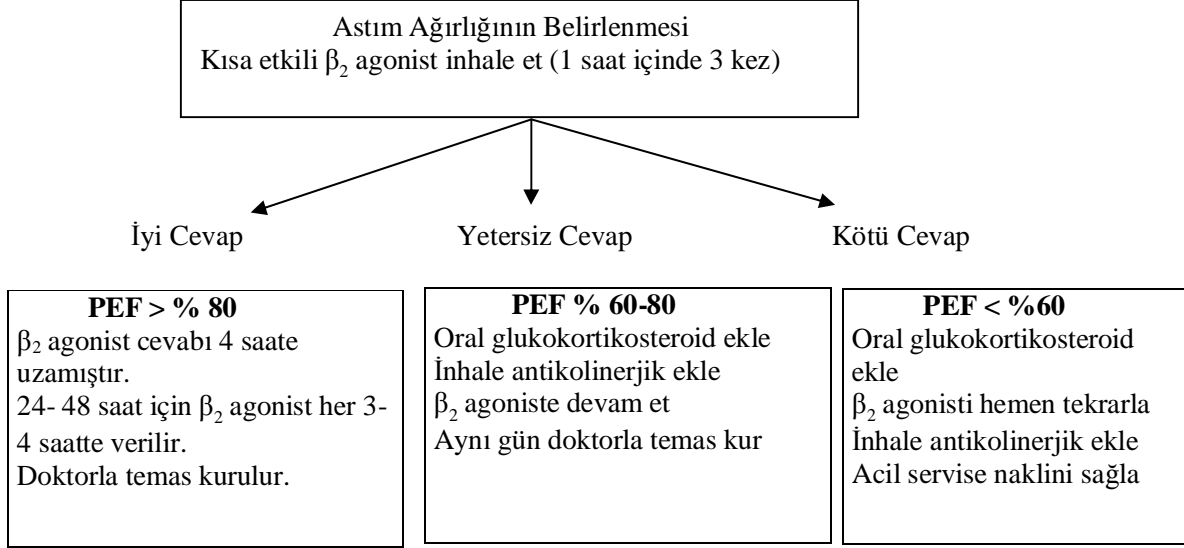
Helyum oksijen karışımının (heliox) akut astımlı hastaların başlangıç tedavisinde rolü yoktur. Ağır obstruksiyonu olan hastalarda fayda sağladığı bildirilmektedir (203).

2.8.2. Astım atağının tedavisi:

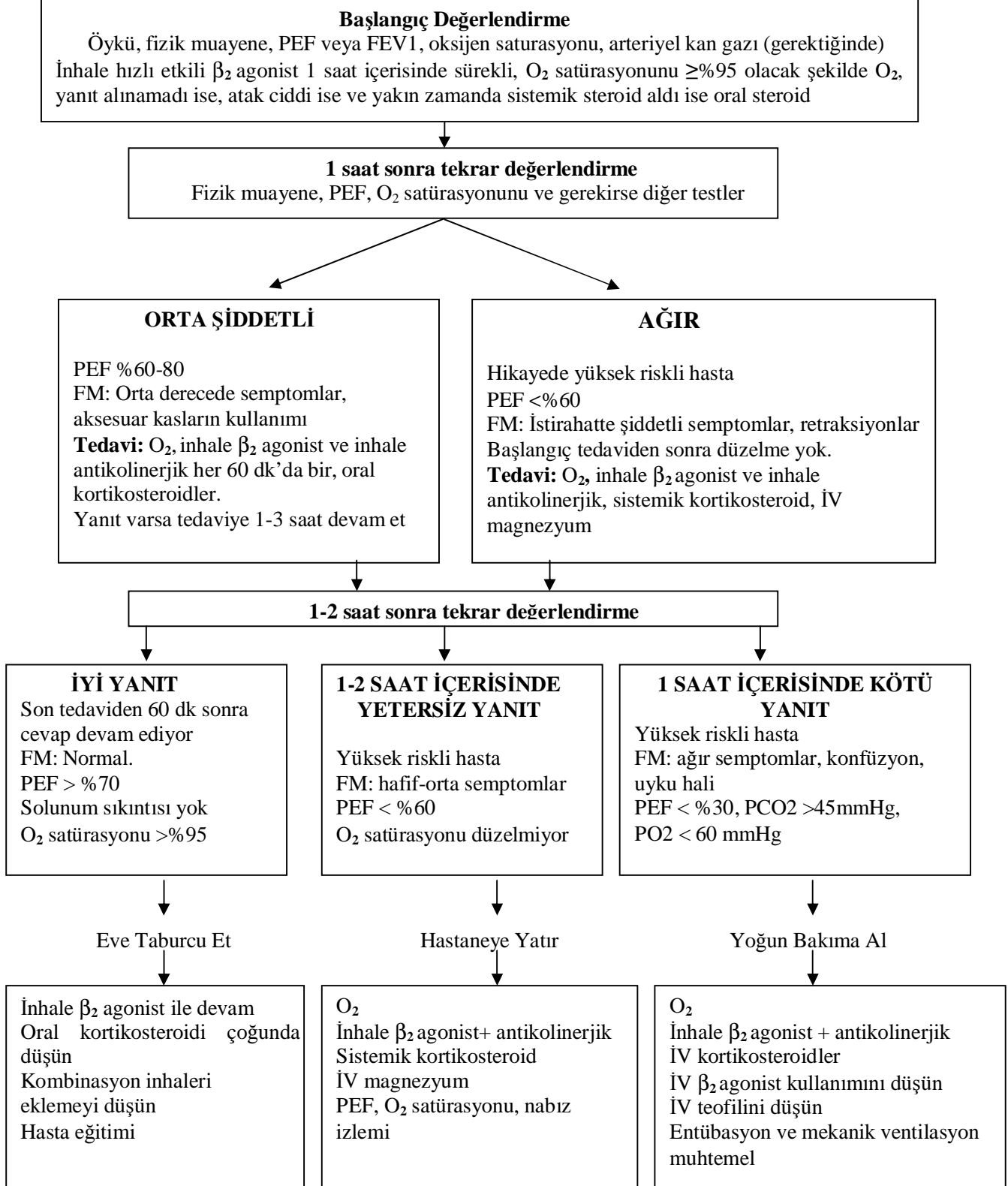
Astım atağının evdeki tedavisi Şekil 5'te, hastanedeki tedavisi Şekil 6'da GINA 2008 rehberliğinde özetlenmiştir (16).

Tedavi sonrası FEV₁ veya PEF değerleri, beklenenin >%60 ise veya %40-60 arasında ancak tedaviye uyumun iyi olacağı ve takibin yapılabileceği düşünülüyorsa taburculuk planlanabilir. Prednizolon 3-5 gün kullanılmalı, kısa etkili β_2 agonist tedaviye devam edilmeli, ipratropium bromide erken dönemde kesilmelidir. İnhaler kortikosteroidlere devam edilmeli veya kullanılmıyorsa başlanmalı, tedavi tekniği, atağa neden olan tetikleyici faktörler gözden geçirilmeli, taburculuktan sonraki ilk 24 saat içinde astımla ilgilenen uzman hekimle temas kurması sağlanmalıdır (17).

Şekil 5. Astım Atağının Evdeki Tedavisi



Şekil 6. Astım Atağının Hastanedeki Tedavisi



2.8.3. Astım atak tedavisinde kullanılan alternatif tedaviler:

Tamamlayıcı ve alternatif tıp (TAT) tedavilerinin birçoğunun etkinliğine dair çok sınırlı kanıtlar olmasına ve sağlık bakım maliyetlerini arttırmalarına karşın, özellikle son yıllarda kullanımları giderek artış göstermiştir (204). Herbal terapi, akupunktur, yoga, homeopati, kiropraktik tıp ve masaj astım tedavisinde kullanılan ancak etkinlikleri tartışmalı olan TAT yöntemlerindedir (205). Konservatif tedaviye ek olarak verilen lazer akupunktur tedavisinin akut astımlı çocuklarda fayda sağladığı gösterilmiştir (206). Hipnoterapi yine akut astımda denenilen tedavi yöntemleri arasındadır (207).

Bir eritromisin türevi olan telitromisinin akut astım tedavisinde fayda sağladığı gösterilmiştir (208). Telitromisin, steroidleri ve β_2 agonistleri inaktive eden sitokrom P-450 izoenzim 3A4'nın güçlü bir inhibitörüdür (209).

B tip natriüretik faktörün bronkodilatatör etkinliği nedeni ile astım tedavisine etkili olabileceği gösterilmiştir (210).

Bronşial termoplasti yeni tedaviler arasında yer almaktadır. Bronşial termoplastide bir katater ucundaki ısı kaynağı bronkoskop aracılığı ile proksimal hava yollarına ilerletilir ve hava yolu düz kas kalınlığını azaltmak amacı ile hava yolu yüzeyine kısa süreli 65°C ısı uygulanır (211). Bronşial termoplasti hava yolu düz kasının patolojik düzeylere ulaşan daralma kabiliyetini bozarak akut astım tedavisinde fayda sağlamaktadır (212).

Yine Rho kinaz inhibitörlerinin akut astımda kullanımı ile ilgili veriler mevcuttur (213).

2.8.3.1. Akut astım tedavisinde fosfodiesteraz inhibitörlerinin rolü:

Siklik nükleotidler özellikle cAMP, astımın patofizyolojisinde rol oynayan tüm hücre tiplerinde önemli düzenleyici rollere sahiptir (7). cAMP immün ve inflamatuvar hücrelerin aktivitelerini baskılar. Hücre içi cAMP düzeyleri; adenzin trifosfattan (ATP) adenilat siklaz ile cAMP yapımı ve siklik nükleotid PDE tarafından cAMP'nin yıkımı arasındaki denge sonucu belirlenir. PDE'lerin inhibisyonu ile artan hücre içi siklik nükleotid düzeyleri bronkodilatasyona ve akciğerdeki inflamasyonun inhibisyonuna neden olur (214). PDE inhibitörlerinin ayrıca erken ve geç faz allerjik astmatik yanıtı engelleyici etkileri de gösterilmiştir (215).

Metilksantin, teofilin gibi nonselektif PDE inhibitörleri bronşial astımın tedavisinde yıllardır kullanılmaktadır (216). Metilksantinlerin bu etkileri adenzin reseptör antagonizmi, hücre içi adenzin 3':5' siklik monofosfat konsantrasyonlarının artışı, düz kas üzerine direkt

relaksan etkileri ve inflamatuvar hücrelerden mediatör salınımının inhibisyonu ile gerçekleşmektedir (217). Bununla birlikte teofilinle tedavinin kardiyak disritmi, bulantı gibi daha çok PDE inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülen yan etkileri de mevcuttur. Son yıllarda belirgin antiinflamatuvar ve bronkospazmolitik özellikleri olup yan etkileri olmayan selektif PDE inhibitörlerinin geliştirilmesi üzerinde yoğun çalışmalar başlamıştır.

PDE farklı genlerle kodlanan 11 aileye ayrılmışlardır. Bunlar sadece fizyokimyasal ve biyokimyasal özellikleri ile değil spesifik organ sistemleri ve dokulardaki dağılımları ile de birbirlerinden farklılık göstermektedirler. Tablo 9’da PDE’leri sınıflandırılmıştır (218).

PDE ailesi prostosiklin ve NO’in ikincil habercileri olan cGMP ve cAMP’yi inaktive eden bir enzim ailesidir (8). PDE’lerden PDE5, PDE6 ve PDE9, cGMP hidrolizi için oldukça spesifiktir (219). Akciğer dokusu PDE’lerden zengin bir dokudur. PDE1’den PDE5’e kadar olan enzimler hava yollarında bulunmakla birlikte, hava yolu epitel hücrelerinde ağırlıklı olarak bulunanlar PDE4 ve PDE5’tir. PDE4 cAMP’nin %60-75’ini, PDE5 ise cGMP’nin %80’ini hidrolize eder (10). cAMP yıkımının PDE4 yolu ile inhibisyonu veya adenil siklazın stimülasyonu sonucu artan cAMP düzeyleri; protein kinaz C ve protein kinaz G aracılıklı bronkodilatasyona ve inflamatuvar hücre aktivitesinin baskılanmasına neden olur (6).

Bir PDE4 inhibitörü olan rolipram’ın cAMP düzeylerini arttırarak allerjen provakasyonu sonucu gelişen hava yolu inflamasyonunu, hava yolu aşırı duyarlılığını, erken ve geç astmatik yanıtı azalttığı hayvan modellerinde gösterilmiştir (5).

cAMP ve cGMP yolları arasında iletişim olduğu bildirilmektedir. Bunun en iyi örneği cGMP ile PDE3 inhibisyonunun olmasıdır (8). cAMP PDE5’i de inhibe eder ve cGMP düzeylerini arttırır, böylelikle hem cAMP hem de cGMP protein kinazı aktive eder (6). cAMP ve cGMP’nin mikrovasküler kaçış, inflamatuvar hücre aktivitesi üzerine benzer inhibitör aktiviteleri, cGMP yolu ile tedavinin de astımda umut vaatdebileceğini düşündürmektedir (9).

Hava yolu fonksiyonunun fizyolojik regülasyonunda önemli bir rol oynayabildiği düşünülen endojen NO’in hava yolu hastalıklarının patogenezinde rolü olduğu bildirilmektedir (220). NO çözümlü haldeki guanilat siklaz stimülasyonuna neden olan sinyal iletimi sağlayarak hücre içi cGMP birikimine ve vazodilatasyona neden olur (221). NO ayrıca hava yollarında hava yolu düz kas tonüsünün ve hava yolu aşırı duyarlılığının düzenlenmesi ve antiinflamatuvar etkileri gibi çeşitli fonksiyonlar da görür (222). İnhalasyon NO vasküler düz kasta cGMP düzeylerini arttırarak ventile olan akciğer bölgelerinde pulmoner vazodilatasyona neden olarak yenidoğanın

persistan pulmoner hipertansiyonunda ve primer pulmoner hipertansiyonda kullanılmaktadır. cGMP'nin PDE5 yolu ile akciğerlerde yıkımını engelleyen ajanlar, teorik olarak inhale NO'e benzer şekilde akut pulmoner hipertansiyonun tedavisinde kullanılabilirler (223). Sildenafil cGMP'ye spesifik bir PDE 5 inhibitörüdür (224).

Tablo 9. Fosfodiesteraz ailesi

İzoenzim ailesi	Substrat	Doku dağılımı	İnhibitör
PDE 1	cAMP	Beyin, akciğer, kalp	Vinpocetine
PDE 2	cAMP/cGMP	Beyin, adrenal korteks, karaciğer, goblet hücreleri, olfaktor sinirler	
PDE 3	cAMP	Düz kas, platelet, kalp kası, karaciğer	Milrinone
PDE 4	cAMP	Çok yaygın doku dağılımı	Rolipram
PDE 5	cGMP	Çok yaygın doku dağılımı: PDE5A1/A2: beyin, akciğer, kalp, böbrek, mesane, prostat, üretra, penis, uterus, iskelet kası, PDE5A3: kalp, mesane, prostat, üretra, penis, uterus	Papaverine, sildenafil, vardenafil, tadalafil, zaprinast
PDE 6	cGMP	Retina	
PDE 7	cAMP	İskelet kası, T lenfositler	
PDE 8	cAMP	Testis, over, gastrointestinal sistem	
PDE 9	cGMP	Dalak, gastrointestinal sistem, beyin	
PDE 10	cAMP / cGMP	Beyin, testis, tiroid	
PDE 11	cAMP / cGMP	Düz kas, kalp kası, prostat, hipofiz ve tükrük bezleri, testis, karaciğer, böbrek, iskelet kası	

2.8.3.1.a. Sildenafil:

Spesifik bir PDE 5 inhibitörü olan sildenafil, diğer PDE inhibitörlerine göre PDE5'i 80-8500 kat daha fazla inhibe etmekte, yine bir PDE5 inhibitörü olan zaprinasta göre de 240 kat daha potent olduğu bilinmektedir (225).

Sildenafil günümüzde seksüel disfonksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (218). Sildenafil mikrovasküler ve makrovasküler dilatasyonu sağlamış, primer ve sekonder pulmoner hipertansiyonun, koroner arter hastalığının ve reynaud fenomeninin tedavisinde olumlu sonuçlar vermiştir (226-229).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada metakolin inhale ettirilen bireylerde sildenafilin hava yolu aşırı duyarlılığını azalttığı gösterilmiştir ancak bu çalışmada hava yolundaki inflamasyon değerlendirilmemiştir (230). Toward TJ ve arkadaşları ilk kez astımlı Gine domuzlarına intraperitoneal sildenafil vermişler ve hava yolu aşırı duyarlılığında ve lökosit göçünde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ve NO düzeylerinde artma saptamışlardır (13). Bu literatürle birlikte ilk kez sildenafilin inflamasyonu ve hava yolu aşırı duyarlılığını inhibe ettiği ve astım tedavisinde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir. Sildenafilin yan etki açısından güvenilirliği astımda kullanılabilirliğini cazip hale getirmektedir.

Sistemik yol ile alınan sildenafille bağlı baş ağrısı, dispepsi, flushing, miyalji ve burun akıntısı gibi minör yan etkiler bildirilmiştir (231). PDE5'in akciğerde diğer dokulara göre daha fazla bulunması nedeni ile selektif olarak pulmoner vazodilatasyon yaptığı ancak minimal düzeyde hipotansiyona neden olabildiği bildirilmektedir (232). Çalışmalar 50-100 mg sildenafilin hemodinamik parametreleri olumsuz yönde etkilemediğini, hipotansiyon yapmaksızın çocuk olgularda bile güvenle uygulanabildiğini göstermektedir (233). Bununla birlikte inhalasyon yolu ile verilen ilaç tedavisi, oral ve intravenöz yola göre yan etkilerin azlığı, küçük dozlarda daha fazla lokal etkinlik sağlaması ve iyi ventile olan akciğer bölgelerine seçici dağılımının olması gibi çok sayıda avantaja sahiptir (234). Nebulize sildenafil literatürde iki çalışmada kullanılmıştır. Akut pulmoner hipertansiyonlu kuzularda nebulize olarak verilen sildenafilin sistemik vazodilatasyon yapmaksızın selektif olarak pulmoner vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir (14). Diğeri de kronik obstrüktif akciğer hastalığı oluşturulan farelerdeki kullanımındır (15). Ancak literatürde akut astım modelinde nebulize sildenafil kullanımına dair veriye rastlanmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney hayvanları:

Deney için 6-8 haftalık 18-20 gm ağırlığındaki erkek BALB/c fareler kullanıldı. BALB/c fareler ovalbumine yüksek IgE yanıtı olan farelerdir (235). T.C Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen fareler Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'na getirilerek deney sonuçlanana dek klimalı odalarda 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda metal korumalı fare kafeslerinde muhafaza edildi. Adlibitum olarak beslenen 35 adet fare kullanıldı. Çalışmada kullanılan BALB/c fareler Resim 2'de verilmiştir.

Bu çalışma için Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 103/2007 numaralı etik kurul onayı alınmıştır.

Resim 2. Çalışmada kullanılan BALB/c fareler



3.2. Çalışma Grupları:

Çalışmaya dahil edilen 35 fare her grupta 7 fare olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n=7): Ovalbumin (OVA) uygulanmayan kontrol grubu

Grup 2 (n=7): Kronik astım modeli oluşturulan grup

Grup 3 (n=7): Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup nebulize sildenafil uygulanan grup (0.07 mg/ml)

Grup 4 (n=7): Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup nebulize steroid (budesonid) uygulanan grup (0.25mg/ml)

Grup 5 (n=7): Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup plasebo olarak nebulize salin uygulanan grup

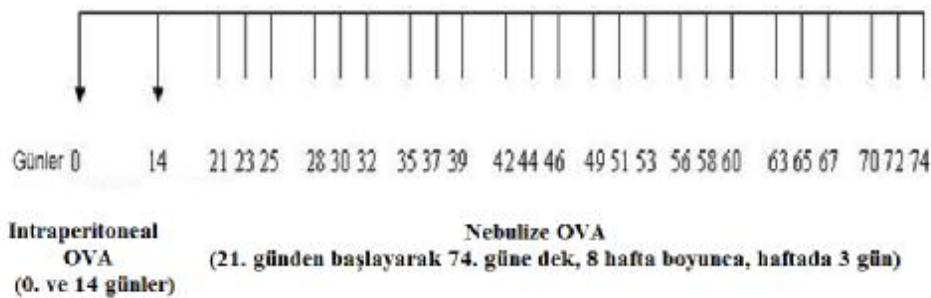
3.3. Kronik astım modelinin oluşturulması

Çalışmada Temelkovski ve arkadaşları tarafından tanımlanan kronik astım modeli kullanıldı (235). Kontrol grubu (Grup 1) dışındaki diğer tüm fareler 14 gün ara ile iki kez (Ovalbumin inhalasyonundan 21 ve 7 gün önce) 10µg intraperitoneal tavuk yumurta ovalbumin (OVA; Grade V, Sigma, St Louis, MO, USA) uygulanarak duyarlılaştırıldı. Kontrol grubundaki farelere aynı yol ve miktarda salin solusyonu uygulandı.

İntraperitoneal tavuk yumurta ovalbumini ile duyarlılaştırılan farelere son immunizasyondan 7 gün sonra (21. günde) başlamak üzere, günde 30 dakika süre ile haftanın üç günü, 8 hafta boyunca steril salin içindeki %2.5'lik ovalbumin solusyonundan oluşan aerol inhale ettirildi. İnhalasyon uygulamaları, jet nebulizatör ile bağlı 41x26x21 cm ebatlarındaki cam odacığın içine fareler gruplar halinde koyularak bütün vücut inhalasyon sistemi ile yapıldı. Bu nebulizatör sistemi ile verilen aerosol $\leq 4\mu\text{m}$ çapında $\geq 80\%$ partikül ayrışmasına olanak sağladı. Partikül konsantrasyonu 10-20mg/m³ idi. Kontrol grubundaki farelere de aynı sistem ile salin inhalasyonu yaptırıldı. Isının 20-25⁰C, relatif nem oranının ise %40-60 olması amaçlandı (235-236).

Şekil 7'de kronik astım modeli oluşturma protokolü verilmiştir.

Şekil 7. Kronik astım modeli oluşturma protokolü



3.4. Metakolin ile akut astım oluşturulması:

Grup 3, 4 ve 5'teki farelerde nebulize ovalbumin uygulamasının 75. gününde metakolin inhalasyonu ile akut atak oluşturuldu. Grup 2'ye kronik astım modeli oluşturulduktan sonra herhangi bir ilaç verilmedi.

Metakolin inhalasyon uygulamaları da ovalbumin inhalasyonunda olduğu gibi fareler jet nebulizatör ile bağlı cam odacığın içine koyularak bütün vücut inhalasyon sistemi ile yaptırıldı. Metakolin 6.25 – 12.5 ve 25 mg/ml konsantrasyonları 1'er saat ara ile 3 dk boyunca verilmesi ile inhale ettirildi. O₂ saturasyonu Nellcor N595 marka pulse oksimetre cihazı ile sırtı traş edilmiş farelerin cildinden her metakolin dozundan önce ve 5 dakika sonra ölçüldü (236). Metakolin inhalasyonundan 10 dakika sonra gruplara çalışma ilaçları (nebulize sildenafil, nebulize budesonid, nebulize salin) verildi. Verilen bu tedavilerden 15 dakika sonra üçüncü kez O₂ saturasyonu ölçüldü. Resim 3'te sırtı traş edilmiş fareler görülmektedir.

Resim 3. O₂ saturasyonu bakılmak üzere sırtı traş edilmiş fareler



3.5. Çalışma ilaçlarının verilmesi:

Oral biyoyararlanım ve toksikoloji çalışmalarından elde edilen dozlara göre sildenafilin 70 kg'lık insan dozu (1.43 mg/kg) sıçanlarda 47 mg/kg'a denk gelmektedir (237). BALB/c farelerinde de 50 mg/kg gibi yüksek dozlarda sildenafilin peroral kullanılabilirliği bildirilmektedir (238). Ancak inhalasyon yolu ile verilen ilaç tedavisinin küçük dozlarda daha fazla lokal etkinlik sağladığı bilinmektedir (234). Çalışmamızda, kronik obstrüktif akciğer hastalığı oluşturulan BALB/c farelerinde aerosol olarak kullanılmış olan 0.07 mg/ml sildenafil dozu temel alındı (239). Nebulize sildenafil (0.07mg/ml) 15 dakika boyunca Grup 3'e verildi. Sildenafil etken

madde olarak Fako İlaç Firmasından temin edildi. Sildenafilin nebulize formu henüz piyasada olmadığından daha önceki bir çalışmada olduğu gibi sildenafil tuzundan elde edildi (14). Sildenafilin 3.5 mg/mL distile suda çözündüğü bilinmektedir (240). Grup 4'e nebulize budesonid yine aynı yöntemle 15 dakika boyunca verildi (0.25mg/ml) (241). Grup 5'e plasebo olarak salin 15 dakika boyunca inhale ettirildi.

3.6. Hayvan yaşamını sonlandırma zamanı ve yöntemi

Astım atak oluşturulup tedavi verilen Grup 3, 4 ve 5'teki fareler, tedavi ilaçlarından 1 saat sonra 35 mg/kg ketamin ve 5mg/kg ksilazinin intraperitoneal olarak verilmesi ile anestezi altına alındı. Kalplerinden kanları alındıktan sonra hipovolemik şoka giren fareler sakrifiye edildi. Grup 1 ve Grup 2'deki fareler de eş zamanlı olarak aynı şekilde sakrifiye edildi.

3.7. Histolojik incelemeler:

Tüm farelerin sol akciğer orta zonundan alınan doku örnekleri, tedavi gruplarını bilmeyen iki histolog tarafından yapısal ve ultrayapısal değişiklikler açısından incelendi.

Elektron mikroskopik inceleme için 1-2 mm³'lük doku örnekleri ayrıldı.

Işık mikroskopik değerlendirme için örnekler %10'luk formalinde fikse edildi. Fiksasyon sonrası doku örnekleri rutin histolojik işlemler ile alınarak parafine gömüldü. Daha sonra parafin bloklar 5 mikrometre (µm) kalınlıktaki seri kesitlere bölündü. İlk kesit rastgele seçildikten sonra 10'ar kesit atlayarak her farede 10 kesit seçildi ve boyama işlemine alındı.

Işık mikroskopik değerlendirme için 3 farklı boyama işlemi uygulandı. Bir grup kesit hematoksilin ve eosin (H&E) ile boyandı. Bu kesitlerde doku yapıları ve orta ve küçük hava yollarının epitel kalınlıkları, subepitelyal düz kas kalınlıkları gibi morfometrik değerlendirmeler yapıldı. Bu ölçümler için hava yolu içeren her kesitteki 3'er alandan fotomikrograflar alındı. Fotomikrograflar, Olympus BH-2 RFCA model mikroskopa (Olympus Optical Co. Ltd, Tokyo, Japan) adapte olan digital kamera (JVC TK-890-E; JVC, Yokohama, Japan) ile çekildi (242). Morfometrik analiz UTHSCSA Image Tool for Windows (The University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA) Version 3.00 ile yapıldı. Epitel ve subepitelyal düz kas kalınlığı 2-3 farklı hava yolunun 8 farklı noktasından kalibre edilmiş mikrometrik ölçüm cihazı ile ölçüldü. Sonraki kesitler Toluidin Blue ve Periodic asit Schiff (PAS) ile boyandı. Toluidin Blue ile boyanan kesitlerin her birinden 5'er alan rastgele seçilerek fotoğrafları alındı.

Mast hücre sayımı için standart 16400 mikrometre karelik (μm^2) alan kullanıldı. Aynı metod her faredeki PAS ile boyalı 10'ar kesitte goblet sayımı için de kullanıldı. Her kesitte rastgele seçilen 3-5 hava yolu fotoğraflandı. Bu alandaki goblet hücre sayıları kaydedildi ve hava yolu çevresi ölçüldü. Standardizasyon için 100 mikrometre uzunluktaki goblet hücre sayımı; toplam goblet hücre sayısının toplam hava yolu çevresinin uzunluğuna bölünmesi ve sonucun 100 ile çarpılması ile elde edildi (243).

Doku örnekleri elektron mikroskopik değerlendirme için %2.5'luk gluteraldehit ve osmium tetraoksit ile fikse edildi. Ardından dokular Epon bloklara gömüldü. Solunum yolları yarı ince kesitlerden işaretlendi. Tam ince kesitler uranyl asetat ve kurşun sitrat ile boyandı. Bu değerlendirme için Libra 120 electron microscope (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany) kullanıldı. Fotomikrograflar mikroskoba adapte TRS Sharpeye Dual Speed CCD Camera (Troendle, Moorenwies, Germany) ile çekildi. Her farede 20 noktadan ölçülen solunum epitelinin bazal membran kalınlığı iTEM software package (version 5.0) (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Münster, Germany) programı kullanılarak elektron mikroskopu ile değerlendirildi (244).

3. 8. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 11 istatistik programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, Amerika Birleşik Devletleri) kullanıldı. Veriler her grupta yedi farenin ortalama (Ort) \pm standart deviasyon (SD) (minimum-maksimum) değerleri olarak verildi. Verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösterenler için tüm grup verilerinin bir arada karşılaştırılması Bonferonni düzeltilmeli tek yönlü ANOVA testi (tek yönlü varyans analizi) ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ alındı.

4. BULGULAR

Çalışma süresince herhangi bir nedenle çalışma dışında bırakılan veya ölen fare olmadı. Çalışma her grupta 7'şer fare olacak şekilde tamamlandı.

Astım oluşturulmayan kontrol grubunun (Grup 1) bazal membran kalınlığı 298.23 ± 36.33 nm (242.16 - 378.54), düz kas kalınlığı 6.66 ± 1.16 μ m (5.25-8.89), epitel kalınlığı 19.21 ± 1.32 μ m (17.05-20.84), mast hücre sayısı 0.93 ± 0.50 μ m² (0-1.6), goblet hücre sayısı 1.22 ± 0.98 μ m (0.11-3.4) olarak ölçüldü.

Kronik astım modeli oluşturulan Grup 2'nin bazal membran kalınlığı 660.14 ± 99.04 nm (487.23-759.32), düz kas kalınlığı 11.05 ± 2.06 μ m (7.65-13.44), epitel kalınlığı 32.33 ± 7.61 μ m (21.11-44.02), mast hücre sayısı 3.56 ± 1.14 μ m² (1.8-6) ve goblet hücre sayısı 7.69 ± 3.71 μ m (1.72-12.20) olarak ölçüldü.

Kontrol grubunun (Grup 1) bazal membran kalınlığı, düz kas kalınlığı, epitel kalınlığı, mast hücre sayısı ve goblet hücre sayısı kronik astım modeli oluşturulan Grup 2'nin bazal membran kalınlığı, düz kas kalınlığı, epitel kalınlığı, mast hücre sayısı ve goblet hücre sayısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.001$, $p=0.000$).

Bu sonuçlar kronik astım modelinin iyi bir şekilde oluştuğunu göstermekte idi. Tablo 10'da kontrol (Grup 1) ve kronik astım grubunun (Grup 2) histolojik verileri [Ort \pm SD (min-maks)] gösterilmiştir.

Tablo 10. Grup 1 ve 2'ye ait histolojik parametreler

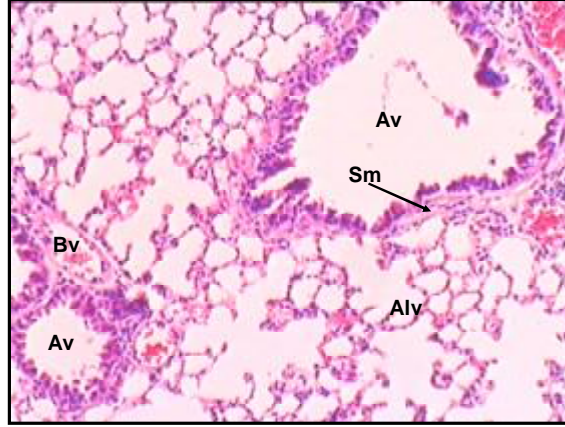
	Kontrol (Grup 1) (Ort±SD) (Min-Maks)	Astım (Grup 2) (Ort±SD) (Min-Maks)	p
Bazal membran kalınlığı (nm)	298.23 ± 36.33 (242.16-378.54)	660.14 ± 99.04 (487.23-759.32)	0.000
Düz kas kalınlığı (µm)	6.66 ± 1.16 (5.25-8.89)	11.05 ± 2.06 (7.65-13.44)	0.000
Epitel kalınlığı (µm)	19.21 ± 1.32 (17.05-20.84)	32.33 ± 7.61 (21.11-44.02)	0.000
Mast hücre sayısı / 16400 (µm²)	0.93 ± 0.50 (0-1.6)	3.56 ± 1.14 (1.8-6)	0.001
100 µm'deki Goblet hücre sayısı	1.2 ± 0.98 (0.11-3.4)	7.69 ± 3.71 (1.72-12.20)	0.000

(**Kısaltmalar:** Ort; Ortalama, min; minimum, maks; maksimum, nm; nanometre, µm: mikrometre)

Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan One-way Anova testinde p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

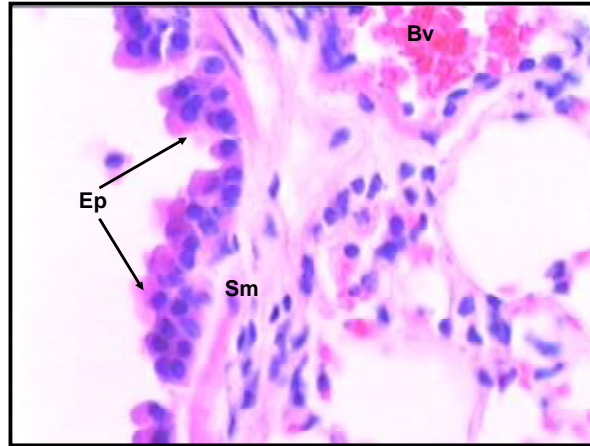
Grup 1 (kontrol) ve Grup 2'nin (kronik astım) akciğer ışık ve elektron mikroskopik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

Resim 4. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (H&E boyama)



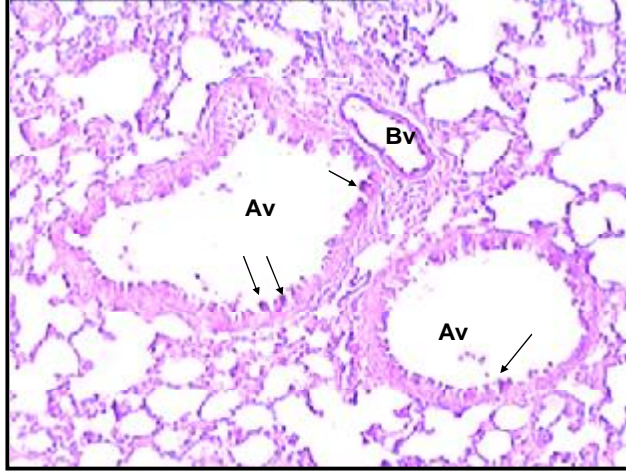
Küçük çaplı hava yolları ve çevreleyen epitel sağlam ve olağan görünümde. Hava yolunu çevreleyen düz kas tabakası (Sm) ince ve devamlı. Kan damarları ve çevreleyen parankim normal, alveol yapıları düzenli olarak izlenmektedir (H&E X 10). (Av: arter, Bv: damar kesitleri, Alv: alveoler alan)

Resim 5. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (H&E boyama)



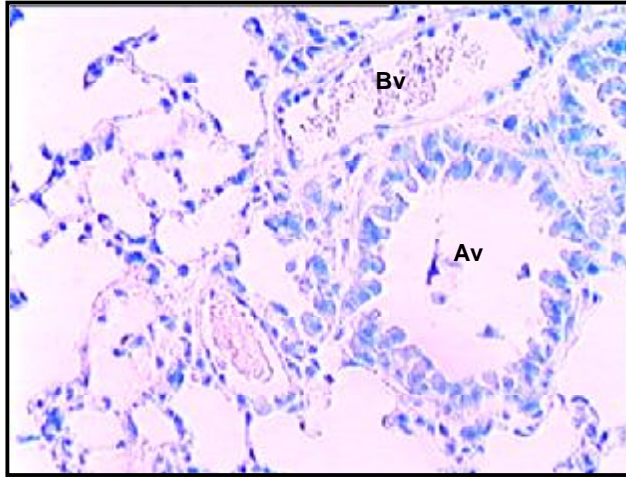
Büyük büyütmede hava yolu epiteli (Ep) düzenli ve sağlıklı olarak izleniyor. Damar yapısı ve akciğer parankimi sağlam (H&E X 40). (Bv: damar kesitleri, Sm: düz kas)

Resim 6. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS boyama)



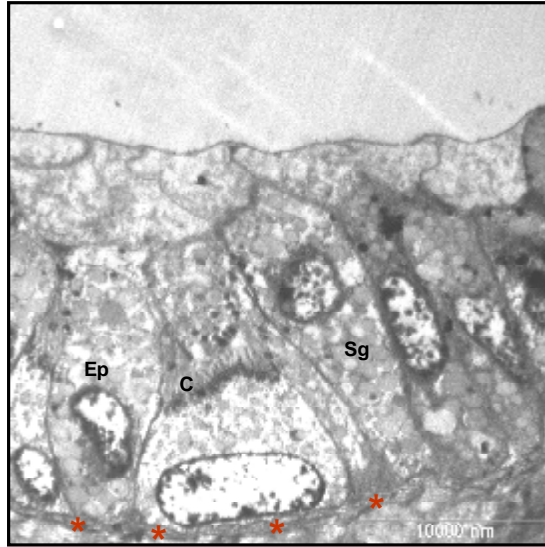
Solunum yolu epiteli ve PAS-pozitif Goblet hücreleri (oklar) izlenmektedir. Akciğer parankimi ve damar yapıları olağan görünümündedir (PAS X 10). (Bv: damar kesitleri, Av: arter)

Resim 7. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin blue boyama)



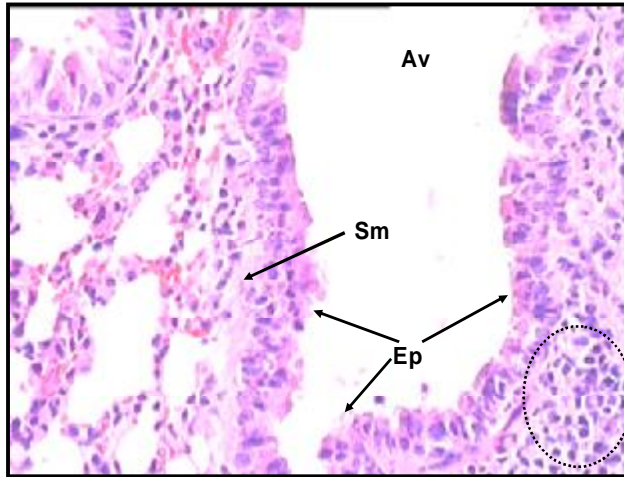
Tüm yapılar olağan görünümündedir. Mast hücresi izlenmemektedir (Toluidine blue X 20). (Bv: damar kesiti, Av: arter)

Resim 8. Kontrol grubunun (Grup 1) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü



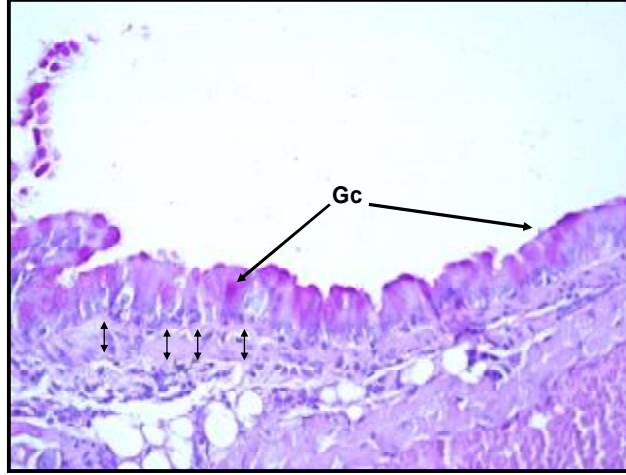
Sentez ve salgılama evresinde salgı granülleri (Sg) ile dolu solunum yolu epiteli (Ep) ve silli hücreler (C). Bazal membran (*) düzenli ve devamlı olarak izleniyor.

Resim 9. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (H&E boyama)



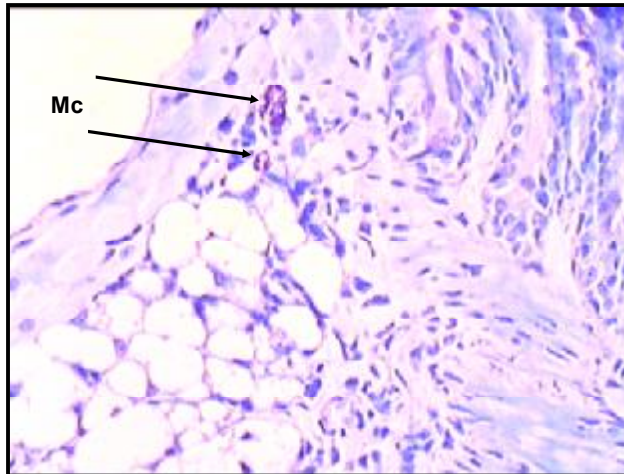
Hava yolunu çevreleyen uzun boylu epitel (Ep) ve kalınlaşmış olarak gözlenen düz kas (Sm) tabakası gözleniyor. Peribronşial mononükleer yangısal infiltrasyon dikkat çekmektedir (Çizgili alan). (H&E X 10). (Av: arter).

Resim 10. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS boyama)



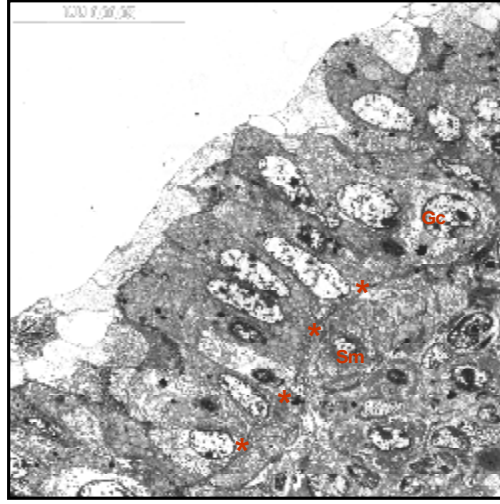
PAS-pozitif goblet hücre (Gc) artışı ve kalınlaşan düz kas tabakası (iki başlı ok) görülmektedir (PAS X 40).

Resim 11. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin Blue boyama)



Perivasküler parankimal alanda mast hücreleri (Mc) görülmektedir (Toluidin Blue X 40).

Resim 12. Kronik astım grubunun (Grup 2) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü



Uzun boylu solunum epiteli salgı granülleri içermektedir. Bazal membran (*) ve altında birkaç sıralı düz kas hücreleri (Sm) görülmektedir. Goblet hücresi (Gc).

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulan ve tedavide nebulize sildenafil verilen Grup 3'ün bazal membran kalınlığı 221.67 ± 57.09 nm (127.27-328.98), düz kas kalınlığı 10.67 ± 1.48 μ m (7.5-13.13), epitel kalınlığı 33.79 ± 4.07 μ m (28.28-43.22), mast hücre sayısı 1.13 ± 1.06 μ m² (0-3), goblet hücre sayısı 6.43 ± 3.18 μ m (2.56-11.34) idi.

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide nebulize steroid uygulanan grup 4'ün bazal membran kalınlığı 205.44 ± 48.11 nm (149.63-309.84), düz kas kalınlığı 6.53 ± 1.77 μ m (3.41-9.49), epitel kalınlığı 33.18 ± 3.95 μ m (26.31-38.51), mast hücre sayısı 0.86 ± 1.12 μ m² (0-3), goblet hücre sayısı 3.80 ± 2.15 μ m (1.33-7.26) saptandı.

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide plasebo olarak nebulize salin uygulanan grup 5'in bazal membran kalınlığı 323.9 ± 27.95 nm (274.6-367.56), düz kas kalınlığı 6.92 ± 1.22 μ m (5.68-9.55), epitel kalınlığı 36.18 ± 5.27 μ m (28.38-45.63), mast hücre sayısı 3.66 ± 3.22 μ m² (0-10), goblet hücre sayısı 4.90 ± 4.34 μ m (0.45-13.55) idi. Tablo 11'de Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in histolojik bulguları Ort \pm SD (min-maks) olarak verilmiştir.

Tablo 11. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in histolojik bulguları

	Sildenafil (Grup 3) Ort ± SD (min-maks)	Budesonid (Grup 4) Ort ± SD (min-maks)	Salin (Grup 5) Ort ± SD (min-maks)
Bazal membran kalınlığı (nm)	221.67 ± 57.09 (127.27-328.98)	205.44 ± 48.11 (149.63-309.84)	323.9 ± 27.95 (274.6-367.56)
Düz kas kalınlığı (µm)	10.67 ± 1.48 (7.5-13.13)	6.53 ± 1.77 (3.41-9.49)	6.92 ± 1.22 (5.68-9.55)
Epitel kalınlığı (µm)	33.79 ± 4.07 (28.28-43.22)	33.18 ± 3.95 (26.31-38.51)	36.18 ± 5.27 (28.38-45.63)
Mast hücre sayısı/16400 (µm²)	1.13 ± 1.06 (0-3)	0.86 ± 1.12 (0-3)	3.66 ± 3.22 (0-10)
100 µm'deki Goblet hücre sayısı	6.43 ± 3.18 (2.56-11.34)	3.80 ± 2.15 (1.33-7.26)	4.90 ± 4.34 (0.43-13.55)

Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan One-way Anova testinde $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide nebulize sildenafil verilen Grup 3'ün bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı, kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturup tedavide nebulize salin verilen Grup 5'in bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.001$).

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide nebulize salin verilen Grup 5'in düz kas kalınlığı kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturup tedavide sildenafil verilen Grup 3'ün düz kas kalınlığından istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü ($p=0.000$).

İki grup arasında epitel kalınlığı ve goblet hücre sayısı açısından farklılık saptanmadı (sırası ile $p=1.00$, $p=1.00$)

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide nebulize steroid verilen Grup 4'ün bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı, kronik astım modeli üzerine akut atak

oluşturup tedavide nebulize salın verilen Grup 5'in bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.000$). İki grup arasında düz kas kalınlığı, epitel kalınlığı ve goblet hücre sayısı açısından farklılık saptanmadı (sırası ile $p=1.00$, $p=0.10$, $p=1.00$)

Kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide nebulize steroid verilen Grup 4'ün düz kas kalınlığı, kronik astım modeli üzerine akut atak oluşturulup tedavide nebulize sildenafil verilen Grup 3'ün düz kas kalınlığından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p=0.000$). Her iki grubun bazal membran kalınlığı, epitel kalınlığı, mast hücre ve goblet hücre sayısı arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile $p=1.00$, $p=1.00$, $p=1.00$, $p=0.63$)

Grup 3, 4 ve 5'in kalp hızları Tablo 12'de, oksijen saturasyonları Tablo 13'te Ort \pm SD (min-max) olarak verilmektedir.

Tablo 12. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in kalp hızları

Nabız sayısı/dk	Grup 3 (Sildenafil) Ort \pm SD (min-max)	Grup 4 (Budesonid) Ort \pm SD (min-max)	Grup 5 (Plasebo) Ort \pm SD (min-max)
0. dakika	214.66 \pm 47.62 (124-258)	230.8 \pm 37.53 (164-250)	181 \pm 64.49 (102-250)
1.metakolin sonrası	196.5 \pm 32.7 (163-250)	211.20 \pm 47.65 (147-250)	181 \pm 64.18 (123-250)
2.metakolin öncesi	217.5 \pm 34.3 (167-250)	211.8 \pm 48.04 (148-251)	212.2 \pm 57.96 (121-258)
2.metakolin sonrası	237 \pm 17.64 (204-250)	221.4 \pm 24.49 (192-250)	216.6 \pm 25.8 (184-250)
3.metakolin öncesi	229.5 \pm 20.43 (200-250)	235.2 \pm 15.02 (213-250)	222.6 \pm 25.11 (202-250)
3.metakolin sonrası	197.33 \pm 37.85 (155-250)	204.2 \pm 26.72 (182-250)	194.2 \pm 32.6 (165-250)
İlaç sonrası	225.33 \pm 45.38 (153-290)	210 \pm 22.56 (196-250)	228 \pm 46.98 (144-250)

Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan One-way Anova testinde $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Grup 3 ve Grup 4'ün 0. dakika, 1. metakolin sonrası, 2. metakolin öncesi, 2. metakolin sonrası, 3. metakolin öncesi, 3. metakolin sonrası ve ilaç sonrası kalp hızları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=0.82, p=1.00, p=1.00, p=1.00).

Grup 4 ve Grup 5'in 0. dakika, 1. metakolin sonrası, 2. metakolin öncesi, 2. metakolin sonrası, 3. metakolin öncesi, 3. metakolin sonrası ve ilaç sonrası kalp hızları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile p=0.43, p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=1.00).

Grup 3 ve Grup 5'in 0. dakika, 1. metakolin sonrası, 2. metakolin öncesi, 2. metakolin sonrası, 3. metakolin öncesi, 3. metakolin sonrası ve ilaç sonrası kalp hızları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile p=0.88, p=1.00, p=1.00, p=0.47, p=1.00, p=1.00, p=1.00).

Tablo 13. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in oksijen saturasyonları

Oksijen saturasyonları %	Grup 3 (Sildenafil) Ort ± SD (min-max)	Grup 4 (Budesonid) Ort ± SD (min-max)	Grup 5 (Plasebo) Ort ± SD (min-max)
0. dakika	75.16±11.54 (61-95)	79.8±13.36 (66-95)	81.2 ± 15.08 (67-100)
1.metakolin sonrası	78.66±10.68 (66-98)	72.2 ± 8.87 (61-82)	80.60 ± 24.09 (46-100)
2.metakolin öncesi	70.66±13.73 (51-88)	72.8 ± 8.75 (62-83)	71.8 ± 14.46 (60-96)
2.metakolin sonrası	75.83 ± 8.20 (67-91)	66 ± 5.33 (57-70)	80.4±11.84 (68-92)
3.metakolin öncesi	72.33 ± 7.42 (66-87)	68.2 ± 16.26 (54-95)	85.4 ± 11.34 (72-100)
3.metakolin sonrası	85.83±11.21 (76-100)	85.8 ± 11.94 (70-99)	85.4 ± 11.34 (72-100)
İlaç sonrası	60.5 ± 16 (45-82)	57.2 ± 10.7 (39-66)	64 ± 14.76 (55-90)

Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan One-way Anova testinde p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Grup 3 ve Grup 4'ün 0. dakika, 1. metakolin sonrası, 2. metakolin öncesi, 3. metakolin öncesi, 3. metakolin sonrası ve ilaç sonrası oksijen saturasyonları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=0.26, p=1.00, p=1.00, p=1.00).

Grup 4 ve Grup 5'in 0. dakika, 1. metakolin sonrası, 2. metakolin öncesi, 2. metakolin sonrası, 3. metakolin öncesi, 3. metakolin sonrası ve ilaç sonrası oksijen saturasyonları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=0.06, p=1.00, p=1.00, p=1.00).

Grup 3 ve Grup 5'in 0. dakika, 1. metakolin sonrası, 2. metakolin öncesi, 2. metakolin sonrası, 3. metakolin öncesi, 3. metakolin sonrası ve ilaç sonrası oksijen saturasyonları arasında anlamlı farklılık saptanmadı (sırası ile p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=0.51, p=1.00, p=1.00).

Grup 3, 4 ve 5'in kan gazı parametreleri Tablo 14'de Ort \pm SD (min-max) olarak verilmektedir.

Tablo 14. Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'in kan gazı değerleri

	pH Ort \pm SD (min-max)	PCO ₂ Ort \pm SD (min-max)	HCO ₃ Ort \pm SD (min-max)
Grup 3 (sildenafil)	7.16 \pm 0.03 (7.14-7.21)	54.52 \pm 5.47 (47.9-61.30)	20.27 \pm 2.21 (17.20-22.20)
Grup 4 (budesonid)	7.11 \pm 0.12 (6.93-7.21)	69.88 \pm 19.82 (49.10-102.10)	22.65 \pm 2.19 (20.10-25.40)
Grup 5 (plasebo)	7.11 \pm 0.06 (7.06-7.22)	61.88 \pm 5.77 (56-69.8)	20.02 \pm 1.85 (18.6-23.10)

Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan One-way Anova testinde p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Grup 3 ve 4'ün pH, PCO₂ ve HCO₃ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırası ile p=1.00, p=0.30, p=0.40).

Grup 3 ve 5'in pH, PCO₂ ve HCO₃ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırası ile p=0.97, p=1.00, p=1.00).

Grup 4 ve 5'in pH, PCO₂ ve HCO₃ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırası ile p=1.00, p=1.00, p=0.26).

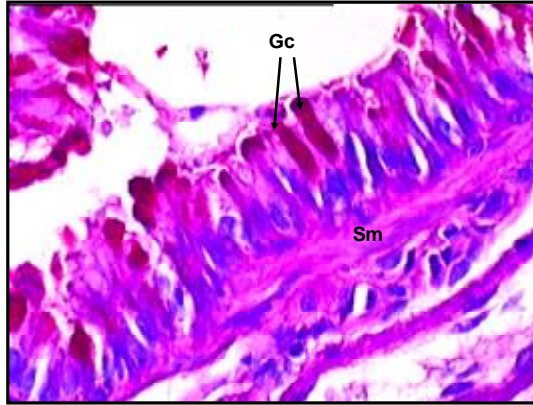
Grup 3, 4 ve 5'in akciğer ışık ve elektron mikroskopik görüntüleri aşağıda verilmiştir.

Resim 13. Grup 3'ün (sildenafil) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS boyama)



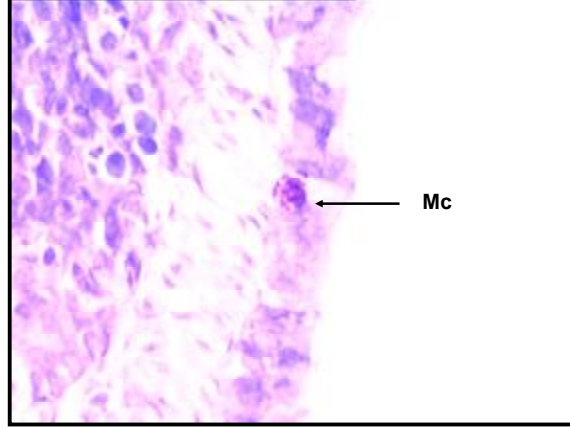
Uzun boylu epitel ve PAS-pozitif goblet (Gc) hücreleri ile çevrili hava yolu ve damar kesiti izlenmektedir. Noktalı alanda hava yolu damar kesiti paketinin yanında mononükleer infiltrasyon görülmektedir (PAS X 10). (Av: alveoler alan, Bv: damar kesiti)

Resim 14. Grup 3'ün (sildenafil) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS boyama)



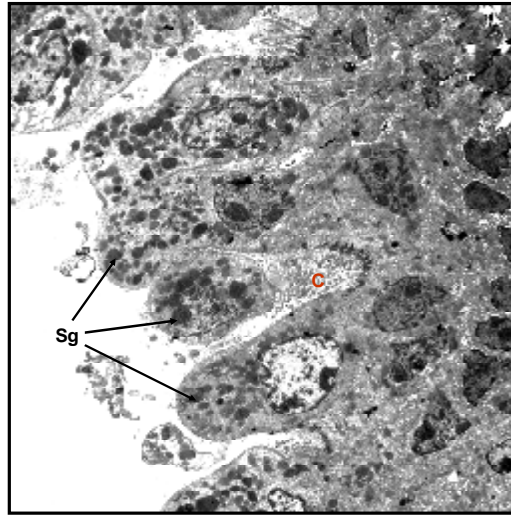
Büyük büyütmede uzun boylu epitel ve PAS-pozitif goblet hücreleri (Gc) ile düz kas tabakası (Sm) gösterilmiştir (PAS X 40).

Resim 15. Grup 3'ün (sildenafil) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin blue boyama)



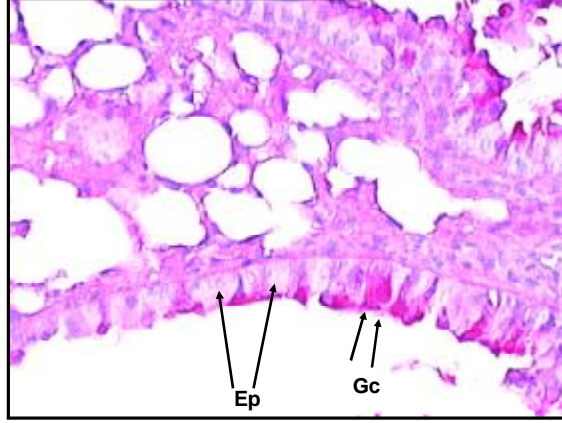
İntraepitelial yerleşimli mast hücresi (Mc) izlenmektedir (Toluidin blue X 40)

Resim 16. Grup 3'ün (sildenafil) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü



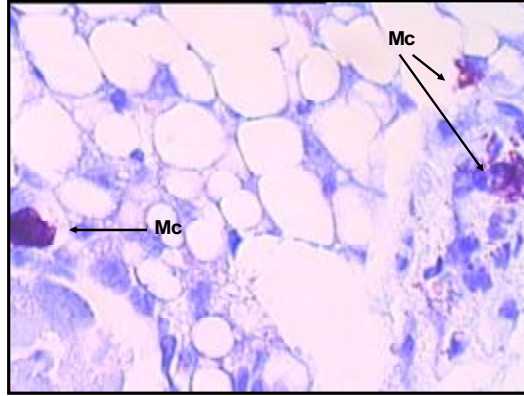
Solunum yolu epiteli depo salgı granülü ile dolu olarak izlenmektedir. Silier yapı (C) ve membran bütünlüğü olağandır.

Resim 17. Grup 4'ün (budesonid) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS boyama)



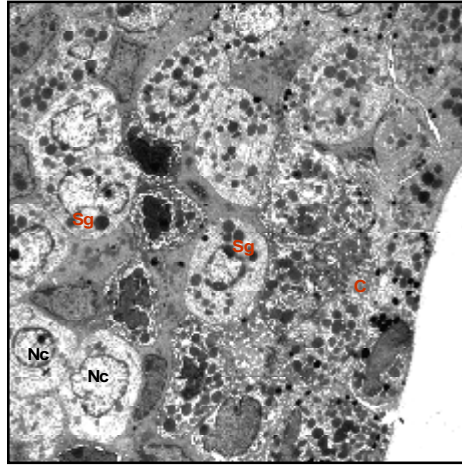
Kısalan boyları ve uniform görünümleri ile solunum epiteli (Ep) ve arada ikili üçlü PAS-pozitif Goblet hücreleri (Gc) görülmektedir. Akciğer parankimi olagan görünümde dir (PAS X 20).

Resim 18. Grup 4'ün (budesonid) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin blue boyama)



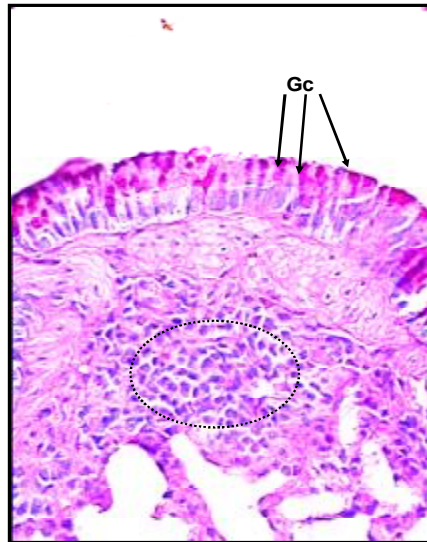
Akciğer parankimi içinde yoğun granüllü Mast hücreleri (Mc) görülmektedir (Toluidin blue X 40)

Resim 19. Grup 4'ün (budesonid) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü



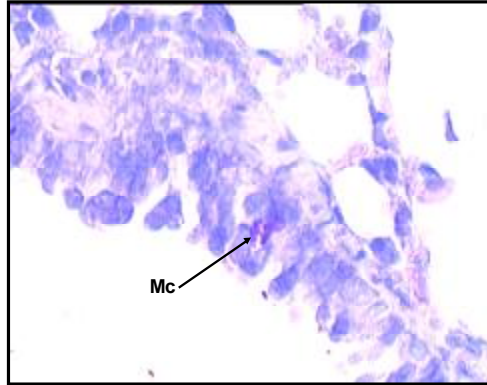
Solunum epiteli sağlam görünümündedir. Çekirdek (Nc) eukromatik sitoplazmada depo ve salgı granülleri (Sg) ile birlikte izlenmektedir. Silier yapılar (C) ve hücreler arası ilişkiler düzenli ve sağlam olarak görülmektedir.

Resim 20. Grup 5'in (plasebo) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (PAS boyama)



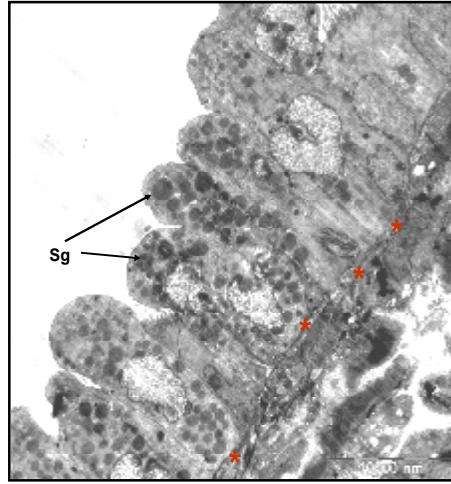
PAS-pozitif Goblet hücreleri (Gc) ve uzun boylu hava yolları epiteli ile epitel altındaki akciğer parankiminde (noktalı alan) yangısal infiltrasyon gözlenmektedir (PASX20).

Resim 21. Grup 5'in (plasebo) akciğer ışık mikroskopi görüntüsü (Toluidin blue boyama)



Solunum yolu epiteli içerisinde mast hücresi (Mc) görülmektedir (Toluidin blue X 40).

Resim 22. Grup 5'in (plasebo) akciğer elektron mikroskopi görüntüsü



Sekresyon (Sg) fazında solunum yolları epiteli ve düzenli bazal membran (*) görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Astım geri dönüşümlü hava yolu obstruksiyonu, hava yolu inflamasyonu ve remodeling ile karakterize kronik bir hastalıktır (16). Günümüzde astım tedavisi hava yolu inflamasyonunu baskılamayı hedefler (245). İnhalasyon kortikosteroidler şu anda astım tedavisindeki en etkili kontrol edici ilaçlardır (16). Her ne kadar şu andaki tedaviler inflamasyonu azaltsa da hava yolu remodelingine etkileri azdır. Remodeling, hava yolu duvarındaki hücresel ve moleküler yapıların kompozisyon, organizasyon ve içeriğindeki progresif yapısal değişikliklerdir (246). Bu nedenle remodelingi de etkileyecek yeni tedavilere günümüzde ihtiyaç vardır.

İnsanlardaki astımda tanımlanan hava yolu remodelinginin çok sayıda bileşeni çeşitli hayvan modellerinde başarılı bir şekilde oluşturulmuştur (247). Çalışmamızda da kullanılan BALB/c fareler ovalbumine yüksek IgE yanıtı olan hayvanlardır (235). Astımda remodeling olarak adlandırılan yapısal değişiklikler; epiteldeki goblet hücre hiperplazisini, retiküler bazal membran kalınlaşmasını, mukozadaki artmış damarlanmayı ve düz kas tabakasındaki kalınlaşmayı içerir (1). Çalışmamızda kronik astım modeli oluşturulan grubun (Grup 2) bazal membran kalınlığı, düz kas kalınlığı, epitel kalınlığı, mast hücre sayısı ve goblet hücre sayısı; astım modeli oluşturulmayan kontrol grubun (Grup 1) bazal membran kalınlığı, düz kas kalınlığı, epitel kalınlığı, mast hücre sayısı ve goblet hücre sayısından istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazla idi. Bu da çalışmamızda astım modelinin iyi şekilde oluştuğunu göstermekte idi.

PDE enzimleri cAMP ve cGMP'nin hidrolizini sağlayan başlıca katalize edici enzimlerdir (8). PDE enzim inhibitörleri cAMP ve cGMP düzeylerini arttırarak hava yolu düz kas relaksasyonuna ve hücresel inflamasyonun inhibisyonuna neden olmaktadır (6). Hava yolu epitel hücrelerinde ağırlıklı olarak bulunanlar PDE4 ve PDE5'tir (10). PDE5 inhibisyonu sonucu artan cGMP'nin Gine domuzlarında bronkodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir (1). Sildenafil erektil disfonksiyon tedavisinde sıkça kullanılan bir PDE5 inhibitörüdür (12). Sildenafil ile PDE5 inhibisyonu sonrasında cGMP düzeyi artar ve protein G bağımlı düz kas relaksasyonu olur (224). cAMP astım patogenezinde rol oynayan tüm hücre tiplerinde anahtar bir düzenleyici role sahiptir (7). cAMP ve cGMP'nin inflamasyon üzerindeki benzer etkileri, cGMP yolu ile de astım tedavisinde yeni ilaçların kullanılabilmesini düşündürmüştür (9). cGMP üzerinden etki eden sildenafil intraperitoneal olarak verildiğinde duyarlılaştırılmış Gine domuzlarında allerjen maruziyeti sonrasında gelişen hava yolu aşırı duyarlılığını, lökosit infiltrasyonunu inhibe etmiş ve

ekzale nitrik oksit düzeylerini arttırmıştır (13). Çalışmamızla birlikte literatürde ilk kez akut astım oluşturulan kronik astımlı BALB/c farelerde nebulize sildenafilin akciğer histolojisi, kan gazı parametreleri ve oksijen saturasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Astımda inhalasyon tedavisi sistemik yan etkilerinin az olması, yüksek lokal etkinliği ve akciğere özel dağılımı ile diğer yollara kıyasla çok sayıda avantaja sahiptir (234). Nebulize sildenafil literatürde iki çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışmalardan biri akut pulmoner hipertansiyonlu kuzularda nebulize sildenafilin kullanımını (14). Diğer çalışmada da sildenafil kronik obstrüktif akciğer hastalığı oluşturulan farelerde kullanılmıştır (15). Literatürde akut astım modelinde nebulize sildenafil kullanımına dair veriye rastlanmamıştır.

Sildenafil cGMP spesifik PDE5'i inhibe ederek NO'in etkisini uzatır (232). NO yapımının inhibisyonunun insanlarda bronş aşırı duyarlılığına neden olduğu gösterilmiştir (248). NO; histaminle ilişkili vazodilatasyon, permeabilite artışı ve lökosit adezyonu gibi çok sayıda mast hücre bağımlı inflamatuvar yolu inhibe eder (249). Aynı zamanda hava yolu düz kas proliferasyonunu inhibe ederek remodelinge karşı koruyucu rol üstlenir (248). Hava yolu düz kası; hava yolu inflamasyonunun ve remodelingin başlaması ve devam etmesinde temel bir role sahiptir (250). Çalışmamızda akut atak tedavisinde verilen nebulize steroid, sadece düz kas kalınlığını nebulize sildenafilden daha iyi azaltmıştı, onun dışındaki tüm parametreler üzerine her iki ilacın da etkileri benzer idi. Nebulize sildenafil bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısını da nebulize saline göre daha iyi azaltmıştı.

Toward TJ ve arkadaşları intraperitoneal olarak verilen sildenafilin ovalbumin ile hava yolu aşırı duyarlılığı oluşturulan Gine domuzlarında inflamasyonu ve hava yolu aşırı duyarlılığını inhibe ettiğini göstermişlerdir (13). Bu çalışma ile ilk kez sildenafilin astım tedavisinde etkili olabileceği vurgulanmıştır. Clayton RA ve arkadaşları ise astım modeli oluşturulan BALB/c farelerinde oral olarak verilen sildenafilin bronkoalveoler lavajda bakılan TNF-alfa, IL-4, IL-5 düzeyleri ve eozinofil sayısı gibi inflamasyon göstergelerinden hiçbirini azaltmadığını saptamışlardır (251). Çalışmamızda her iki çalışmadan farklı olarak astımda inhaler tedaviler tercih edildiğinden sildenafil nebulize formda kullanılmıştır. Astım akciğerindeki inflamasyonun bronkoalveoler lavaj sitokin düzeyleri ile değerlendirilmemiş olması çalışmamızın kısıtlılıkları arasındadır. Bununla birlikte çalışmamız günümüzdeki astım tedavilerinin yetersiz kaldığı remodelingi değerlendirmeyi amaçladığından değerlidir.

Sildenafil hayvan çalışmalarında bronkodilatasyona neden olmuştur (1). Bu etkisini protein G bağımlı düz kas relaksasyonu sayesinde göstermektedir (224). Biz de bu nedenle nebulize sildenafilin akut astımdaki etkinliğini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda oksijen saturasyonları, kalp hızları ve kan gazı parametreleri nebulize sildenafil, nebulize budesonid ve nebulize salin tedavilerine göre gruplar arasında farklılık göstermemekte idi. Bununla birlikte deneklerimizin solunum fonksiyonlarını değerlendirememiş olmamız da çalışmamızın kısıtlılıkları arasındadır.

Basım aşamasında olan bir çalışmamızda nebulize sildenafilin kronik astımlı farelerdeki etkinliği araştırılmıştır. Üç farklı dozdaki nebulize sildenafilin bir hafta boyunca uygulandığı bu çalışmada 0.035 mg/ml konsantrasyonda verilen nebulize sildenafilin plaseboya göre tüm histolojik parametreleri anlamlı olarak iyileştirdiği gösterilmiştir. Yine bu dozdaki nebulize sildenafil, nebulize budesonide göre bazal membran, subepitelyal düz kas ve epitel kalınlığını da anlamlı olarak daha fazla azaltmıştır (252). Çalışmamızda nebulize sildenafil 0.07 mg/ml olmak üzere tek doz halinde uygulanmıştır. Farklı dozlardaki nebulize sildenafilin akut astımdaki etkinliğini değerlendirebilmek için daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte çalışmamız nebulize sildenafilin akut astım tedavisinde kullanımı ile ilgili ilk çalışma olduğu için önemlidir.

6. SONUÇLAR

1. Grup 1'in (kontrol) bazal membran, düz kas ve epitel kalınlıkları, mast ve goblet hücre sayıları Grup 2'nin (kronik astım) bazal membran, düz kas ve epitel kalınlıkları, mast ve goblet hücre sayılarından anlamlı olarak düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.000$, $p=0.001$, $p=0.000$). Bu sonuçlar kronik astım modelinin iyi bir şekilde oluştuğunu göstermekte idi.
2. Grup 3'ün (sildenafil) bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı Grup 5'in (plasebo) bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısından anlamlı şekilde düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.001$). Grup 5'in (plasebo) düz kas kalınlığı, Grup 3'ün (sildenafil) düz kas kalınlığından anlamlı olarak düşüktü ($p=0.000$). Diğer parametreler iki grup arasında farklılık göstermiyordu.
3. Grup 4'ün (budesonid) bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısı, Grup 5'in (plasebo) bazal membran kalınlığı ve mast hücre sayısından anlamlı olarak düşüktü (sırası ile $p=0.000$, $p=0.000$). Diğer parametreler iki grup arasında benzerdi.
4. Grup 4'ün (budesonid) düz kas kalınlığı, Grup 3'ün (sildenafil) düz kas kalınlığından anlamlı şekilde düşüktü ($p=0.000$). Diğer parametreler iki grup arasında farklı değildi.
5. Oksijen saturasyonları, kalp hızları ve kan gazı parametreleri nebulize sildenafil, budesonid ve salin tedavilerine göre gruplar arasında farklılık göstermemekte idi.

7. KAYNAKLAR

1. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, et al. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1720-45.
2. Bjermer L. Time for a paradigm shift in asthma treatment: from relieving bronchospasm to controlling systemic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:1269-75.
3. Folli C, Descalzi D, Scordamaglia F, Riccio AM, et al. New insights into airway remodelling in asthma and its possible modulation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2008;8:367-75.
4. Lagente V, Martin-Chouly C, Boichot E, Martins MA, et al. Selective PDE4 inhibitors as potent anti-inflammatory drugs for the treatment of airway diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100:131-6.
5. Kanehiro A, Ikemura T, Mäkelä MJ, Lahn M, et al. Inhibition of phosphodiesterase 4 attenuates airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a model of secondary allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:173-84.
6. Torphy TJ. β_2 -adrenoceptors, cAMP and airway smooth muscle relaxation: challenges to the dogma. *Trends Pharmacol Sci* 1994;15:370-4.
7. Nejman-Gryz P, Grubek-Jaworska H, Glapiński J, Hoser G, et al. Effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram on lung resistance and inflammatory reaction in experimental asthma. *J Physiol Pharmacol.* 2006;57 Suppl 4:229-39.
8. Beavo JA. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. *Physiol Rev.* 1995;75:725-48.
9. Ortiz JL, Valles JM, Marti-Cabrera M, Cortijo J, et al. Effects of selective phosphodiesterase inhibitors on platelet-activating factor and antigen-induced airways hyperreactivity, eosinophil accumulation, and microvascular leakage in guinea pigs. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1996;353:200-6.
10. Fuhrmann M, Jahn HU, Seybold J, Neurohr C, et al. Identification and function of cyclic nucleotide phosphodiesterase isoenzymes in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:292–302.
11. Kapui Z, Schaeffer P, Mikus EG, Boronkay E, et al. Experimental studies on guanosine 3',5'-cyclic monophosphate levels and airway responsiveness of the novel phosphodiesterase type 5 inhibitor SR 265579 in guinea-pigs. *Arzneimittelforschung* 1999; 49:685-93.

12. Corbin JD, Francis SH, Webb DJ. Phosphodiesterase type 5 as a pharmacologic target in erectile dysfunction. *Urology* 2002, 60:4-11.
13. Toward TJ, Smith N, Broadley KJ. Effect of phosphodiesterase-5 inhibitor, sildenafil (Viagra), in animal models of airways disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:227-34.
14. Ichinose F, Erana-Garcia J, Hromi J, Raveh Y, et al. Nebulized sildenafil is a selective pulmonary vasodilator in lambs with acute pulmonary hypertension. *Crit Care Med.* 2001;29:1000-5.
15. Herz U, Lumpp U, Da Palma JC, Enssle K, et al. The relevance of murine animal models to study the development of allergic bronchial asthma. *Immunol Cell Biol.* 1996;74:209-17.
16. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. Available at: <http://www.ginasthma.org>. Updated December 2008.
17. Guilbert T, Krawiec M. Natural history of asthma. *Pediatr Clin N Am* 2003;50:523-38.
18. Beasley R, Ellwood P. International patterns of the prevalence of pediatric asthma. The ISAAC program *Pediatr Clin N Am* 2003; 50: 539-53.
19. Wong GW, von Mutius E, Douwes J, Pearce N. Environmental determinants associated with the development of asthma in childhood. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006;10:242-51.
20. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Eur Respir J* 1998;12:315-35.
21. Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, et al; ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phases One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368:733-43.
22. Braman SS. The global burden of asthma. *Chest.* 2006;130:4S-12S.
23. Saraclar Y, Kuyucu S, Tuncer A, Sekerel B, et al. Prevalence of asthmatic phenotypes and bronchial hyperresponsiveness in Turkish schoolchildren: an International Study of Asthma and Allergies in Childhood Study (ISAAC) phase 2 study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;91:477-84.
24. Demir AU, Karakaya G, Bozkurt B, Sekerel BE, et al. Asthma and allergic diseases in schoolchildren: third cross-sectional survey in the same primary school in Ankara, Turkey. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:531-8.

25. Karaman O, Türkmen M, Uzuner N. Allergic disease prevalence in Izmir. *Allergy*. 1997;52:689-90.
26. Karaman O, Turgut CS, Uzuner N, Olmez D, et al. The determination of asthma, rhinitis, eczema, and atopy prevalence in 9- to 11-year-old children in the city of Izmir. *Allergy Asthma Proc*. 2006;27:319-24.
27. Ones U, Akcay A, Tamay Z, Guler N, et al. Rising trend of asthma prevalence among Turkish schoolchildren (ISAAC phases I and III). *Allergy* 2006;61:1448-53.
28. World Health Organization (WHO). Bronchial asthma. WHO Fact Sheet Nu 206. <http://www.who.int/inf-fs/en/fact206.html>. Revised January 2000.
29. Hyndman SJ, Williams DR, Merrill SL, Lipscombe JM, et al. Rates of admission to hospital for asthma. *BMJ* 1994;308: 1596–600.
30. Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma. *N Engl J Med* 2001;344:350-62.
31. Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun* 2006;7:95–100.
32. Holloway JW, Beghe B, Holgate ST. The genetic basis of atopic asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1023-32.
33. Israel E, Chinchilli VM, Ford JG, Boushey HA, et al; National Heart, Lung, and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet* 2004;364:1505-12.
34. Ulevitch RJ, Tobias PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol* 1995;13: 437–57.
35. Baldini M, Lohman IC, Halonen M, Erickson RP, et al. A Polymorphism in the 5' flanking region of the CD14 gene is associated with circulating soluble CD14 levels and with total serum immunoglobulin E. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:976–83.
36. Gissler M, Jarvelin MR, Louhiala P, Hemminki E. Boys have more health problems in childhood than girls: follow- up of the 1987 Finnish birth cohort. *Acta Paediatr* 1999;88:310-4.
37. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, et al. Asthma and wheezing in the first six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med* 1995;332:133-8.
38. Beuther DA, Weiss ST, Sutherland ER. Obesity and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:112-9.

39. Illi S, von ME, Lau S, Niggemann B, et al. Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet* 2006;368:763-70.
40. Lau S, Illi S, Sommerfeld C, Niggemann B, et al. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. *Lancet* 2000;356:1392-7.
41. Horwood LJ, Fergusson DM, Shannon FT. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. *Pediatrics* 1985;75:859-68.
42. Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ. Measles and atopy in Guinea- Bissau. *Lancet* 1996;347:1792-6.
43. Von Ehrenstein OS, Von Mutius E, Illi S, Baumann L, et al. Reduced risk of hay fever and asthma among children of farmers. *Clin Exp Allergy* 2000;30:187-93.
44. Riedler J, Braun-Fahrlander CH, Eder W, Schreurer M. Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 2001;358:1129-33.
45. Braun-Fahrlander C. Environmental exposure to endotoxin and other microbial products and the decreased risk of childhood atopy: evaluating developments since April 2002. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:325-9.
46. Matricardi PM, Rosmini F, Ferrigno L, Nisini R, et al. Cross sectional retrospective study of prevalence of atopy among Italian military students with antibodies against hepatitis A virus. *BMJ* 1997;314: 999–1003.
47. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, et al. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. *BMJ* 2000;320:412–7.
48. Araujo MI, Lopes AA, Medeiros M, Cruz AA, et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123:145–8.
49. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997;275:77–9.
50. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1501-7.
51. Martinez FD, Wright AL, Taussig LM, Holberg CJ, et al. Asthma and wheezing in the first

- six years of life. The Group Health Medical Associates. *N Engl J Med* 1995;332:133-8.
52. Dezateux C, Stocks J, Dundas I, Fletcher ME. Impaired airway function and wheezing in infancy: the influence of maternal smoking and a genetic predisposition to asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:403-10.
53. Chilmonczyk BA, Salmun LM, Megathlin KN, Neveux LM, et al. Association between exposure to environmental tobacco smoke and exacerbations of asthma in children. *N Engl J Med* 1993;328:1665-9.
54. Gauderman WJ, Avol E, Lurmann F, Kuenzli N, et al. Childhood asthma and exposure to traffic and nitrogen dioxide. *Epidemiology* 2005;16:737-43.
55. Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, Vora H, et al. effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age. *N Engl J Med* 2004;351:1057-67.
56. van Odijk J, Kull I, Borres MP, Brandtzaeg P, et al. Breastfeeding and allergic disease: a multidisciplinary review of the literature (1966–2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations. *Allergy* 2003;58:833-43.
57. Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1238-48.
58. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1109–17.
59. Bernard A, Carbonnelle S, Michel O, Higuët S, et al. Lung hyperpermeability and asthma prevalence in schoolchildren: unexpected associations with the attendance at indoor chlorinated swimming pools. *Occup Environ Med* 2003;60:385–94.
60. Wright RJ, Rodriguez M, Cohen S. Review of psychosocial stress and asthma: an integrated biopsychosocial approach. *Thorax* 1998;53:1066–74.
61. Lee TH, Anderson SD. Heterogeneity of mechanisms in exercise induced asthma. *Thorax* 1985;40:481–7.
62. Parsons JP, Mastronarde JG. Exercise induced bronchoconstriction in athletes. *Chest* 2005;128:3966–74.
63. Villeneuve PJ, Leech J, Bourque D. Frequency of emergency room visits for childhood asthma in Ottawa, Canada: the role of weather. *Int J Biometeorol* 2005;50:48–56.
64. Martinez FD. Maturation of immune responses at the beginning of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:355–61.

65. Holt PG, Upham JW, Sly PD. Contemporaneous maturation of immunologic and respiratory functions during early childhood: implications for development of asthma prevention strategies. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:16–24.
66. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004;22:789-815.
67. Meiler F, Zimmermann M, Blaser K, Akdis CA, et al. T-cell subsets in the pathogenesis of human asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2006;6:91–6.
68. Akbari O, DeKruyff RH, Umetsu DT. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen. *Nat Immunol* 2001;2:725–31.
69. Lewkowich IP, Herman NS, Schleifer KW, Dance MP, et al. CD4+ CD25+ T cells protect against experimentally induced asthma and alter pulmonary dendritic cell phenotype and function. *J Exp Med* 2005;202:1549–61.
70. Barbato A, Turato G, Baraldo S, Bazzan E, et al. Airway inflammation in childhood asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:798–803.
71. Marguet C, Jouen-Boedes F, Dean TP, Warner JO. Bronchoalveolar cell pro-files in children with asthma, infantile wheeze, chronic cough, or cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1533–40.
72. de Blic J, Tillie-Leblond I, Tonnel AB, Jaubert F, et al. Difficult asthma in children: an analysis of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:94–100.
73. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:58-65.
74. Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldston MA, Piliponsky AM, et al. Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 2005;23:749-86.
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. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol* 2004;16:702-8.
78. Peters-Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:3-7.

79. Wenzel S. Mechanisms of severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1622-8.
80. Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:1277-84.
81. Holgate ST, Holloway J, Wilson S, Bucchieri F, et al. Epithelial-mesenchymal communication in the pathogenesis of chronic asthma. *Proc Am Thorac Soc* 2004;1:93-8.
82. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J* 2000;15:961-8.
83. Groneberg DA, Quarcoo D, Frossard N, Fischer A. Neurogenic mechanisms in bronchial inflammatory diseases. *Allergy* 2004;59:1139-52.
84. Miller AL, Lukacs NW. Chemokine receptors: understanding their role in asthmatic disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004;24:667-83.
85. Leff AR. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy. *Annu Rev Med* 2001;52:1-14.
86. Barnes PJ. Cytokine modulators as novel therapies for asthma. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002;42:81-98.
87. Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev* 2004;84:731-65.
88. Smith AD, Taylor DR. Is exhaled nitric oxide measurement a useful clinical test in asthma? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:49-56.
89. van den Toorn LM, Overbeek SE, de Jongste JC, Leman K, et al. Airway inflammation is present during clinical remission of atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:2107-13.
90. Sumi Y, Hamid Q. Airway Remodeling in Asthma. *Allergol Int.* 2007;56:341-8.
91. Pohunek P, Warner JO, Turzikova J, Kudrman J, et al. Markers of eosinophilic inflammation and tissue re-modelling in children before clinically diagnosed bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:43-51.
92. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Mauger DT, et al. Long-term inhaled corticosteroids in preschool children at high risk for asthma. *N Engl J Med* 2006;354:1985-97.
93. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989; 1:520-4.
94. Brewster CE, Howarth PH, Djukanovic R, Wilson J, et al. Myofibroblasts and subepithelial

- fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;3:507-11.
95. Hirst SJ, Martin JG, Bonacci JV, Chan V, et al. Proliferative aspects of airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:S2-17.
96. Johnson PR, Roth M, Tamm M, Hughes M, et al. Airway smooth muscle cell proliferation is increased in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:474-7.
97. Martin JG, Ramos-Barbon D. Airway smooth muscle growth from the perspective of animal models. *Respir Physiol Neurobiol* 2003;137:251-61.
98. Schmidt M, Sun G, Stacey MA, Mori L, et al. Identification of circulating fibrocytes as precursors of bronchial myofibroblasts in asthma. *J Immunol* 2003;171:380-9.
99. Howarth P, Knox A, Amrani Y, Tliba O, et al. Synthetic responses in airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:S32-S50.
100. Vermeer PD, Harson R, Einwalter LA, Moninger T, et al. Interleukin-9 induces goblet cell hyperplasia during repair of human airway epithelia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:286-95.
101. Hoshino M, Takahashi M, Aoike N. Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:295-301.
102. Haraguchi M, Shimura S, Shirato K. Morphometric analysis of bronchial cartilage in chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:1005-13.
103. Yanai M, Sekizawa K, Ohri T, Sasaki H, et al. Site of airway obstruction in pulmonary disease: direct measurement of intrabronchial pressure. *J Appl Physiol* 1992;72:1016-23.
104. Kuperman DA, Huang X, Koth LL, Chang GH, et al. Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperreactivity and mucus overproduction in asthma. *Nat Med* 2002;8:885-9.
105. Naylor B. The shedding of the mucosa of the bronchial tree in asthma. *Thorax* 1962;17:69-72.
106. Trautmann A, Schmid-Grendelmeier P, Krüger K, Cramer R, et al. T cells and eosinophils cooperate in the induction of bronchial cell apoptosis in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:329-37.
107. Tschumperlin DJ, Drazen JM. Mechanical stimuli to airway remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164: S90-S94.

108. Panettieri RA Jr. Airway smooth muscle: an immunomodulatory cell. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:S269- S274.
109. Holgate ST. Pathogenesis of asthma. *Clin Exp Allergy* 2008;38:872-97.
110. Black JL. Asthma-More muscle cells or more muscular cells? *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:980-1.
111. Oettgen HC. Regulation of the IgE isotype switch: new insights on cytokine signals and the functions of epsilon germline transcripts. *Curr Opin Immunol* 2000;12:618-23.
112. Fahy JV. Remodeling of the airway epithelium in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:S46-S51.
113. Longphre M, Li D, Gallup M, Drori E, et al. Allergen-induced IL-9 directly stimulates mucin transcription in respiratory epithelial cells. *J Clin Invest* 1999;104:1375-82.
114. Bergeron C, Hauber HP, Gotfried M, Newman K, et al. Evidence of remodeling in peripheral airways of patients with mild to moderate asthma: effect of hydrofluoroalkane-flunisolide. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:983-9.
115. Barbato A, Turato G, Baraldo S, Bazzan E, et al. Epithelial damage and angiogenesis in the airway of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:975-81.
116. Payne DN, Rogers AV, Adelroth E, Bandi V, et al. Early thickening of the reticular basement in children with difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:78-82.
117. Cokugras H, Akcakaya N Seckin, Camcioglu Y, Sarimurat N, et al. Ultrastructural examination of bronchial biopsy specimens from children with moderate asthma. *Thorax* 2001;56:25-9.
118. Fernandes DJ, Xu KF, Stewart AG. Anti-remodelling drugs for the treatment of asthma: requirement for animal models of airway wall remodelling. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2001;28:619-29.
119. Wang L, McParland BE, Paré PD. The functional consequences of structural changes in the airways: Implications for airway hyperresponsiveness in asthma. *Chest* 2003; 123:S356-S362.
120. Joos GF. The role of neuroeffector mechanisms in the pathogenesis of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001;1:134-143.
121. Mungan D. Astım tanı ve tedavisi. http://www.toraks.org.tr/mesleki-kurslar-1-ppt-pdf/dilsat_mungan.pdf
122. Bumbacea D, Campbell D, Nguyen L, Carr D, et al. Parameters associated with persistent

- airflow obstruction in chronic severe asthma. *Eur Respir J* 2004;24:122-8.
123. Lambert RK, Codd SL, Alley MR, Pack RJ. Physical determinants of bronchial mucosal folding. *J Appl Physiol* 1994;77:1206-16.
124. Martinez FD. Recognizing early asthma. *Allergy* 1999;54:24-8.
125. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. American Thoracic Society. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1202-18.
126. Quanjer PH, Lebowitz MD, Gregg I, Miller MR, et al. Peak expiratory flow: conclusions and recommendations of a Working Party of the European Respiratory Society. *Eur Respir J* 1997;24 Suppl:2S-8S.
127. Quackenboss JJ, Lebowitz MD, Krzyzanowski M. The normal range of diurnal changes in peak expiratory flow rates. Relationship to symptoms and respiratory disease. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:323-30.
128. Cockcroft DW, Hargreave FE. Airway hyperresponsiveness. Relevance of random population data to clinical usefulness. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:497-500.
129. O'Byrne P. Bronchial challenges by pharmacologic agents. In: Clark TJH, Godfrey S, Lee TH, Thomson NC, eds. *Asthma*, 4th edition. London: Arnold; 2000.p. 92-103.
130. Ramsdale EH, Morris MM, Roberts RS, Hargreave FE. Asymptomatic bronchial hyperresponsiveness in rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 1985;75:573-7.
131. Ramsdale EH, Morris MM, Roberts RS, Hargreave FE. Bronchial responsiveness to methacholine in chronic bronchitis: relationship to airflow obstruction and cold air responsiveness. *Thorax* 1984;39:912-8.
132. Eggleston PA. Exercise-induced asthma. In: Tinkleman DG, Naspitz CK, eds. *Childhood asthma: pathophysiology and treatment*. New York: Marcel Dekker; 1992. p. 429-46.
133. Boner AL, Martinati LC. Diagnosis of asthma in children and adolescents. *Eur Respir. Rev* 1997;7:3-7.
134. Aas K, Belin L. Standardization of diagnostic work in allergy. *Acta Allergologica* 1972;27:439-68.
135. Dolen WK. Skin testing techniques. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:273-9.
136. Carr WW. Improvements in skin-testing technique. *Allergy Asthma Proc* 2006;27:100-3.
137. Boner AL, Martinati LC. Diagnosis of asthma in children and adolescents. *Eur Respir Rev* 1997;7:3-7.

138. Dolen WK. Skin testing techniques. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:273-9.
139. Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbison GP, et al. Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med* 1991;325:1067-71.
140. Grol MH, Postma DS, Vonk JM, Schouten JP, et al. Risk factors from childhood to adulthood for bronchial responsiveness at age 32-42 yr. *J Respir Crit Care Med* 1999;160:150-6.
141. Bisgaard H. Delivery of inhaled medication to children. *J Asthma* 1997;34:443-67.
142. Cates CJ, Crilly JA, Rowe BH. Holding chambers (spacers) versus nebulisers for beta-agonist treatment of acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(2):CD000052.
143. Pauwels RA, Pedersen S, Busse WW, Tan WC, et al; START Investigators Group. Early intervention with budesonide in mild persistent asthma: a randomised, double-blind trial. *Lancet* 2003;361:1071-6.
144. The Childhood Asthma Management Program Research Group. Long term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma. *N Engl J Med* 2000;343:1054-63.
145. Pedersen S. Do inhaled corticosteroids inhibit growth in children? *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:521-35.
146. Todd G, Dunlop K, McNaboe J, Ryan MF, et al. Growth and adrenal suppression in asthmatic children treated with high-dose fluticasone propionate. *Lancet* 1996;348:27-9.
147. Selroos O, Backman R, Forsén KO, Löfroos AB, et al. Local side-effects during 4-year treatment with inhaled corticosteroids-a comparison between pressurized metered-dose inhalers and Turbuhaler. *Allergy* 1994;49:888-90.
148. Kemp JP, Dockhorn RJ, Shapiro GG, Nguyen HH, et al. Montelukast once daily inhibits exercise induced bronchoconstriction in 6- to 14-year-old children with asthma. *J Pediatr* 1998;133:424-8.
149. Simons FE, Villa JR, Lee BW, Teper AM, et al. Montelukast added to budesonide in children with persistent asthma: a randomized, double-blind, crossover study. *J Pediatr* 2001;138:694-8.
150. Bisgaard H, Zielen S, Garcia-Garcia ML, Johnston SL, et al. Montelukast reduces asthma exacerbations in 2- to 5-year-old children with intermittent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:315-22.
151. Nelson HS, Weiss ST, Bleecker ER, Yancey SW, et al. The Salmeterol Multicenter Asthma

Research Trial: a comparison of usual pharmacotherapy for asthma or usual pharmacotherapy plus salmeterol. *Chest* 2006;129:15-26.

152. Malone R, LaForce C, Nimmagadda S, Schoaf L, et al. The safety of twice-daily treatment with fluticasone propionate and salmeterol in pediatric patients with persistent asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;95:66-71.

153. Pedersen S. Treatment of nocturnal asthma in children with a single dose of sustained-release theophylline taken after supper. *Clin Allergy* 1985;15:79-85.

154. Tasche MJ, Uijen JH, Bernsen RM, de Jongste JC, et al. Inhaled disodium cromoglycate (DSCG) as maintenance therapy in children with asthma: a systematic review. *Thorax* 2000;55:913-20.

155. Spooner CH, Saunders LD, Rowe BH. Nedocromil sodium for preventing exercise-induced bronchoconstriction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(1):CD001183.

156. Armenio L, Baldini G, Bardare M, Boner A, et al. Double blind, placebo controlled study of nedocromil sodium in asthma. *Arch Dis Child* 1993;68:193-7.

157. Zarkovic JP, Marenk M, Valovirta E, Kuusela AL, et al. One-year safety study with bambuterol once daily and terbutaline three times daily in 2-12-year-old children with asthma. The Bambuterol Multicentre Study Group. *Pediatr Pulmonol* 2000;29:424-9.

158. Lonnerholm G, Foucard T, Lindstrom B. Oral terbutaline in chronic childhood asthma; effects related to plasma concentrations. *Eur J Respir Dis* 1984;134 Suppl:205-10S.

159. 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.

160. Humbert M, Beasley R, Ayres J, Slavin R, et al. Benefits of omalizumab as add-on therapy in patients with severe persistent asthma who are inadequately controlled despite best available therapy (GINA 2002 step 4 treatment): INNOVATE. *Allergy* 2005;60:309-16.

161. Abramson MJ, Puy RM, Weiner JM. Allergen immunotherapy for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(4):CD001186.

162. Bousquet J, Lockey R, Malling HJ, Alvarez-Cuesta E, et al. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. World Health Organization. American academy of Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:401-5.

163. Williams SJ, Winner SJ, Clark TJ. Comparison of inhaled and intravenous terbutaline in

acute severe asthma. *Thorax* 1981;36:629-32.

164. Bengtsson B, Fagerstrom PO. Extrapulmonary effects of terbutaline during prolonged administration. *Clin Pharmacol Ther* 1982;31:726-32.

165. Using beta 2-stimulants in asthma. *Drug Ther Bull* 1997;35:1-4.

166. Leff JA, Busse WW, Pearlman D, Bronsky EA, et al. Montelukast, a leukotriene- receptor antagonist, for the treatment of mild asthma and exercise-induced bronchoconstriction. *N Engl J Med* 1998;339:147-52.

167. Spooner CH, Saunders LD, Rowe BH. Nedocromil sodium for preventing exercise-induced bronchoconstriction. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2): CD001183.

168. Adams NP, Bestall JB, Malouf R, Lasserson TJ, et al. Inhaled beclomethasone versus placebo for chronic asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(1):CD002738.

169. Drazen JM, Israel E, O'Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med* 1999;340:197-206.

170. Lemanske RF Jr, Sorkness CA, Mauger EA, Lazarus SC, et al; Asthma Clinical Research Network for the National Heart, Lung, and Blood Institute. Inhaled corticosteroid reduction and elimination in patients with persistent asthma receiving salmeterol: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:2594-603.

171. Bisgaard H. Long-acting beta(2)-agonists in management of childhood asthma: A critical review of the literature. *Pediatr Pulmonol* 2000;29:221-34.

172. Powell H, Gibson PG. Inhaled corticosteroid doses in asthma: an evidence-based approach. *Med J Aust* 2003;178:223-5.

173. Vaquerizo MJ, Casan P, Castillo J, Perpiña M, et al; CASIOPEA (Capacidad de Singulair Oral en la Prevencion de Exacerbaciones Asmaticas) Study Group. Effect of montelukast added to inhaled budesonide on control of mild to moderate asthma. *Thorax* 2003;58:204-10.

174. Evans DJ, Taylor DA, Zetterstrom O, Chung KF, et al. A comparison of low-dose inhaled budesonide plus theophylline and high- dose inhaled budesonide for moderate asthma. *N Engl J Med* 1997;337:1412-8.

175. Rivington RN, Boulet LP, Côté J, Kreisman H, et al. Efficacy of Uniphyl, salbutamol, and their combination in asthmatic patients on high-dose inhaled steroids. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:325-32.

176. Mash B, Bheekie A, Jones PW. Inhaled vs oral steroids for adults with chronic asthma.

Cochrane Database Syst Rev 2000;(2): CD002160.

177. Powell H, Gibson PG. High dose versus low dose inhaled corticosteroid as initial starting dose for asthma in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(2):CD004109.

178. Boulet LP, Drollmann A, Magyar P, Timar M, et al. Comparative efficacy of once-daily ciclesonide and budesonide in the treatment of persistent asthma. *Respir Med* 2006;100:785-94.

179. FitzGerald JM, Grunfeld A. Status asthmaticus. In: Lichtenstein LM, Fauci AS, eds. *Current therapy in allergy, immunology, and rheumatology*. 5th edition. St. Louis, MO: Mosby; 1996:p. 63-7.

180. Chan-Yeung M, Chang JH, Manfreda J, Ferguson A, et al. Changes in peak flow, symptom score, and the use of medications during acute exacerbations of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:889-93.

181. Geelhoed GC, Landau LI, Le Souef PN. Evaluation of SaO₂ as a predictor of outcome in 280 children presenting with acute asthma. *Ann Emerg Med* 1994; 23:1236-41.

182. Gershel JC, Goldman HS, Stein RE, Shelov SP, et al. The usefulness of chest radiographs in first asthma attack. *N Engl J Med* 1983;309:336-9.

183. Nowak RM, Tomlanovich MC, Sarkar DD, Kvale PA, et al. Arterial blood gases and pulmonary function testing in acute bronchial asthma. Predicting patient outcomes. *JAMA* 1983;249:2043-6.

184. Chien JW, Ciufo R, Novak R, Skowronski M, et al. Uncontrolled oxygen administration and respiratory failure in acute asthma. *Chest* 2000;117:728-33.

185. Brocklebank D, Ram F, Wright J, Barry P, et al. Comparison of the effectiveness of inhaler devices in asthma and chronic obstructive airways disease: a systematic review of the literature. *Health Technol Assess* 2001;5:1-149.

186. Covar RA, Spahn JD. Treating the wheezing infant. *Pediatr Clin North Am* 2003;50:631-54.

187. Boonsawat W, Charoenratanakul S, Pothirat C, Sawanyawisuth K, et al. Formoterol (OXIS) Turbuhaler as a rescue therapy compared with salbutamol pMDI plus spacer in patients with acute severe asthma. *Respir Med* 2003;97:1067-74.

188. Papo MC, Frank J, Thompson AE. A prospective, randomized study of continuous versus intermittent nebulized albuterol for severe status asthmaticus in children. *Crit Care Med* 1993;21:1479-86.

189. Travers A, Jones AP, Kelly K, Barker SJ, et al. Intravenous beta2-agonists for acute asthma

- in the emergency department. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;(2):CD002988.
190. Rodrigo G, Rodrigo C, Burschtin O. A meta-analysis of the effects of ipratropium bromide in adults with acute asthma. *Am J Med* 1999;107:363-70.
191. Craven D, Kercksmar CM, Myers TR, O'riordan MA, et al. Ipratropium bromide plus nebulized albuterol for the treatment of hospitalized children with acute asthma. *J Pediatr* 2001;138:51-8.
192. Lipworth BJ. Treatment of acute asthma. *Lancet* 1997; 350 Suppl 2:SIII18-23.
193. Ratto D, Alfaro C, Sipsy J, Glovsky MM, et al. Are intravenous corticosteroids required in status asthmaticus? *JAMA* 1988;260:527-9.
194. Kayani S, Shannon DC. Adverse behavioral effects of treatment for acute exacerbation of asthma in children: a comparison of two doses of oral steroids. *Chest* 2002;122:624-8.
195. O'Driscoll BR, Kalra S, Wilson M, Pickering CA, et al. Double-blind trial of steroid tapering in acute asthma. *Lancet* 1993;341:324-7.
196. Rowe BH, Bota GW, Fabris L, Therrien SA, et al. Inhaled budesonide in addition to oral corticosteroids to prevent asthma relapse following discharge from the emergency department: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999;281:2119-26.
197. Smith M, Iqbal S, Elliott TM, Everard M, et al. Corticosteroids for hospitalised children with acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2):CD002886.
198. Rowe BH, Bretzlaff JA, Bourdon C, Bota GW, et al. Magnesium sulfate for treating exacerbations of acute asthma in the emergency department. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(2):CD001490.
199. Papo MC, Frank J, Thompson AE. A prospective, randomized study of continuous versus intermittent nebulized albuterol for severe status asthmaticus in children. *Crit Care Med* 1993;21:1479-86.
200. Blitz M, Blitz S, Beasley R, Diner BM, et al. Inhaled magnesium sulfate in the treatment of acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2005;(4):CD003898.
201. Parameswaran K, Belda J, Rowe BH. Addition of intravenous aminophylline to beta2-agonists in adults with acute asthma. *Cochrane Database Syst Rev* 2000;(4):CD002742.
202. Ream RS, Loftis LL, Albers GM, Becker BA, et al. Efficacy of IV theophylline in children with severe status asthmaticus. *Chest* 2001;119:1480-8.
203. Rodrigo G, Pollack C, Rodrigo C, Rowe BH. Heliox for nonintubated acute asthma patients.

Cochrane Database Syst Rev. 2006;(4):CD002884.

204. Linde K, Jonas WB, Melchart D, Willich S. The methodological quality of randomized controlled trials of homeopathy, herbal medicines and acupuncture. *Int J Epidemiol* 2001; 30: 526-31.
205. Bieroly L, Russin J, Zuckerman GB. Clinical efficacy, mechanism of action, and adverse effects of complementary and alternative medicine therapies for asthma. *Allergy Asthma Proc* 2004; 25: 283-91.
206. Nedeljković M, Ljustina-Pribić R, Savić K. Innovative approach to laser acupuncture therapy of acute obstruction in asthmatic children. *Med Pregl*. 2008;61:123-30.
207. Brown D. Evidence-based hypnotherapy for asthma: a critical review. *Int J Clin Exp Hypn* 2007;55:220-49.
208. Johnston SL, Blasi F, Black PN, Martin RJ, et al; TELICAST Investigators. The effect of telithromycin in acute exacerbations of asthma. *N Engl J Med* 2006; 354:1589–1600.
209. Mutgi A, Hammersley J. Telithromycin in acute exacerbations of asthma. *N Engl J Med* 2006; 355:96–7.
210. Akerman MJ, Yaegashi M, Kiangte Z, Murugan AT, et al. Bronchodilator effect of infused B-type natriuretic peptide in asthma. *Chest* 2006; 130:66–72.
211. Cox G, Miller JD, McWilliams A, Fitzgerald JM, et al. Bronchial thermoplasty for asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:965–9.
212. Mitzner W. Bronchial thermoplasty in asthma. *Allergol Int* 2006;55:225-34.
213. Schaafsma D, Gosens R, Zaagsma J, Halayko AJ, et al. Rho kinase inhibitors: a novel therapeutic intervention in asthma? *Eur J Pharmacol* 2008;585:398-406.
214. Schudt C, Gantner F, Tenors H, Hatzelmann A. Therapeutic potential of selective PDE inhibitors in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 1999;12: 123–9.
215. Pauwels R, Van Renterghem D, Van Der Straeten M, Johannesson N, et al. The effect of theophylline and enprofylline on allergen-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:583-590.
216. Weinberger M, Hendeles L. Theophylline in asthma. *N. Engl J Med* 1996; 334:1380-8.
217. Coward W, Sagara H, Church MK. Asthma, adenosine, mast cells and theophylline. *Clin Exp Allergy* 1998; 28:42-6.
218. Carson CC, Lue TF. Phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. *BJU Int*

2005;96:257-80.

219. Thomas MK, Francis SH, Corbin JD. Characterisation of a purified bovine lung cGMP-binding cGMP phosphodiesterase. *J Biol Chem* 1990;265:14964–70.

220. Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today* 1995; 16:128–30.

221. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43:109–42.

222. Eynott PR, Groneberg DA, Caramori G, Adcock IM, et al. Role of nitric oxide in allergic inflammation and bronchial hyperresponsiveness. *Eur J Pharmacol* 2002; 45:122–33.

223. Clark RH, Kueser TJ, Walker MW, Southgate WM, et al. Low-dose nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. *N Engl J Med* 2000; 342:469–74.

224. Dishy V, Sofowora G, Harris PA, Kandcer M, et al. The effect of sildenafil on nitric oxide-mediated vasodilation in healthy men. *Clin Pharmacol Ther* 2001;70:270–9.

225. Ballard SA, Gingell CJ, Tang K, Turner LA, et al. Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. *J Urol* 1998;159:2164-71.

226. Wilkens H, Guth A, König J, Forestier N, et al. Effect of inhaled iloprost plus oral sildenafil in patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104:1218–22.

227. Zhao L, Mason NA, Morrell NW, Kojonazarov B, et al. Sildenafil inhibits hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Circulation*. 2001;104:424–8.

228. Halcox JP, Nour KR, Zalos G, Mincemoyer RA, et al. The effect of sildenafil on human vascular function, platelet activation, and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1232–40.

229. Fries R, Shariat K, von Wilmowsky H, Böhm M. Sildenafil in the Treatment of Raynaud's Phenomenon Resistant to Vasodilatory Therapy. *Circulation* 2005;112:2980-5.

230. Allegra L, Blasi F, Bucchioni E, Centanni S, et al. Bronchoprotective activity of sildenafil (Viagra) in asthmatics: Proceedings from the 11th European Respiratory Society Annual Congress. *Eur Respir J* 2001;18:P2892.

231. Carson Cc, Lue Tf. Phosphodiesterase Type 5 Inhibitors For Erectile Dysfunction. *BJU International* 2005; 96:257-80.

232. Cohen AH, Hanson K, Morris K, Fouty B, et al. Inhibition of cyclic 3'-5'-guanosine

- monophosphate-specific phosphodiesterase selectivity vasodilates the pulmonary circulation in chronically hypoxic rats. *J Clin Invest* 1996;97:172-9.
233. Arruda-Olson AM, Mahoney DW, Nehra A, Leckel M, et al. Cardiovascular effects of sildenafil during exercise in men with known or probable coronary artery disease: a randomized crossover trial. *JAMA* 2002;287: 719-25.
234. Schütte H, Grimminger F, Otterbein J, Spriestersbach R, et al. Efficiency of aerosolized nitric oxide donor drugs to achieve sustained pulmonary vasodilation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997;282:985-94.
235. Temelkovski J, Hogan SP, Shepherd DP, Foster PS, 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.
236. Uzuner N, Kavukçu S, Yilmaz O, Ozkal S, et al. The role of L-carnitine in treatment of a murine model of asthma. *Acta Med Okayama* 2002;56:295-301.
237. Walker DK, Ackland MJ, James GC, Muirhead GJ, et al. Pharmacokinetics and metabolism of sildenafil in mouse, rat, rabbit, dog and man. *Xenobiotica* 1999; 29: 297.
238. Qian CN, Takahashi M, Kahnoski RJ, Teh BT. Effect Of Sildenafil Citrate On An Orthotopic Prostate Cancer Growth And Metastasis Model. *The Journal Of Urology* 2003;170:994-7.
239. Lagente V, Naline E, Guenon I, Corbel M, et al. A nitric oxide-releasing salbutamol elicits potent relaxant and anti-inflammatory activities. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;310:367-75.
240. <http://www.rxlist.com/cgi/generic/viagra.htm>.
241. Gong PH, Gao ZC, Hu P, Xu Y. Investigation of the measurement of murine airway hyperresponsiveness and the therapeutic effects of budesonide on ovalbumin sensitized and challenged mice. *Chin Med J (Engl).* 2005;118:1959-64.
242. Pekcetin C, Ergur BU, Kiray M, Bagriyanik A, et al. The protective effects of trimetazidine on testicular ischemia and reperfusion injury in rats. *Pediatr Surg Int* 2007;23:1113-8.
243. Olmez D, Babayigit A, Uzuner N, Erbil G, et al. Efficacy of sulphasalazine on lung histopathology in a murine model of chronic asthma. *Exp Lung Res.* 2008;34:501-11
244. Babayigit A, Olmez D, Karaman O, Bagriyanik A, et al. Ginseng ameliorates chronic histopathologic changes in a murine model of asthma. *Allergy Asthma Proc* 2008;29:493-8.
245. Kumar RK. Understanding airway wall remodeling in asthma: a basis for improvements in therapy? *Pharmacol Ther* 2001; 91:93-104.

246. Sumi Y, Hamid Q. Airway Remodeling in Asthma. *Allergol Int* 2007; 56:341-48.
247. Ramos-Barbón D, Ludwig MS, Martin JG. Airway remodeling: lessons from animal models. *Clin Rev Allergy Immunol* 2004; 27:3-21.
248. Hamad AM, Clayton A, Islam B, Knox AJ. Guanylyl cyclases, nitric oxide, natriuretic peptides and airway smooth muscle function. *Am J Physiol* 2003; 285: 973-83.
249. Coleman JW. Nitric oxide: a regulator of mast cell activation and mast cell-mediated inflammation. *Clin Exp Immunol* 2002; 129:4-10.
250. Panettieri RA Jr, Kotlikoff MI, Gerthoffer WT, Hershenson MB, et al; National Heart, Lung, and Blood Institute. Airway smooth muscle in bronchial tone, inflammation and remodeling: basic to clinical relevance. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 248-50.
251. Clayton RA, Dick CA, Mackenzie A, Nagasawa M, et al. The effect of selective phosphodiesterase inhibitors, alone and in combination, on a murine model of allergic asthma. *Respir Res* 2004; 5:4.
252. Karaman O, Olmez D, Babayigit A, Ozogul C, et al. Impact of nebulized sildenafil on lung histopathology in a murine model of chronic asthma. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 2008-9111 (basımda)