

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

**ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN BALB/c
FARELERDE GLYCYRRHİZİN'İN AKCİĞERDE
MEVCUT KRONİK HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Uzm. Dr. Arzu Babayığit Hocaoğlu

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Özkan Karaman

İzmir-2010

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

**ASTİM MODELİ OLUŞTURULAN BALB/c
FARELERDE GLYCYRRHİZİN'İN AKCİĞERDE
MEVCUT KRONİK HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Uzm. Dr. Arzu Babayığit Hocaoğlu

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Özkan Karaman

İzmir-2010

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	III
RESİM LİSTESİ	VI
KISALTMALAR	V
ÖNSÖZ	VII
TÜRKÇE ÖZET	1
İNGİLİZCE ÖZET	2
GİRİŞ VE AMAÇ	3
GENEL BİLGİLER	5
2.1 Bronşial astım tanımı	5
2.2 Sıklık	5
2.3 Etiyoloji.....	8
2.4 Astımın patogenezi	8
2.4.1 Astımda havayolu inflamasyonu	8
2.4.2 Havayollarının yapısal değişiklikleri ve yeniden yapılanma (Remodeling)....	11
2.4.3 Havayolu aşırı duyarlılığı	17
2.5 Tanı	17
2.5.1 Hikaye.....	17
2.5.2 Fizik muayene	17
2.5.3 Laboratuvar bulguları	18
2.6 Bronşial astım tedavisi	19
2.7 Bronşial astımda tamamlayıcı ve alternatif tedaviler.....	24
2.7.1 Alternatif tedavi yöntemleri.....	24
2.7.1.1 Bitkisel ilaçlar/Şifalı otlar.....	26
2.7.1.1.1 Meyan Kökü (<i>Glycyrrhiza Glabra</i>)	27
GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1 Deney hayvanlarının temini ve yaşam çevrelerinin sağlanması.....	31
3.2 Çalışma grupları.....	31
3.3 Kronik astım modelinin oluşturulması.....	31
3.4 Çalışma ilaçlarının uygulanması.....	33
3.5 Hayvan yaşamını sonlandırma zamanı ve yöntemi	33
3.6 Histolojik incelemeler	33
3.7 İstatistiksel analiz.....	34

BULGULAR.....	35
TARTIŞMA.....	51
SONUÇLAR.....	55
KAYNAKLAR	56

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Astımda havayollarındaki inflamatuvar hücrelerin özellikleri

Tablo 2: Astım oluşumunda rol oynayan ana mediatörlerin özellikleri

Tablo 3: Havayolunda düz kas proliferasyonunun etkileyen faktörler

Tablo 5: Astımda kontrol düzeyini belirlemek için kullanılan kriterler

Tablo 6: Astımın kontrol düzeyine göre tedavi yaklaşımı

Tablo 7: Astımda kullanılan tamamlayıcı-alternatif tedavi yöntemleri

Tablo 8: Tüm grupların histolojik parametreleri

Tablo 9: Kontrol grubu ile plasebo grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

Tablo 10: Plasebo grubu ile glycyrrhizin grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

Tablo 11: Dekametazon grubu ile plasebo grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

Tablo12: Dekametazon grubu ile glycyrrhizin grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Allerjik inflamasyonun gelişimi

Şekil 2: Astımın patogenezi ve hastalığın ilerlemesi

Şekil 3: Kronik astımda havayollarında yeniden yapılanma (remodeling)

Şekil 4: Mast hücre aracılı remodelingin sematik görüntüsü

Şekil 5: Havayollarının sağlıklı ve astımlı hastalarda sematik görünümü

Şekil 6: Astım nedeni ile ölen hastalarda havayollarında yapısal değişiklikler

Şekil 7: Astımda kullanılan çeşitli ilaçların havayollarındaki yeniden yapılanmaya etkisi

Şekil 8: Meyan kökünün kimyasal yapısı

Şekil 9: Astım modeli oluşturma protokolü

Şekil 10: Grupların ortalama bazal membran kalınlıklarının dağılımı

Şekil 11: Grupların ortalama düz kas kalınlıklarının dağılımı

Şekil 12: Grupların ortalama epitel kalınlıklarının dağılımı

Şekil 13: Grupların ortalama mast hücre sayılarının dağılımı

Şekil 14: Grupların ortalama goblet hücre sayılarının dağılımı

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Meyan kökü bitkisi

Resim 2: Çalışma için kullanılan BALB/c fareler

Resim 3: Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 4: Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 5: Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitleri (Toluidin blue)

Resim 6: Kontrol grubunun (Grup I) havayollarının elektron mikroskopik görüntüsü

Resim 7: Astım modeli oluşturulmuş plasebo uygulanmış grupta (Grup II) akciğer kesitleri (H&E boyama)

Resim 8: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 9: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 10: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)

Resim 11: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (Elektron mikroskopi)

Resim 12: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik görüntüsü

Resim 13: Astım modeli oluşturulmuş ve deksametazon uygulanmış grupta (Grup III) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 14: Deksametazon grubunda (Grup III) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)

Resim 15: Astım modeli oluşturulmuş ve deksametazon uygulanmış grupta (Grup III) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik olarak görüntüsü

Resim 16: Deksametazon grubunda (Grup III) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik görüntüsü

Resim 17: Astım modeli oluşturulmuş ve glycyrrhizin uygulanmış grupta (Grup IV) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 18: Glycyrrhizin grubunda (Grup IV) akciğer kesitleri (PAS boyama)

Resim 19: Glycyrrhizin grubunda (Grup IV) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)

Resim 20: Glycyrrhizin grubunda (Grup IV) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik görüntüsü

KISALTMALAR

BAL	: Bronkoalveolar lavaj
b-FGF	: Basit fibroblast büyüme faktörü
COX	: Siklooksijenaz
Cys LT	: Sisteinil lökotrien
ECP	: Eozinofilik katyonik protein
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EPO	: Eozinofilik peroksidaz
ET-1	: Endotelin 1
FEV₁	: Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm
FGF	: Fibroblast kaynaklı büyüme faktörü
FVC	: Zorlu vital kapasite
GINA	: Global Initiative for Asthma
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör
HB-EGF	: Heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü
H&E	: Hematoksilen-Eosin
IFN-g	: İnterferon gama
IGF	: İnsulin benzeri büyüme faktörü
Ig	: İmmünglobulin
IL	: İnterlökin
LT	: Lökotrien
Maks	: Maksimum
MBP	: Major bazik protein
MCP	: Monosit kemotaktik protein
Min	: Minimum
MUC	: Müsin glikoproteinleri
NF- κB	: Nüklear faktör κ B
NK	: Natural killer
nm	: Nanometre
μm	: Mikrometre
OVA	: Ovalbumin
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PAS	: Periodic Acid Schiff
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

PEF	: Ekspiratuvar zirve akım hızı
PG	: Prostoglandin
RANTES	: Aktivasyon ile regüle olan eksprese ve sekrete edilen T hücreleri
RSV	: Respiratuvar sinsityal virus
Ort	: Ortalama
STAT	: Sinyal transduser ve transkripsiyon aktivatörü
TARC	: Timus ve aktivasyonun regüle ettiği kemokin
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
T h	: T helper
TNF-a	: Tümör nekroz faktör alfa
TXA₂	: Tromboksan A ₂
VEGF	: Vasküler endotel büyüme faktörü

ÖNSÖZ

Yan dal uzmanlık eğitimim ve tez çalışmamda sağladığı imkanlardan dolayı Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hale Ören'e ve geçmiş tüm Anabilim Dalı Başkanlarına, bilgi ve tecrübelerini aktarmaktan zevk duyan, desteğini her zaman hissettiğim, tez çalışmamda da her türlü yardım ve desteği sağlayan, tez danışmanım Pediatrik Allerji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Özkan Karaman'a, yine yan dal eğitimim süresince hoşgörü ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Prof. Dr. Nevin Uzuner'e, tez çalışmamda gösterdiği yakın ilgi, yardım ve desteklerinden dolayı Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Osman Yılmaz'a, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Candan Özoğul, Doç. Dr. Alper Bağrıyanık ve Yrd. Doç. Dr. Güven Erbil'e ve hayvan deneylerini birlikte yürüttüğümüz çalışma arkadaşım Uzm. Dr. Duygu Erge'ye,

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

Tez çalışmamda bana gösterdiği yardımlardan dolayı Multidisipliner Deney Hayvanları laboratuvarının tüm çalışanlarına,

Ve bugüne kadar bana her türlü desteği veren sevgili eşime ve anneme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Uzm.Dr.Arzu Babayiğit Hocoğlu

ÖZET

ASTIM MODELİ OLUŞTURULAN BALB/c FARELERDE GLYCYRRHİZİN'İN AKCIĞERDE MEVCUT KRONİK HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Amaç: Glycyrrhizin, meyan kökünün (*Glycyrrhiza glabra*) önemli aktif bir bileşeni olan triterpen glikozittir. Antiinflamatuvar, antiviral, antitümör ve hepatoprotektif etki gibi birçok farmakolojik etkileri vardır. Meyan kökü, eski zamanlardan beri, astımı tedavi edici bir bitki olarak kullanılmaktadır. Ancak bu bitkisel tedavinin, astımda akciğerde meydana gelen kronik yapısal değişiklikler üzerine olan etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, kronik astım modeli oluşturulmuş BALB/c farelerde meyan kökünün aktif bileşeni olan glycyrrhizin'in akciğerdeki histolojik değişiklikler üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: Yirmisekiz BALB/c fare Grup I, II, III ve IV olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu (Grup I) dışındaki tüm fareler ovalbumin ile sensitize edildi ve duyarlılaştırıldı. Grup II'ye (Plasebo) salin, Grup III'e 1 mg/kg dozunda deksametazon ve Grup IV'e 10 mg/kg dozunda glycyrrhizin, orogastrik gavaj yolu ile yedi ardışık gün boyunca verildi. Bütün gruplarda akciğer histolojisi, ışık ve elektron mikroskopik olarak değerlendirildi.

Bulgular: Akciğerin histolojik değerlendirmelerinde, bazal membran (p: 0.000), subepitelyal düz kas (p: 0.001) ve epitel (p: 0.000) kalınlığının, mast hücre (p: 0.018) ve goblet hücre (p: 0.000) sayısının, glycyrrhizin uygulanan grupta (Grup IV), plasebo uygulanan gruba (Grup II) göre önemli ölçüde azaldığı gösterildi. Glycyrrhizin (Grup IV) ve deksametazon grupları (Grup III) karşılaştırıldığında ise, bazal membran kalınlığı (p: 0.514), subepitelyal düz kas (p: 0.054) ve epitel kalınlığı (p: 1.0), mast (p: 0.075) ve goblet hücre sayısı (p: 0.988) dahil değerlendirilen tüm histolojik parametrelerde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Sonuç: Bu çalışmada, glycyrrhizin astım modelinde oluşan tüm kronik histolojik değişiklikleri düzeltmiştir. Ayrıca, değerlendirilen histolojik değişiklikler açısından deksametazon ve glycyrrhizin uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonuçları glycyrrhizin'in astımlı havayollarında kronik yapısal değişiklikleri düzeltici etkisini göstermiştir, ancak glycyrrhizin'in akciğerde inflamasyon ve yeniden yapılanma üzerine etkilerini değerlendirecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Glycyrrhiza glabra*, glycyrrhizin, deksametazon, astım, BALB/c fare, ışık mikroskopi, elektron mikroskopi, akciğer histolojisi.

ABSTRACT

EFFECTS OF GLYCYRRHIZIN ON CHRONIC HISTOLOGIC CHANGES OF LUNG IN BALB/c MICE IN WHICH MURINE MODEL OF ASTHMA WAS ESTABLISHED

Objective: Glycyrrhizin is a triterpene glycoside, a major active constituent of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) root. It has numerous pharmacological effects like anti-inflammatory, anti-viral, anti-tumor and hepatoprotective activities. Licorice has been used as an asthma-relieving medicinal herb from ancient times. However, effects of this herb on chronic structural changes of lung are not fully known. In this study, we aimed to determine the effects of oral administration of glycyrrhizin, an active constituent of licorice root, on lung histology in BALB/c mice in which the model of chronic asthma was established.

Material and methods: Twenty-eight BALB/c mice were divided into four groups; Group I, II, III and IV. All mice except controls (Group I) were sensitized and challenged with ovalbumin. Mice in Group II (placebo) received saline, Group III dexamethasone 1mg/kg and Group IV glycyrrhizin 10 mg/kg via orogastric gavage for seven consecutive days. Lung histology was evaluated by using light and electron microscopy in all groups.

Results: Evaluation of lung histology demonstrated that thicknesses of basement membrane (p: 0.000), subepithelial smooth muscle (p: 0.001), epithelium (p: 0.000), and the number of mast (p: 0.018) and goblet cells (p: 0.000), were significantly decreased in glycyrrhizin group (Group IV) when compared with the placebo group (Group II). When glycyrrhizin (Group IV) and dexamethasone groups (Group III) were compared each other, there was no statistically significant difference between the two groups in histological parameters including thicknesses of basement membrane (p: 0.514), subepithelial smooth muscle (p: 0.054), epithelium (p: 1.0) and the number of mast (p: 0.075) and goblet cells (p: 0.988).

Conclusion: Glycyrrhizin reversed all the established chronic histological changes of lung in the mouse model of asthma in this study. Also, no statistically significant difference was found between dexamethasone and glycyrrhizin groups in terms of evaluated histological changes. The results of this study pointed to the ameliorating effect of glycyrrhizin on chronic structural changes in the asthmatic airways, but further studies which evaluate the effects of glycyrrhizin on lung inflammation and remodeling are needed.

Key-words: *Glycyrrhiza glabra*, glycyrrhizin, dexamethasone, asthma, BALB/c mice, light microscopy, electron microscopy, lung histology.

1. GİRİŞ VE AMAC

Astım; çeşitli etkenlere bağlı olarak gelişen bronş hiperreaktivitesi ile karakterize, bronş sisteminin kronik inflamasyonu sonucu oluşan, spontan veya tedavi ile düzelebilen, bronkospazmlarla seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Astımın patogenezinin daha iyi anlaşılması ile birlikte, astım tedavisinde antiinflamatuvar tedaviler daha da önem kazanmaya başlamıştır. Kortikosteroidler, astım tedavisinde bilinen en güçlü antiinflamatuvar etkili ilaçlardır. Sistemik steroidlerin birçok yan etkisi olması nedeni ile astımın kronik tedavisinde inhale steroidlerin kullanımı tercih edilmektedir. İn hale steroidlerin yan etkileri genellikle lokal olmaktadır, ancak nadiren adrenal supresyon, büyüme geriliği ve kemik metabolizmasında bozukluk gibi ciddi sistemik yan etkileri de söz konusu olabilmektedir (1). Astım tedavisinde sık kullanılan ilaçların olası yan etkileri nedeni ile, ilaç ihtiyacını azaltabilecek alternatif yöntemlerin arayışları başlamıştır. Bu alternatif tedavi yaklaşımları arasında en sık kullanılanlardan birisi de değişik bitki tedavileridir (fitoterapi).

Alternatif tedavi yaklaşımları, günümüzde birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Çocuk hastalarda yapılan bir çalışmada, hastaların %53'ünün hayatlarında en az bir kere, %23'ünün ise son bir ay içinde alternatif tedavi yaklaşımlarını denediği, bu alternatif yaklaşımlar içinde en sık bitkisel tedavilerin kullanıldığı, bu tedavi şeklini en sık kullanan hasta grubunu ise astımlıların oluşturduğu gösterilmiştir (2). Başka bir çalışmada ise, orta persistan astımı olan hastaların %60'ının, ağır astımı olan hastaların ise %70'inin alternatif tedavi seçeneklerini kullandığı, bu tedavi seçenekleri arasında ise bitkisel tedavilerin üçüncü sıklıkta tercih edildiği gösterilmiştir (3). Ülkemizde yapılan bir çalışmada ise, astım tanısı almış çocuk hastaların %49'unun alternatif tedavi yaklaşımlarını kullandığı, bunlar arasında ikinci sıklıkta kullanılan tedavi seçeneğinin ise bitkisel ilaçlar (%31) olduğu vurgulanmıştır (4). Bielory ve ark.'ları, 1999 yılına kadar Çin tıbbının bitkisel tedavileri ile ilgili yapılmış araştırmaların sonuçları derlemişler, bazı bitkilerin, astım semptomlarını ve medikal skorlarını düzelttiğini, solunum fonksiyonlarını arttırdığını, steroid ve beta-2 agonist ihtiyacını azaltabildiğini, hayvan modellerinde de inflamasyonu ve eozinofiliyi baskılayabildiğini bildirmişlerdir (5). Kliniğimizde yapılan bir çalışma da ise, astımlı çocuk hastaların %46.4 oranında alternatif tedavi yöntemlerinin kullandığı, bunların %23.6'sının son altı ay içinde, %39.6'sının ise son bir yıl içinde bu tedavileri denediği, en sık tercih edilen alternatif tedavi metodunun ise %29.7 sıklık ile şifalı bitkiler olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada, hastaların kullandığı bitkisel tedaviler içinde en sık tercih edilenin ise meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) (%26.6) olduğu gösterilmiştir (6). Meyan kökü bitkisi, halk arasında astım tedavisinde sık kullanılan bir bitkisel tedavi şekli olmasına karşın, bu bitkinin astım

tedavisinde etkinliğini araştıran çalışmaların sayısı çok sınırlıdır. Akciğerde astıma bağlı oluşan kronik histopatolojik değişiklikler ve yeniden yapılanma (Remodeling) üzerine etkisini araştıran bir çalışma ise literatürde henüz mevcut değildir.

Bu çalışmada; astım tedavisinde sıkça kullanılan meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*) bitkisinin aktif bileşeni olan ve antiinflamatuvar özelliğe sahip glycyrrhizin'in, ovalbümin (OVA) ile sensitize edilerek kronik astım modeli oluşturulmuş BALB/c farelere uygulanarak astım nedeni ile oluşan kronik histolojik değişiklikler üzerine etkisinin araştırılması ve bu etkinin deksametazon ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Bronşial astım tanımı

Bronşial astım, mast hücreleri, eozinofiller ve T lenfositler başta olmak üzere değişik hücrelerin rol oynadığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Duyarlı kişilerde havayollarındaki bu inflamasyon nöbetler şeklinde gelen öksürük, nefes darlığı, hışıltılı solunum ve göğüste sıkışma hissine neden olmaktadır. Hastada var olan bu semptomlar diffuz havayolu obstrüksiyonuna bağlıdır. Havayolu obstrüksiyonu değişik derecelerde olup, genellikle geri dönüşümlüdür ve spontan yada tedavi ile düzelebilir. Ayrıca havayollarındaki kronik inflamasyon hava yollarının değişik uyarılara karşı duyarlılığının artmasına da neden olmaktadır (1).

2.2 Sıklık

Günümüzde astım çocukluk çağının önemli bir sağlık sorunu olma özelliğinin korumaktadır. Çocukluk çağı kronik hastalıklarının en sık görülenidir. Yıllar geçtikçe; sıklığı, morbiditesi, mortalitesi artan bir hastalık haline gelmiştir (7). Hastalığın patogenezi, risk faktörleri ve tedavisi konusunda bilgilerin artması, hastalığın sıklığındaki artışı engelleyememiştir. Dünyadaki astım prevalansı ülkeler arasında farklılık göstermekle birlikte %1 ile %18 arasında değişmektedir. Yıllar içinde astım sıklığındaki değişim ülkeden ülkeye farklılıklar göstermekle birlikte, şehirleşmenin ve batı tarzı yaşamın artmasına paralel seyreden bir değişim göstermektedir (8). Astım prevalansının en yüksek olduğu ülkeler Avustralya, Yeni Zelanda ve İngiltere'dir (9).

Gelişmiş ülkelerde, son yıllarda özellikle pediatrik yaş grubunda astım prevalansında belirgin artış olduğu gözlenmiştir (10-14). Ülkemizde yapılan değişik çalışmalarda, astım prevalansının %2.8-%14.5 arasında değiştiği gösterilmiştir (15,16). İzmir ilinde, 6-13 yaş arası çocuklarda Karaman ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, astım kümülatif prevalansı %4.9 olarak bulunmuştur (17). Aynı bölgede, yaklaşık on yıl sonra yapılan çalışmada ise, 9-11 yaş arasındaki çocuklarda, tekrarlayan hışıltı oranı %15.9, doktor tanıli astım oranı ise %4.8 olarak bulunmuştur (18). Başka bir çalışmada ise, dokuz yıl içinde İstanbul'daki çocuklarda astım prevalansının %9.8'den %17.8'e yükseldiğini gösterilmiştir (19).

2.3 Etiyoloji

Astım gelişimini etkileyen faktörler

Astım, kişiye ait risk faktörleri ve çevresel risk faktörlerinin kompleks ilişkisi sonucu ortaya çıkan birçok risk faktörünün birlikte rol oynadığı bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Yapılan çok sayıda çalışma, atopi ve astımda genetik geçişin basit Mendelian tipte olmadığını, birden fazla kromozomun rol oynadığı poligenik bir geçişin söz konusu olduğunu göstermektedir. Ancak astım fenotipinin belirlenmesinde tek başına genetik faktörlerin yeterli olmadığı, genetik yatkınlığı olan kişilerde çevresel faktörlerin de önemli roller üstlendiği bilinmektedir (1,20).

1. *Konağa ait risk faktörleri*

a. Genetik: Astım birden fazla genin birbiri arasındaki ilişki ve bu ilişki ile çevrenin yoğun olarak etkileşimi sonucu ortaya çıkar. Astımın oluşumunda poligenik bir kalıtım modeli üzerinde durulmaktadır. HLA gen kompleksi 6. kromozomun kısa kolunda yer almaktadır ve allerjene olan immün cevabın düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Kromozom 11, 12 ve 13 üzerinde atopi ve astım gelişiminde rol oynayan birçok gen mevcuttur (21). Kromozom 1'de allerjik fenotipi belirleyen (22), kromozom 12 üzerinde ise interferon- γ 'yı (IFN- γ), mast hücre büyüme faktörünü, insülin benzeri büyüme faktörünü (IGF) ve nitrik oksit sentazı kodlayan genler mevcuttur. Birçok çalışmada kromozom 12q, astım ve Ig E arasında ilişki saptanmıştır (23). Kromozom 5q bölgesinde sitokin gen kümesinin kodlandığı bilinmektedir (23).

Astım yatkınlık yaratan genler dışında astım tedavisine yanıtı ile ilişkili genler de tanımlanmıştır. Örneğin; beta-adrenoreseptörü kodlayan genlerdeki varyasyonlar, bireylerin beta-2 agonistlere yanıtlarındaki farklılıkları belirlemektedir (24). Aynı şekilde, glukokortikosteroidlere ve lökotrien reseptör antagonistlerine yanıtı belirleyen genler konusunda da araştırmalar sürmektedir (25,26). Bu genetik belirleyiciler, sadece astım patogenezindeki risk faktörleri olarak değil, aynı zamanda tedaviye yanıtın belirleyicileri olarak da önem kazanmaktadır (24, 26).

b. Cinsiyet: Erkek cinsiyet çocukluk çağında astım için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. 14 yaşından önce astım prevalansı erkeklerde kızlardan yaklaşık iki kat daha fazladır (27). Çocuklar büyüdükçe iki cins arasındaki farklılık azalmakta ve erişkin dönemde astım, kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir. Cinsiyet ile ilişkili sıklık farklılığının nedeni tam bilinmemekle birlikte, doğumda erkeklerin havayolu çapının kızlarınkinden daha

küçük olması ancak erişkin dönemde bu farklılığın tersine dönmesi ile ilişkilendirilmektedir (28).

c. Obezite: Obezitenin de astım için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Leptin benzeri mediatörler solunum fonksiyonlarını etkileyebilmekte ve astım gelişme olasılığını arttırabilmektedir (29).

2. Çevresel risk faktörleri

a. Allerjenler ile temas: Allerjen ile temas ve sensitizasyon arasındaki ilişki allerjenin tipine, dozuna, temas süresine, çocuğun yaşına ve genetik yapısına bağlı olarak değişmektedir (1). Ev tozu akarları ve hamamböceği allerjenleri gibi bazı allerjenler için, duyarlanma temas ile direk olarak ilişkilidir (30). Bazı epidemiyolojik çalışmalar, kedi ve köpek gibi hayvanlar ile erken temasın çocuklardaki allerjik duyarlanmayı ve astım gelişimini önleyebileceğini göstermekle birlikte bu maruziyetin allerjik duyarlanma riskini arttırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (31). Astım sıklığının kırsal kesimde yaşayan çocuklarda daha düşük bulunması ise, bu çevrelerdeki endotoksin varlığı ile ilişkilendirilmektedir (32).

b. İnfeksiyonlar: Gebelik boyunca fetüs immünitesinden T helper (Th) 2 hücreler ağırlıklı olarak sorumludur ve bu olay erken çocuklukta da bu şekilde sürmektedir. Ancak erken çocuklukta geçirilen bazı enfeksiyonlar, Th 2 cevabını Th 1'e dönüştürebilirler. Bu nedenle, Th 1 cevabını uyaran enfeksiyonların astım ve allerji gelişimini engelleyici olabildikleri düşünülmektedir. Hijyen teorisine göre, erken çocukluk döneminde geçirilen kızamık gibi bazı viral enfeksiyonların astım gelişimine karşı koruyucu rol oynadıkları ileri sürülmektedir (33).

Sütçocukluğu döneminde geçirilen çok sayıda viral enfeksiyon astım fenotipi ile ilişkilendirilmiştir. Çocuklarda yapılan bazı çalışmalar respiratuar sinsityal virus (RSV) ile enfekte çocuklarda hışıltının devam ettiğini ve bunların geç çocukluk döneminde astım hastası olduklarını göstermekle birlikte (34), diğer yandan, yaşamın erken döneminde geçirilen bazı solunum yolu enfeksiyonlarının astım gelişimini önleyebileceğini de bildiren çalışmalar mevcuttur (35). Atopi ve viral enfeksiyonlar arasında karmaşık bir ilişki vardır. Atopi varlığının alt havayollarının viral enfeksiyonlara yanıtını ve viral enfeksiyonların da allerjik duyarlanma gelişimini etkileyebileceği kabul edilmektedir (36).

c. Havakirliliği ve sigara dumanı maruziyeti: Çocuklar erişkinlere göre havakirliliğine bağlı zararlı etkiler açısından daha büyük risk altındadırlar. Hava kirleticilerine maruziyet havayolu aşırı duyarlılığına, solunum semptom ve bulgularına, astım alevlenmelerine ve akciğer fonksiyonlarında azalmaya neden olabilmektedir (37).

Sigara dumanı maruziyeti, astımlı hastalardaki solunum fonksiyon testlerinde hızlı düşme, astım ağırlığında artma, inhale ve sistemik steroid yanıtında azalma ve astım kontrolünde bozulma ile ilişkili bulunmuştur (38-40). Yapılan çalışmalarda, prenatal dönemde annenin sigara kullanımının, okul çağı çocuklarındaki astım sıklığını arttırdığı kesin olarak gösterilmiştir (7,41). Anneleri sigara içen infantlarda, yaşamın ilk yılında tekrarlayan hışıltı gelişme riski dört kat fazla bulunmuştur (42). Çocuklarda pasif sigara içiciliğinin de, acil servise başvuru sıklığını ve bronkodilatatör ihtiyacını artırdığı, semptom ve atakları tetiklediği gösterilmiştir (43).

d. Beslenme: Diyetin astım gelişimi üzerine etkisi hakkında çok sayıda çalışma yapılmıştır. Anne sütü ile beslenme astım ve allerjik hastalıklardan primer korunma için önerilmektedir ancak bu konuda yapılmış olan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Birçok çalışma anne sütü ile beslenmenin astım ve allerjik hastalıklardan korunmada orta derecede bir etkinliğinin olduğunu göstermiştir. 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 (44). Hazır gıdaların fazla miktarda kullanıldığı düşük antioksidan, yüksek n-6 çoklu doymamış yağ asidi ve düşük n-3 çoklu doymamış yağ asidi içeren diyetlerle beslenenlerde, astım ve atopik hastalık gelişiminin daha fazla olduğunu gösteren yayınlar da mevcuttur (45).

2.4 Astımın patogenezi

Astım çok sayıda inflamatuvar hücre ve mediatörün rol oynadığı ve birtakım karakteristik patofizyolojik değişikliklerin ortaya çıktığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır.

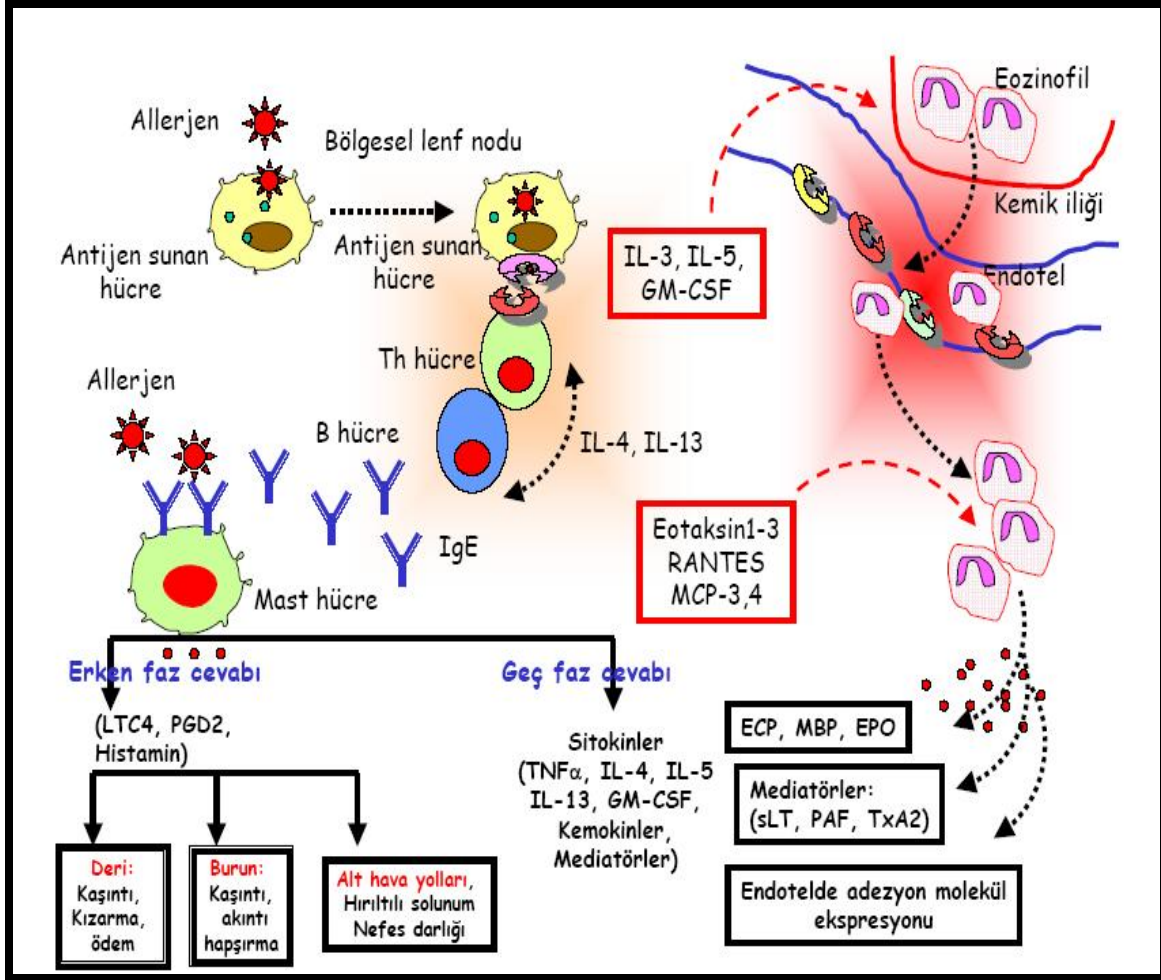
2.4.1 Astımda havayolu inflamasyonu

Hastalığın patogenezinde çok sayıda farklı hücre rol oynamaktadır ancak havayolu inflamasyonu astım için çok önemli karakteristik bir özelliktir. Astımda havayolu inflamasyonu persistan olup, semptomlar epizodiktir. Astımın ağırlığı ile inflamasyonun yoğunluğu arasındaki ilişki net olarak gösterilememiştir (46). İnflamasyon çoğu hastada üst havayolları ve burun dahil olmak üzere tüm havayollarını etkilemekte ancak fizyolojik etkileri orta büyüklükteki bronşlarda en belirgin olarak ortaya çıkmaktadır (1).

Astımda rol oynayan inflamatuvar hücreler:

Allerjik hastalıklarda görülen inflamasyon paterni astımlı hastalarda da görülür. Aktive mast hücreleri, artmış sayıda eozinofiller, natural killer (NK) T hücreler ve Th 2 lenfositlerden salınan mediatörler, astımdaki semptomların oluşumundan sorumludurlar (Şekil 1). Allerjik inflamasyondan sorumlu hücreler ve bu hücrelerin özellikleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

Şekil 1: Allerjik inflamasyonun gelişimi



(**Kısaltmalar:** IL=İnterlökin, ECP: Eozinofilik katyonik protein, EPO= Eozinofilik peroksidaz, MBP=Major bazik proetin, LT= Lökotrien, PAF= Trombosit aktive edici faktör, TxA2= Tromboksan A2, MCP= monosit kemotaktik protein, RANTES= Regulated on activation T-cell expressed and secreted, TNF- α : Tümör nekroz faktör alfa)

Tablo 1: Astımda havayollarındaki inflamatuvar hücrelerin özellikleri

<p>Mast hücreleri: Aktive mukozal mast hücrelerinden çeşitli bronkokonstrüktör mediatörler salınır (histamin, sisteinil lökotrienler, prostoglandin (PG) D2) (47). Bu hücreler yüksek affiniteli Ig E reseptörleri aracılığı ile allerjenler ve osmotik uyarılar (egzersizin tetiklediği bronkokonstrüksiyon) tarafından aktive edilir. Havayolları düz kasında artmış mast hücre sayısı havayolu aşırı duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur (48). Bu hücreler sadece ani başlangıçlı hipersensitivite reaksiyonlarında değil, geç faz inflamasyonda ve havayollarının yeniden yapılanmasında da (Remodeling) önemli rol oynamaktadır (49-50).</p>
<p>Eozinofiller: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar. Bazik protein salınımına neden olarak havayolu epitel hücrelerinde hasarlanmaya yol açarlar. Büyüme faktörlerinin salınımı ve havayolu yeniden yapılanması ile ilişkilerinin olabileceği düşünülmektedir (51).</p>
<p>T lenfositler: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar. İnterlökin (IL) 4, 5, 9, 13 gibi spesifik sitokinlerin salınımına neden olarak eozinofilik inflamasyonu kontrol eder ve B lenfositlerden IgE yapımına neden olurlar (52).</p>
<p>Dendritik hücreler: Havayolu yüzeyinden allerjenleri seçerek regülatuar T hücreleri ile biraraya gelebileceği bölgesel lenf nodlarına göçederler ve naif T hücrelerinden Th 2 hücrelerinin oluşumunu stimüle ederler (53).</p>
<p>Makrofajlar: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar, düşük affiniteli Ig E reseptörleri aracılığı ile allerjenler tarafından aktive edilirler ve inflamatuvar cevapta rolü olan mediatörlerin ve sitokinlerin salınımına yol açarlar (54).</p>
<p>Nötrofiller: Ağır astımlı ve sigara içen astımlı hastaların havayolu ve balgamlarında artmış olarak bulunurlar (55).</p>

Astımda rol oynayan ana mediatörler

Astım ile ilişkili 100'den fazla farklı mediatör bulunduğu ve havayollarındaki kompleks inflamatuvar yanıtı oluşturdukları gösterilmiştir (1). Astım patogenezinde rol oynayan ana mediatörler ve özellikleri Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2: Astım oluşumunda rol oynayan ana mediatörlerin özellikleri

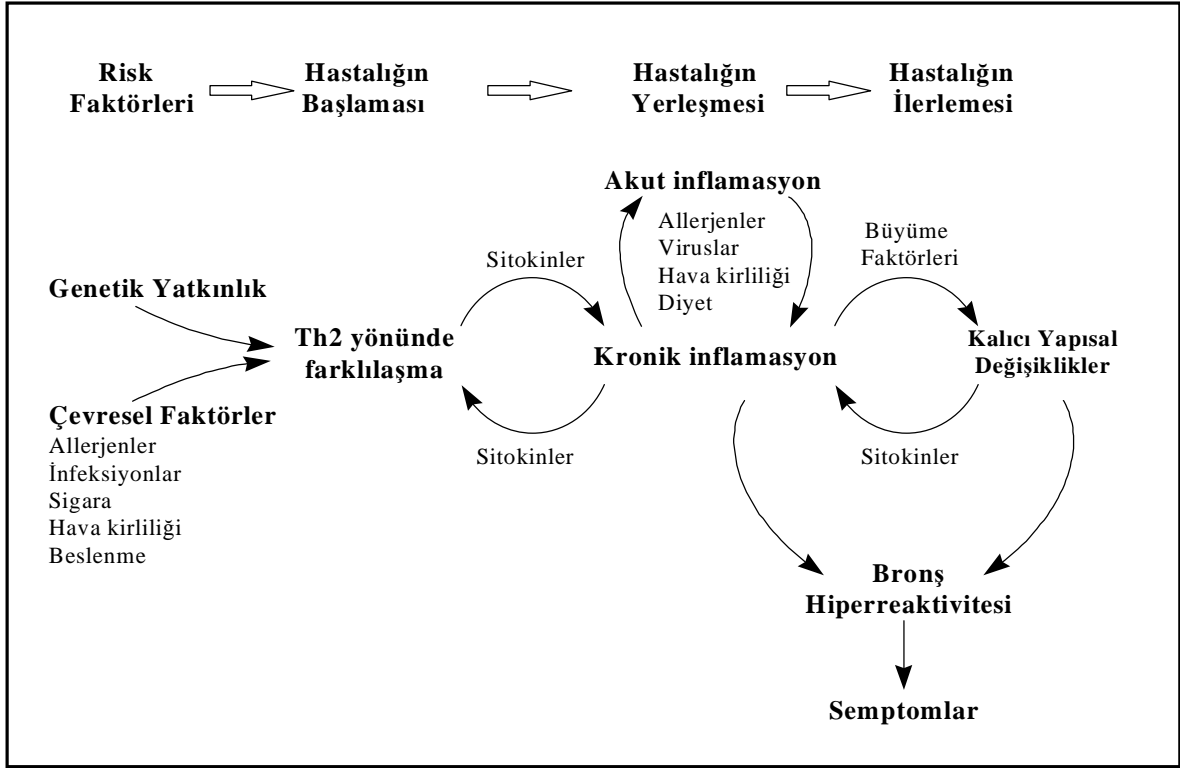
Kemokinler: İnflamatuvar hücrelerin havayoluna taşınmasında önem taşırlar ve başlıca havayolu epitel hücreleri tarafından sekrete edilirler. Eotaksin, eozinofiller için relatif olarak seçicidir, bununla birlikte timus ve aktivasyonun regüle ettiği kemokinler (TARC) ve makrofaj kökenli kemokinler, Th 2 hücrelerini taşırlar (56).
Sisteinil lökotrienler: Mast hücreleri ve eozinofillerden köken alan potent bronkokonstrüktör ve proinflamatuvar mediatörlerdir (57).
Sitokinler: Astımdaki inflamatuvar yanıtı ve ağırlığı belirlemede ana rol oynarlar. Astımda önemli rol oynayan sitokinler inflamatuvar yanıtı arttıran IL-1 β , Tümör nekroz faktör (TNF)- α ve havayolundaki eozinofil yaşamını arttıran Granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF)'dür. Th 2 kökenli sitokinler; eozinofil farklılaşması ve yaşamı için gerekli olan IL-5, Th 2 hücre farklılaşması için önemli olan IL-4 ve Ig E yapımı için gerekli olan IL-13'tür (58).
Histamin: Histamin mast hücrelerinden salınır. Bronkokonstrüksiyon ortaya çıkmasına ve inflamatuvar yanıt oluşumuna katkıda bulunur.
Nitrik oksit: Havayolu epitel hücrelerindeki nitrik oksit sentazın aktivasyonu ile oluşan potent bir vazodilatördür (59). Astımdaki inflamasyonu yansıtan ekshale nitrik oksit oranı, astım tedavi etkinliğini değerlendirmede artan oranlarda kullanılmaya başlanmıştır (60).
Prostaglandin D2: Başlıca mast hücrelerinden köken alan bir bronkokonstrüktördür ve havayoluna Th 2 hücre göçünde rol oynar.

2.4.2 Havayollarının yapısal değişiklikleri ve yeniden yapılanma (Remodeling)

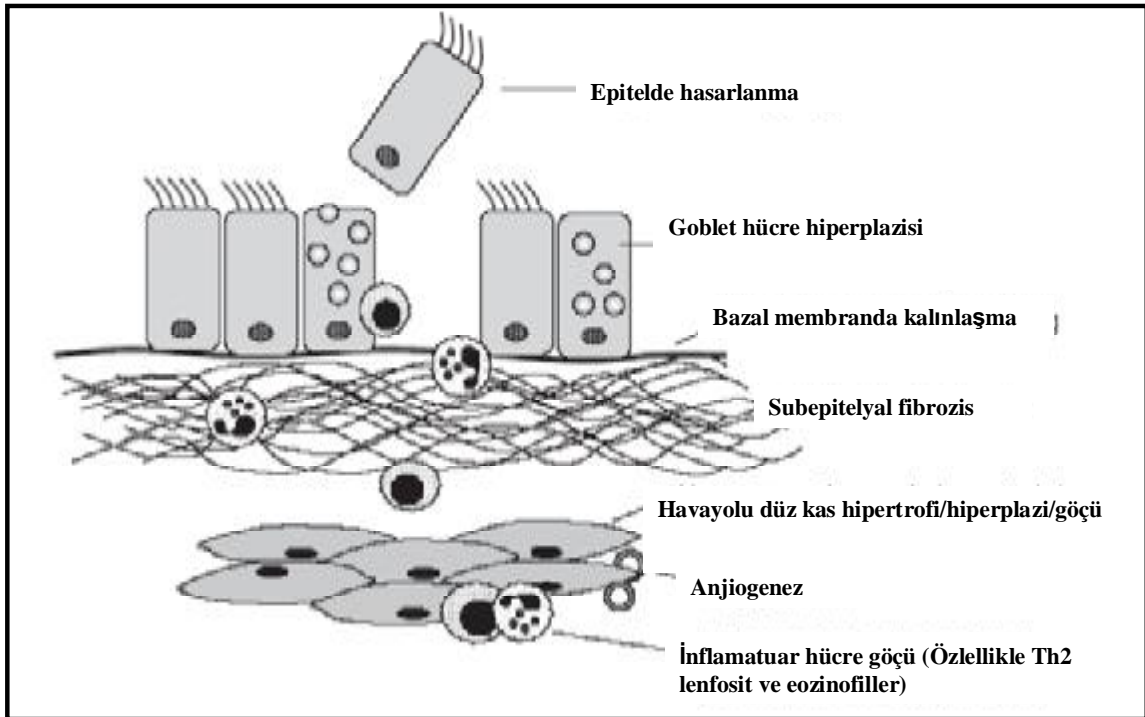
Astımda, havayollarında kronik inflamasyona nedeni ile hasar görmüş epitelde bir tamir süreci başlamakta ve “remodeling” olarak bilinen bazı yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin oluşmasına yol açmaktadır. Astımlı bir olguda altta yatan bu kronik değişiklikler zemininde tetikleyici ajanlarla karşılaşma sonucu akut inflamatuvar ataklar yaşanmaktadır (Şekil 2) (1,61).

“Remodeling” tanımlaması içinde bazal membran kalınlaşması, goblet hücre hiperplazisi, bronş düz kasında kitlesel artış ve damarlanmada artış gibi değişiklikler yer almaktadır (Şekil 3) (62).

Şekil 2: Astımın patogenezi ve hastalığın ilerlemesi



Şekil 3: Kronik astımda havayollarında yeniden yapılanma (remodeling)



Remodeling; goblet hücre hiperplazisi, bazal membran kalınlaşması ve bununla ilişkili olarak subepitelyal fibrozis, düz kas hipertrofi/hiperplazisi ve anjiyogenezisi kapsamaktadır.

Havayollarında yeniden yapılanmanın (Remodeling) mekanizmaları

a. Epitel hasarlanması ve tamiri

Epitel, organizmayı dış hasarlardan koruyan önemli bir bariyerdir. Havayollarında metabolik ve immunolojik olaylarda regülatuar rolü de vardır. Epitel hücrelerinden salınan birçok inflamatuvar mediatör mevcuttur ve astımlı hastalarda epitel hasarlanması çeşitli sitokin, büyüme faktörleri ve mediatörlerin etkisi ile gerçekleşir. Yeniden yapılanmaya direk etkisi olan faktörler arasında; transforming büyüme faktörü (TGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), basit fibroblast büyüme faktörü (b-FGF), IGF-1, endotelin 1 (ET-1) ve heparin bağlayıcı epidermal büyüme faktörü (HB-EGF) sayılabilir. Bu faktörlerin fibroblast proliferasyonunu ve ekstrasellüler matriks oluşumunu etkileyerek havayollarındaki yeniden yapılanmaya katkıda buldukları bilinmektedir (62).

b. Goblet hücre hiperplazisi

Goblet hücreleri ve mukus glandları musin glikoproteinlerini oluştururlar (MUCs). Bugüne kadar havayollarında mevcut olan 13 MUC geni tanımlanmıştır. Astım modellerinde yapılan çalışmalar, Th 2 sitokinlerin (IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13) goblet hücre metaplazisi oluşumunda etkili olduğu göstermiştir. IL-13; sekretuar hücrelerin miktarında artışa neden olmakta, aynı hücrelerde MUC5A aşırı ekspresyonu oluşmaktadır (62). Shim ve ark.'ları ratların havayolu epitelinde IL-13'ün neden olduğu goblet hücre metaplazisi ve MUC5A overekspresyonu olduğunu, bu etkinin EGF reseptöründen kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir (63).

c. Subepitelyal fibrozis

Histolojik olarak havayolu epitelinde retiküler bazal membranın kalınlaşması astımın karakteristik bir özelliğidir (62, 64). Epitel bazal membranı, bazal lamina ve daha derin tabaka olan lamina retikularis olmak üzere iki tabakadan oluşur. Elektron mikroskopi ile astımlı havayollarında görülen bazal membran kalınlaşması daha çok lamina retikularisin hemen altındaki alanın kalınlaşmasından kaynaklanmaktadır. Subepitelyal mesafedeki kalınlaşma, kollajen I, III, V ve ekstrasellüler matriks (Fibronektin, laminin, tenaskin) birikimi ile oluşmaktadır (65). Epitel hücreleri, makrofajlar, eozinofiller, lenfositler ve fibroblastlar tarafından sentez edilen TGF-B, ekstrasellüler matriks oluşumunu stimüle eder. Bu sitokinin ekspresyonu subepitelyal fibrozisin derecesi ile direk olarak ilişkili bulunmuştur (66).

d. Havayolu düz kas kalınlığının artması

Havayolu düz kas kitlesinde artış olması, yeniden yapılanmanın en önemli özelliğidir. Düz kasta proliferasyon; hipertrofi (Havayolu düz kas boyutunda artış) ve hiperplazi (Havayolu düz kas sayısında artış) şeklinde gerçekleşmektedir (62). Ebina ve ark.'ları astımlı hastaların düz kas yapısını incelemişler, iki tip düz kas yeniden yapılanma bulgusu tanımlamışlardır. Bu araştırmacılar, düz kas hiperplazisinin sadece santral havayollarında, hipertrofinin ise bronşoller dahil tüm havayollarında mevcut olduğunu göstermişlerdir (67). Yapılan çalışmalar, düz kas hücrelerinin havayolundaki yeniden yapılanmayı çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri veya matris proteinleri salgılayarak ve adezyon molekülleri ekspresyone ederek gerçekleştirdiklerini bildirmektedir. Havayollarındaki düz kas proliferasyonunu etkileyen önemli faktörler Tablo 3'de verilmiştir (62).

Tablo 3: Havayolunda düz kas proliferasyonunu etkileyen faktörler

Stimulatör		İnhibitör
Büyüme faktörleri, sitokinler	İnflamatuvar mediatörler	PGE2
EGF	Histamin	Heparin
PDGF	Serotonin	B2-agonist
IGF-1, 2	Endotelin-1	Nitrik oksit
b-FGF	LTD4	Kortikosteroid
IL-1B	Substans P	
IL-6	α -Trombin	
TNF- α	Tromboksan A2	
TGF-B		
Enzimler		
Triptaz		
B-hekzosaminidaz		
Lizozomal hidrolaz		

e. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu

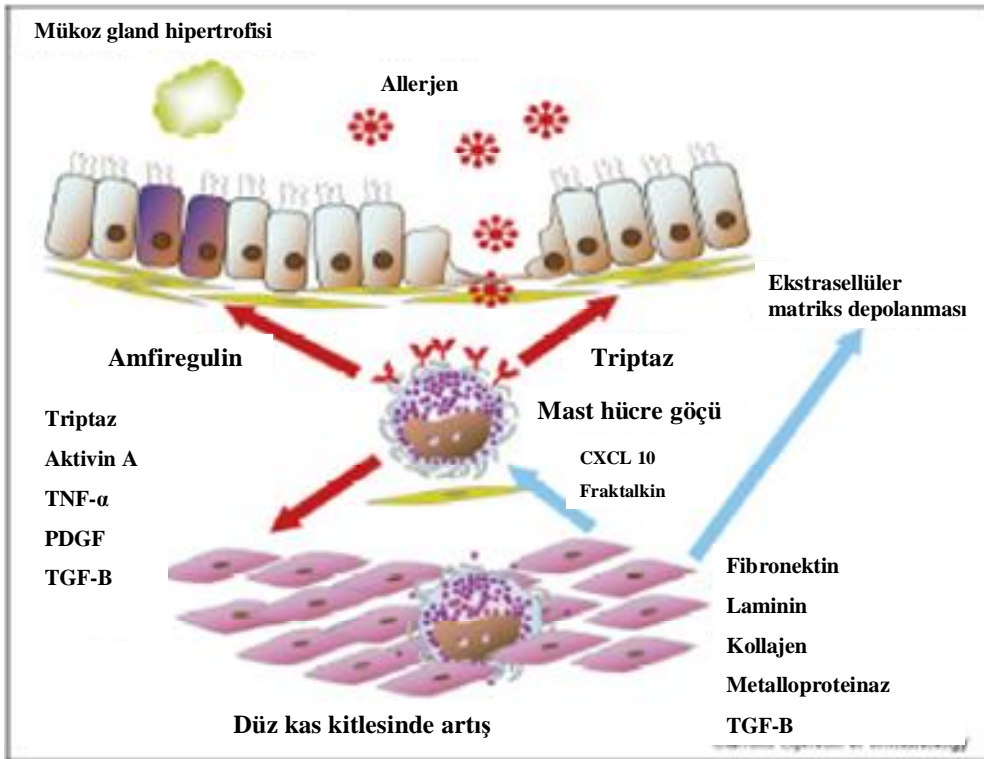
Havayolu düz kas hücreleri değişik sitokin, kemokin ve büyüme faktörleri salgılayarak inflamatuvar hücreleri uyarır, dolayısı ile havayolu inflamasyonu ve yeniden yapılanmasında rol oynarlar. Bu hücrelerin RANTES, eotaksin, IL-8, Monosit kemotaktik faktör (MCP) 1-3, TARC ve GM-CSF salgıladıkları ve eozinofil salınımı ve ömrünün uzamasında etkili oldukları bilinmektedir (62).

Mast hücre infiltrasyonu

Mast hücrelerinin, geç faz inflamasyon oluşumunda ve havayollarındaki yeniden yapılanmada önemi rolleri vardır (49,50). Mast hücre degranülasyonu ve aktivasyonu; triptaz, sisteinil lökotrienler ve PG D2 gibi düz kas remodelingi oluşmasında etkin olabilecek çeşitli mediatörlerin salınımına yol açar. Degranüle olan triptaz, fibroblast ve miyositlerin proliferasyonuna ve tip I kollajen oluşumuna neden olur (62,68).

Havayollarındaki mast hücre miktarındaki artış, bronşial hipereaktivite ve astımın ağırlığı ile ilgili en önemli faktörlerden birisi olarak kabul edilmektedir (69). Mast hücrelerinin havayollarının yeniden yapılanmasındaki rolü Şekil 4’de şematik olarak görülmektedir.

Şekil 4: Mast hücre aracılı remodelingin şematik görüntüsü (69).



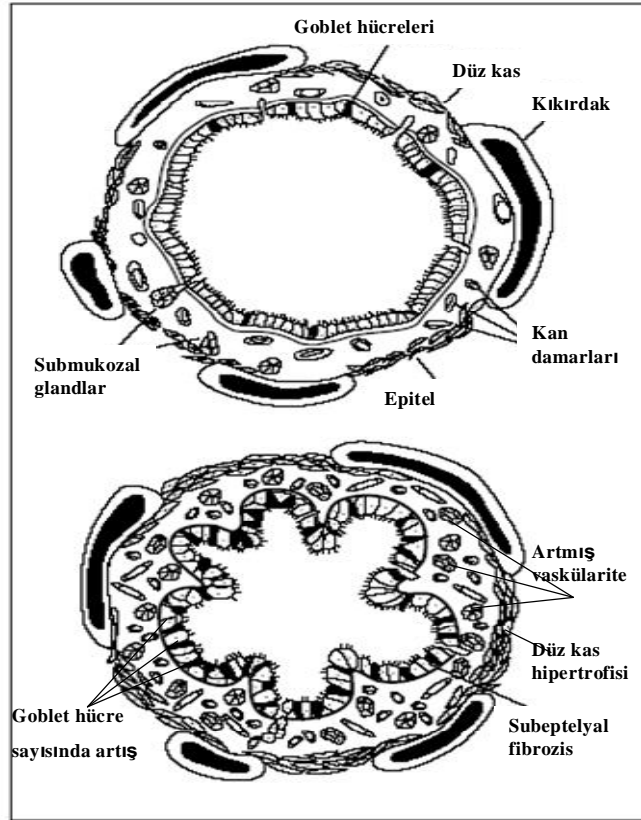
(Kırmızı oklar mast hücre kaynaklı mediatörlerin havayolu remodelingindeki etkilerini göstermektedir. Mavi oklar ile düz kas kaynaklı mediatörlerin mast hücre aktivasyonu ve remodelingi arttırıcı etkilerini özetlemektedir.)

f. Bronşial neovaskülarizasyon

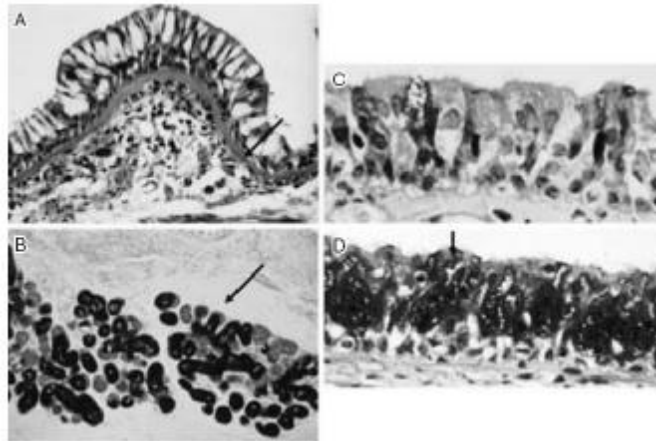
Anjiogenez ve mikrovasküler düzeyde yeniden yapılanma, kronik ağır astımda havayollarında ortaya çıkabilir. Bu değişiklikler, birçok faktörün etkisi ile oluşur ve artmış vaskülarite başta vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) gibi birtakım proanjiojenik moleküllerin etkisi ile gelişebilir (62).

Şekil 5’de sağlıklı ve astımlı hastalarda havayollarının şematik görünümü görüntüsü verilmiştir (70). Şekil 6’da ise astım nedeni ile ölmüş olan hastalarda havayollarında mevcut olan histopatolojik değişiklikler görülmektedir (62).

Şekil 5: Havayollarının sağlıklı (Üstte) ve astımlı (Altta) hastalarda şematik görünümü (70).



Şekil 6: Astım nedeni ile ölen hastalarda havayollarında yapısal değişiklikler (62).



(A: Bazal membranda kalınlaşma, B: Submukozadaki glandlarda mukus sekrete eden hücrelerin hiperplazisi, C: Sağlıklı kişilerde havayolu epitel hücreleri, D: Astımlı hastada goblet hücre hiperplazisi)

2.4.3 Havayolu aşırı duyarlılığı

Normal bir kişide zararsız olan uyarı ile astımlı bir hastada havayolunda daralma görülmesi “havayolu aşırı duyarlılığı” olarak tanımlanır ve astımdaki karakteristik, fonksiyonel anomaliyi gösterir. Bu havayolu daralması değişken hava akımı kısıtlılığına ve aralıklı semptomlara neden olur. Havayolu aşırı duyarlılığı, hem inflamasyona hem de havayollarındaki tamire bağlı olarak gelişir ve tedavi ile kısmen geri dönüşümlüdür. Ortaya çıkış mekanizması tam olarak bilinmemektedir (1).

2.5 Tanı

Astım, heterojen bir hastalık olmasına rağmen, tanısı için genellikle anamnez, fizik muayene ve spirometrik testler yeterli olmaktadır. Aralıklı olan ve şiddetli olmayan semptomların tolere edilebilmesi ve semptomların hastalığa spesifik olmaması nedeni ile bazı hastaların tanılarını gecikebilmektedir (1).

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 dumanı, keskin kokular, egzersiz ile, geceleri kötüleşmesi ve uygun astım tedavisi ile şikayetlerin kontrol altına alınması astım tanısını desteklemektedir.

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. Çocuk büyüdükçe havayolu geometrisinin önemi azalmakta, aeroallerjen duyarlılığı önemli bir risk faktörü olmakta, çevresel etkenleri sorgulayan sorular önem kazanmaktadır (1).

2.5.2 Fizik muayene

Semptomların değişkenliği nedeni ile astımlı hastanın akciğer dinleme bulguları normal olabilir. En sık saptanan muayene bulgusu ise, 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 görülmektedir. Bu durumda, yardımcı solunum kasları

solunuma katılır, subklaviküler, juguler ve interkostal kaslarda çekilmeler gözlenir, ağır atak sırasında boyun venleri dolgunlaşabilir ve pulsus paradoksus ortaya çıkabilir (1).

2.5.3 Laboratuvar bulguları

a. Solunum fonksiyon testleri

Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV1) ve zorlu vital kapasite (FVC), zorlu ekspiratuar manevra esnasında spirometri ile ölçülür. İşlem tekrar edilebilirdir ancak güce bağımlıdır, bu nedenle zorlu ekspiratuar manevranın nasıl yapılacağına dair doğru bilgiler hastalara verilmeli ve elde edilen iki veya üç ölçümden en yüksek değere sahip olanı alınmalıdır. Hava akımında azalmaya neden olan hastalıklar dışında da FEV1'de azalma görülebildiğinden, FEV1/FVC oranı da hava akımındaki azalmanın değerli bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Normal erişkinlerde FEV1/FVC oranı %80'den, çocuklarda ise %90'dan yüksek olmalıdır. Bu değerlerin altındaki sonuçlar hava akımındaki azalmayı düşündürmektedir. FEV1'de spontan olarak veya bronkodilatör inhalasyonu veya steroid tedavisi sonrasında en azından %12'lik bir düzelme olması astım tanısını desteklemektedir (1).

Bronş provokasyon testleri

Hafif-orta şiddette yakınmaları olup, fizik muayene bulguları ve solunum fonksiyon testleri normal olan olgularda astım tanısı konulmasında bronş provokasyon testlerinden yararlanır. Bu amaçla birçok provokasyon yöntemi kullanılabilir. En sık kullanılanlar; metakolin, histamin ve egzersiz provokasyon testleri olup, soğuk hava, allerjen uygulanması ile de provokasyon yapılabilir. Bu ölçümler astım tanısı için sensitiftirler ancak spesifiteleri düşüktür (71).

b. 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. Testin duyarlılığı %95'in üstündedir (72). Spesifik Ig E'ye ölçümüne kıyasla çok daha sensitif bir tetkiktir (73). Epidermal deri testleri; pozitif kontrol olarak histamin, negatif kontrol olarak salin kullanılarak her iki kolun volar yüzünde veya sırtta epikutanöz prik yöntemle uygulanmaktadırlar. Sonuçlar 10-20 dakika sonra Aas ve Belin kriterlerine göre değerlendirilmektedir (74). İnfant ve küçük çocuklarda histamin ve allerjenlerle deri reaktivitesi düşüktür. Bu nedenle, altı aydan küçük çocuklarda, yaygın egzema ve dermografizmi olanlarda, aşırı duyarlılık nedeni ile anafilaksi riski taşıyanlarda, serumda allerjen spesifik IgE tayini yapılabilir (75).

c. Total eozinofil: Birçok çalışmada eozinofillerin; havayolu epitel hasarında rol oynadığı, akciğer fonksiyonları, bronş aşırı duyarlılığı üzerine olumsuz etkilerinin olduğu saptanmıştır (1).

d. İmmünglobulin E: Çocukluk çağındaki IgE düzeyleri; yaş, genetik yapı, çevresel etkenler ve paraziter hastalıklar gibi birçok faktöre bağlıdır. Ancak halen astım tanısı ve bronş aşırı duyarlılığının değerlendirilmesinde yardımcı olarak kullanılan testlerden birisidir (76). Bazı çalışmalarda, artmış IgE; astım ciddiyeti, tekrarlayan hışıltı ve bronş hiperreaktivitesi gelişimi için risk faktörü olarak bulunmuştur (77).

2.6 Bronşial Astım Tedavisi

Kronik astım tedavisinde amaç; klinik semptomları en aza indirmek, atak sıklığı ve inhale beta 2 agonist gibi akut tedavi için ek ilaç kullanım gereksinimini azaltmak, normal yaşam kalitesini sağlamak, akciğer fonksiyonlarını düzeltmek ve uzun süre kullanılması gerekli olan ilaçlardan oluşabilecek yan etkilerin en az düzeyde olmasını sağlamaktır (1).

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar akut bronkospazmı düzeltten rahatlatıcılar ve uzun dönemde inflamasyonu kontrol altına alıp, astım atakları ve hastane yatışlarını azaltan kontrol edici ilaçlar olarak iki gruptur (Tablo 4) (1).

Tablo 4: Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar

Semptom gidericiler	Kontrol ediciler
Hızlı etkili inhale beta-2 agonist	İnhale kortikosteroidler
Sistemik kortikosteroidler	Sistemik kortikosteroidler
Antikolinerjikler	Kromonlar
Metilksantinler	Metilksantinler
Kısa etkili oral beta-2-agonist	Uzun etkili inhale beta-2 agonist
	Uzun etkili oral beta-2 agonist
	Antilökotrien ilaçlar

Astım tedavisinde kullanılan ilaçların özellikleri

a. Steroidler

İnhale kortikosteroidler, her aşama persistan astımda en etkili olan ilaçlardır. Kortikosteroidler, aynı zamanda astım tedavisinde en güçlü antiinflamatuvar etkisi olan ilaçlardır (1). Etkilerini; inflamatuvar hücre fonksiyon ve aktivasyonunun azalması, vasküler kaçağın stabilizasyonu, mukus üretiminde azalma, beta 2 adrenerjik cevabın artışı ile

göstermektedirler (1). Topikal kullanımda ölçülü doz inhaler ile ağızda ve farinkste kalan kısım yutulmakta (%80) ve gastrointestinal sistemden absorbe edilerek sistemik etkiye neden olmakta, %10-30'u ise akciğerlere giderek lokal etki göstermektedir. Ancak akciğerlerde absorpsiyon için çok iyi bir yüzey oluşturarak, sistemik dolaşıma geçiş için olanak sağlamaktadır (sistemik etki) (1).

b. Antilökotrien ilaçlar

Lökotrienler; eozinofil, mast hücresi ve bazofillerden üretilen ve salınan, lipid yapıda, potent etkili inflamasyon mediatörleridir. Sisteinil lökotrienler, vasküler geçirgenliği artırarak mukus yapımını uyaran ve bronkospazma neden olan ajanlardır (78). Lökotrien antagonistleri; lökotrien sentez inhibisyonu yapanlar ve lökotrien reseptör antagonistleri (Montelukast, pranlukast, zafirlukast) olmak üzere iki grupta toplanabilir.

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlara göre, lökotrien antagonistlerinin dört özelliği avantaj olarak ileri sürülmektedir. Bunlar: günde tek doz alınması nedeni ile yüksek hasta uyumu (zafirlukast dışında), kontrol edici ilaçlar grubunda olmasına rağmen bronkodilatatör etkilerinin olması, tek bir ilaçla astım ve allerjik rinite etki edilebilmeleri, şimdiye kadar saptanan önemli yan etkilerinin olmamasıdır (79).

c. Kromonlar

Kromolin sodyum ve nedokromil sodyum, kronik astım tedavisinde benzer özellikleri olan yan etkileri oldukça az iki farklı antiinflamatuvar ilaçtır. Her iki ilaç da bronkodilatatör değildir ancak havayolu aşırı duyarlılığını azaltırlar. Allerjenin neden olduğu erken ve geç dönem bronkokonstrüksiyonu, inflamatuvar hücre aktivasyonunu ve mediatör salınımını azalttıkları gösterilmiştir. Mast hücresini stabilize eder ve hem erken hem de geç faz reaksiyonu önlerler. Küçük yaşlardaki hafif persistan astımlı çocuklar için inhale steroidlere bir alternatif olarak kullanılabilirler ancak son yıllarda yapılan metaanaliz çalışmalarında plasebodan fazla bir üstünlüklerinin olmadığı gösterilmiştir (1).

d. Metilksantinler

Teofilin, metilksantin grubundan, hafif antiinflamatuvar etkisi olan bronkodilatatör bir ilaçtır. Çocuklar ve erişkinlerde yavaş salınımlı teofilin preparatları kontrol edici ilaç olarak kullanılabilir. Teofilin serum düzeyi yaş, diyet, hastalık durumu, ilaç etkileşimleri gibi çeşitli değişkenlerden etkilenebilir (80).

e. Uzun etkili beta-2 agonistler

Salmeterol, formoterol uzun etkili beta 2 agonistlerdir ve potent bronkodilatasyon yaparlar. Astım tedavisinde, inhale kortikosteroid tedavisine ek olarak kullanılmalıdırlar. Antiinflamatuvar etkileri de mevcuttur. İn hale kortikosteroidler ile kullanımlarının, inhale kortikosteroidlerin dozlarının iki katına çıkarılmasından daha etkili olduğu gösterilmiştir (81).

f. Rahatlatıcı İlaçlar

Bronş düz kasında gevşemeye neden olarak semptomları düzeltirler. Kısa etkili beta 2 agonistler, teofilin, inhale antikolinerjikler ve oral steroidler bu grupta yer alan ilaçlardır (82). Salbutamol ve terbutalin, ülkemizde bulunan kısa etkili beta 2 agonistlerdir.

Çocuklarda astım tedavisi uluslararası uzlaşma raporlarına göre yapılmaktadır. Bu uzlaşma raporları arasında en önemlilerden biri olarak kabul edilen ve en yaygın kullanılanlardan birisi GINA (Global Initiative for Asthma) raporudur. Yenilenmiş uzlaşma raporunda astımın ağırlığının saptanmasından daha öncelikli olarak astımın kontrol düzeyinin saptanması önem kazanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5: Astımda kontrol düzeyini belirlemek için kullanılan kriterler

Astımın kontrol düzeyi			
	Kontrol altında (Aşağıdakilerden tümü var olacak)	Kısmen kontrol atında	KontROLSÜZ
Gün içinde bulgular	Yok (haftada iki veya daha az)	Haftada ikiden fazla	Bir haftada kısmen kontrol altındaki astımda var olan üç veya daha fazla özellik olması
Aktivitelerde kısıtlama	Yok	Var	
Gece semptomları	Yok	Var	
Kurtarıcı tedavi ihtiyacı	Yok (haftada iki veya daha az)	Haftada ikiden fazla	
Solunum fonksiyon testleri	Normal	% 80'in altında	
Alevlenmeler	Yok	Yılda bir veya daha fazla	

Beş yaş üzerindeki çocuklarda, adolesanlarda ve erişkin dönemde hastalığın kontrol düzeyine göre tedavinin düzenlenmesi önerilmektedir (Tablo 6'da tedavi için akış şeması özetlenmiştir).

Beş yaş ve altındaki çocuklarda ise, en iyi kontrol edici tedavi ajanının düşük doz inhale steroidler olduğu vurgulanmış, tedaviye basamak 2'de düşük doz inhale steroidler ile başlanması önerilmiştir.

Tablo 6: Astımın kontrol düzeyine göre tedavi yaklaşımı (1).

Kontrol düzeyi	Tedavi seçimi
Kontrol altında	Tedaviye devam edilmeli ve en düşük kontrol edici basamak bulunmalı
Kısmen kontrol altında	Kontrolü sağlamak için basamak arttırmayı düşünölmeli
KontROLSÜZ	Kontrol altına alınçaya kadar basamak arttırılmalı
Alevlenme	Alevlenmeyi tedavi etmeli



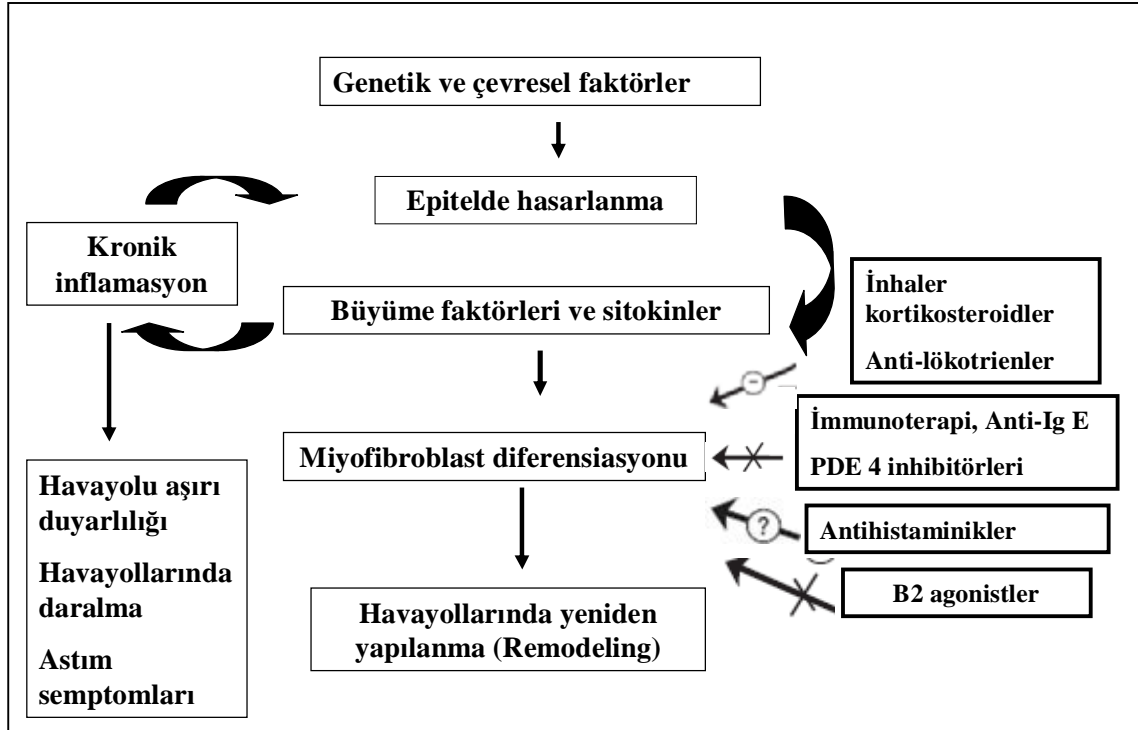
Basamak 1	Basamak 2	Basamak 3	Basamak 4	Basamak 5
Astım ile ilgili eğitim Çevre kontrolü				
İhtiyaç olduğunda kısa etkili beta-2 agonist kullanımı	İhtiyaç olduğunda kısa etkili beta-2 agonist kullanımı			
Kontrol edici ilaç seçenekleri	Birini seç	Birini seç	Bir veya fazlası ekle	Bir veya fazlası ekle
	Düşük doz inhale steroid	Düşük doz inhale steroid +uzun etkili beta2 agonist	Orta veya yüksek doz inhale steroid +uzun etkili beta2 agonist	Oral steroid (En düşük doz)
	Lökotrien modifiye edici ilaçlar	Orta-yüksek doz inhale steroid	Lökotrien modifiye edici ilaçlar	Anti Ig E
		Düşük doz inhale steroid+ Lökotrien modifiye edici ilaçlar	Teofilin	
		Düşük doz inhale steroid+ Teofilin		

Spesifik İmmunoterapi

Astımda immünoterapi, astım semptomlarına primer bir allerjen yol açan ve deri testi ile allerjen varlığı kanıtlanmış olgulara uygulanabilmektedir. Th₁ immün yanıt dönüşüm allerjen immünoterapisinin en önemli amacıdır. Astımda immünoterapi; allerjenden korunma ve ilaç tedavisine rağmen semptomlarda düzelme olmaması, nazal ve bronşial bulguların birlikte olması, ilaçların yan etkisinin olması, hastaların ve ebeveynin uzun süreli ilaç tedavisini istememesi ve astımın ağır olmaması durumunda uygulanabilir. Multipl allerjen duyarlılığı olan ve nonallerjik uyarılara duyarlılığı olan hastalar spesifik immünoterapiden yarar görmezler (83). Son yıllarda, allerjik rinit ve astımda sublingual immünoterapinin etkinliği, güvenilirliği konusunda çalışmalar artarak devam etmektedir (84).

Astım tedavisi için kullanılmakta olan çeşitli tedavi seçeneklerinin havayollarındaki yeniden yapılanma (Remodelinge) üzerine etkileri Şekil 7’de verilmiştir (85,86).

Şekil 7: Astımda kullanılan çeşitli ilaçların havayollarındaki yeniden yapılanmaya etkileri



(X: Fibroblast diferensiasyonunu etkilemeyen ilaçlar, -: fibroblast diferensiasyonunu inhibe eden ilaçlar, ?: fibroblast diferensiasyonuna etkisi net olmayan ilaçlar)

2.7 Bronşial astımda tamamlayıcı ve alternatif tedaviler

Tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin varlığı uzun süredir bilinmekle birlikte, son yıllarda gerek halkın gerekse hekimlerin konuya ilgisi giderek artmıştır. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre; insanların %80'inin hastalıklardan korunma ve tedavide alternatif yöntemlere başvurdukları tahmin edilmektedir (87). Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa halkının 1/3'ünün alternatif tedavi yöntemlerinden en az birini denediği, Avustralya halkında bu oranın %50, İngiltere'de ise %25 civarında olduğunu bildirilmiştir (87-89). Allerji, astım ve immünoloji alanında alternatif tedavilerin kullanılma oranı diğer sık rastlanan kronik hastalıklardan daha fazladır. Yine ülkemizde yapılan bir çalışmada, allerjik hastalıklar arasında alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımı bronşial astımlı hastalarda, allerjik rinitli ve kronik ürtikerli hastalara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (90).

2.7.1 Alternatif tedavi yöntemleri

Tarih boyunca astım tedavisinde çeşitli ilaçlar ve kimyasallar kullanılmış, alternatif tıptan yararlanılmıştır (91). Astım tedavisinde kullanılmış olan çeşitli tamamlayıcı-alternatif tedavi yöntemleri Tablo 7'de özetlenmiştir. Yirminci yüzyılın ikinci yarısında kullanılır hale gelen astım ilaçlarının birçoğu kökenlerini bitkisel ilaçlarından alır. Çin'de binlerce yıldır astımlılar tarafından kullanılan "ma huang" adlı bitkinin içeriğinde efedrin vardır. Yine Asya'ya özgü bir bitki olan çaydan, teofilin elde edilmiştir. Kafein içeren kahve de, 19. yüzyılda Avrupa'da çok önerilen bir astım tedavi yöntemi olmuştur. Kromonların kökeni, Orta Doğu'da yetişen Khella bitkisidir (92).

Singapur'da yapılan bir çalışmada beş büyük polikliniğe başvuran 822 astımlı hastanın tamamlayıcı ve alternatif tedavi kullanımı sıklığını araştırılmış, hastaların %27.2'si bir önceki yıl içinde bu tedavi şekillerini kullandıklarını bildirilmiştir. Bu çalışmada hastaların kullandığı tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemleri; %12.3 hayvansal gıda ürünleri (timsah eti, deve kalbi, kuzu veya keçi eti, yılan, kurbağa, maymun, kuş yuvası, at, kaplan, su kaplumbağası, tavşan, köpek, siyah derili tavuk, yılan balığı, balık yumurtası, balık yağı, hamamböceği), %10.3 bitki [Çin (Ma Huang, Cordycep, Ginseng, Ajucea bitkisi, Semen Armaniaceae Amarum, Vitex Cannabifolia, Pinellia Tuber, Radix Atractylodis Macrocephalae, aloe vera ve zencefil) Malezya (Jamu) ve Hindistan (Ayurvedik) bitkileri], %3.2 bitkisel kökenli patentli ilaçlar ve %1 akupunktur veya refleksoloji olarak dağılım göstermiştir (93).

Ülkemizde de astımlı çocuklarda ve erişkin hastalarda yapılan çalışmalarda alternatif tedavi yöntemlerine sıklıkla başvurulduğu görülmektedir. Türkiye'de allerjik hastalıklarda alternatif

tedavi kullanımının çoğunlukla bitkisel yöntemler olduğu, çocuklarda öncelikle bıldırcın yumurtası, bal, şifalı otlar, arı sütü ve mağara tedavisinin tercih edildiği bilinmektedir (4,6).

Tablo 7: Astımda kullanılan tamamlayıcı-alternatif tedavi yöntemleri

Bitkisel ilaçlar/şifalı otlar Homeopati Antioksidan vitaminler ve mineraller Geleneksel Çin tıbbı Akupunktur Aromaterapi Ayurvedik tıp Biofeedback, biorezonans Hidroterapi, yüzme tedavisi Nefes teknikleri Hipnoz Dini telkin, dua Kinesioloji Kolonik hidroterapi Masaj, egzersiz Naturapati Oksijen tedavisi Kraniosakral tedavi Osteopati Otolog kan enjeksiyonu, otolog idrar Refleksoloji Reiki Shiatsu Spinal manipulasyon TENS tedavisi Transandantal meditasyon Yasam tarzı ve diyet degisiklikleri Stres yönetimi Yoga
--

2.7.1.1 Bitkisel ilaçlar/Şifalı otlar

Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre her 10 kişiden sekizi bitkisel ilaç tedavilerini kullanmaktadır. Bitkiler biyolojik aktivitesi bulunan doğal kimyasal maddeler içermektedirler. Birçok bitkisel üründen astım ve allerjiye neden olan mediatörlere etkili spesifik kimyasal maddeler izole edilmiştir (5,94). Birçok bitkinin antiastım özelliği olduğu ileri sürülmekle birlikte içerikleri ve etki mekanizmaları bilinen ve astımdaki etkinlikleri üzerine çalışmalar yapılan bazı önemli bitkiler ve özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

a. Ma Huang (*Ephedra sinica*): Geleneksel Çin Tıbbı'nda kullanılan bütün antiastım ilaç formüllerinin içeriğinde bulunan önemli bitkidir. Efedrin içerir. Efedrin hem alfa, hem de beta reseptörler üzerine adrenerjik agonistik etki gösterir ve vazokonstriksiyon, midriyazis ve bronşial dilatasyon oluşturur. Astım tedavisi için önerilen dozlarda güvenilir olsa da, uzun süreli kullanımda taşiflaksi gelişmesi ve yüksek dozlarda yan etkileri nedeniyle kullanımı sınırlı olmaktadır. Yüksek dozlarda hipertansiyon, taşikardi, çarpıntı, baş ağrısı, sinirlilik, uykusuzluk, nefrolitiyazis, nöbetler, felçler ve ölümcül miyokard enfarktüslerine neden olabilir (92, 95).

b. *Atropa belladonna*: Antikolinergik ve bronkodilatatör etkili atropin içerir. Atropin tatula (*Datura stramonium*) ve banotu (*Hyoscyamus niger*) bitkilerinde mevcuttur. Bu bitkiler Avrupa ve Kuzey Amerika'da 20. yüzyılın başlarına kadar astım ve diğer solunum yolu hastalıklarının tedavisinde sigara şeklinde kullanılmıştır (96).

c. *Saiboku-to*: Japon Kampo Tıp Sistemi'ne ait en popüler ve üzerinde en çok çalışma yapılmış karışımlarındandır. On farklı bitki türü içerir. İçeriğinde bulunan glycyrrhizin ve manolya, 11-beta dehidrogenazı inhibe eder ve kortizol seviyelerini yükseltir. Steroide bağımlı erişkin astımlılarda yapılmış kontrollü çalışmalarda, hastaların kullandıkları steroid dozlarında azalma sağladığı gösterilmiştir (97).

d. *Tylophora indica*: Bronkodilatatör etkili tylophora adlı alkaloidi içerir. Ayurvedik tıp sistemi'nde, Hindistan'da kullanılır. Çift-kör, plasebo kontrollü bir çalışmada, astım semptomlarında azalma sağladığı gösterilirken (98), Gupta ve ark.'larının yaptığı çalışmada, bu bitkinin kullanımı ile astım semptomları, FEV1 ve PEF değerlerinde anlamlı bir farka rastlanmamıştır (99).

e. *Coleus forskohlii*: Hindistan kökenli bir bitkidir. Forskolin içerir ve bronkodilatatör etkilidir. Siklik adenozin monofosfat (CAMP)'ın hücre içi seviyelerini artırır. Kuru toz inhaler şeklinde kullanıldığında güçlü bronkodilatatör etkisi olduğu gösterilmiştir. Fenoterolle yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada yüksek dozda bronkodilatatör etki gösterdiği ve spesifik havayolu iletkenliğini arttırdığı ortaya konmuştur (100).

f. *Marijuana (Cannabis sativa)*: Kenevir bitkisinden elde edilir. Tetrahidro cannabiol içerir. 19. yüzyılın ortalarından itibaren bronkodilatatör olarak reçete edilmeye başlanmıştır. İnhaler yoldan alındığında oral kullanıma göre daha belirgin bronkodilatatör etki gösterir (101). Pulmoner toksisitesi ve üst solunum yollarında kanser yapıcı etkileri vardır (92).

g. *Boswellia serrata*: Ayurvedik Tıp Sistemi'nde yüzyıllardır kullanılmaktadır. İçerdiği boswellic asit, 5-lipooksijenazı inhibe eder. Çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada bronşial

astımlı hastaların %70'inde semptomlarda azalma ve solunum fonksiyonlarında düzelme sağladığı saptanmıştır (102).

Bunların dışında sarımsak, üzüm çekirdeği ekstresi, nane yağı ve yaprağı, ısırgan otu ve ginseng gibi diğer pek çok bitkiden de astım tedavisinde yararlanılmaktadır (103).

2.7.1.1.1 MEYAN KÖKÜ (*GLYCYRRHIZA GLABRA*)

Glycyrrhiza glabra, meyan kökü olarak bilinir. Bütün yıl boyu var olan bitkinin, bir metreden uzun boya, gelişmiş kökleri vardır (Resim 1). Çiçekleri yaklaşık 1 cm uzunluğunda olur. Akdeniz ve Asyanın bazı bölgelerinde yoğun olarak bulunur. Bu bitki, ilaç olarak çok eski zamanlarda kullanılmaya başlanmış, Mısır, Çin, Yunan, Hint ve Roma'da ekspektoran olarak yüzyıllar önce denenmiştir. Astımlı hastaların çok yaygın olarak kullandığı bir bitkisel ilaç olmasına rağmen, astımda etkinliğini ve etki mekanizmasını gösteren çalışmalara ihtiyaç vardır.

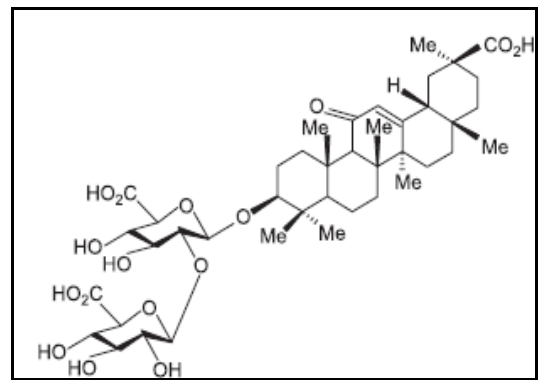
İçerik

İçerdiği en önemli madde Triterpen glikozitler (Saponin, %2-15) özellikle de glycyrrhizin'dir. Glycyrrhizin ise glycyrrhizic asid olarak bilinen potasyum ve kalsiyum tuzlarının karışımından meydana gelir. İçerdiği diğer maddeler ise, liquiritine ve glabrol gibi flavonoidler (%1-2), glabrene ve glabridin gibi izoflavonoidler, liquoumarin gibi kumarinler, polisakkaritler ve esansiyel yağlardır (104) (Şekil 8).

Resim 1: Meyan kökü bitkisi



Şekil 8: Glycyrrhizin'in kimyasal yapısı



Farmakolojik özellikleri

Meyan kökü, antimikrobiyal, antiaterostatik, antihiperlipidemik, hepatoprotektif ve antiülserojenik etkileri gösterilmiş, yüzlerce yıldır çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmış bir bitkidir (105).

Farmakodinamik özellikler

İnsan plasenta hücrelerinde, rat karaciğer ve böbrek hücrelerinde yapılan deneysel çalışmalarda glycyrrhetic asid'in, hidrokortizonu inaktif ürün olan kortizole çeviren enzim olan 11B hidrosisteroid dehidrogenazı inhibe ettiği gösterilmiştir (106).

İzole glycyrrhetic asid'in, rat karaciğerinde, büyük oranda Δ^4 -5B redüktaz aktivitesini de inhibe ettiği gösterilmiştir. Deneysel araştırmalar neticesinde glycyrrhetic asid'in ayrıca B-glukronidaz aktivitesini de inhibe ettiği ispatlanmıştır (107).

a. Antiviral aktivite

Glycyrrhizin infekte olmuş insan anaploid hücrelerine eklendiğinde, herpes simpleks virus, vesiküler stomatite neden olan viruslar, New Castle hastalığı virusu, hepatit A ve influenza A ve B viruslarını önemli oranda inhibe ettiği gösterilmiştir (108).

b. Antimikrobiyal etki

Meyan kökünün içerdiği glabrene, glabrol ve glabridin'in *Staphylococcus Aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (109).

c. Antiülserojenik etki

Meyan kökünün alkolik sıvı ekstresi (16 mg glycyrrhizic acid /ml) ratlara oral olarak 2.5-10 ml/kg dozunda uygulandığında, indometazin nedeni ile oluşan ülserlerde doza bağımlı korunma sağladığı görülmüştür (110).

c. Antitümör aktivite

Glycyrrhizin'in kimyasallarla indüklenen karsinogenezi önlediği ve hepatotoksik metabolitlerin aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (111).

d. Hepatoprotektif etki

Glycyrrhizin, 100mg/kg dozunda oral olarak ratlara verildiğinde, karbon tetrakloridin indüklediği hepatotoksisteden koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (107).

e. Ekspektoran aktivite

Meyan kökünün, içerdiği saponinlerden dolayı yüzey gerilimini azalttığı, bu yol ile mukus viskozitesinde azalma sağladığı, sekretolitik ve ekspektoran aktivite gösterdiğine dair veriler mevcuttur. Ancak trakeadaki mukosilier transport üzerine bir etkinliği gösterilememiştir (112).

f. Antiinflamatuvar ve antiallerjik aktivite

B-glycyrrhetic acid'in antiinflamatuvar etkinliği değişik hayvan modellerinde gösterilmiştir (113,114). B-glycyrrhetic acid Glycyrrhizin'in en önemli metabolitidir (115). B-glycyrrhetic acidin antiinflamatuvar etkinliği ile ilgili iki mekanizma öne sürölmektedir. Bunlardan birincisi glukokortikoid metabolizmasını inhibe etmesi ve steroidlerin etkisini arttırmasıdır (116,117). B-glycyrrhetic acid, 11B-hidroksisteroid dehidrogenazın potent bir inhibitörü olduğundan antiinflamatuvar etkinliğe sahip glukokortikoidlerin birikimine neden olur (118). B-glycyrrhetic acid veya glycyrrhizin oral uygulanması ile de bu sonuçlar doğrulanmıştır (119). İkinci mekanizma olarak, bu molekölün klasik kompleman yolunun aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir (120). Sonuç olarak, inflamatuvar akciğer hastalıklarının tedavisinde hidrokortizon ile birlikte kullanımının faydalı olabileceği iddia edilmiştir (117).

Bir çalışmada, meyan kökü bileşenlerinin siklooksijenaz (COX)-2 inhibisyonu yaptığı vurgulanmıştır. Bu çalışmada ayrıca, meyan kökü uygulamasının ratlarda kortikosteron oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (121). Ayrıca, glycyrrhizin ve glycyrrhetic acid'in fosfolipaz A2'yi inhibe ettikleri de bilinmektedir (121).

Glycyrrhiza Uralensis'in sıvı ekstresinin, deneysel çalışmalarda ratların kültür aortik endotel hücrelerinde inflamatuvar sürecin anjiogenik fazını konsantrasyona bağımlı olarak inhibe ettiği görölmüştür (IC 50: 0.5 mg/ml). İzole liquiritin, meyan kökü ekstresinden 44 kat daha potenttir ve anjiogenezde tüp oluşumunun inhibisyonunda major bir role sahip olduğu düşünölmektedir (122). Fare deneylerinde, meyan kökünde var olan isoliquiritin maddesinin periton içine 0.31-3.1 mg/kg uygulandığında, doz bağımlı olarak anjiogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (122).

Glycyrrhizin'in insanda nötrofil kemotaksisi ve fagositozu üzerine bir etkisi gösterilememiştir ancak insan nötrofillerinde reaktif oksijen oluşumunu önemli oranda azalttığı görölmüştür (123).

Ram ve ark.'larının, astımlı havyan modelinde yaptıkları bir çalışmada, Glycyrrhizin'in ovalbumin (OVA)'in indüklediği ani başlangıçlı havayolu obstrüksiyonunu inhibe ettiği, bronşial hiperreaktiviteyi, akciğerdeki inflamasyon ve peribronşial, perivasküler alanlardaki eozinofil infiltrasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Bronkoalveoler lavaj (BAL)'da IL-4, IL-5 ve eozinofilleri azalttığı, IFN- γ 'daki azalmayı önlediği de bu çalışmada gösterilmiştir (124). Bütün dünyada astım tedavisi için çok yaygın olarak tercih edilen bir alternatif ilaç olan meyan kökü ekstrelerinin, bronşial astım tedavisinde etkin olabileceğini gösteren bu ilk verilerin, kronik astım tedavisindeki etkinliğini ve akciğer histopatolojisi üzerine etkilerini araştıran başka çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

Yan etkileri

Yüksek miktarlarda meyan kökü alımı mineralokortikoid artışından dolayı ciddi hipertansiyon ve hipokalemiye neden olabilmektedir. Hipertansiyonun nedeni azalmış 11 β -hidroksi steroid dehidrogenaz aktivitesidir. Bu enzim, kortizolun kortizona renal dönüşümünden sorumludur. Bu nedenle, meyan kökü renal mineralokortikoid reseptörlerinin aktivasyonuna neden olarak mineralokortikoid artışına ve renin anjiyotensin aldesteron sisteminin baskılanmasına neden olabilmektedir. Nörolojik yan etkiler olarak baş ağrısı, paralizi, geçici görme kayıpları, kardiyak yan etki olarak, taşikardi, hipertansiyon, ödem, bunların yanında hipokalemi, azalmış testosteron düzeyi, akut böbrek yetmezliği, kas ağrıları, miyopati, miyoglobinüri, rabdomiyoliz, meyan kökü kullanımına bağlı bildirilmiş yan etkilerdir. Yan etkiler genellikle ilaç kesildikten sonra birkaç gün içinde düzelir (105).

3. GEREK VE YÖNTEMLER

3.1 Deney hayvanlarının temini ve yaşam çevrelerinin sağlanması

Deney için 6-8 haftalık 18-20 gr ağırlığındaki 28 adet adlibitum olarak beslenen erkek BALB/c fare kullanıldı. Çalışma için kullanılan fareler, T.C Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edilerek, Dokuz Eylül Üniversitesi Multidisipliner Deney Hayvanları Laboratuvarı'na getirildi. Fareler önceden dezenfekte edilmiş plastik tabanlı, zemine talaş serili metal korumalı fare kafeslerinde, klimalı odalarda 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda deney sonuna kadar muhafaza edildi (Resim 2).

(Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan **76/2008** numaralı rapor ile onay almıştır.)

3.2 Çalışma Grupları

Çalışmaya dahil edilen 28 adet BALB/c fare, her grupta yedi fare olacak şekilde dört gruba ayrıldı.

Grup I (n=7): Oda havasında kalan ve herhangi bir tedavi verilmeyen **kontrol grubu**

Grup II (n=7): Astım modeli oluşturularak salin uygulanan **plasebo grubu**

Grup III (n=7): Astım modeli oluşturularak **deksametazon** uygulanan grup

Grup IV (n=7): Astım modeli oluşturularak **glycyrrhizin** uygulanan grup

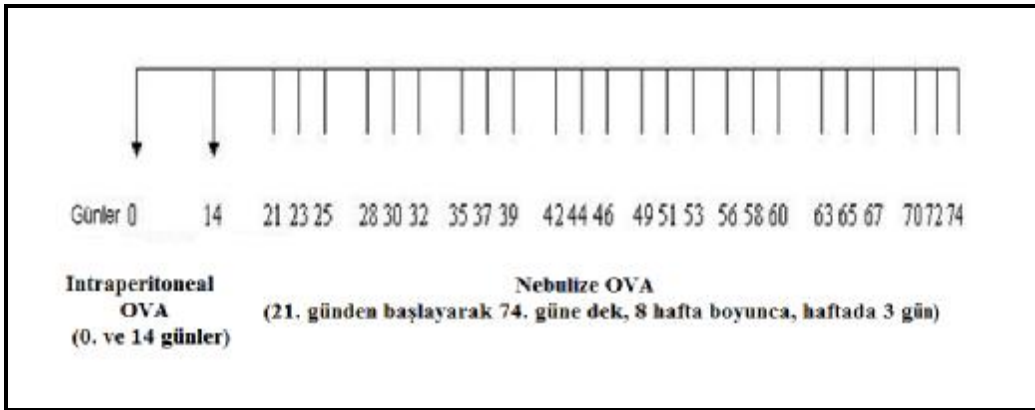
Resim 2: Çalışma için kullanılan BALB/c fareler



3.3 Kronik astım modelinin oluşturulması

Bu çalışmada Temelkovski ve ark.'ları tarafından tanımlanan kronik astım modeli kullanıldı (125). BALB/c fareler, OVA'ye yüksek IgE yanıtı olan fareler olduğundan bu çalışmada kullanılmak üzere tercih edildiler (126). Çalışma gruplarındaki fareler 14 gün ara ile iki kez (OVA inhalasyonundan 21 ve 7 gün önce) 10µg intraperitoneal tavuk yumurta ovalbumini (OVA; Grade V, Sigma, St Louis, Missouri, USA) uygulanarak duyarlılaştırıldı. Kontrol grubundaki farelere aynı yol ve dozda salin solusyonu uygulandı (127). Çalışma gruplarındaki farelere son immunizasyondan yedi gün sonra (21. günde) başlamak üzere, günde 30 dakika süre ile haftanın üç günü, sekiz hafta boyunca steril salin içindeki %2.5'lik OVA solusyonundan oluşan aerosol inhale ettirildi (126,127) (Şekil 9). İnhalasyon uygulamaları, bütün vücut inhalasyon sistemi ile yapıldı. Isı 20-25⁰C, relatif nem oranının ise %40-60 olacak şekilde ayarlandı. Normal salin içerisinde %2.5'lik OVA solusyonu, sıkıştırılmış havanın jet nebulizatöre verilmesi yöntemi ile inhale ettirildi. Uygulanan nebulizatör sistemi, aerosol çapının ≤4µm, partikül ayrışmasının ≥%80 olmasına olanak sağlamakta idi. Partikül konsantrasyonu 10-20 mg/m³ idi. Kontrol grubundaki farelere aynı sistem ile salin inhalasyonu yaptırıldı (125,127). OVA inhalasyonunun son haftasında orogastrik yol ile ilaçlar farelere verildi.

Şekil 9: Astım modeli oluşturma protokolü



3.4 Çalışma ilaçlarının uygulanması

glycyrrhizin (Sigma Chemical, St. Louis, Missouri, USA) 10 mg/kg/gün dozunda, 24 saatte bir, orogastrik gavaj yolu ile ardarda yedi gün boyunca uygulandı (124).

Deksametazon 1 mg/kg/gün dozunda, 24 saatte bir, orogastrik gavaj yolu ile ardarda yedi gün uygulandı (128).

3.5 Hayvan yaşamını sonlandırma zamanı ve yöntemi

Son tedavinin uygulanmasından 24 saat sonra fareler toksik doz sodyum pentobarbital anestezisi (100 mg/kg, intraperitoneal) altında sakrifiye edildi.

3.6 Histolojik incelemeler

-Tüm farelerin sol akciğer orta zonundan alınan doku örnekleri, tedavi gruplarına kör iki histolog tarafından strüktürel ve ultrastrüktürel 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 beş 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 üç farklı boyama işlemi uygulandı. Bir grup kesit hematoxilen ve eosin (H&E) ile boyandı. Bu kesitlerde doku yapıları ve orta ve küçük havayollarının epitel kalınlıkları, subepitelyal düz kas kalınlıkları gibi morfolometrik değerlendirmeler yapıldı. Bu ölçümler için havayolu içeren her kesitteki üçer 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 (129). Morfolometrik 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 üç farklı havayolunun sekiz farklı noktasından kalibre edilmiş mikrometrik ölçüm cihazı ile ölçüldü. Sonraki kesitler Toluidin blue ve Periodic Acid Schiff (PAS) ile boyandı. Toluidin blue ile boyanan kesitlerin her birinden beşer alan rastgele seçilerek fotoğrafları alındı. Mast hücre sayımı için standart 16400 mikrometre karelik (µm²) alan kullanıldı. Aynı metod her faredeki PAS ile boyalı 10'ar kesitte goblet sayımı için de kullanıldı. Her kesitte rastgele seçilen üç-beş havayolu fotoğraflandı. Bu alandaki goblet hücre sayıları kaydedildi ve havayolu çevresi ölçüldü.

Standardizasyon için 100 mikrometre (μm) deki goblet hücre sayımı; toplam goblet hücre sayısının toplam havayolu çevresinin uzunluğuna bölünmesi ve sonucun 100 ile çarpılması ile elde edildi.

-Doku örnekleri elektron mikroskopik değerlendirme için %2.5'lük gluteraldehit ve osmium tetraoksit ile fikse edildi. Ardından dokular Epon bloklara gömüldü. Solunum yolları yarı ince kesitlerden işaretlendi. Tam ince kesitler uranil 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, Moorenweis, Germany) ile çekildi. Her farede 20 noktadan ölçülen solunum epitelinin bazal membrane kalınlığı iTEM software package (version 5.0) (Olympus Soft Imaging Solutions GmbH, Münster, Germany) programı kullanılarak elektron mikroskopu ile değerlendirildi (130).

3.7 İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 11 istatistik programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) 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 düzeltmeli tek yönlü varyans analiz testi (ANOVA) ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ alındı.

4. BULGULAR

Her grupta 7 fare olmak üzere 28 fare çalışmayı tamamladı. Çalışma süresince, herhangi bir nedenle çalışma dışında bırakılan veya ölen fare olmadı.

Kontrol grubu (Grup I), plasebo grubu (Grup II), deksametazon grubu (Grup III) ve Glycyrrhizin uygulanan grubun (Grup IV) bazal membran kalınlığı, düz kas kalınlığı, epitel kalınlığı, mast ve goblet hücre sayılarını içeren histolojik verileri Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Tüm grupların histolojik parametreleri

	Kontrol grubu (Grup I) (Ort±SD) (Min-Maks)	Plasebo grup (Grup II) (Ort±SD) (Min-Maks)	Deksametazon grubu (Grup III) (Ort±SD) (Min-Maks)	Glycyrrhizin grubu (Grup IV) (Ort±SD) (Min-Maks)
Bazal membran kalınlığı (nm)	306.34±36.91 (242.56 -382.5)	657.52±98.99 (500.51-778.67)	405.13±96.1 (271.98-600.14)	465.01±121.48 (301.91-703.62)
Düz kas kalınlığı (µm)	7.22±1.37 (4.84-9.5)	11.24±1.85 (7.56-13.03)	5.62±1.15 (3.32-6.69)	7.76±1.11 (6.38-9.68)
Epitel kalınlığı (µm)	19.48±122 (16.85-20.45)	41.62±5.49 (31.23-47.56)	22.59±3.18 (17.51-26.54)	25.54±4.68 (19.59-35.01)
Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	1.34±0.19 (1-1.6)	3.62±0.5 (2.7-4.2)	2.06±0.77 (0.48-2.8)	2.77±0.23 (2.4-3.1)
100 µm’deki goblet hücre sayısı	0.32±0.1 (0.12-0.42)	4.92±0.82 (3.65-5.89)	0.66±0.06 (0.56-0.75)	0.98±0.15 (0.8-1.24)

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

Kontrol grubu (Grup I) ile astım modeli oluşturulup plasebo olarak salin uygulanan grubun (Grup II) histolojik verileri karşılaştırıldığında; plasebo grubunda bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.000) ve epitel kalınlıklarının (p: 0.000), mast (p: 0.000) ve goblet hücre (p: 0.000) sayılarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu gösterildi. Bu sonuçlar; çalışmada oluşturulması hedeflenen kronik astım modelinin ve buna bağlı olarak akciğerde astıma bağlı histolojik bulguların başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir. Tablo 9’da kontrol grubu ile plasebo grubunun histolojik verileri, ortalamaları, minimum-maksimum değerleri ve iki grup karşılaştırmalarına ait p değerleri verilmiştir.

Tablo 9: Kontrol grubu ile plasebo grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Kontrol grubu (Grup I) (Ort±SD) (Min-Maks)	Plasebo grup (Grup II) (Ort±SD) (Min-Maks)	P değeri
Bazal membran kalınlığı (nm)	306.34±36.91 (242.56 -382.5)	657.52±98.99 (500.51-778.67)	0.000*
Düz kas kalınlığı (µm)	7.22±1.37 (4.84-9.5)	11.24±1.85 (7.56-13.03)	0.000*
Epitel kalınlığı (µm)	19.48±122 (16.85-20.45)	41.62±5.49 (31.23-47.56)	0.000*
Mast hücre sayısı/ 16400 (µm²)	1.34±0.19 (1-1.6)	3.62±0.5 (2.7-4.2)	0.000*
100 µm’deki goblet hücre sayısı	0.32±0.1 (0.12-0.42)	4.92±0.82 (3.65-5.89)	0.000*

* Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan tek yönlü varyans analiz testinde (ANOVA) p<0.05 olan ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerleri

Plasebo grubu (Grup II) ile glycyrrhizin grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında ise, meyan kökünün en önemli bileşenlerinden olan glycyrrhizin uygulanan grupta, bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.001) ve epitel kalınlığının (p: 0.000), mast (p: 0.018) ve goblet hücre sayısının (p: 0.000) anlamlı olarak azalmış olduğu

gösterildi. Tablo 10’da ise plasebo grubu ile glycyrrhizin grubunun histolojik verileri, ortalamaları, minimum-maksimum değerleri ve iki grup karşılaştırmalarına ait p değerleri verilmiştir.

Tablo 10: Plasebo grubu ile glycyrrhizin grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Plasebo grup (Grup II) (Ort±SD) (Min-Maks)	Glycyrrhizin grubu (Grup IV) (Ort±SD) (Min-Maks)	P değeri
Bazal membran kalınlığı (nm)	657.52±98.99 (500.51-778.67)	465.01±121.48 (301.91-703.62)	0.000*
Düz kas kalınlığı (µm)	11.24±1.85 (7.56-13.03)	7.76±1.11 (6.38-9.68)	0.001*
Epitel kalınlığı (µm)	41.62±5.49 (31.23-47.56)	25.54±4.68 (19.59-35.01)	0.000*
Mast hücre sayısı /16400 (µm²)	3.62±0.5 (2.7-4.2)	2.77±0.23 (2.4-3.1)	0.018*
100 µm’deki goblet hücre sayısı	4.92±0.82 (3.65-5.89)	0.98±0.15 (0.8-1.24)	0.000*

* Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan tek yönlü varyans analiz testinde (ANOVA) p<0.05 olan ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerleri

Plasebo grubu (Grup II) ile deksametazon grubunun (Grup III) histolojik verileri karşılaştırıldığında ise, deksametazon uygulamasının, bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.000) ve epitel kalınlığının (p: 0.000), mast (p: 0.000) ve goblet hücre sayısının (p: 0.000) anlamlı olarak azaltmış olduğu gösterildi. Tablo 11’de ise plasebo grubu ile deksametazon grubunun histolojik verileri, ortalamaları, minimum-maksimum değerleri ve iki grup karşılaştırmalarına ait p değerleri verilmiştir.

Tablo 11: Deksametazon grubu ile plasebo grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Plasebo grup (Grup II) (Ort±SD) (Min-Maks)	Deksametazon grubu (Grup III) (Ort±SD) (Min-Maks)	P değeri
Bazal membran kalınlığı (nm)	657.52±98.99 (500.51-778.67)	405.13±96.1 (271.98-600.14)	0.000*
Düz kas kalınlığı (µm)	11.24±1.85 (7.56-13.03)	5.62±1.15 (3.32-6.69)	0.000*
Epitel kalınlığı (µm)	41.62±5.49 (31.23-47.56)	22.59±3.18 (17.51-26.54)	0.000*
Mast hücre sayısı/ 16400 (µm²)	3.62±0.5 (2.7-4.2)	2.06±0.77 (0.48-2.8)	0.000*
100 µm'deki goblet hücre sayısı	4.92±0.82 (3.65-5.89)	0.66±0.06 (0.56-0.75)	0.000*

* Bonferroni düzeltmesi uygulanarak yapılan tek yönlü varyans analiz testinde (ANOVA) p<0.05 olan ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerleri

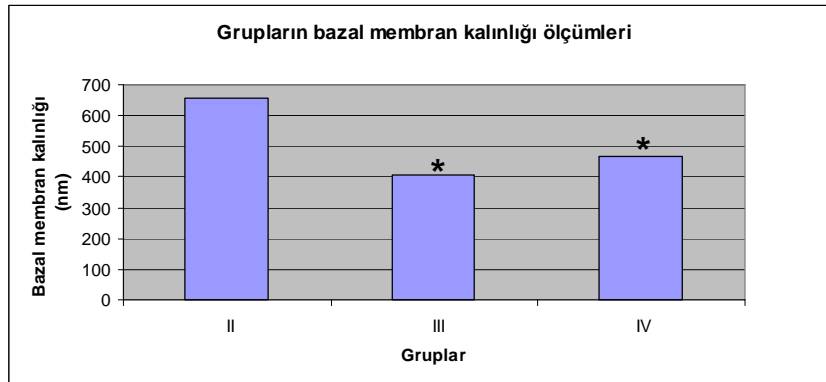
Deksametazon grubu (Grup III) ile glycyrrhizin grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında ise; iki grup arasında bazal membran (p: 0.514), düz kas kalınlığı (p: 0.054), epitel kalınlığı (p: 1.0), mast hücre sayısı (p: 0.075) ve goblet hücre sayısı (p: 0.988) açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Tablo 12'de ise deksametazon grubu ile glycyrrhizin grubunun histolojik verileri, ortalamaları, minimum-maksimum değerleri ve iki grup karşılaştırmalarına ait p değerleri verilmiştir.

Tablo 12: Deksametazon grubu ile glycyrrhizin grubunun histolojik verilerinin karşılaştırılması

	Glycyrrhizin grubu (Grup IV) (Ort±SD) (Min-Maks)	Deksametazon grubu (Grup III) (Ort±SD) (Min-Maks)	P değeri
Bazal membran kalınlığı (nm)	465.01±121.48 (301.91-703.62)	405.13±96.1 (271.98-600.14)	0.514
Düz kas kalınlığı (µm)	7.76±1.11 (6.38-9.68)	5.62±1.15 (3.32-6.69)	0.054
Epitel kalınlığı (µm)	25.54±4.68 (19.59-35.01)	22.59±3.18 (17.51-26.54)	1.0
Mast hücre sayısı/16400 (µm²)	2.77±0.23 (2.4-3.1)	2.06±0.77 (0.48-2.8)	0.075
100 µm'deki goblet hücre sayısı	0.98±0.15 (0.8-1.24)	0.66±0.06 (0.56-0.75)	0.988

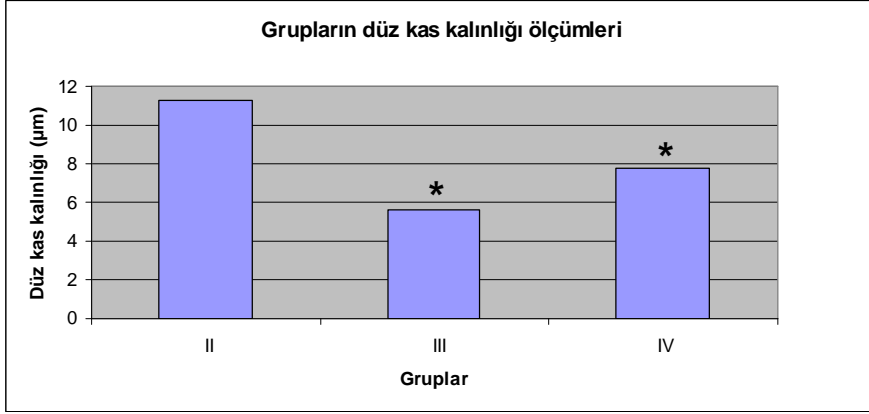
Grup II, III ve IV arasında histolojik parametreler arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar şekil 10-14'de verilmiştir.

Şekil 10: Grupların ortalama bazal membran kalınlıklarının dağılımı



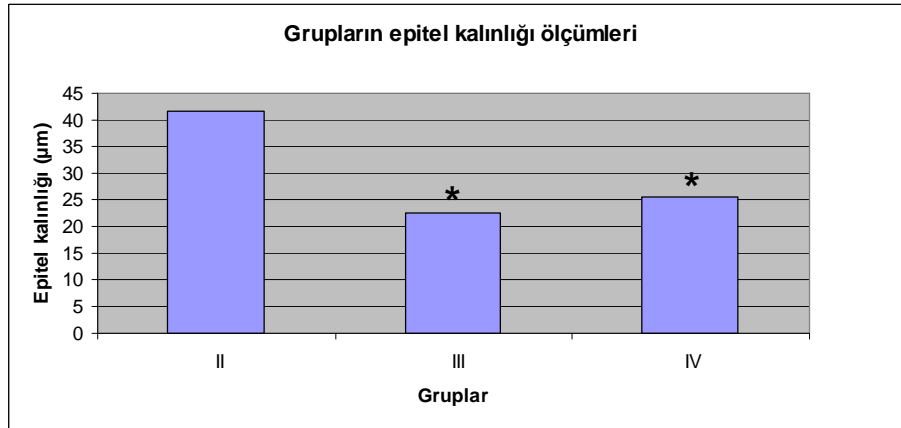
* Grup III ve IV'e ait ortalama bazal membran kalınlığı değerleri Grup II'ye ait değerlere göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırası ile p: 0.000, p: 0.000).

Şekil 11: Grupların ortalama düz kas kalınlıklarının dağılımı



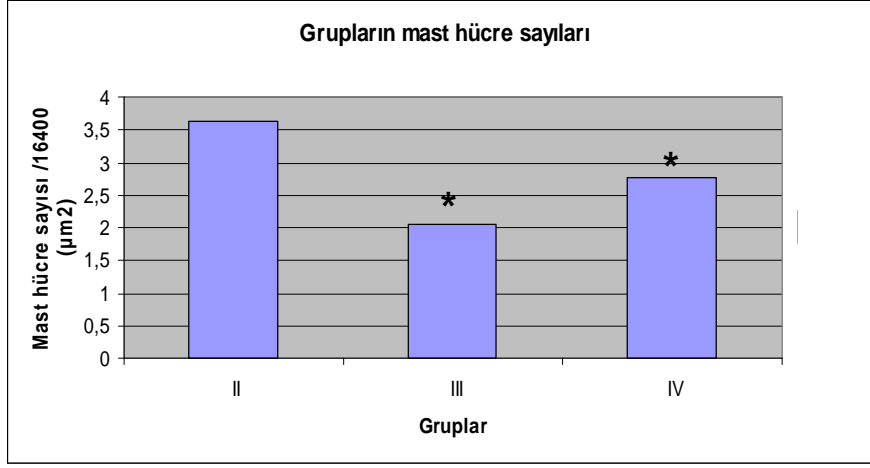
* Grup III ve IV'e ait ortalama düz kas kalınlığı değerleri Grup II'ye ait değerlere göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırası ile p: 0.000, p: 0.001).

Şekil 12: Grupların ortalama epitel kalınlıklarının dağılımı



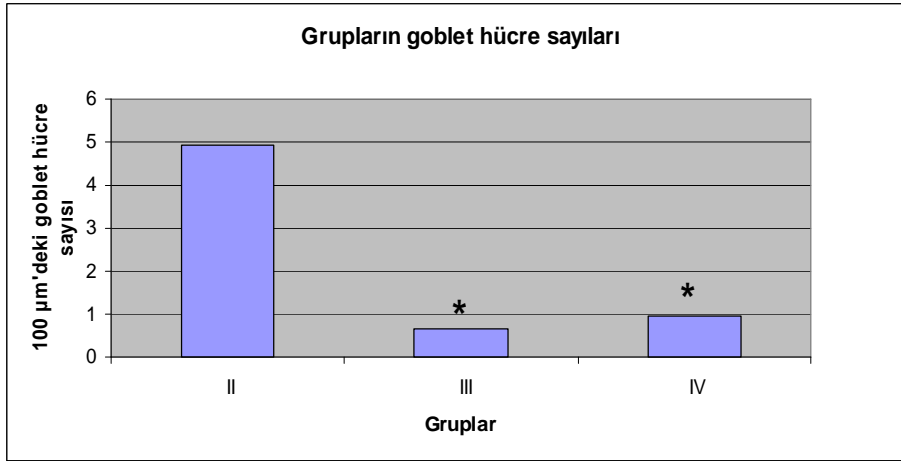
* Grup III ve IV'e ait ortalama epitel kalınlığı değerleri Grup II'ye ait değerlere göre anlamlı derecede düşük bulundu (sırası ile p: 0.000, p: 0.000).

Şekil 13: Grupların ortalama mast hücre sayılarının dağılımı



* Grup III ve IV'e ait ortalama mast hücre sayıları Grup II'ye ait değerlere göre anlamlı derecede düşük bulundu (Sırası ile p: 0.000, p: 0.018).

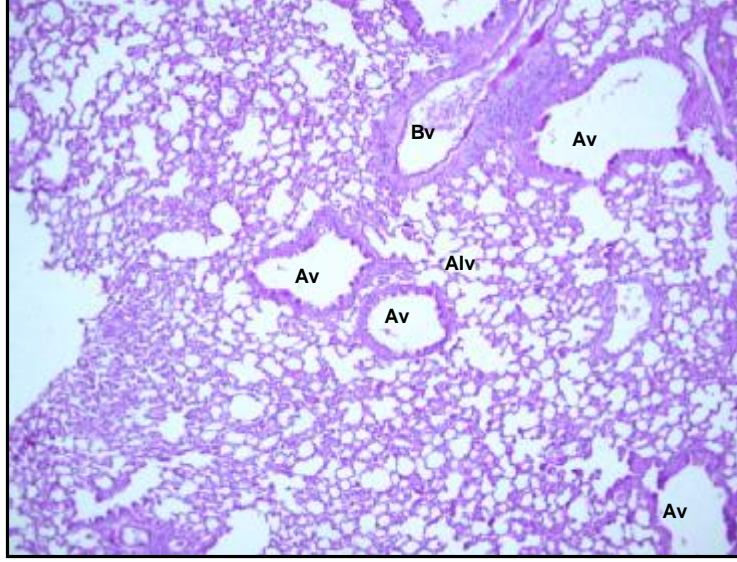
Şekil 14: Grupların ortalama goblet hücre sayılarının dağılımı



* Grup III ve IV'e ait ortalama goblet hücre sayıları Grup II'ye ait değerlere göre anlamlı derecede düşük bulundu (Sırası ile p: 0.000, p: 0.000).

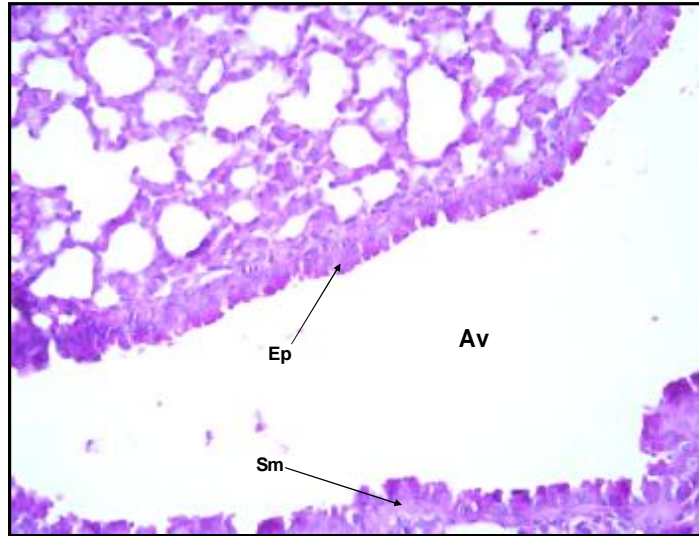
Kontrol (Resim 3-6) ve plasebo (Resim 7-12) grubunun, akciğer ışık ve elektron mikroskopik görüntüleri aşağıdaki bölümde verilmiştir.

Resim 3: Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitleri (PAS boyama)



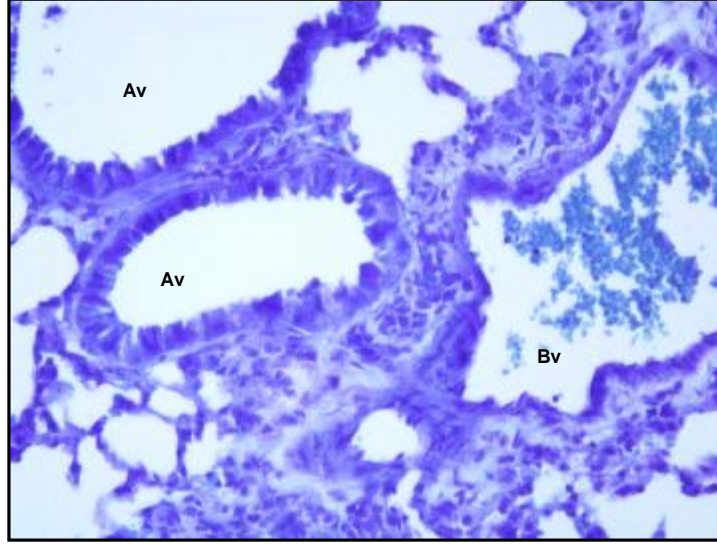
Normal akciğer parenkimi ve hava yolları izlenmektedir (PAS x 10). (Av: Arter, Bv: damar kesitleri)

Resim 4: Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitleri (PAS boyama)



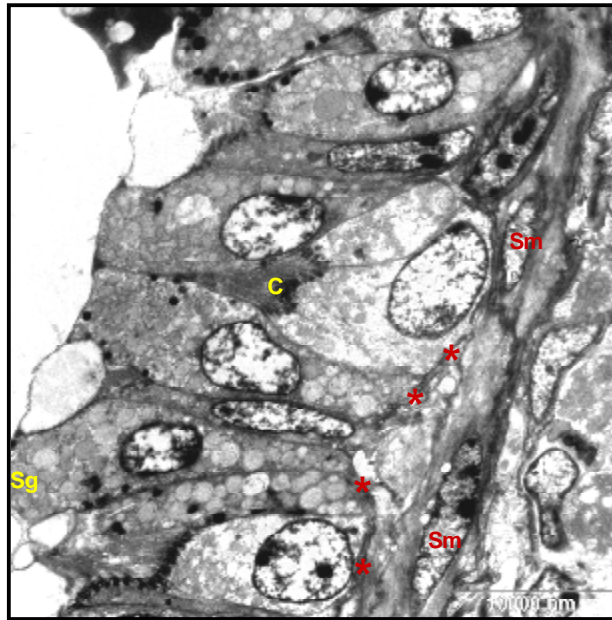
Havayolu epiteli olağan görünümde ayrıca subepitelyal düz kas ince bir tabaka olarak kesintisiz izlenmektedir (PAS x 20).

Resim 5: Kontrol grubunun (Grup I) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)



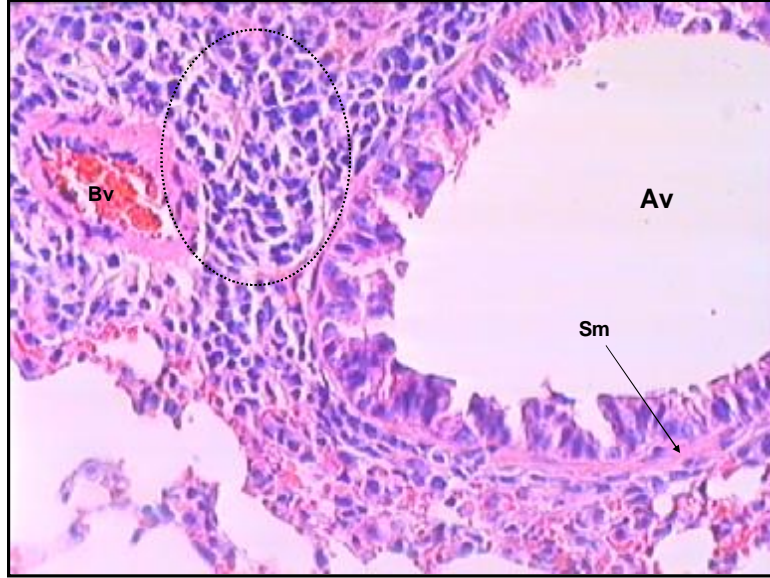
Solunum yolu epiteli düzenli, perivasküler alan ve akciğer parenkimi olağan görünümündedir. (Toluidin blue X 20).

Resim 6: Kontrol grubunun (Grup I) havayollarının elektron mikroskopik görüntüsü



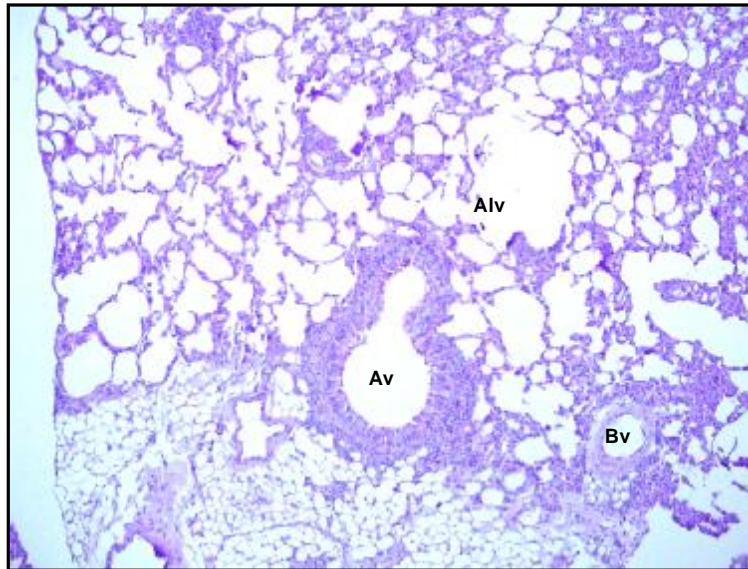
Bazal membran düzenli (*), tek sıra düz kas hücreleri (Sm) sentez ve sekresyon evresinde, salgı granülü dolu (Sg) hücreler, epitel hücreleri arada izlenen silli epitel hücreleri (C) görülmektedir.

Resim 7: Astım modeli oluşturulmuş plasebo uygulanmış grupta (Grup II) akciğer kesitleri (H&E boyama)



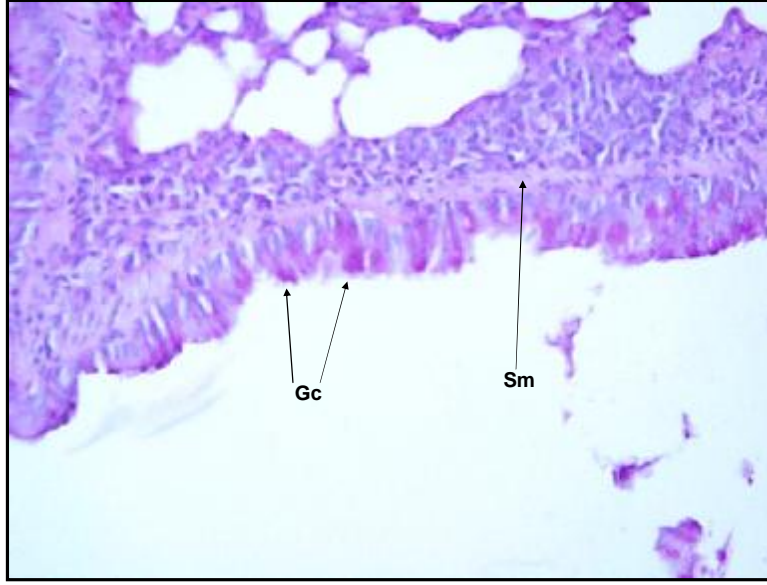
Havayolunu çevreleyen epitel yer yer ayrılmalar nedeni ile düzensiz ve yüksek boylu olarak gözlenmekte, kalınlaşmış düz kas tabakası dikkati çekmektedir (Ok). Damar (Bv) çevresi ve peribronşial alanda inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlenmektedir (noktalı alan) (H&E X 20).

Resim 8: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (PAS boyama)



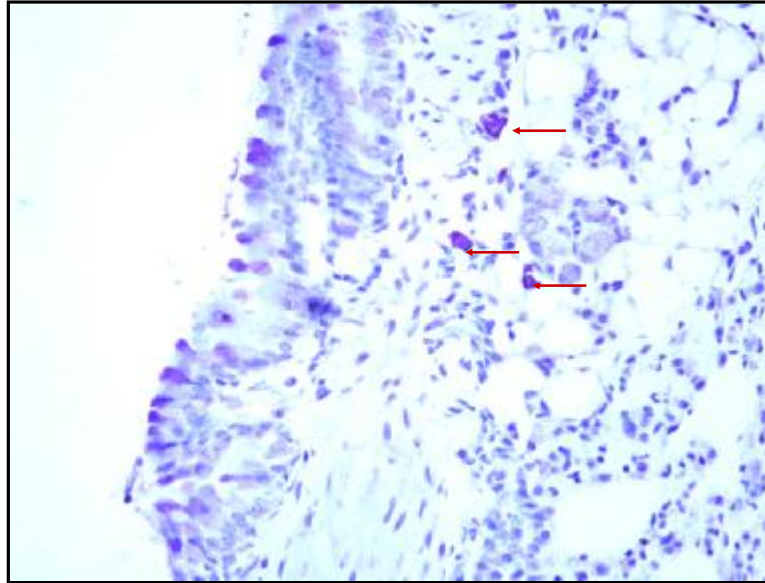
Akciğer parenkiminde inflamatuvar hücreler hava yolu (Av) çevresi ve damar çevresinde (Bv) gözlenmektedir (PAS X 10).

Resim 9: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (PAS boyama)



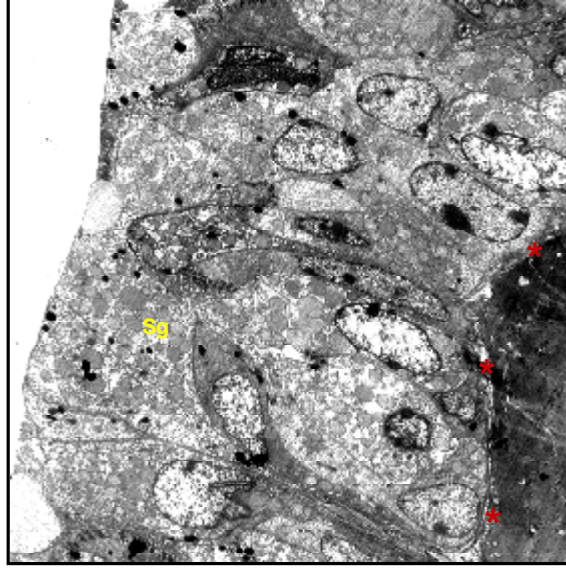
Yüksek boylu solunum yolları epiteli, artmış PAS+ Goblet hücreleri (Gc) (Ok) ve kalınlaşmış düz kas tabakası (Sm) (Ok) izlenmektedir (PAS X 20).

Resim 10: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)



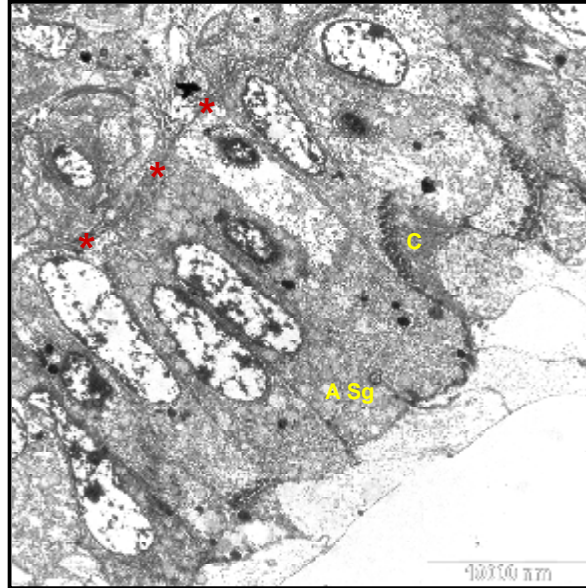
Yüksek boylu epitel, kalınlaşmış düz kas tabakası ve parenkimal mast hücreleri infiltrasyonu (Kırmızı oklar) izlenmektedir (Toluidin blue X 40).

Resim 11: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitleri (Elektron mikroskopi)



Epitel uzun boylu ve aktif sekretuar dönemde (Depo salgı granülü (Sg) yok denecek kadar az izlenmekte). Bazal membran (*) oldukça düzensiz olarak görülmektedir.

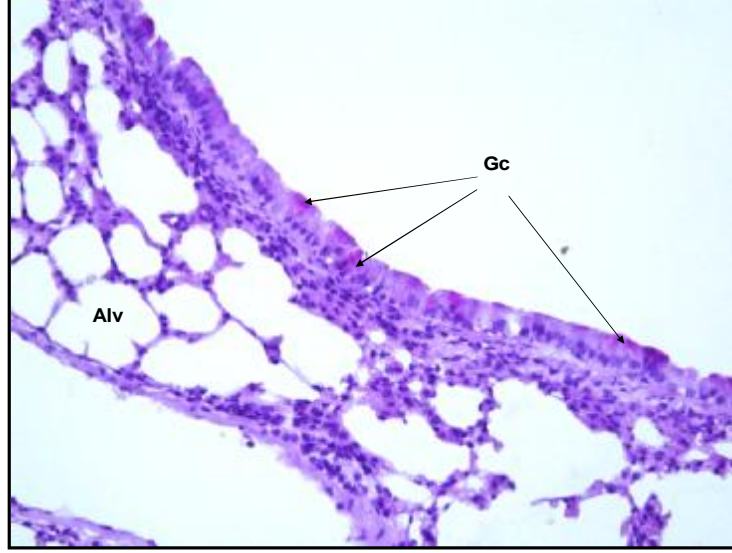
Resim 12: Plasebo grubunda (Grup II) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik görüntüsü



Aktif sekresyon fazında sekresyon granülleri (Sg) ile dolu hücreler görülmektedir. Bazal membran (*) düzensiz olarak izlenmektedir.

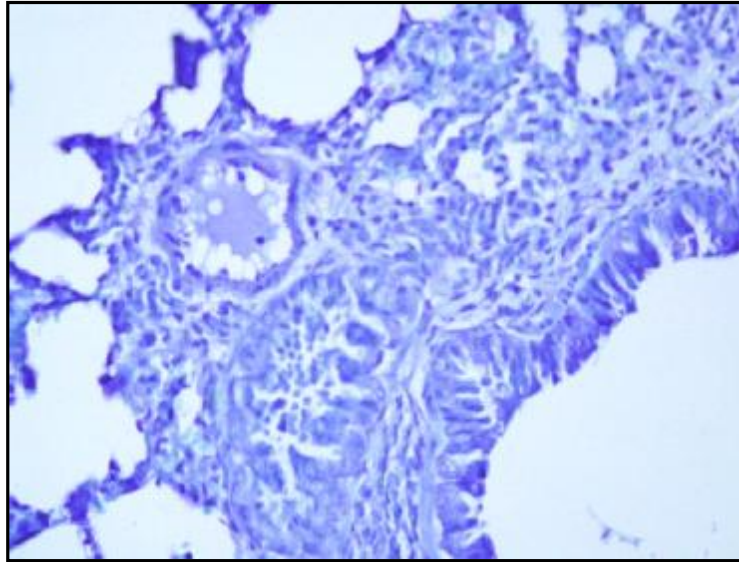
Deksametazon grubunun (Grup III) akciğer ışık ve elektron mikroskopik görüntüleri Resim 13-16'da verilmiştir.

Resim 13: Astım modeli oluşturulmuş ve deksametazon uygulanmış grupta (Grup III) akciğer kesitleri (PAS boyama)



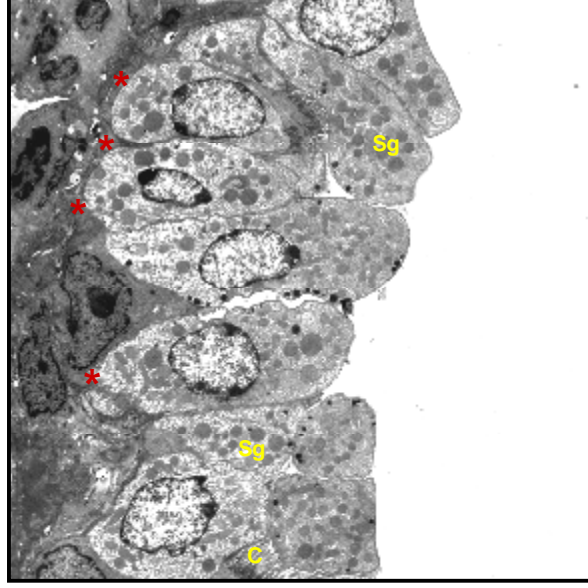
PAS+ goblet hücreleri (Gc) azalmış olarak izlenmekte olup, subepitelyal alan ve alveoler yapılar (Alv) normal görünümündedir (PAS X 20).

Resim 14: Deksametazon grubunda (Grup III) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)



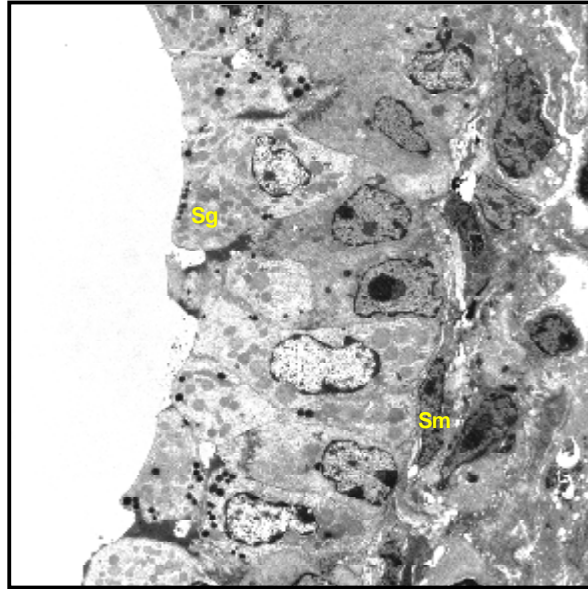
Havayolu epiteli uzun boylu fakat sağlıklı görünümde olup, perivasküler ve peribronşial az sayıda inflamatuvar hücreler izlenmektedir (Toluidin blue X 20).

Resim 15: Astım modeli oluşturulmuş ve deksametazon uygulanmış grupta (Grup III) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik olarak görüntüsü



Bazal membran (*) devamlı ve oldukça düzenli olarak izlenmektedir. Sekretuar hücreler koyu renkli depo salgı granülleri (Sg) ile dolu ve sağlıklı görünümündedir.

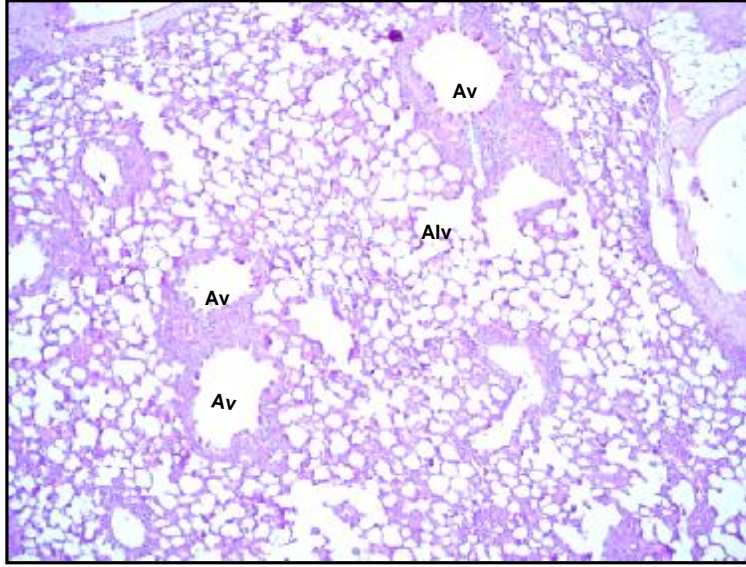
Resim 16: Deksametazon grubunda (Grup III) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik görüntüsü



Düz kas hücresi (Sm) ve salgı granülleri (Sg) ile dolu sağlıklı görünümde solunum yolu epitel hücreleri görülmektedir.

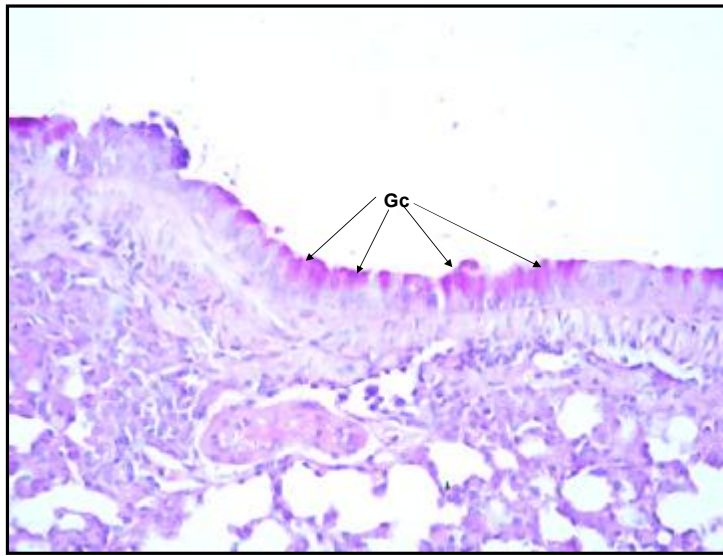
Glycyrrhizin grubunun (Grup IV) akciğer ışık ve elektron mikroskopik görüntüleri Resim 17-20'de verilmiştir.

Resim 17: Astım modeli oluşturulmuş ve glycyrrhizin uygulanmış grupta (Grup IV) akciğer kesitleri (PAS boyama)



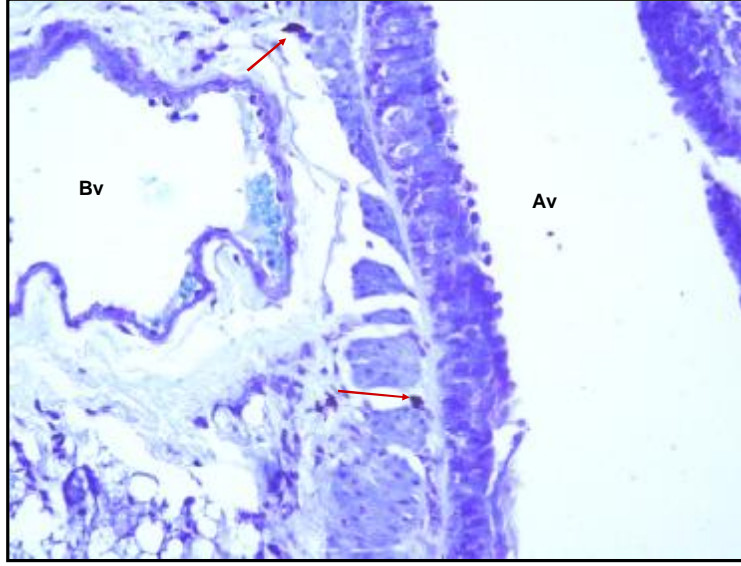
Akciğer parenkiminde inflamatuvar hücreler mevcut olsa da, havayolları (Av) ve alveoler (Alv) yapılar olağan olarak izlenmektedir (PAS X 10).

Resim 18: Glycyrrhizin grubunda (Grup IV) akciğer kesitleri (PAS boyama)



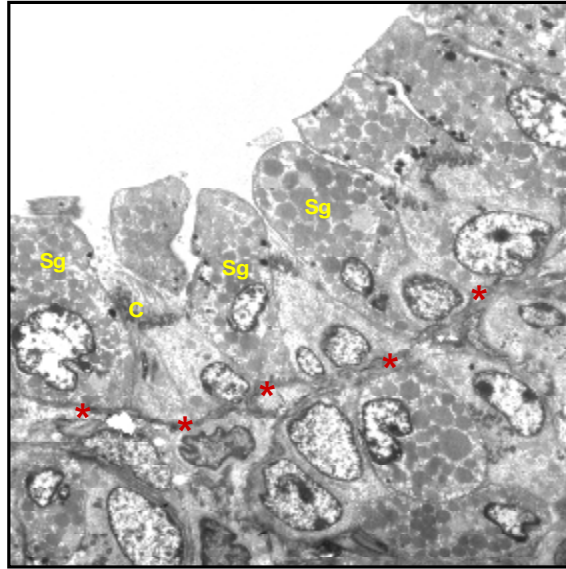
Havayolu epiteli sağlam yer yer gruplar halinde PAS + goblet hücreleri (Gc) görülmekte, parankimal alanlar ise olağan görünümde izlenmektedir (PAS X 20).

Resim 19: Glycyrrhizin grubunda (Grup IV) akciğer kesitleri (Toluidin blue boyama)



Havayolunda subepitelyal ve perivasküler alanda az sayıda mast hücreleri görülmektedir (Kırmızı ok ile işaretli) (Toluidin blue x 40).

Resim 20: Glycyrrhizin grubunda (Grup IV) akciğer kesitlerinin elektron mikroskopik görüntüsü



Koyu renkli depo salgı granülleri de (Sg) içeren kısa boylu sekretuar hücreler ve sağlam yapıda silli hücreler (C) birlikte görülmektedir. Bazal membran (*) düzenli ve devamlı olarak kolayca ayırdelebilmektedir.

5. TARTISMA

Astım geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonu, havayolu inflamasyonu ve yeniden yapılanma (Remodeling) ile karakterize kronik bir hastalıktır (131). Kronik bir hastalık olduğu için uzun dönem tedavi gerektirir. Havayolu inflamasyonu hastalığın patogenezinde en önemli unsurlardan birisidir ve bugün için hastalığın tedavisinde kullanılan ajanlar, havayolunda mevcut olan inflamasyonu baskılamayı hedef almaktadır (132-133). Havayollarında yeniden yapılanma ise, astımın önemli bir sonucudur (134). Yeniden yapılanma, goblet hücre hiperplazisi, bazal membranda kalınlaşma, subepitelyal fibrozis, havayolu düz kaslarında hipertrofi/hiperplazi ve anjiogenezisi kapsamaktadır (62). Günümüzde kullanılmakta olan astım tedavileri inflamasyonu baskılamakta etkindir ancak bu tedavilerin yeniden yapılanma üzerine etkileri daha azdır (135). Birçok hasta astım için uygulanmakta olan konvansiyonel medikal tedavilerin özellikle de inhale kortikosteroidlerin yan etkileri olduğunu düşünmekte (136,137) ve bu nedenle tedaviye uyumları azalmaktadır (138). Bu durumda; daha az yan etkisi olan ve akciğerlerde mevcut kronik değişiklikleri düzeltebilecek tercihen nonsteroid yapıda mevcut tedavilere alternatif ilaç arayışları devam etmektedir (139). Son yıllarda astımlı hastalar arasında kullanım sıklığı giderek artmakta olan alternatif tedavi yaklaşımları arasında en sık kullanılanlardan birisi de bitkisel tedavilerdir (140). Astımlı hastaların, %11 (139) ile %40 (141) arasında değişen sıklıklarda, bitkisel tedavi seçeneklerini kullandıklarını bildiren yayınlar mevcuttur. Bu bitkisel tedavilerin antiinflamatuvar özellikleri olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir ancak bitkisel kaynaklı tedavilerin astım patogenezinde çok önemli yeniden yapılanma üzerine etkilerini araştıran çok az sayıda çalışma mevcuttur (142). Bu çalışmada; astım tedavisi için sıkça kullanılan meyan kökü bitkisinin aktif bileşeni olan ve antiinflamatuvar özelliğe sahip glycyrrhizin'in (113,114,124), OVA verilerek astım modeli oluşturulmuş BALB/c farelere uygulanarak, astım nedeni ile oluşan kronik histolojik değişiklikler özellikle yeniden yapılanma üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Meyan kökü (*Glycyrrhiza Glabra*); Akdeniz'de ve Asya'nın belirli bölgelerinde yetişen bir bitkidir. Meyan kökünün antiinflamatuvar aktivitesi uzun yıllardır bilinmekte ve astımlı hastalar tarafından kullanılmaktadır. Dokuz Eylül Üniversitesi Pediatrik Allerji Polikliniğinde izlenmekte olan 250 bronşial astımlı hasta ve aileleri ile yapılan anket çalışmasında, hastaların 116 tanesinin (%46.4) hayatının bir döneminde alternatif tedavilerden bir veya birkaçını kullandığı öğrenilmiştir. Bu hastaların 99 tanesinin (%39.6) son bir yıl içinde, 59 tanesinin son altı ay içinde (%37.8) bu tedavileri kullandığı tespit edilmiştir. Bu

çalışmada, en sık kullanılan alternatif tedavi şekli şifalı bitkiler (%29.7), şifalı bitkilerden en sık kullanılan ise, meyan kökü (%26.6) olarak bulunmuştur (6). Meyan kökü astımlı hastalar tarafından tüm dünyada yaygın olarak kullanılmasına karşın, astım tedavisinde etkinliğini destekleyen yeterli bilimsel veriler halen mevcut değildir.

Meyan kökü (*Glycyrrhiza Glabra*); triterpen saponinler, flavanoidler, polisakkaritler, pektinler, basit şekerler, amino asitler ve mineral tuzları gibi birçok komponent içerir (143). Meyan kökünün en önemli aktif bileşeni olduğu kabul edilen glycyrrhizin, bir molekül 18 β -glycyrrhetic acid, iki molekül glukuronik asid içeren “18- beta-glycyrrhetic acid-3-O-beta-D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-beta-D-glucuronide” yapısında triterpen bir glikozittir (144,145). Glycyrrhizin antiviral, antiinflamatuvar, antitümör ve hepatoprotektif etkileri başta olmak üzere birçok farmakolojik etkiye sahiptir (146). Glycyrrhizin ve metabolitlerinin antiinflamatuvar etkilerini hangi mekanizma ile gösterdikleri tam olarak netlik kazanmış değildir. 18 β -glycyrrhetic acid’in steroid benzeri yapısı dolayısı ile, inflamasyonu baskıladığını düşünülmektedir (147). Bu etkinin, kortizolun inaktif metaboliti olan kortizona dönüşümüne yol açan 11 β -hidroksisteroid dehidrogenaz’ın inhibisyonu sonucu da gerçekleşmesi olasıdır (148). Bir çalışmada, diamonyum glycyrrhizinat uygulamasının, IFN- γ düzeyini arttırdığı, IL-4 düzeyini azalttığı ve Th₁/Th₂ dengesini Th₁ yönünde değiştirerek astım bulgularında düzelmeye sağlayabileceği iddia edilmiştir (149). Başka bir çalışmada, glycyrrhizin sodyum tuzunun insan eozinofilleri ve nötrofillerinde E-selektin, L-selektin ve P-selektin aracılı olarak gerçekleşen umbilikal ven endotel hücrelerine adezyonu engellediği gösterilmiştir (150). Glycyrrhizin’in insan akciğer fibroblastlarında Transkripsiyonun Sinyal Transduser ve Aktivatörü (STAT)-6 aracılığı ile eotaksin-1 düzeyini inhibe etmesi de oldukça ilginç bir bulgudur (151). Takei ve ark.’larının yaptığı bir çalışmada; glycyrrhizin’in akciğer epitel hücrelerinden IL-8 salınımını ve nükleer faktör (NF)- κ B transaktivasyonunu inhibe ettiği vurgulanmıştır (152). Menegazzi ve ark.’ları, akut inflamasyon modeli oluşturarak glycyrrhizin’in antiinflamatuvar etkinliğini değerlendirmişler, glycyrrhizin’in akciğerlerde polimorf nüveli lökosit infiltrasyonunu, P-selektin ve ICAM düzeylerini, NF- κ B ve STAT-3 aktivasyonunu ve oluşan plöraziyi azalttığını göstermişlerdir (153). Ram ve ark.’larının yaptığı çalışmada ise, bir grup fareye OVA ile duyarlılaştırılıp astım modeli oluşturulduktan sonra ve bir grubuna ise astım modeli oluşturulmadan önce glycyrrhizin 2.5, 5, 10, 20 mg/kg dozlarında uygulanmış, bu molekülün astım oluşumundan koruyucu ve oluşan değişiklikleri düzeltici özellikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada, glycyrrhizin 5 mg/kg dozunda uygulandığında, OVA’in indüklediği havayolu obstrüksiyonu ve metakolin ile oluşan havayolu aşırı duyarlılığını azalttığı, akciğerdeki inflamasyonu, peribronşial ve perivasküler

alanlardaki eozinofil infiltrasyonunu engellediği gösterilmiştir. Ayrıca glycyrrhizin'in BAL sıvısındaki IFN- γ seviyesini arttırdığı, IL-4, IL-5 ve eozinofilleri azalttığı, serumda OVA spesifik Ig E düzeylerini azalttığı ve total Ig G_{2a} düzeyindeki azalmayı engellediği de bu çalışma ile gösterilmiştir (124). Ram ve ark.'larının yapmış olduğu bu çalışma ile, glycyrrhizin'in sitokinler ve astımda mevcut olan inflamatuvar değişiklikler üzerine etkisi araştırılmış ve deneysel astım modelinde glycyrrhizin uygulamasının havayolu inflamasyonu ve aşırı duyarlılığı azaltıcı etkisi gösterilmiştir ancak glycyrrhizin'in havayollarındaki yeniden yapılanma üzerine etkisi araştırılmamıştır. Biz çalışmamızda, astımda mevcut inflamasyon üzerine düzeltici etkilerine dair kanıtlar bulunan meyan kökü bitkisinin aktif molekülü olan glycyrrhizin'in akciğerlerdeki kronik histolojik değişiklikler ve yeniden yapılanma üzerine etkisini araştırdık. Çalışmamızın sonuçları, glycyrrhizin 10 mg/kg dozunda yedi ardışık gün boyunca orogastrik gavaj ile uygulanmasının, bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.001) ve epitel kalınlığını (p: 0.000), mast (p: 0.018) ve goblet hücre sayısını (p: 0.000) anlamlı olarak azalttığını göstermiştir.

Kortikosteroidlerin havayollarında astıma bağlı olarak ortaya çıkan inflamasyon ve yeniden yapılanmanın güçlü bir inhibitörü olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (128, 154). Deksametazonun goblet hücre hiperplazisi/metaplasisini de azaltabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (155). Bu çalışmada da, deksametazonun plaseboya göre bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.000) ve epitel kalınlığının (p: 0.000), mast (p: 0.000) ve goblet hücre sayısının (p: 0.000) anlamlı olarak azaltmış olduğu gösterilmiştir. Deksametazon grubu (Grup III) ile glycyrrhizin grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında ise; iki grup arasında bazal membran (p: 0.514), düz kas kalınlığı (p: 0.054), epitel kalınlığı (p: 1.0), mast hücre sayısı (p: 0.075) ve goblet hücre sayısı (p: 0.988) açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı dikkati çekmiştir.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları da söz konusudur. Örneğin; astım patogenezinde önemli rol oynayan sitokin düzeyleri bu çalışmada değerlendirilmemiştir. Çalışma az sayıda hayvanı kapsamaktadır ve hayvan çalışmalarında tespit edilen olumlu sonuçlarını direk olarak insan çalışmalarına uyarlayabilmek mümkün olamamaktadır. Ayrıca; glycyrrhizin uygulamasının astımlı havayollarında mevcut histolojik değişiklikleri düzeltici etkisinin devamlı olup olmayacağını belirleyecek izlem dönemi de bu çalışma planı içerisine dahil edilmemiştir.

Sonuç olarak bu çalışma; meyan kökü bitkisinin en önemli aktif bileşenlerinden olan glycyrrhizin uygulamasının kronik astım oluşturulan fare modelinde, havayollarının bazal membran kalınlığı, düz kas ve epitel kalınlığı, mast ve goblet hücre sayısı dahil olmak üzere değerlendirilmiş olan tüm histolojik değişiklikleri plaseboya oranla anlamlı olarak düzelttiğini göstermiştir. Glycyrrhizin ile deksametazon uygulamasının histolojik parametreler üzerine etkinliği karşılaştırıldığında ise, her iki tedavi şeklinin etkinliği arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu çalışmanın sonuçları, glycyrrhizin'in astımlı havayollarında kronik yapısal değişiklikleri düzeltici etkisini göstermiştir, ancak glycyrrhizin'in akciğerde inflamasyon ve yeniden yapılanma üzerine etkilerini değerlendirecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUCLAR

1. Kontrol grubu (Grup I) ile astım modeli oluşturulup plasebo olarak salin uygulanan grubun (Grup II) histolojik verileri karşılaştırıldığında; plasebo grubunda bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.000) ve epitel kalınlıklarının (p: 0.000), mast (p: 0.000) ve goblet hücre (p: 0.000) sayılarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu gösterildi. Bu sonuçlar; kronik astım modelinin ve akciğerde astıma bağlı histolojik bulguların başarı ile oluşturulduğunu göstermektedir.
2. Plasebo grubu (Grup II) ile glycyrrhizin grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında ise, meyan kökünün en önemli bileşenlerinden olan glycyrrhizin uygulanan grupta, bazal membran (p: 0.000), düz kas (p: 0.001) ve epitel kalınlığının (p: 0.000), mast (p: 0.018) ve goblet hücre sayısının (p: 0.000) anlamlı olarak azalmış olduğu gösterildi.
3. Deksametazon grubu (Grup III) ile glycyrrhizin grubunun (Grup IV) histolojik verileri karşılaştırıldığında ise; iki grup arasında bazal membran (p: 0.514), düz kas kalınlığı (p: 0.054), epitel kalınlığı (p: 1.0), mast hücre sayısı (p: 0.075) ve goblet hücre sayısı (p: 0.988) açısından anlamlı farklılık saptanmadığı görüldü.
4. Bu çalışmanın sonuçları glycyrrhizin'in astımlı havayollarında kronik değişiklikler ve yeniden yapılanma üzerine iyileştirici etkileri olduğunu göstermiştir. Ancak glycyrrhizin'in akciğerde inflamasyon ve yeniden yapılanma üzerine etkilerini değerlendirecek uzun süreli, ileri çalışmalara halen ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention, 2008. Available at: www.ginasthma.org . Accessed December, 2008.
2. Madsen H, Andersen S, Nielsen RG, Dolmer BS, et al. Use of complementary/alternative medicine among paediatric patients. *Eur J Pediatr* 2003;162:334-41
3. Ernst E. Complementary therapies in asthma: what patients use. *J Asthma* 1998;35:667-71
4. Orhan F, Sekerel BE, Kocabas CN, Sackesen C, et al. Complementary and alternative medicine in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90:611-5
5. Bielory L, Lupoli K. Herbal interventions in asthma and allergy. *J Asthma* 1999;36:1-65.
6. Babayigit A, Olmez D, Karaman O, Uzuner N. Complementary and alternative medicine use in Turkish children with bronchial asthma. *J Altern Complement Med* 2008;14:797-9.
7. Guilbert T, Krawiec M. Natural history of asthma. *Pediatr Clin North Am.* 2003;50:523-38.
8. Beasley R, Ellwood P. International patterns of the prevalence of pediatric asthma the ISAAC program. *Pediatr Clin North Am* 2003;50:539-53.
9. 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.
10. Goren AI, Hellmann S. Changing prevalence of asthma among schoolchildren in Israel. *Eur Respir J* 1997: 2279-2284.
11. Seaton A, Godden DJ, Brown K. Increase in asthma: is a more toxic environment, or a more susceptible population? *Thorax* 1994;94:171-174.
12. Braman SS. The global burden of asthma. *Chest* 2006;130:4S-12S.
13. Anderson HR. Is asthma really increasing? *Paed Resp Med* 1993;1:6-10.
14. Burr ML. Epidemiology of asthma. In: Burr ML, ed. *Epidemiology of clinical allergy*. Basel, Karger, 1993; pp. 80-102.
15. 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;91:477-484.

16. 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;15:531-538.
17. Karaman O, Türkmen M, Uzuner N. Allergic disease prevalence in Izmir. *Allergy* 1997; 52: 689-90.
18. 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
19. 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.
20. Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma. *N Engl J Med* 2001;344:350-62.
21. Wiesch DG, Meyers DA, Bleecker ER. Genetics of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:895-901.
22. Cookson WO, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM. Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989;1:1292-5.
23. Holloway JW, Beghe B, Holgate ST. The genetic basis of atopic asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1023-32.
24. 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.
25. Ito K, Chung KF, Adcock IM. Update on glucocorticoid action and resistance. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:522-43.
26. In KH, Asano K, Beier D, Grobholz J, et al. Naturally occurring mutations in the human 5-lipoxygenase gene promoter that modify transcription factor binding and reporter gene transcription. *J Clin Invest* 1997;99:1130-7.
27. Horwood LJ, Fergusson DM, Shannon FT. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. *Pediatrics* 1985;75:859-68.
28. 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.
29. Beuther DA, Weiss ST, Sutherland ER. Obesity and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:112-9.

30. Horwood LJ, Fergusson DM, Shannon FT. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. *Pediatrics* 1985;75:859-68
31. Platts-Mills T, Vaughan J, Squillace S, Woodfolk J, et al. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population-based cross-sectional study. *Lancet* 2001;357:752-6.
32. 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.
33. Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ. Measles and atopy in Guinea- Bissau. *Lancet* 1996;347:1792-1796.
34. Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:1501-7.
35. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, Holberg CJ, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999;354:541-5.
36. Zambrano JC, Carper HT, Rakes GP, Patrie J, et al. Experimental rhinovirus challenges in adults with mild asthma: response to infection in relation to IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1008-16.
37. Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, Vora H, et al. The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age. *N Engl J Med* 2004;351:1057-67.
38. Chalmers GW, Macleod KJ, Little SA, Thomson LJ, et al. Influence of cigarette smoking on inhaled corticosteroid treatment in mild asthma. *Thorax* 2002;57:226-30.
39. Chaudhuri R, Livingston E, McMahon AD, Thomson L, et al. Cigarette smoking impairs the therapeutic response to oral corticosteroids in chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:1308-11.
40. Bateman ED, Boushey HA, Bousquet J, Busse WW, et al; GOAL Investigators Group. Can guideline-defined asthma control be achieved? The Gaining Optimal Asthma Control study. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:836-44.
41. Lannerö E, Wickman M, Pershagen G, Nordvall L. Maternal smoking during pregnancy increases the risk of recurrent wheezing during the first years of life (BAMSE). *Respir Res*. 2006;7:3.
42. 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.

43. 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.
44. Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1238-48.
45. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:1109-17.
46. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004;22:789-815.
47. 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.
48. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:58-65.
49. Okayama Y, Ra C, Saito H. Role of mast cells in airway remodeling. *Curr Opin Immunol* 2007;19:687-93.
50. Oh CK. Mast cell mediators in airway remodeling. *Chem Immunol Allergy* 2005;87:85-100.
51. Kay AB, Phipps S, Robinson DS. A role for eosinophils in airway remodeling in asthma. *Trends Immunol* 2004;25:477-82.
52. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:450-63.
53. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol* 2004;16:702-8.
54. Peters-Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004;31:3-7.
55. Wenzel S. Mechanisms of severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2003;33:1622-8.
56. Miller AL, Lukacs NW. Chemokine receptors: understanding their role in asthmatic disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004;24:667-83.
57. Leff AR. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy. *Annu Rev Med* 2001;52:1-14.
58. Barnes PJ. Cytokine modulators as novel therapies for asthma. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002;42:81-98.

59. Ricciardolo FL, Sterk PJ, Gaston B, Folkerts G. Nitric oxide in health and disease of the respiratory system. *Physiol Rev* 2004;84:731-65.
60. Smith AD, Taylor DR. Is exhaled nitric oxide measurement a useful clinical test in asthma? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:49-56.
61. Holgate ST: The cellular and mediator basis of asthma in relation to natural history. *Lancet* 1997; 350 (suppl II):5-9.
62. Tagaya E, Tamaoki J. Mechanisms of airway remodeling in asthma. *Allergol Int* 2007;56:331-40.
63. Shim JJ, Dabbagh K, Ueki IF, Dao-Pick T, et al. IL-13 induced mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:134-140.
64. Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G, Di Giorgi R, et al. Airway remodeling in asthma. *Chest* 2003;123:S417-422
65. Lazaar AL, Panettieri RA Jr. Is airway remodeling clinically relevant in asthma? *Am J Med* 2003;115:642-659.
66. Minshall EM, Leung DY, Martin RJ, Song YL, et al. Eosinophil associated TGF-beta 1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:326-333.
67. Ebina M, Takahashi T, Chiba T, Motomiya M. Cellular hypertrophy and hyperplasia of airway smooth muscles underlying bronchial asthma. A 3-D morphometric study. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:720-726
68. Akers IA, Parsons M, Hill MR, Hollenberg MD, et al. Mast cell tryptase stimulates human lung fibroblast proliferation via protease- activated receptor-2. *Am J Physiol Cell Mol Physiol* 2000;278:193-201.
69. Okayama Y, Ra C, Saito H. Role of mast cells in airway remodeling. *Curr Opin Immunol* 2007;19:687-93.
70. Fahy JV, Corry DB, Boushey HA. Airway inflammation and remodeling in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:15-20.
71. O'Byrne P. Bronchial challenges by pharmacologic agents. In: Clark TJH, Godfrey S, Lee TH, Thomson NC, eds. *Asthma*, 4th edition. London: Arnold; 2000.pp. 92-103.
72. Boner AL, Martinati LC. Diagnosis of asthma in children and adolescents. *Eur Respir Rev* 1997;7:3-7.
73. Chinoy B, Yee E, Bahna SL. Skin testing versus radioallergosorbent testing for indoor allergens. *Clin Mol Allergy* 2005;3:4.

74. Aas K, Belin L. Standardization of diagnostic work in allergy. *Acta Allergologica* 1972;27:439-68.
75. Boner AL, Martinati LC. Diagnosis of asthma in children and adolescents. *Eur Respir Rev* 1997;7:3-7.
76. 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.
77. Grol MH, Postma DS, Vonk JM, Schouten JP, et al. Risk factors from childhood to adulthood for bronchial responsiveness at age 32-42 yr. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:150-6.
78. Adelroth E, Morris M, Hargreave FE, O'Byrne PM. Airway responsiveness to leukotrienes C4 and D4 and to methacholine in patients with asthma and normal controls. *N Engl J Med* 1986;315:480-4.
79. Holgate ST, Bradding P, Sampson AP. Leukotriene antagonists and synthesis inhibitors: new directions in asthma therapy. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:1-13.
80. Weinberger M, Hendeles L. Theophylline in asthma. *N Engl J Med* 1996;334:1380-94
81. Greening AP, Ind PW, Northfield M, Shaw G. Added salmeterol versus higher-dose corticosteroid in asthma patients with symptoms on existing inhaled corticosteroid. Allen & Hanburys Limited UK Study Group. *Lancet* 1994;344:219-24
82. Courtney AU, McCarter DF, Pollart SM. Childhood asthma: treatment update. *Am Fam Physician* 2005;71:1959-68.
83. Norman PS. Immunotherapy: 1999-2004. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:1013-23
84. Baena-Cagnani CE, Passalacqua G, Baena-Cagnani RC, Croce VH, et al. Sublingual immunotherapy in pediatric patients: beyond clinical efficacy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005;5:173-7.
85. Davies DE, Wicks J, Powell RM, Puddicombe SM, et al. Airway remodeling in asthma: new insights. *J Allergy Clin Immunol*. 2003; 111:215–225.
86. 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.
87. Eisenberg DM. Unconventional medicine in the U. S. Prevalence, costs, patterns of use. *N Engl J Med* 1993;328:246-52.
88. Fischer P, Ward A. Complementary medicine in Europe. *BMJ* 1994;309:107-11.

89. Schäfer T. Epidemiology of complementary alternative medicine for asthma and allergy in Europe and Germany. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93:5-10.
90. Harmancı E, Bavbek S, Abadoğlu Ö, Pasaoglu G ve ark. Allerjik hastalarda alternatif tedavi kullanımı. Ankara: II. Astım ve Allerjik Hastalıklar Kongresi Özet Kitabı. 2001:83.
91. Kalpaklıoğlu F. Astımda alternatif tedaviler. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1:64-72
92. Ziment I, Tashkin DP. Alternative medicine for allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:603-14.
93. NG T, Wong ML, Hong CY, et al. The use of complementary and alternative medicine by asthma patients. *Q J Med* 2003;96:747-54.
94. Bielory L. Complementary medicine for the allergist. *Allergy Asthma Proc* 2001;22:33-7.
95. Ziment I. How your patients may be using herbalism to treat their asthma. *J Respir Dis* 1998;19:1070-81.
96. Ziment I. Unconventional therapy in asthma. *Clin Rev Allergy Immunol* 1996;14:289-320.
97. Egashira Y, Hagano H. A multicenter clinical trial of TJ-96 in patients with steroid-dependent bronchial asthma. A comparison of groups allocated by the envelope method. *Ann N Y Acad Sci* 1993;685:580-3.
98. Shivpuri DN, Singhal SC, Parkash D. Treatment of asthma with an alcoholic extract of *Tylophora indica*: a crossover, double blind study. *Ann Allergy* 1972;30:407-12.
99. Gupta S, George P, Gupta V, Tandon VR, et al. *Tylophora indica* in bronchial asthma-double blind study. *Indian J Med Res* 1979;69:981-9.
100. Bauer K. Pharmacodynamic effects of inhaled dry powder formulations of fenoterol and colforsin in asthma. *Clin Pharmacol Ther* 1993;53:76-83.
101. Taskin DP, Shapiro BJ, Lee EY. Effects of smoked marijuana in experimentally induced asthma. *Am Rev Respir Dis* 1975;112:377-86.
102. Gupta I, Gupta V, Parihar A, Gupta S, et al. Effects of *Boswellia serrata* gum resin in patients with bronchial asthma: results of a double-blind, placebo-controlled, 6-week clinical study. *Eur J Med Res* 1998;3:511-4.
103. Bielory L. Complementary and alternative interventions in asthma, allergy, and immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93:45-54.

104. Evans WC. Licorice root. In: Trease and Evans' Pharmacognosy, 14th ed. London-Philadelphia: WB Saunders, 1996: pp 305-8.
105. Asl MN, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. *Phytother Res* 2008;22:709-24.
106. Monder C, Stewart PM, Lakshmi V, Valentino R, et al. Licorice inhibits corticosteroid 11 beta-dehydrogenase of rat kidney and liver: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 1989;125:1046-53.
107. Shim SB, Kim NJ, Kim DH. Beta-glucuronidase inhibitory activity and hepatoprotective effect of 18 beta-glycyrrhetic acid from the rhizomes of *Glycyrrhiza uralensis*. *Planta Med* 2000;66:40-3.
108. Pompei R, Pani A, Flore O, Marcialis MA, et al. Antiviral activity of glycyrrhizic acid. *Experientia* 1980;36:304.
109. Mitscher LA, Park YH, Clark D, Beal JL. Antimicrobial agents from higher plants. Antimicrobial isoflavanoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. *typica*. *J Nat Prod* 1980;43:259-69.
110. Dehpour AR, Zolfaghari ME, Samadian T, Vahedi Y. The protective effect of licorice components and their derivatives against gastric ulcer induced by aspirin in rats. *J Pharm Pharmacol*. 1994;46:148-9.
111. Chan H-T, Chan C, Ho JW. Inhibition of glycyrrhizic acid on aflatoxin B1-induced cytotoxicity in hepatoma cells. *Toxicology* 2003; 188: 211–217
112. Hikino H. Recent research on oriental medicinal plants. In: Wagner H, Hikino H, Farnsworth NR, editors. *Economic and medicinal plant research*, volume 1. London: Academic Press, 1985:53-85
113. Capasso F, Mascolo N, Autore G, Duraccio MR. Glycyrrhetic acid, leucocytes and prostaglandins. *J Pharm Pharmacol* 1983;35:332-335.
114. Amagaya S, Sugishita E, Ogihara Y, Ogawa S, et al. Comparative studies of the stereoisomers of glycyrrhetic acid on anti-inflammatory activities. *J Pharmacobiodyn* 1984;79:923-928.
115. Gumprich E, Dahl R, Devereaux MW, Sokol RJ. Licorice compounds glycyrrhizin and 18 β -glycyrrhetic acid are potent modulators of bile acid-induced cytotoxicity in rat hepatocytes. *J Biol Chem* 2005;280:10556–10563
116. Teelucksingh S, Mackie AD, Burt D, McIntyre MA, et al. Potentiation of hydrocortisone activity in skin by glycyrrhetic acid. *Lancet* 1990;335:1060-1063

117. Schleimer RP. Potential regulation of inflammation in the lung by local metabolism of hydrocortisone. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;4:166-173.
118. Walker BR, Edwards CR. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and enzyme-mediated receptor protection: life after liquorice? *Clin Endocrinol* 1991;35:281-289.
119. MacKenzie MA, Hoefnagels WH, Kloppenborg PW. Glycyrrhetic acid and potentiation of hydrocortisone activity in skin. *Lancet* 1990;335:1534.
120. Kroes BH, Beukelman CJ, Van Den Berg AJ, Wolbink GJ, et al. Inhibition of human complement by beta-glycyrrhetic acid. *Immunology* 1997;90:115-120.
121. Kase Y, Saitoh K, Ishige A, Komatsu Y. Mechanisms by which Hange-Shashin to reduce prostaglandin E2 levels. *Biol Pharm Bull* 1998;21:1277-1281.
122. Kobayashi S, Miyamoto T, Kimura I, Kimura M. Inhibitory effect of isoliquiritin, a compound in licorice root, on angiogenesis in vivo and tube formation in vitro. *Biol Pharm Bull* 1995;18:1382-6.
123. Akamatsu H, Komura J, Asada Y, Niwa Y. Mechanism of anti-inflammatory action of glycyrrhizin: effect on neutrophil functions including reactive oxygen species generation. *Planta Med* 1991;57:119-21.
124. Ram A, Mabalirajan U, Das M, Bhattacharya I, et al. Glycyrrhizin alleviates experimental allergic asthma in mice. *Int Immunopharmacol* 2006 ;6:1468-77.
125. 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.
126. 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.
127. Uzuner N, Kavukcu 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.
128. Kumar RK, Herbert C, Thomas PS, Wollin L, et al. Inhibition of inflammation and remodeling by roflumilast and dexamethasone in murine chronic asthma. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;307:349-55.
129. 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.

130. 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.
131. Hansel TT, Barnes PJ. Novel drugs for treating asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001; 1:164-73.
132. Walsh GM. Targeting airway inflammation: novel therapies for the treatment of asthma. *Curr Med Chem* 2006;13:3105-11.
133. Kumar RK. Understanding airway wall remodeling in asthma: a basis for improvements in therapy? *Pharmacol Ther* 2001;91:93-104.
134. Frieri M. Advances in the understanding of allergic asthma. *Allergy Asthma Proc* 2007; 28:614-9.
135. 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.
136. Boulet LP. Perception of the role and potential side effects of inhaled corticosteroids among asthmatic patient. *Chest* 1998; 113:578-92.
137. Chan PW, DeBruyne JA. Parental concern towards the use of inhaled therapy in children with chronic asthma. *Pediatr Int* 2000; 42:547-51.
138. Bender B, Bartlett S, Rand C, Turner C, et al. Objective measurement of adherence with asthma medications. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:S265.
139. Ernst E. Complementary therapies for asthma: what patients use? *J Asthma* 1998; 35:667-71.
140. Huntley A, Ernst E. Herbal medicines for asthma: a systematic review. *Thorax* 2000; 55:925-9.
141. Blanc PD, Trupin L, Earnest G, Katz PP, et al. Alternative therapies among adults with a reported diagnosis of asthma or rhinosinusitis: Data from a population-based survey. *Chest* 2001;120:1461-7.
142. Frieri M. Herbs therapies: What allergist immunologists should know regarding patient use of complementary and alternative medicine. *Allergy and Asthma Proc* 2001;22:209-215.
143. Litvinenkoand VI, Obolentseva GV. Chemical and pharmaceutical research on flavanoids of glycyrrhiza *Glabra* L. and *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Med Prom SSSR* 1964;18:20-3.

144. Matsui S, Matsumoto H, Sonoda Y, Ando K, et al. Glycyrrhizin and related compounds down-regulate production of inflammatory chemokines IL-8 and eotaxin 1 in a human lung fibroblast cell line. *Int Immunopharmacol* 2004;4:1633-44.
145. Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr. Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. *Science* 1994;264:95-8.
146. Sato H, Goto W, Yamamura J, Kurokawa M, et al. Therapeutic basis of glycyrrhizin on chronic hepatitis B. *Antiviral Res* 1996;30:171-7.
147. Tamaya T, Sato S, Okada HH. Possible mechanism of steroid action of the plant herb extracts glycyrrhizin, glycyrrhetic acid, and paeoniflorin: inhibition by plant herb extracts of steroid protein binding in the rabbit. *Am J Obstet Gynecol* 1986;155:1134-9.
148. Krahenbuhl S, Hasler F, Frey BM, Frey FJ, et al. Kinetics and dynamics of orally administered 18 beta-glycyrrhetic acid in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:581-5.
149. Song LJ, Wang ZX, Chi BR, Yang GZ. Regulatory effect of diammonium glycyrrhizinate on Th1/Th2 deviation in bronchial asthma: experiment with rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2007;87:2865-7 (Abstract).
150. Kim MK, Brandley BK, Anderson MB, Bochner BS. Antagonism of selectin-dependent adhesion of human eosinophils and neutrophils by glycomimetics and oligosaccharide compounds. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;19:836-41.
151. Matsui S, Sonoda Y, Sekiya T, Aizu-Yokota E, et al. Glycyrrhizin derivative inhibits eotaxin 1 production via STAT6 in human lung fibroblasts. *Int Immunopharmacol* 2006;6:369-75.
152. Takei H, Baba Y, Hisatsune A, Katsuki H, et al. Glycyrrhizin inhibits interleukin-8 production and nuclear factor-kappa B activity in lung epithelial cells, but not through glucocorticoid receptors. *J Pharmacol Sci* 2008;106:460-8.
153. Menegazzi M, Di Paola R, Mazzon E, Genovese T, et al. Glycyrrhizin attenuates the development of carrageenan-induced lung injury in mice. *Pharmacol Res* 2008;58:22-31.
154. Blyth DI, Wharton TF, Pedrick MS, Savage TJ, et al. Airway subepithelial fibrosis in a murine model of atopic asthma: suppression by dexamethasone or anti-interleukin-5 antibody. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23:241-246.

155. Blyth DI, Pedrick MS, Savage TJ, Bright H, Beesley JE, Sanjar S .Induction, duration and resolution of airway goblet cell hyperplasia in a murine model of atopic asthma: effect of concurrent infection with respiratory syncytial virus and response to dexamethasone. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;19:38-54