
Astım fare modelinde deksametazonun antiinflamatuvar etkisinin araştırılması

Gamze KIRKIL¹, M. Hamdi MUZ¹, Figen DEVECİ¹, Hakan BULUT², Yesari ERÖKSÜZ³, Necip İLHAN⁴, Teyfik TURGUT¹

¹ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,

² Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı,

³ Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,

⁴ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ.

ÖZET

Deneyisel astım modeli oluşturduğumuz bu çalışmada steroid tedavisinin inflamasyona katılan mediatörler ve hava yolunda oluşan patolojik değişiklikler üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmaya alınan BALB/c fareler 3 gruba ayrıldı. Grup 1'deki (kontrol grubu) farelere phosphate-buffered saline (PBS) uygulandı. Grup 2 ve 3'teki farelere ovalbumin (OVA) verilerek deneysel astım oluşturuldu. Grup 3'teki farelere deksametazon (DEX) enjekte edildi. Son DEX uygulamasından bir gün sonra tüm fareler servikal dislokasyonla öldürüldü. Bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısı ve akciğer doku örnekleri alındı. Örneklerin IL-4 ve IL-5 seviyeleri ölçüldü ve BAL sıvısında inflamatuvar hücre sayımı yapıldı. Grup 2'deki farelerin BAL sıvısında belirgin eozinofili saptandı. Eozinofil sayısı grup 3'te grup 2'ye nazaran istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0.001$). Grup 2'de, bronş ve bronşiyollerin duvarları etrafında yangısal hücre infiltrasyonu, ödem ve hiperemi tespit edildi. Grup 3'teki farelerin akciğerleri normal histolojik görünümde idi. Akciğer dokusunda her iki sitokin düzeyi grup 2'de grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek idi (IL-4 için $p < 0.003$ ve IL-5 için $p < 0.002$). Grup 3'te her iki sitokin düzeyi grup 2'den anlamlı olarak düşük saptandı (IL-4 için $p < 0.001$ ve IL-5 için, $p < 0.026$). BAL sıvısında da her iki sitokin düzeyi grup 2'de grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken (IL-4 için $p < 0.004$, IL-5 için $p < 0.001$), grup 3'te her iki sitokin düzeyinin grup 2'den düşük olduğu gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p > 0.05$). Sonuç olarak, glukokortikoidlerin antiinflamatuvar etkilerini IL-4, IL-5 ve eozinofil oluşumunu inhibe ederek gösterdikleri düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Astım, fare modeli, interlökin-4, interlökin-5.

SUMMARY

Investigating the antiinflammatory effect of dexamethasone in an asthma mice model

Kirkil G, Muz MH, Deveci F, Bulut H, Eroksuz Y, Ilhan N, Turgut T

Department of Chest Disease, Faculty of Medicine, Fırat University, Elazığ, Turkey.

We performed an asthma mice model in this study and aimed to investigate the levels of mediators in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), and lung tissue, and the pathological changes response to the steroid treatment. BALB/c mice divid-

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Gamze KIRKIL, Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, ELAZIĞ - TÜRKİYE

e-mail: kirkilg@hotmail.com

ed into three groups. PBS was applied to group 1 (control group). Asthma model was performed by exposing to ovalbumin in group 2 and 3. DEX was injected to group 3. After the last DEX dose all of the mice were killed by cervical dislocation. The samples of BALF and lung tissue were obtained. IL-4 and IL-5 levels of all samples were measured and inflammatory cells were counted in BALF. Evident eosinophilia was determined in BALF of group 2. Eosinophil numbers were lower in group 3 when compared with group 2 and this was statistically significant ($p < 0.001$). Inflammatory cell infiltration, eodema and hyperemia observed around the walls of bronchus and bronchiols in group 2. The lungs of group 3 had normal histological appearance. Both two cytokin levels of lung tissue were higher in group 2 than group 1, and this was statistically significant (for IL-4 $p < 0.003$, and for IL-5 $p < 0.002$). In group 3, both two cytokin levels were statistically lower than group 2 (for IL-4 $p < 0.001$, and for IL-5 $p < 0.026$). In BALF samples both two cytokin levels were higher in group 2 than group 1, and this was statistically significant (for IL-4 $p < 0.004$, and for IL-5 $p < 0.001$). In group 3, both two cytokin levels were lower than group 2, but it was not statistically significant ($p > 0.05$). In conclusion, it is thought that anti-inflammatory effect of glucocorticoids occur by inhibiting the formation of IL-4, IL-5 and eosinophils.

Key Words: Asthma, mice model, interleukin-4, interleukin-5.

Astm; bronş hiperreaktivitesi ile karakterize, bronş sisteminin kronik inflamasyonu sonucu çeşitli spesifik ve nonspesifik etkenlere bağlı gelişen, spontan veya tedavi ile düzelebilen bronkospazmlarla seyreden, en sık rastlanılan birkaç kronik hastalıktan birisidir (1). Astımda inflamasyona neden olan hücrelerin mast hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler, eozinofiller ve T-hücreleri olduğu bilinmektedir (2). Astımda gözlenen epitel hücre hasarının majör nedenleri; akciğer dokusuna eozinofil infiltrasyonu ve daha sonra eozinofil degranülasyonu ile salınan toksik granül proteinleridir (3). Eozinofil infiltrasyonu ve eş zamanlı olarak ödem gelişimi hava yolu obstrüksiyonuna neden olarak atakların ortaya çıkması ile sonuçlanabilir. Bu nedenle eozinofillerin matürasyonu, akciğer dokusuna migrasyonu veya fonksiyonlarının inhibe edilmesinin astım tedavisinde faydalı olacağı düşünülebilir.

Eozinofil matürasyonu ve migrasyonunda özellikle interlökin-5 (IL-5)'in önemli rol oynadığı bilinmektedir (4). Bu nedenle IL-5'in inhibisyonu ile eozinofil aktivasyonu azaltılarak astmatik süreç hafifletilebilir. T helper (Th) 2 sitokinlerinden bir diğeri olan interlökin-4 (IL-4)'ün de hava yolu eozinofilisini düzenlediği bildirilmiştir ve sensitizasyon sırasında anti-IL-4 ile tedavi edilen farelerde eozinofili ve Th2 lenfositlerden sentezlenen sitokinlerin azaldığı gösterilmiştir (5). IL-4'ün diğeri bir fonksiyonu da normal koşullarda IgG ve IgM üreten B hücrelerinin IgE sentezine dönüşmesini sağlamaktır (6). Ayrıca IL-4'e maruz kalan eozinofillerde nükleus lobülasyonu artmakta ve nükleolus belirgin bir hal

almaktadır. Bu da IL-4'ün eozinofillere trofik etki gösterebileceğini düşündürmektedir (7).

Astm patogenezi araştırmak üzere birçok hayvan modelleri geliştirilmiştir (8-10). Özellikle fare modelinin astım immünoloji ve patogenezi ile ilgili çalışmalar için ideal olduğu ve tam olarak insan hastalığını yansıtmaya da hava yolu aşırı duyarlılığı ve allerjik pulmoner inflamasyonun immünobiyolojisi hakkında bilinenlerin insanlar için de uygulanabileceği belirtilmiştir (11).

Astımda hava yolu inflamatuvar hücrelerinin apoptozisinde nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların önemi bilinmektedir. Deneysel astım fare modeliyle ilgili yapılan çalışmalarda steroid tedavisini takiben hava yolunda eozinofillerin, lenfositlerin özellikle de CD4 seviyelerinin ve nitrik oksit (NO) üretiminin azaldığı gösterilmiştir (12,13). Astımda bronkodilatör tedavisine antiinflamatuvar ilaçların eklenmesi tıbbın son yıllardaki en büyük başarısıdır. Kullanılmakta olan tedavi yöntemleri başarılı olmasına rağmen, halen bazı hastalarda yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle daha etkin ilaçların araştırılma çabaları sürmektedir.

Çalışmamızda deneysel astım modeli oluşturarak steroid tedavisinin inflamasyona katılan mediyatörler ve hava yolunda oluşan patolojik değişiklikler üzerine etkisini değerlendirmeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Fareler

Çalışmada sağlıklı, sekiz haftalık, 32 adet dişi BALB/c fare kullanıldı. Fareler Fırat Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Viroloji Laboratuvarı'ndan temin edildi. Standart fare kafeslerinde, $22 \pm 1^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında tutularak optimal şartlarda su ve yiyecekleri adlibutun olarak verildi.

İmmünizasyon ve Tedavi Protokolleri

İmmünizasyon uygulamaları Henderson ve arkadaşlarının çalışmasında tarif edilen protokolden bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirildi (14).

Fareler 3 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki farelere (kontrol grubu, $n= 5$) 0 ve 14. günlerde 100 μl "phosphate-buffered saline (PBS)" intraperitoneal yolla uygulandı. 14, 25, 26 ve 27. günlerde farelerin 0.2 mL ketaminin (0.44 mg/mL) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezisi sağlandı ve 100 μl PBS intranasal yolla uygulandı. İkinci gruptaki farelere (astım grubu, $n= 13$) 0 ve 14. günlerde 100 μl PBS ile emülsifiye edilen 200 μg ovalbumin (OVA) (Sigma Co., St. Louis, MO, USA) intraperitoneal yolla verildi. 14, 25, 26 ve 27. günlerde 100 μl PBS içerisinde 100 μg OVA intranasal uygulandı. Her intranasal uygulamadan bir saat önce tüm farelere 100 μl PBS intraperitoneal yolla uygulandı. Üçüncü gruptaki farelere (tedavi grubu, $n= 14$) 0 ve 14. günlerde 100 μl PBS ile emülsifiye edilen 200 μg OVA intraperitoneal yolla verildi. 14, 25, 26 ve 27. günlerde 100 μl PBS içerisinde 100 μg OVA intranasal uygulandı. Her intranasal uygulamadan bir saat önce tüm farelere 1 mg/kg deksametazon (DEX) intraperitoneal yolla enjekte edildi (15). Son DEX uygulamasından bir gün sonra tüm fareler servikal dislokasyonla öldürüldü.

Bronkoalveoler Lavaj (BAL) Uygulaması

BAL 1 mL PBS'nin trakeal kanül ile akciğerlerin içine uygulanması ile gerçekleştirildi. Geri çekilen sıvı buz üstünde test tüpüne alındı. Bu işlem 4 kez tekrarlandı. Alınan sıvı 1500 devirde 3 dakika süre ile Cytospin 3 cihazı (Shandon Inc. 171 Industry Drive, Pittsburgh, Pennsylvania, USA) kullanılarak sitosantrifüj edildi ve preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlardan havada kurutularak tespit edilenler May-Grunwald-Giemsa ile alkolde tespit edilenler Papanicolau boyası ile boyandı. Işık mikroskopunda değişik büyütmeler kullanılarak en az 200 hücre sayıldı ve hücrelerin yüzde oranları hesaplandı (16).

Akciğer Dokusunun Histolojik İncelemesi

Akciğerler %10'luk tamponlu nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin işlemlerden sonra dokulardan hazırlanan parafin bloklar 5 μm kalınlığında kesildi ve hematoksilin eozin ve LUNA metodları ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (17).

Akciğer Dokusunda ve BAL Sıvısında IL-4 ve IL-5 Ölçümü

Hazırlanan akciğer doku homojenatları (1 g doku, 19 mL PBS; pH: 7.4) 4000 rpm'de 10 dakika $+4^\circ\text{C}$ 'de santrifüj edilerek üstteki süpernatant ayrıldı. Daha önce tanımlanan yöntemle alınan BAL örnekleri 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve ölçümler için üstteki süpernatantlar kullanıldı. Elde edilen akciğer dokusu ve BAL süpernatantları mouse IL-4 (mIL-4) ve mouse IL-5 (mIL-5) kitleri (Bender MedSystems, MedSystems Diagnostics GmbH, Vienna, Austria) kullanılarak ELISA yöntemiyle üretici firma önerisine göre çalışıldı.

İstatistiksel Analiz

SPSS 10/0 paket programı ile istatistiksel analiz yapıldı. Değerler ortalama \pm standart deviasyon şeklinde ifade edildi. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar nonparametrik Kruskal-Wallis analizi kullanılarak yapıldı. Anlamlı çıkan sonuçlar için 2 grup arasında Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BÜLGÜLAR

Sensitizasyonun BAL Sıvısındaki İnflamatuvar Hücreler Üzerine Etkisi

Grup 2'deki farelerin BAL sıvısında grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede eozinofili ve lenfositoz tespit edildi ($p < 0.001$). Grup 3'te, grup 2 ile karşılaştırıldığında eozinofil ve lenfosit oranının istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$). Grup 2'nin makrofaj oranlarının, grup 1 ve 3 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.014$). Her üç grubun BAL sıvısındaki hücre yüzdeleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Her üç grubun BAL sıvısındaki hücre yüzdeleri.

	Eozinofil (%)	Makrofaj (%)	Lenfosit (%)
Grup 1	0	89.52 ± 7.50	0.54 ± 0.35
Grup 2	62.96 ± 2.96	14.87 ± 2.91	5.67 ± 0.76
Grup 3	13.56 ± 2.63	25.47 ± 28.22	0.51 ± 0.20

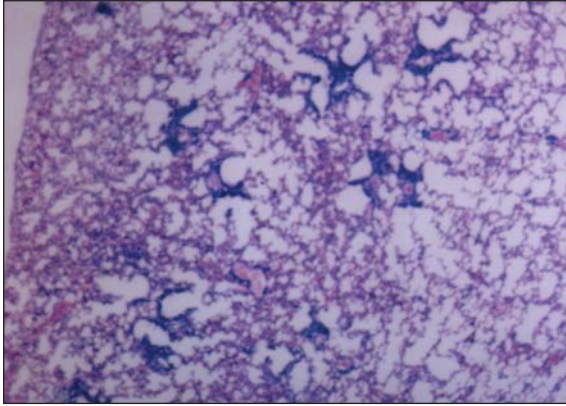
Histolojik Bulgular

Grup 2'de interstisyel dokunun değişen derecelerde kalınlaştığı, bronş ve bronşiyollerin duvarları etrafında inflamatuvar hücre infiltrasyonunun şekillendiği dikkati çekti (Resim 1). İnfiltrate hücreler eozinofil, nötrofil ve mononükleer hücrelerden oluşmaktaydı (Resim 2). Yangısal infiltrasyonun yanı sıra bazı bronş ve bronşiyol duvarlarında ödem ve hiperemi de saptandı. Bronş duvarındaki düz kas lifçiklerinin de ödemli ve hi-

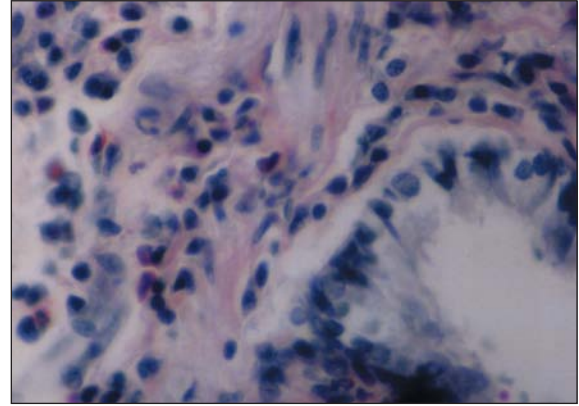
peretrofik olduğu dikkati çekti (Resim 3). Grup 3'teki farelerin akciğerlerinin normal histolojik görünümde olduğu, bronş etrafındaki lenfoid doku dışında yangısal bir infiltrasyonun bulunmadığı saptandı (Resim 4).

Akciğer Dokusunda ve BAL Sıvısında IL-4 ve IL-5 Konsantrasyonları

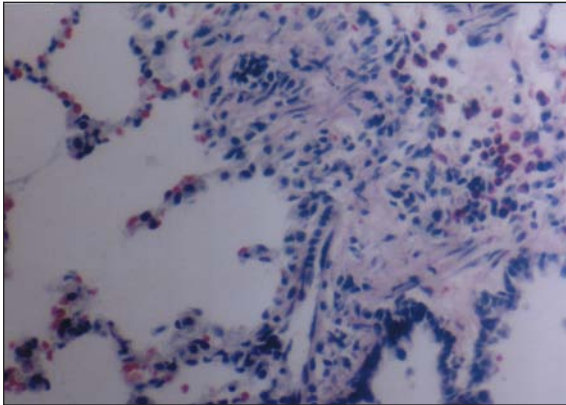
Akciğer dokusunda, her iki sitokin düzeyi grup 2'de grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken (IL-4 için $p < 0.003$, IL-5 için $p < 0.002$), grup 3'te her iki sitokin düzeyinin grup 2 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi (IL-4 için $p < 0.001$, IL-5 için $p < 0.026$). BAL sıvısında da her iki sitokin düzeyi grup 2'de grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek iken (IL-4 için $p < 0.004$, IL-5 için $p < 0.001$), grup 3'te her iki sitokin düzeyinin grup 2'den düşük olduğu gözlemlendi, ancak istatistiksel olarak anlamlı



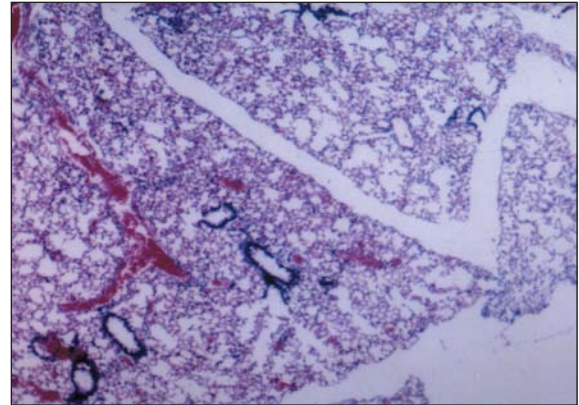
Resim 1. Grup 2'nin bronş ve bronşiyol duvarları etrafında inflamatuvar hücre infiltrasyonu.



Resim 3. Grup 2'nin bronş duvarındaki düz kas lifçiklerinde ödem ve hipertrofi.



Resim 2. Grup 2'nin akciğer dokusunda eozinofil infiltrasyonu.



Resim 4. Grup 3'teki farelerin normal görünümü akciğer dokusu.

Tablo 2. Akciğer dokusunda IL-4 ve IL-5 seviyeleri.

	IL-4 (pg/mL)	IL-5 (pg/mL)
Grup 1	77.81 ± 4.06	207.27 ± 20.13
Grup 2	106.80 ± 17.10	296.58 ± 37.10
Grup 3	75.40 ± 16.01	238.69 ± 61.46

Tablo 3. BAL sıvısında IL-4 ve IL-5 konsantrasyonları.

	IL-4 (pg/mL)	IL-5 (pg/mL)
Grup 1	22.72 ± 3.52	6.22 ± 0.87
Grup 2	44.53 ± 22.54	25.78 ± 25.99
Grup 3	31.56 ± 9.63	17.74 ± 6.34

fark tespit edilemedi ($p > 0.05$). Tablo 2 ve 3'te akciğer dokusu ve BAL sıvısının sitokin seviyeleri gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Akut astım modeli oluşturduğumuz bu çalışmada son intranazal OVA uygulamasından 24 saat sonra elde edilen BAL sıvısında ve akciğer dokusunda eozinofil sayısının, IL-4 ve IL-5 seviyelerinin arttığını gördük. Henderson ve arkadaşlarının çalışmasında da intranazal OVA uygulamasının son dozundan 24 saat sonra hem akciğer dokusunda hem de BAL sıvısında baskın hücrelerin eozinofiller olduğu belirtilmiştir (14). Bu bulgu bronşiyal astımlı hastalardan elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur (18). Eozinofil infiltrasyonunun T-hücreleri ile aktive edilen Th2 hücrelerinden salınan sitokinlerin üretimine bağlı olduğu düşünülmektedir. Astımlı hastaların akciğerlerinde eozinofil birikiminde IL-4 ve IL-5'in önemli rol oynadığı belirtilmiştir (19). Hogan ve arkadaşları IL-5 ve eozinofillerin, inflamasyonun geç fazında etkili olduklarını ve bronşiyal dokudaki patolojik değişiklikler (bronkospazm, mukozal ödem, düz kas hücre hipertrofisi gibi) için gerekli olduklarını belirtmişlerdir (20). To ve arkadaşlarının çalışmasında ise BAL sıvısında eozinofil sayısının ve IL-5 seviyesinin OVA sensitizasyonunu takiben dereceli olarak arttığı ve histolojik bulguların yoğunluğu ile paralel sey-

rettiği vurgulanmıştır, IL-4'ün ise sistemik sensitizasyon sonrası pik yaptığı ve aerosol inhalasyonunu takiben dereceli olarak azaldığı belirtilmiştir (21). Oysa diğer çalışmalarda IL-4'ün IL-5 değişimi ile paralel gittiği ve sensitizasyonu takiben genellikle dereceli olarak arttığı bildirilmiştir (22). Bizim çalışmamızda da sensitizasyonu takiben IL-4 ve IL-5 seviyelerinin BAL sıvısında ve akciğer dokusunda birbirine paralel olarak arttığını tespit ettik. To ve arkadaşlarının farklı sonuç elde etmelerinin nedeni çalışmalarında düşük doz OVA (2 µg OVA) kullanmalarına bağlı olabilir. Bu doz farklılığı IL-4 salınımını etkilemiş olabilir.

Astım patogenezinin inflamasyon üzerine kurulu olması tedavide antiinflamatuvarları vazgeçilmez kılmıştır. Antiinflamatuvar ilaçlar içinde etkili olanlar glukokortikoidlerdir (23). Astımda kullanılan glukokortikoidlerin hava yolu inflamasyonunu baskıladığı, bronş hiperreaktivitesini azalttığı, semptomlarda ve solunum fonksiyonlarında iyileşmelere neden olduğu bilinmektedir (24). İnflamatuvar cevap üzerine olan etkileri; lenfositler tarafından üretilen sitokinlerin azaltılması ve vasküler endotelial hücrelerden ve hava yolu hücrelerinden interelüler adezyon moleküllerinin salınımının azaltılmasıdır (25,26).

Allerjen uygulamasından önce verilen DEX'in akciğere inflamatuvar hücre infiltrasyonunu anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir (27). Diğer bir çalışmada antijen uygulamasından 14 ve 2 saat önce 300 µg/kg DEX'in intraperitoneal uygulandığı Brown Norway ratlarda antijene erken cevabı anlamlı şekilde inhibe ettiği ve biliyer sistenil lökotrien artışının eşlik ettiği geç cevabı tam olarak ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (28). Diğer bir çalışmada ise intranazal OVA uygulamasından sekiz saat sonra aerosol yolla uygulanan budesonidin BAL sıvısında makrofajları anlamlı şekilde azalttığı, ancak lenfosit, eozinofil ve nötrofiller üzerine etkisinin az olduğu gözlemlenmiştir (29). Biz de çalışmamızda steroidlerin, son intranazal OVA uygulamasından 24 saat sonra elde ettiğimiz BAL sıvısı ve akciğer dokusunda eozinofil sayısını anlamlı ölçüde azalttığını tespit ettik. Bu da duyarlılaştırılmış hayvana antijen inhalasyonu ile 6. ve 24. saatte zirve düzeylerine ulaşan bifazik eozinofil lökosit infiltrasyonunun tanımlandığı çalışmalar ile uyumludur (30,31).

DEX'in, antijenin indüklediği T-hücre proliferasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği ve insan T-hücrelerinden IFN- γ , IL-2 ve IL-4 üretimini engellediği belirtilmiştir (32). Astımlı hastalarda beklometazon inhalasyonunun klinik semptomları ve akciğer fonksiyonlarını düzelttiği, periferik kan mononükleer hücrelerinden IL-5 üretimini belirgin şekilde azalttığı gözlenmiştir (33). Eum ve arkadaşları, antijen uygulamasından bir saat önce uyguladıkları DEX'in serum ve BAL sıvısındaki IL-5 üretimini ve akciğer inflamasyonunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir (15). Ayrıca DEX uygulamasından sonra bronş duvarında eozinofil ve lenfosit infiltrasyonunun azaldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda akciğer dokusu ve BAL sıvısında IL-4 ve IL-5 seviyelerinin steroid tedavisi ile azaldığını tespit ettik. Corrigan ve arkadaşlarının çalışmasında akut atak sırasında verilen steroidin serum IL-5 düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir (34). Diğer bir çalışmada, prednizolon ile plasebo karşılaştırılmış ve steroid alan hastalarda bronş duyarlılığındaki düzelme, BAL eozinofil sayısındaki azalma ile korelasyon göstermiştir. Bu da BAL sıvısında IL-4 ve IL-5 düzeylerindeki düşüşler ile ilişkili bulunmuştur (35).

Sonuç olarak, hava yolu inflamasyonunun gelişmesinde IL-4, IL-5 ve eozinofillerin önemli rol oynadıkları ve glukokortikoidlerin antiinflamatuvar etkilerini IL-4, IL-5 ve eozinofil oluşumunu inhibe ederek gösterdikleri düşünülmektedir. Astımlı hastalarda hava yollarında IL-4, IL-5 ve eozinofil düzeylerinin azaltılması hastalığın kontrolüne yardımcı olabilir. Bu nedenle yeni tedavi stratejilerinin bu konu üzerine yoğunlaştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. WHO/NHLBI Workshop Report. Global strategy for asthma management and prevention. National Institutes of Health, National Health, Lung, and Blood Institute, Bethesda, MD. 1995; Publication No. 95-3659.
2. Arm JP, Lee TH. The pathobiology of bronchial asthma. *Adv Immunol* 1992; 51: 323-82.
3. Gleich GJ, Adolphson CR. The eosinophilic leukocyte: structure and function. *Adv Immunol* 1986; 39: 177-253.
4. Robinson DS, Durham SR, Kay AB. Cytokines in asthma. *Thorax* 1993; 48: 845-53.
5. Hogan SP, Mould A, Kikutani H, et al. Aeroallergen-induced eosinophilic inflammation, lung damage, and airways hyperreactivity in mice can occur independently of IL-4 and allergen specific immunoglobulins. *J Clin Invest* 1997; 99: 1329-39.
6. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, de Vries JE. Role of interleukin-4 and interleukin-13 in synthesis of IgE and expression of CD23 by human B cells. *Allergy* 1994; 49: 576-86.
7. Yamaoka KA, Kolb JP. Involvement of CD23/Fc epsilon RII in the homotypic and heterotypic cytoadhesion of the human eosinophilic cell line Eo1-3. *Eur Cytokine Netw* 1995; 6: 145-55.
8. Van Oosterhout AJM, Ladenius ARC, Savelkoul HFJ, et al. Effect of anti-IL-5 and IL-5 on airway hyperreactivity and eosinophils in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 548-52.
9. Mauser PJ, Pitman AM, Fernandez X, et al. Effects of an antibody to interleukin-5 in a monkey model of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 467-72.
10. Nagai H, Yamaguchi S, Inagaki N, et al. Effect of anti-IL-5 monoclonal antibody on allergic bronchial eosinophilia and airway hyperresponsiveness in mice. *Life Sci* 1993; 53: 243-7.
11. Herz U, Lumpp U, Da Palma JC, et al. The relevance of murine animal models to study the development of allergic bronchial asthma. *Immunol Cell Biol* 1996; 74: 209-17.
12. Ouyang N, Ding J, Chen S. Effects of dexamethasone on apoptosis of airway inflammatory cells in asthmatic guinea-pigs. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 1998; 21: 672-4.
13. Yu B, He Q, Gao Z. The role of glucocorticosteroid and theophylline in asthmatic inflammation of murine model and the inhibition in NO production in lung. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 1998; 21: 664-7.
14. Henderson WR, Lewis DB, Albert RK, et al. The importance of leukotrienes in airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Exp Med* 1996; 184: 1483-94.
15. Eum SY, Creminon C, Haile S, et al. Inhibition of airways inflammation by dexamethasone is followed by reduced bronchial hyperreactivity in BP2 mice. *Clinical and Experimental Allergy* 1996; 26: 971-9.
16. Blyth DI, Wharton TF, Pedrick MS, 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: 241-6.
17. Peebles RS, Dworski JR, Collins RD, et al. Cyclooxygenase inhibition increases interleukin 5 and interleukin 13 production and airway hyperresponsiveness in allergic mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 676-81.
18. Azzawi M, Bradley B, Jeffrey PK, et al. Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 1407-13.

19. Walker C, Virchow JC, Bruijnzeel PL, Blaser K. T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. *J Immunol* 1991; 146: 1829-35.
20. Hogan SP, Koskinen A, Matthaei KI, et al. Interleukin-5 producing CD4+ T cells play a pivotal role in aeroallergen-induced eosinophilia, bronchial hyperreactivity, and lung damage in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 210-8.
21. To Y, Dohi M, Tanaka R, et al. Early interleukin 4-dependent response can induce airway hyperreactivity before development of airway inflammation in a mouse model of asthma. *Laboratory Investigation* 2001; 81: 1385-96.
22. Ohkawara Y, Lei X-F, Stampfli MR, et al. Cytokine and eosinophil responses in the lung, peripheral blood, and bone marrow compartments in a murine model of allergen-induced airways inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 510-20.
23. Barnes PJ. Anti-inflammatory therapy for asthma. *Annu Rev Med* 1993; 44: 229-42.
24. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KW, et al. Effect of an inhaled corticosteroid on airway inflammation and symptoms in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 669-74.
25. Culpepper JA, Lee F. Regulation of IL-3 expression by glucocorticoids in cloned murine T lymphocytes. *J Immunol* 1985; 135: 3191-7.
26. Cronstein BN, Kimmel SC, Levin RI, et al. A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 9991-5.
27. Kim J, McKinley L, Siddiqui J, et al. Prevention and reversal of pulmonary inflammation and airway hyperresponsiveness by dexamethasone treatment in a murine model of asthma induced by house dust. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287: 503-9.
28. Powell WS, Xu LJ, Martin JG. Effect of dexamethasone on leukotriene synthesis and airway responses to antigen and leukotriene D₄ in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1143-50.
29. Xu L, Olivenstein R, Martin JG, Powell WS. Inhaled budesonide inhibits OVA-induced airway narrowing, inflammation, and cys-LT synthesis in BN rats. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1852-8.
30. Fukuda T, Akutsu I, Amagai M, et al. Antigen-induced biphasic eosinophil infiltration in the airways of actively sensitized guinea pigs and its inhibition by PAF antagonist and cyclosporin. *A Allerugi* 1990; 39: 548-52.
31. Kung TT, Stelts DM, Zurcher JA, et al. Involvement of IL-5 in a murine model of allergic pulmonary inflammation: prophylactic and therapeutic effect of an anti-IL-5 antibody. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13: 360-5.
32. Arya SK, Wong-Staal F, Gallo RC. Dexamethasone-mediated inhibition of human T cell growth factor and γ -interferon messenger RNA. *J Immunol* 1984; 133: 273-6.
33. Okudaira H, Mori A, Suko M, et al. Enhanced production and gene expression of IL-5 in bronchial asthma-management of atopic diseases with agents that downregulate IL-5 gene transcription. *ACI News* 1994; 6: 19-25.
34. Corrigan CJ, Haczku A, Gemou-Engesaeth V, et al. CD4 T-lymphocyte activation in asthma is accompanied by increased serum concentrations of interleukin-5: effect of glucocorticoid therapy. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 540-7.
35. Robinson DS, Hamid Q, Sun Y, Bentley AM. A prednisolone treatment in asthma is associated with modulation of bronchoalveolar lavage all IL-4, IL-5 and IFN- γ cytokines gene expression. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 401-6.