

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA ASTİM HASTALIĞININ TEDAVİSİNE EKLENEN
EGZERSİZİN İYİLEŞME ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASINDA
MMP-9, ET-1, ÜRİNER LTE4 ATIM HIZI
VE
DİĞER BİYOKİMYASAL PAREMETRELERİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
DR. ÖZLEM TUNCER GÜNAY

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ECE AYDEMİR ONUR

MANİSA 2007

T.C.
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA ASTİM HASTALIĞININ TEDAVİSİNE EKLENEN
EGZERSİZİN İYİLEŞME ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASINDA
MMP-9, ET-1, ÜRİNER LTE4 ATIM HIZI
VE
DİĞER BİYOKİMYASAL PAREMETRELERİN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ
DR. ÖZLEM TUNCER GÜNAY

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. ECE AYDEMİR ONUR

MANİSA 2007

ÖNSÖZ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim sürecince verdikleri destek ve katkılarından, gösterdikleri sevgi ve anlayıştan dolayı değerli hocalarım Prof. Dr. Zeki ARI' ya, Doç Dr. Ahmet Var'a, Doç. Dr. Fatma Taneli'ye, Doç. Dr. Cevval Ulman'a, tez hocam ve danışmanım Doç. Dr. Ece Onur'a,

Asistanlığım boyunca deneyimlerini, arkadaşlığını ve dostluğunu paylaştığım Yrd. Doç. Dr. Yeşim Güvenç'e

Dört yıl boyunca çalışmalarımızı uyumlu bir şekilde yürüttüğümüz, iyi ve kötü zamanlarda birbirimize destek olduğumuz asistan arkadaşlarım Dr. Serdar Seven'e, Dr. Mustafa Altaş'a, Dr. Sibel Güllüçayır'a, Dr. Metin Demir'e, Dr. Nesrin Özlen'e, Dr. Derya Güleç'e, Dr. Gürol Şahin Ulutaş'a, Dr. Ferda Doğan Bozyiğit'e, Dr. Nurser Arifoğlu'na, Dr. Esat Kılıç'a, Dr. Mehmet Çalkan'a Biyolog Huri Aldırmaz'a ve teknisyen arkadaşlarıma,

Tezimin yazım aşamasında desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşım Dr. Özüm Tunçyüreğe,

Hayatım boyunca her konuda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen sevgili anneme ve babama, birlikteliğimiz sürecinde ve asistanlığım boyunca desteğini, anlayışını ve sevgisini esirgemeyen sevgili eşime ve yaşam sevincim oğluma

En içten teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Özlem Tuncer Günay

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
II. GENEL BİLGİLER	3-29
II.1. ASTIM	
II.1.1 Tanım	3
II.1.2 İnsidans ve Epidemiyoloji	3-4
II.1.3 Patogenez	3-21
II.1.3.1 Çocukluk Çağı Astım Patogenezinde Rol Oynayan Genetik Yapı	3
II.1.3.2 Astım Patogenezinde Rol Oynayan Çevre Faktörleri	3-4
II.1.3.2.1 Atopi ve Alerjenler	3
II.1.3.2.2 Astım ve Hijyen Hipotezi	3
II.1.3.2.3 Astım ve Enfeksiyonlar	4
II.1.3.2.4 Gıdalar ve Katkı Maddeleri	5
II.1.3.3 Astım Patogenezinde Rol Alan Hücreler	6-7
II.1.3.3.1 Epitel Hücreleri	6
II.1.3.3.2 Mast Hücreleri	6
II.1.3.3.3 Eozinofiller	6
II.1.3.3.4 Makrofajlar	6
II.1.3.3.5 Lenfositler	6-7
II.1.3.3.6 Endotel	6-7
II.1.3.4 Çocukluk Çağı Astımında Alerjik Duyarlılaşma ve İnflamasyon	8-10
II.1.3.5 Çocukluk Çağı Astımında Hava Yolu Hiperreaktivitesi	11
II.1.3.6 Astım ve Lipid Peroksidasyonu	11-12
II.1.3.7 Astım Patogenezinden Sorumlu Tutulan Mediyatörler ve Etkileri	12-21
II.1.3.7.1 Lipid Peroksidasyonu ve MDA (Malondialdehid)	12-14
II.1.3.7.2 Endotelin-1	14-15
II.1.3.7.3 Lökotrienler	15-17
II.1.3.7.4 Ekstrasellüler Matriks Ve Matriks Metalloproteinazları	17-21
II.1.4 Astım Spor İlişkisi	21-22
II.1.5 Çocukluk Çağı Astımı Klinik Belirti ve Bulguları	22
II.1.6 Çocukluk Çağı Astımında Solunum Fonksiyon Testlerinin Kullanımı	22-23
II.1.7 Astım Şiddetinin Derecelendirilmesi	23-24

II.1.8 Cilt Testleri ve Spesifik Ig E Antiloları	24-25
II.1.9 Çocukluk Çağı Astım Tedavisi	25-29
II.1.9.1 Kortikosteroidler	27
II.1.9.2 β_2 -agonistler	27
II.1.9.3 Lökotrien Reseptör Antagonistleri	28
II.1.9.4 Çocukluk Çağı Astım Tedavisinde Egzersizin Yeri	29
III. GEREÇ VE YÖNTEM	30-35
III.1. Araç ve Gereçler	30
III.2 Yöntem	30-35
III.2.1 Çalışma Gruplarının Oluşturulması	30
III.2.2 Çalışma Dizaynı	31
III.2.3. Egzersiz Programı	31-32
III.2.4 Solunum Fonksiyon Testleri	32
III.2.5 Kan ve İdrar Örneklerinin Alınması	32
III.2.6 Biyokimyasal Analizler	32
III.2.6.1 LTE4 Tayini	33
III.2.6.2 24 Saatlik İdrarda Kreatinin Tayini	33
III.2.6.3 MMP-9 Tayini	34
III.2.6.4 Endotelin Tayini	34
III.2.6.5 Ig E ve Spesifik Ig E	34
III.2.6.6 MDA Ölçüm Prensibi	34-35
III.3 İstatistiksel Analiz	35
IV. BULGULAR	36-49
V. TARTIŞMA	49-61
VI. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
VII. ÖZET	63-64
VIII. İNGİLİZCE ÖZET	65-66
IX. KAYNAKLAR	67-74

I. GİRİŞ VE AMAÇ

Astım, hava yollarına inflamatuvar hücre akımı sonucu gelişen, kronik inflamasyon ve reversibl hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Astımlıların hava yollarında eosinofil, mast hücresi, bazofil ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerde artış görülür. Bu hücrelerin sisteinil lökotrien (cys LT) prekürsörü olan büyük araşidonik asid havuzları oldukları ileri sürülmüştür. Ayrıca astmatiklerin eosinofillerinde cys LT'leri aktif hale getiren lökotrien C4 (LTC4) sentaz enziminin arttığı da gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda proteaz/antiproteaz dengesindeki bozulmanın da astım patogenezinde rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bu dengede önemli yere sahip matrix metalloproteinazları (MMP), astımda meydana gelen yeniden yapılanmanın vazgeçilmez öğeleridir. Bu enzimler normal şartlarda sadece hasarlanmış matriksi parçalayarak normal doku onarım dengesini sağlarken, patolojik süreçlerde artan üretimleri ve aktiviteleri uygun olmayan onarım mekanizmaları ile doku hasarı ve yeniden yapılmaya neden olmaktadır. Bronşiyal epitel hücrelerinin hava yolu fizyolojisinde tamamlayıcı rol oynadığı da bilinmektedir. Hava yolu hastalıklarının patofizyolojisinde epitelde yapılıp salınan endotelin (ET), sitokin, kemokin ve eikosonoidlerin de rol aldığı kabul edilmektedir. Ayrıca astım hastalığında meydana gelen lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin oluşturduğu doku hasarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehid (MDA) düzeyleri ölçülerek astımın derecesi hakkında bilgi edinilebilmektedir.

Astımlı çocukların tedavisinde konvansiyonel olarak kullanılan inhale antiinflamatuvar ve diğer gerekli olan antiastmatik tedavi yanında fizik aktivitenin büyük önem taşıdığı bilinmekte ve astımlılara uygun şiddette ve sürede egzersiz yapmaları önerilmektedir. Egzersiz, astım semptomlarını hafiflettiği gibi çocuğun psikososyal gelişimini ve yaşam kalitesini de yükseltmektedir. Fakat egzersizin bu etkilerini hangi mekanizmalarla meydana getirdiği tam olarak açığa kavuşmamıştır. Yapılan literatür

taramalarında egzersizin astım tedavisindeki etkilerini biyokimyasal açıdan inceleyen çalışmalara rastlanamamıştır.

Biz çalışmamızda çocukluk çağında astım patogenezinde sorumlu olan mediatörlerden üriner LTE4, plazma MDA, ET-1ve MMP-9 düzeylerini tayin ederek, standart ilaç tedavisine eklenen egzersizin yararlılığını ve mediatör düzeylerine olası etkisini göstermeyi amaçladık.

II. GENEL BİLGİLER

II.1. ASTIM

II.1.1. Tanım

Astım mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve epitel hücreleri gibi birçok hücrenin aracılığıyla havayollarında oluşan kronik inflamatuvar bir hastalıktır (1). Erken çocukluk çağında çevresel alerjenlere karşı duyarlılıkla başlayan inflamasyon, kronik ve eozinofilik niteliktedir. Hava yollarında aşırı duyarlılık (bronşiyal hiperreaktivite) ve bronkospazma eğilim mevcuttur (2).

II.1.2. İnsidans ve Epidemiyoloji

Hastalığın dünya üzerindeki dağılımı değişkenlik göstermektedir. Avustralya, Yeni Zellanda, bazı Pasifik adalarında sık (%10'dan fazla), bazı Güneydoğu Asya ülkeleri, Kuzey Amerika Kızılderilileri ve Eskimolar'da seyrek (%1'den az) görülmektedir (3). Hastalığın Avrupa ülkelerindeki prevalansı %5-10 arasında değişmektedir. Ülkemizde genellikle batı ülkelerinden daha az rastlanmaktadır. Çocukluk dönemi için son bir yıldaki astım prevalansı %5-8 arasında iken, aynı oran erişkinlerde %5'in altındadır. Erkek çocuklarda kızlara oranla daha sık (2:1), erişkinlerde ise kadın ve erkekte eşit olarak rastlanmaktadır (4, 5).

II.1.3. Patogenez

Astımda alerjik inflamasyon, immün hücre aktivitesi, mediatör salınımları, hava yolu hiperreaktivitesi ve genetik yatkınlık zemininde gelişir (6).

II.1.3.1. Çocukluk Çağı Astım Patogenezinde Rol Oynayan Genetik Yapı

Astımlı ailelerde yapılan genetik çalışmalar sonucunda atopi, solunum yolu aşırı duyarlılığı ve astımın ortak bir genetik kontrol altında olduğu anlaşılmıştır. Astım, atopi ve solunum yolu aşırı duyarlılığı ile ilişkili olduğu varsayılan gen grupları 2., 3., 4., 5., 6., 7., 9., 11., 12., 13., 14., 16., 17. ve

19. kromozomlar üzerindeki lokuslarda yerleşmiştir. Özellikle 5., 11. ve 12. kromozomlar üzerindeki lokuslar çok önemli rol oynamaktadır. 5. kromozom üzerindeki 5q23-q33 ve q31 alanları interleukin (IL) salınımından ve β_2 adrenerjik reseptör etkinliğinden sorumlu iken 11. kromozom ise atopiden, IgE seviyelerinden ve deri testlerinin pozitifliğinden sorumludur. Kromozom 12 üzerindeki lokuslar ise IL4 yapımından, mast hücre büyümesinden, astım-atopi ilişkisinden sorumlu tutulmaktadır (7).

II.1.3.2. Astım Patogenezinde Rol Oynayan Çevre Faktörleri

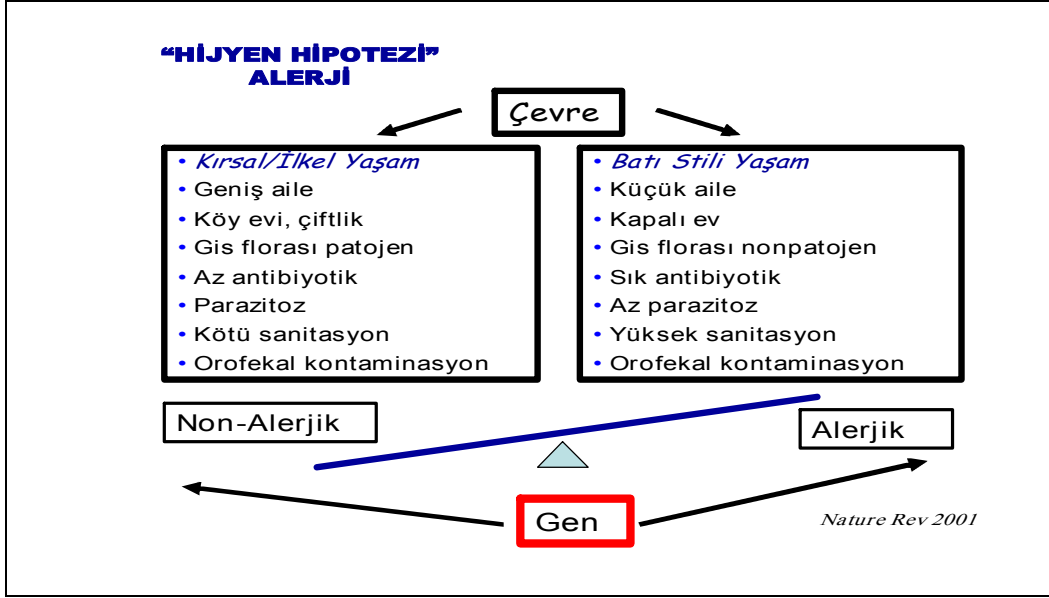
Çevredeki alerjenler, kimyasal duyarlaştırıcılar, sigara dumanı, hava kirliliği, solunum yolu infeksiyonları, kullanılan ilaçlar ve ailenin sosyoekonomik yapısı astım için risk faktörleri arasında yer almaktadır.

II.1.3.2.1. Atopi ve Alerjenler

Atopi, yaygın çevresel alerjenlere karşı aşırı miktarda IgE üretilmesidir. Astmatik olguların yaklaşık %35-70'inde alerjik duyarlılık tanımlanmıştır. Ev tozu akarları, polenler, küf mantarları, kedi, köpek, hamam böcekleri, kıl, tüy ve deri döküntüleri astıma yol açan en önemli alerjenlerdendir (8). Alerjenler mevsimsel farklılık gösterdiğinden ve büyük bir bölümü inhalasyon ile solunum sistemine ulaştığından, astım epidemiler şeklinde seyretmektedir.

II.1.3.2.2. Astım ve Hijyen Hipotezi

Astımın şehirde yaşayan çocuklarda kırsal kesimdekilere göre daha sık görülmesi hijyen hipotezi ile açıklanmaktadır. Batılı toplumlarda hijyenik şartlara önem verilmesi erken yaşta mikrobiyal temasın azalmasına ve alerjik hastalıkların görülme sıklığının artmasına yol açmıştır. Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar barsaklarda patojen olmayan mikroorganizmaların insan immün sisteminin olgunlaşmasında temel rol oynadığını ve atopiyi engellediğini göstermiştir (9). Viral enfeksiyonların regülatör T hücrelerinin gelişmesinde ve alerjen toleransının sağlanmasında rolü olduğuda ileri sürülmektedir (10).



Şekil 1: Alerji ile hijyen hipotezi arasındaki ilişki

II.1.3.2.3. Astım ve Enfeksiyonlar

Üst solunum yolu enfeksiyonları astımı tetikleyen etkenlerdendir. İki yaşın altındaki çocuklarda respiratuar sinsityal virüs enfeksiyonları etyolojide önemli rol oynamaktadır. Yaşın ilerlemesi ile rhinovirüsler, influenza, parainfluenza ve mikoplazmal enfeksiyonlar ön plana çıkmaktadır (11). Kişinin genetik zemini ile birlikte hayatın ilk yıllarında geçirdiği enfeksiyonlar ve alerjenle karşılaşma, yardımcı T lenfosit (Th2) fonksiyonlarını etkiler (12). Th2 lenfosit fonksiyonları değişen kişi daha sonra alerjenlerle ve viral enfeksiyonlarla karşılaştığında solunum yolları ve alveol duvarında akut inflamasyon gelişir. Tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle bronş ve bronşiol duvarında yeniden yapılanma oluşarak inflamasyon kronikleşir.

II.1.3.2.4. Gıdalar ve Katkı Maddeleri

Sindirim yolu ile alınan besinler astıma neden olabilirler. Özellikle yumurta, süt, balık, hububat, çikolata ve kuru yemişler ile astım krizleri ortaya çıkabilir. Besin alerjisine en sık süt çocukluğu döneminde rastlanır ve yaş ilerledikçe alerji riski azalır. En önemli alerjik gıda inek sütüdür. Hazır

gıdaların içine konulan renklendiriciler, tatlandırıcılar ve bazı katkı maddeleri astıma ve diğer alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir (13).

II.1.3.3. Çocukluk Çağı Astım Patogenezinde Rol Alan Hücreler

II.1.3.3.1. Epitel Hücresi

Epitel dokusu, burundan terminal solunum yollarının sonuna kadar aktif olarak uzanır. Silialı ve siliasız epitel yüzeyinde, sekretuar bezler ve sekretuar goblet hücre kaynaklı iki katlı mukus tabakası vardır. Epitel hücreleri birbirlerine desmozom adı verilen adezyon molekülleri ile, bazal membrana ise hemidesmozomlarla sıkı sıkıya bağlıdır. Epitel hücre aralıklarında seçici bir geçirgenlik söz konusudur. Alerjenler sağlam bariyerleri geçemezler. Epitel hücreleri bazı mediyatörler aracılığı ile düz kas hücrelerinin, sekretuar bezlerin, sinirlerin ve vasküler dokunun kontrolünü sağlar. Epitel hücreleri uyarıldığında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi antioksidan enzimlerin sentezi artar. Böylece bronş duvarı inflamasyonunda rol alan makrofaj, eozinofil ve nötrofil kaynaklı O_2^- , H_2O_2 ve OH^- gibi oksidanların kontrolü sağlanır (14).

II.1.3.3.2. Mast Hücresi

Mast hücreleri astım patogenezinde rol alan primer hücrelerdendir. Dalak ve kemikten, az miktarda da timusdan sentezlenirler. Astımda, tüm hava yolu boyunca epitel ve submukozada yer alırlar. Yüzeyindeki reseptörlerle IgE'yi güçlü bir şekilde bağlarlar. Mast hücreleri alerjenle karşılaşma, egzersiz, soğuk hava ve hiperventilasyon sonrasında uyarılmaktadır. Mast hücrelerinin uyarılmasıyla histamin, triptaz, kinaz serbestleşir. Triptaz epitel hücrelerini uyarır ve epitel hücrelerinden IL-2 salınımına ve nötrofil göçüne yol açar. Histamin ise vazodilatasyon, bronkokonstrüksiyon, afferent sinir uçlarında sitimülasyon ve mukus sekresyonunda artışa sebep olur (15).

II.1.3.3.3. Eozinofiller

Lökotrienlerin kaynağı olan eozinofiller, astımın patogenezinin sorumlu tutulan ilk hücrelerdir. Eozinofiller, serbestleştirdikleri lökotrienlerle düz kas hücrelerini uyararak bronkokonstrüksiyona, endoteli uyararak geçirgenlik artışına neden olurlar (15).

II.1.3.3.4. Makrofajlar

Monositlerden sentezlenen majör hücrelerdir. Makrofajlardan, lökotrien B4 (LTB4), tromboksan B2 (TXB2), makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF), histamin salgılatıcı faktör, tümör nekroz faktör (TNF) ve sitokinler (IL1, IL8, IL10), gibi inflamatuvar mediatörler salgılanır (15).

II.1.3.3.5. Lenfositler

Astım hastalarının bronş duvarında bol miktarda T lenfosit ve az miktarda B lenfosit bulunmaktadır. T lenfositlerden salgılanan IL-3 ve IL-5 eozinofil aktivasyonu, maturasyonu ve eozinofil yaşam süresinin belirlenmesinde aynı zamanda bazofil ve mast hücrelerinin farklılaşmasında da rol oynamaktadır (15).

II.1.3.3.6. Endotel

Endotel, mezoderm kaynaklı tek katlı yassı epitel dokusudur. Endotel hücreleri arterial sistemde devamlı, düz ve kesintisiz yüzey oluşturarak vücutta en geniş ve en yaygın dokuyu oluştururlar. Arter duvarının komponentleri arasında temel bariyer görevi görürler. Endotel hücreleri, özellikle tip IV kollagen içeren bazal membran üzerinde yer alırlar. Endotel, hemostaz ile immünolojik ve metabolik birçok olayda ayrıca koagülasyon, fibrinoliz, vasküler tonus, vasküler büyüme, yeniden yapılanma ve immün yanıtların düzenlenmesinde görevli dinamik ve yaşamsal önemi olan bir organdır. Dolaşım ve damar duvarı arasında bulunduğu için her iki bölgedeki hücresel ve hormonal düzenleyicilerle etkileşim içindedir. Endotel, özellikle trombosit agregasyonunu inhibe eden Prostoglandin I₂ (PGI₂) oluşturma kapasitesi sayesinde non-trombojenik yüzey sağlar, aynı zamanda yüzeyinde

heparan sülfat içerdiğinden non-trombojendir. Endotel hücreleri endotel kaynaklı relaksasyon faktörü (EDRF) sayesinde güçlü bir vazodilatatördür. Endotel tarafından EDRF formasyonu, arteriel homeostazda vazokonstrüksiyon ve vazodilatasyon arasındaki dengenin sürdürülmesinde çok önemlidir.

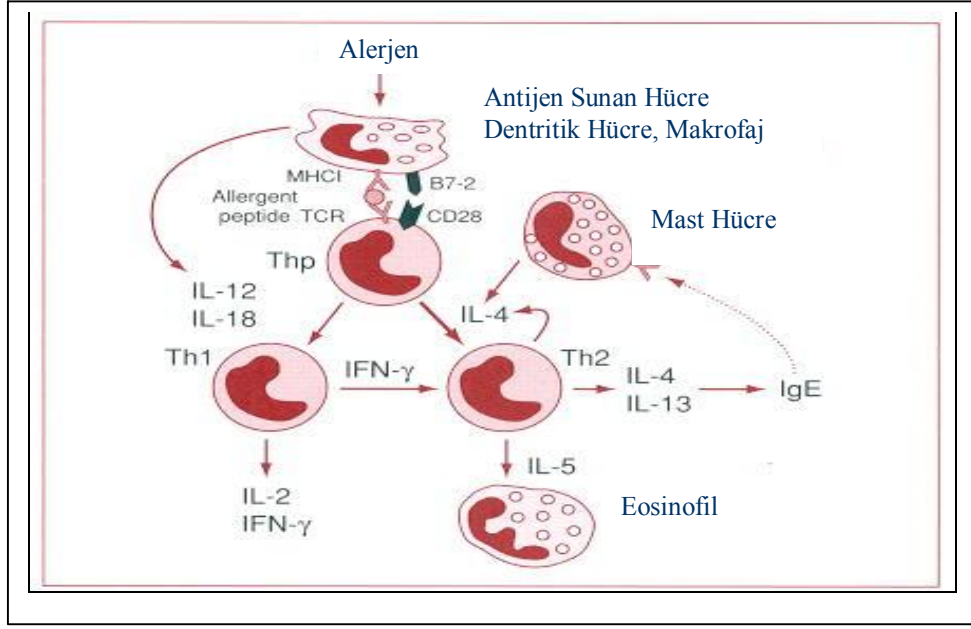
Endotel hücreleri ayrıca prokoagulan olan, plazminojen içeren, fibrinolizde etkili olan Von willebrand faktör (VWF) gibi ajanları ayrıca endotelin, Anjiotensin Konverting Enzim (ACE) ve trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi vazoaktif ajanları da sekrete eder.

Endotel disfonksiyonu, etkileşim içinde bulunduğu birçok faktörün etkisi ile meydana gelmektedir. Sitokinler, PDGF, ACE, ET-1 ve TXA₂ endotel disfonksiyonunu arttırmırlarken; nitrik oksit (NO), prostasiklin ve büyüme inhibitörleri gibi maddeler endotel disfonksiyonunu azaltırlar. Lipoproteinler, sitokinler, hemodinamik kuvvetler (türbülans), enfeksiyonlar, sigara, homosistein ve ilaçlar ise endotel disfonksiyonuna yol açan diğer patolojik etkenlerdir. Endotel disfonksiyonu vazokonstrüksiyon, trombosit ve monosit adhezyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonu, lökosit adhezyonu, LDL oksidasyonu ve metalloproteinaz (MMP) aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (16).

II.1.3.4. Çocukluk Çağı Astımında Alerjik Duyarlılaştırma ve İnflamasyon

Çocukluk çağı astımında en önemli risk olan alerjik duyarlılaştırma, genetik olarak potansiyeli olan bir çocuğun çevresel alerjenlere karşı atopik duyarlılaşmasıyla oluşmaktadır. Çevreden mukozaya ulaşan bir antijen, önce submukozal antijen sunan hücre (ASH) tarafından fagosite edilir. ASH de bir dizi işlem sonrasında (antigen processing) bir dizge haline getirilen epitoplara ASH yüzeyine MHC-II molekülü ile eksprese edilir. Sunuma hazır hale getirilen antijen, daha önce antijen tanıtılmamış doğal-Th lenfositine sunulur. ASH ve doğal-Th arasındaki adezyon intrasellüler adezyon molekülü (ICAM-1) ve LFA-1 ligandları (tanımlayıcı reseptör) ile sağlanır. Doğal-Th hücresi, ASH tarafından sunulan işlenmiş antijeni T-hücre reseptörü-CD3 kompleksi ve CD4 molekülü ile bağlanarak tanır. Sonuçta bu doğal Th, IL-2 salgılayarak

aktif hale gelir ve dengeli bir Th alt grup aktivasyonu ile Th1 ve Th2 ye dönüşür. Aktive olan Th1, interferon gama salgılayarak hücresel immün yanıt, Th2 ise IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılayarak humoral immün yanıtı sağlar. Her iki sitokin grubu birbiri için süpresördür. Ancak genetik yatkınlık nedeniyle bu sunum daha fazla oranda Th2 lehine olursa ortamda baskın miktarda IL-4, IL-5, IL-13 bulunur ve bu fazla miktarda IgE sentezlenmesine yol açar (Şekil 2).



Şekil 2. Alerjik yanıtta Th1/Th2 dengesi

Ortama fazla miktarda salınan antijene spesifik IgE sistemik dolaşıma geçer. Submukozal ve subdermal mast hücreleri başta olmak üzere tüm mast hücrelerine FceR-1 ve FceR-2 reseptörleri ile bağlanır (6).

Astım için bronşiyal submukozada mast hücre-IgE varlığı önemlidir. Alerjik duyarlılık geliştikten sonra alerjenin tekrar mukozaya ulaşması ile alerjik inflamasyon başlar. Bu inflamasyon iki fazda gerçekleşir:

1. Alerjik inflamasyonun erken fazı: Alerjen ile yeniden karşılaşmadan sonraki ilk 15-60 dakikada gerçekleşir.
2. Alerjik inflamasyonun geç fazı: Alerjen ile yeniden karşılaşmadan sonraki 4-8 saatte gerçekleşir.

Erken faz alerjik yanıt, IgE aracılı hipersensitivite reaksiyonu şeklindedir. Duyarlı hale gelmiş bir çocuk aynı alerjen ile tekrar karşılaştığında, alerjen dakikalar içinde mast hücre-IgE kompleksine bağlanır ve oluşan transmembran sinyal iletimi sonucunda mast hücre içindeki granüller hücre membranı ile birleşir ve depo edilen mediatör içerikleri hücre dışına boşalır. Granüllerden histamin, triptaz, kimaz, kininojenaz gibi vazoaaktif ve inaktif pro-proteinleri aktifleyici özellik içeren mediatörler salınır. Ayrıca mast hücre membranında alerjen-IgE birleşimi sırasında de novo olarak membran lipidlerinden birçok araşidonik asit ürünü mediatör sentezlenir. Bu mediatörler, prostaglandin D2 (PGD2) ve sulfidopeptidil lökotrienlerdir (LTC4, E4, D4). PGD2 en iyi mast hücre aktivasyon markıdır. LTD4, bronokspazma yol açan en güçlü ajandır. Mast hücresi kaynaklı alerjik inflamasyonda rol oynayan bir çok sitokin (IL-3, IL4...) de ortama salınır. Özellikle histamin, kinin ve LT'ler, vasküler permeabilite artışı mukozal ödem, düz kas spazmı ile akut ve kronik nöral innervasyona neden olurlar. Erken faz sırasında salınan mast hücre kökenli mediatörler, VCAM-1 ve E-selektin ekspresyonunu da arttırmaları. Sonuç olarak astımda hedef organa özgün bulgular olan bronkospazm, mukus salgılamında artış, öksürük, epitel hücresinde hasar, mukozal ödem, silier aktivite de azalma gibi sellüler ve klinik bulgular görülür.

Geç faz alerjik yanıt ise erken fazın bir devamıdır. Alerjik inflamasyonun karakteristiği olan eozinofil infiltrasyonu, erken fazda salınan sitokinler aracılığı ile bu dönemde meydana gelir. Alerjen ile temasdan 4-8 saat sonra ortaya çıkar. Geç faz yanıt, başta eozinofiller ve lenfositler olmak üzere inflamatuvar hücrelerin bölgede toplanması ile karakterizedir. Erken fazda salgılanan sitokinlerden IL-4 ve IL-13, IgE sentezinin daha da artmasına yol açar. IL-3 kemik iliğinden daha fazla Th lenfosit, eozinofil ve mast hücre sentezine neden olur. IL-5 eozinofillerin sentezini ve bronş mukozasına kemotaksisini artırır. Aynı zamanda eozinofillerin, nötrofillerin, bazofillerin, T lenfositlerin ve makrofajların mukozayı infiltre etmesini de kolaylaştırırlar. Her bir alerjen ile temas sonucunda bu döngü bir kez daha

tekrarlar ve potansiyelize olur. Bu döngü antienflamatuar tedaviyle kırılmadıkça alerjik hastalık ortadan kaldırılamaz (17).

II.1.3.5. Çocukluk Çağı Astımında Hava Yolu Hiperreaktivitesi

Hava yolu hiperreaktivitesi, astım için patogenetik sürecin bir sonucudur. Alerjik zeminde gelişen bronşiyal inflamasyon, bronş epitelinin dökülmesine, bronş yüzeyindeki submukozal sinir uçlarının açıkta kalmasına ve kolaylıkla uyarılabilmelerine neden olur. Normal bronkomotor tonusu oluşturan bronkodilatör NO sekresyonunda ve bronkospazm yapan nötral endopeptidlerde rölatif artış ile birlikte bronşiyal hiperreaktivite meydana gelir. Bronşiyal hiperreaktivite, bronşiyal inflamasyonun şiddeti ile korele değildir. Astımdaki bronşiyal hiperreaktivitenin patogenezinde, alerjik inflamasyonun yanında hava yolunun yapısal özellikleri de rol oynamaktadır. Astımlı çocuklarda hava yolu çapının normale göre daha küçük olması, en sık öne sürülen yapısal etkenler arasındadır. Hava yolunda normalde obstrüksiyon oluşturmayacak bir inflamasyon bu çocuklarda bronkospazma neden olabilir. Astımda bronş mukozasında interstisyel elastik yapının düşük kompliyansa sahip olması, interstisyel kollajen miktarının az olması ve vasküler permeabilite artışı olması diğer suçlanan yapısal mekanizmalardır. Çevresel etkenler de hava yolu hiperreaktivite gelişimine ve şiddetine katkıda bulunur (18).

II.1.3.6. Astım ve Lipid Peroksidasyonu

Astım, hava yollarına inflamatuvar hücre akımı sonucu gelişen, kronik inflamasyon ve reversibl hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. İnflamatuvar hücrelerin immünolojik ya da nonimmünolojik olarak uyarılması, süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest oksijen radikallerinin (SOR) üretimi ile sonlanmaktadır (19). SOR vücutta fizyolojik olarak oluşabilen ve eşleşmemiş bir elektron içeren reaktif moleküllerdir. Düzeyleri, vücudun antioksidan savunma sistemleri ile dengede tutulur. Bu dengenin SOR lehine bozulması protein, lipid, nükleik asit gibi önemli moleküllerde yıkıcı reaksiyonları başlatabilir (20).

SOR astımla ilişkili birçok patofizyolojik süreçte rol almaktadır. Oksidan/antioksidan dengedeki oksidanlar lehine bir bozulma direk olarak akciğer ve hava yolu epitel hücreleri üzerinde hasara neden olabilir. Majör intrasellüler antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz ve katalaz astımda rol oynamaktadır (21). SOR' ne bağlı doku hasarı oluşumunda en önemli mekanizma hücre zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyona uğramasıdır (20). Lipid peroksidasyonundaki artış, serbest radikallerin oluşturduğu doku hasarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır.

II.1.3.7. Astım Patogenezinden Sorumlu Tutulan Mediatörler ve Etkileri

II.1.3.7.1. Lipid Peroksidasyonu ve MDA (Malondialdehid)

Biyolojik yapılar, özellikle membranlar yüksek oranda doymamış lipid içerirler. Bu lipidler bir radikal başlatıcısının ya da oksijenin varlığında oksidasyona uğrarlar. Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonu büyük önem taşır. Lipid peroksidler, sellüler hasara yol açan, metabolizmayı değiştiren ve dokulardaki kan akımını azaltan güçlü kimyasal maddelerdir. Radikallerin yol açtığı bu olay patolojik ya da fizyolojik işlemlere (prostaglandin sentezi ya da yaşlanma) eşlik edebilir.

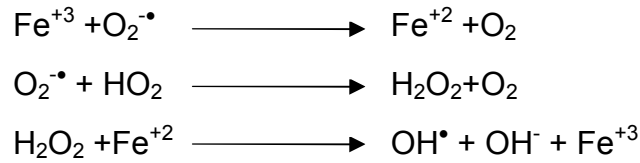
Peroksidasyonun başlatılmasında teorik olarak üç tip radikal yer almaktadır.

- ♣ Mitokondri solunum zincirindeki elektron transportunda ve endoplazmik retikulumdaki hidroksilasyon sisteminde yer alan semikinonlar.
- ♣ Moleküler oksijen ile bazı maddelerin otooksidasyonu esnasında ya da biyolojik sistemlerin iyonlaştırıcı ya da UV radyasyonu ile başlatılan tepkimelerde oluşan organik serbest radikaller.
- ♣ Oksijen molekülüne ard arda elektron ilavesi ile oluşan serbest radikaller ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , 1O_2).

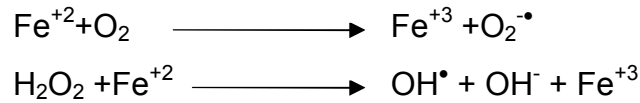
Singlet oksijen ve hidroksil radikalinin her ikisi de lipid peroksidasyonunu başlatabilir, ancak peroksidasyon mekanizmaları farklıdır. Bu farklılık sonuçta oluşan peroksidasyon ürünlerinde kendini gösterir. Buna örnek olarak oleik

asidden hidrojen atomu çıkması ile 8 ve 11 hidroperoksid izomerleri & 9 ve 11 izomerlerinin oluşması, singlet oksijen etkisi ile de 9 ve 10 hidroperoksidlerin oluşması verilebilir. Lipid peroksidasyonunu başlatan diğer bir ajan NO₂ 'dir. Bu ajan etkisi ile hidrojen atomunun çıkması yada oleine NO₂ ilavesi ile peroksidasyon oluşmaktadır.

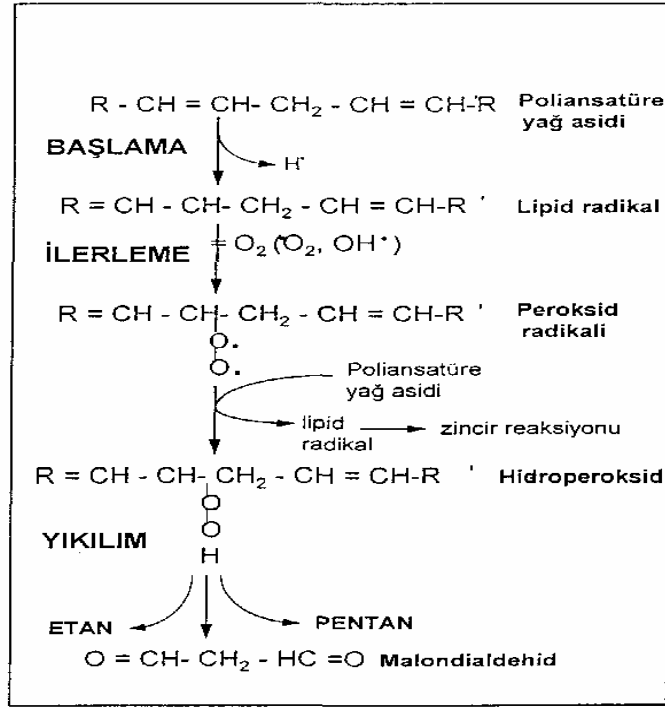
Lipid peroksidasyonunu başlatan serbest radikallerin ortaya çıkışında bazı metallerin esas rolü olduğu kabul edilmektedir. Deneysel sistemlerde bu amaçla genellikle demir ya da bakır tuzları kullanılmaktadır. Proteine bağlı olmayan demir lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Ferritin de askorbat varlığında lipid peroksidasyonunu stimüle eder. Fe⁺³ 'ü Fe⁺² 'ye indirgeyecek redükleyici bir ajan varlığında, Fe⁺³ ya da ferrik şelatlar lipid peroksidasyon tepkimelerini başlatabilirler. Çoğu kez ksantin ya da hipoksantin etkisi ile oluşan süperoksid radikali redükleyici etki göstermektedir. Benzer şekilde askorbat da bağımsız bir mekanizma ile Fe⁺³ 'ü indirgemektedir.



Fe⁺²'i bir oksidanın Fe⁺³ 'e oksidlemesiyle de lipid peroksidasyonu başlayabilir. Çoğu kez oksidan, moleküler oksijen ve hidrojen peroksiddir.



Lipid peroksidasyonu yağların, özellikle poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif oksijen bağımlı yıkılımı olarak tarif edilir ve dallanan bir zincir reaksiyonudur. Olayda genelde bir enzimin varlığı gerekli olmamasına rağmen demir ve bakır gibi iz metaller, ultraviyole ya da radyasyon olayı katalizleyebilmektedir. Lipid peroksidasyonunda ilk olarak çifte bağlar yeniden düzenlenime uğrayarak konjuge dien yapısına dönüşürler. Daha sonra peroksidasyon olayı devam ederek lipid endoperoksidleri ve/veya lipid hidroperoksidlerinin oluşumuna yol açar. Lipid endoperoksidlerinin daha ileri yıkımı ile göreceli olarak stabil bir son ürün olan MDA oksijen redüksiyonu sonucu süperoksit anyon ve hidrojen peroksit oluşumu yoluyla hücre ve dokulara hasarlayıcı etki yapar (22).



Sekil 3: Lipid Peroksidasyonu

II.1.3.7.2. Endotelin-1 (ET-1)

21 aminoasit içeren ET-1, bilinen en güçlü vazokonstrüktör moleküldür. İlk olarak aortik endotel hücrelerinden izole edilmiştir. ET-2 ve ET-3, diğer vasoaktif peptidlerdir. Tüm endotelin ailesi iki adet esansiyel disülfid köprüsü ve C terminallerinde 6 aminoasit içerir. Başlangıçta 200 aa residüsünden prepropeptid olarak sentezlenirler. Proteolitik yıkıma uğrayarak inaktif 40 aminoasitlik "big-endothelins" oluşur. Big ET-1, bir metalloproteaz [endothelin-converting enzyme (ECE-1)] ile proteolitik yıkıma uğrayarak 21 aa'lık aktif peptide dönüşür. Endotelin A (ETA) ve endotelin B (ETB) olmak üzere 2 reseptörü tanımlanmıştır. N-terminal sinyal dizisine ve uzun bir N-terminal ekstrasellüler bölgeye sahiptirler. ETA reseptörleri ET-1'e yüksek afinite, ET-3'e düşük afinite gösterirler. ETB üç endoteline de eşit afinite gösterir. İki reseptör tüm dokularda yaygın olarak bulunur (16). Endotelinler, akciğer, böbrek, beyin, hipofiz, plasenta ve periferik endokrin dokularda üretilirler. ET-1, ET-2 ve ET-3'ün tersine, endotel hücrelerinden de üretilir. ET-1'in en önemli kaynağı, vasküler endoteldir. Son zamanlarda ET-1'in in vitro pankreatik kanser hücrelerinden, mast hücrelerinden, epitelyal ve

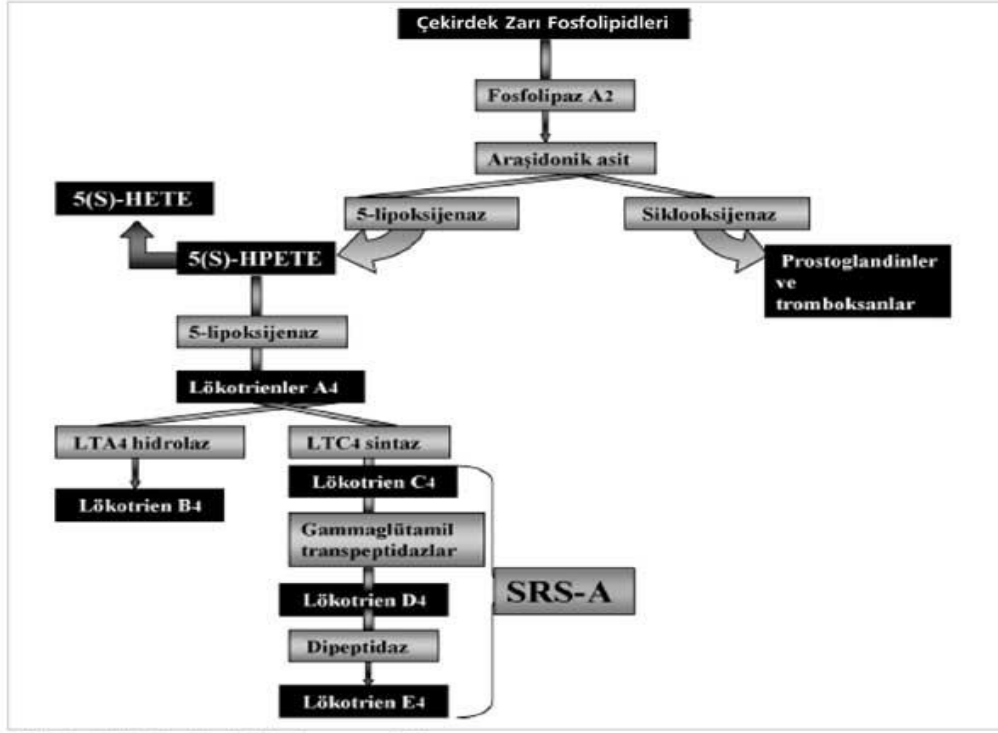
düz kas hücrelerinden de üretildiği bildirilmiştir. ET-1'in en iyi bilinen etkisi vazokonstriksiyondur. Küçük doz endotelin injeksiyonu başlangıçta sistemik kan basıncını düşürür, daha sonra yükseltir. Etkisi 1-3 saatte sonlanır. Bu iki fazlı cevap muhtemelen farklı reseptörler aracılığı ile gerçekleşmektedir. Etkilerini uzun dönemde gösterirler ve stimuluslara akut yanıt vermezler.

Yapılan son çalışmalar, ET-1'in astımda birincil rol oynadığını, bronkokonstrüksiyon, mukus sekresyonu, plazma eksudasyonu ve yapısal respiratuar mukozanın tekrar yapılanmasında rol oynadığını göstermiştir (23). ET-1 üretimi astımda oluşan hipoksemi ve strese karşı reaksiyon olarak artmaktadır. Endotelinin diğer etkileri arasında kardiyak kontraksiyon, vazoaaktif maddelerin salınımlarının düzenlenmesi, düz kas mitogenezinin stimülasyonu sayılabilir.

II.1.3.7.3. Lökotrienler

Prostaglandinler ve ilgili bileşikler olan lökotrienler ve tromboksanlar eikosonoidler olarak bilinirler. Eikosonoidler oldukça güçlü bileşiklerdir ve çok sayıda fizyolojik yanıtta neden olurlar. Çok küçük miktarlarda üretilirler ve yarı ömürleri çok kısadır.

Lökotrienler, hücrenin aktive olması ile de novo (yeni olarak) sentez edilirler. Sentez yolunun başında bulunan araşidonik asit, membran fosfolipidleri üzerine fosfolipaz A2' nin etkisi ile ortaya çıkan 20 karbonlu poliansatüre yağ asididir. Fosfolipaz A2, fiziksel, kimyasal, hormonal ve nörokimyasal gibi çeşitli uyanlarla uyarıldığında lipid depolarından araşidonik asit salgılanmasına yol açar. Kortikosteroidler fosfolipaz A2 enzimini inhibe ederek araşidonik asit oluşumunu önler. Siklooksijenaz yolu ile prostoglandinler, 5-lipooksijenaz yolu ile de lökotrienler oluşur (24).



Şekil 4: Araşidonik asitten lökotrien'lerin oluşumu

Araşidonik Asit, lipooksijenaz ailesinin rol aldığı ayrı bir yol tarafından hidroperoksi asitlerin bir türüne dönüştürülür. Burada 5-lipoksijenaz (5-LO) enzimi, araşidonik asit metabolizmasında ilk adımı katalize eder ve 5S-hidroperoksieikosatetraenoik asit (5S-HPETE) ortaya çıkar, bu da 5S-hidroksieikosatetraenoik asit (5HETE)'e ya da 5-LO aracılığı ile LTA4'e dönüşür. Bu ilk tanımlanmış olan lökotiendir. LTA4'ün bundan sonraki metabolizması, 2 alternatif enzim yolu ile olur. Ya epoksid hidroksilaz ile LTB4 ya da LTC4 sintaz ile LTC4 ortaya çıkar. Bu iki enzimde aktif değilse o zaman LTA4 spontan olarak çok daha az biyolojik aktif olan 6-trans- LTB4 'e degrede olur. LTC4 ise, bazı molekül değişiklikleri ile LTD4 ve LTE4'e değişmektedir. Bu 3 bileşik, sülfidopeptid ya da sisteinil lökotrienler olarak bilinmektedir. Üriner LTE4, LTC4 ve LTD4'ün idrarla atılan son ürünüdür.

Lökotrienler lokal ya da sistemik etkileri ile genel olarak inflamatuvar yanıtta rol oynayan ve bazı kronik inflamatuvar hastalıkların gelişiminden sorumlu mediatörlerdir. Cys LT'ler olan LTC4, LTD4 ve LTE4 kuvvetli

bronkokonstrüktördür ve astım patogeneğinde önemli yerleri bulunmaktadır. Sisteinil lökotrienler IL-5 ile aktive olmuş eozinofiller için kemoatraktan özelliğe sahiptir. Damar ve düz kas kontraksiyonuna, mikrovasküler geçirgenlikte artışa ve mukus hipersekresyonuna neden olurlar. Sisteinil lökotrienlerin astımın karakteristik etkileri olan hava yolları obstrüksyonu, bronş aşırı duyarlılığı ve eozinofil infiltrasyonu üzerine doğrudan etkili olduğu bilinmektedir. LTB4 ise polimorfonükleer lökositlerin artmış kemotaksisinden, lökosit adezyonundan ve lizozomal enzimlerin salıverilmesinden sorumludur. Lökotrienler biyolojik etkilerini spesifik reseptörler aracılığı ile gösterirler. Sisteinil lökotrienlerin hava yolu düz kas kontraksiyonu, düz kas proliferasyonu, plazma eksüdasyonu, mukus hipersekresyonu ve eosinofil göçü gibi etkileri CysLT1 aracılığı ile ortaya çıkarken vasküler etkilerinin gelişiminde CysLT2 reseptörü rol oynar (25).

II.1.3.7.4. Ekstrasellüler Matriks Ve Matriks Metalloproteinazları

Ekstrasellüler matriks (ECM), yapısal destek, hücre proliferasyonu, farklılaşması, migrasyonu ile adezyon ve doku morfogenezisi gibi pekçok biyolojik aktivitede etkisi olan karmaşık ve dinamik bir oluşumdur. ECM sentez, parçalanma ve yeniden yapılanma süreçlerindeki hücre regülasyonu, dönüşümü gibi etkilerini metalloproteinazlar (MMPs) aracılığı ile ortaya koyar.

Matriks metalloproteinazları (MMPs); ekstrasellüler matriks (ECM) ile bazal membran komponentlerini parçalama yeteneğine sahip olan ve aktif bölgesinde çinko içeren homolog bir enzim ailesidir. Proenzim olarak fibroblastlar, osteoblastlar, kondrositler, endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller gibi çeşitli bağ dokusu hücrelerinden salgılanırlar (26). MMPs yara iyileşmesi, kemiğin yeniden yapılanması, uterus ve meme dokusu fizyolojik fonksiyonları, ovulasyon, embriyogenezis, embriyo implantasyonu, laktasyon gibi fizyolojik süreçlerde yer aldığı gibi aynı zamanda artrit, tümör hücresinin invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de rol oynarlar. ECM, kanserde tümör dokusunun büyümesi ve tümör hücresinin yayılımını önlemek için primer bariyer olarak görev yapar. Malign tümörler bu bariyeri aşmak için metalloproteinazları kullanırlar (27).

MMP'ları, astımda doku remodelizasyonunun vazgeçilmez öğeleridir. MMP-9 astım patogeneğinde en çok üzerinde durulan metalloproteinaz olup yapısal hücrelerden çok inflamatuvar hücrelerden üretilmektedir. MMP- 1, 2, 8, 12 araştırılan diğer preteazlardır (28). Bu enzimler normal şartlarda sadece hasarlanmış matriksi parçalayarak normal onarım dengesini sağlarken, patolojik süreçlerde artan üretim ve aktiviteleri, uygun olmayan onarım mekanizmaları ile doku hasarı ve yeniden yapılanmaya neden olurlar. Etkilerini protein zincirlerinin peptid bağlarını kırarak gösterirler (29).

Matriks metalloproteinaz ailesi aşağıdaki özelliklere sahiptir (26, 30).

1. Ekstrasellüler matriksin en az bir komponentini parçalayan proteinazlarıdır.
2. Zn iyonu içerirler ve bu nedenle şelatlayıcı ajanlarla inhibe olabilirler.
3. Latent formda salgılanırlar ve proteolitik aktivitelerini göstermeleri için aktive olmaları gereklidir.
4. Metalloproteinazlara spesifik doku inhibitörleri ile (Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMPs) inhibe olurlar.
5. Moleküler klonlama yöntemleri ile çeşitli grup üyelerinin aminoasit benzerlikleri olduğu gösterilmiştir.

Klonlanmış MMPs'ların primer yapısı incelendiğinde bu proteinlerin birkaç farklı bölge içerdiği görülür.

1. Predomain: 80-90 aminoasit içeren aminoterminal propeptiddir
2. Prodomain: Prodomain yapısında bulunan sistein rezidülerinin enzimin latent formunun korunmasında rol oynadığına inanılır. Prodomainin çıkarılması, inaktif proenzimin aktif forma dönüşmesini sağlamaktadır.
3. Katalitik bölge: Histidin rezidüleri içeren, bakteriyel metalloproteinazlardan termolizine analog olan ve fonksiyonel stabilitenin korunması için gerekli olan çinko iyonunu içeren bölgedir.
4. Prolinden zengin bölge: Katalitik bölge ve son bölge arasında yer alır.
5. Hemopeksin benzeri bölge: Son kısımda hem bağlayan moleküllere dizin benzerliği nedeniyle, hemopeksin olarak adlandırılan bölge yer alır. Bu bölge N ve C terminal kısımları bağlayan disülfid bağı içerir ve katalitik bölgeye 5-10 aminoasitlik prolinden zengin bir bölge ile bağlanır. Matrilysin (MMP7)

dışında tüm metalloproteinazlarda bulunur. Bu bölgenin fonksiyonu bilinmemekle birlikte substrat spesifitesini sağlama ya da plazminojen aktivatör ürokinaz sistemine analog olma özelliği ile hücre yüzey reseptör alanına tanıma fonksiyonu gösterdiği ileri sürülmektedir. Substrata bağlanma ve TIMPs ile etkileşime girmede fonksiyonel rolü vardır. Bu genel yapının dışında; Gelatinase A ve B; katalitik bölgelerinde fibronektinin kollajen bağlayan bölgesi ile ilişkili olan ve diğer matriks metalloproteinaz enzimlerinde bulunmayan, sisteinden zengin jelatin bağlayan bir ekstra domain içerirler (31).

Son birkaç yılda MMPs tanımlanması oldukça hızlı gelişmiştir. MMPs ailesinin en az 18 üyesi bulunmaktadır (32, 33,34).

MMPs substrat spesifitesine göre 4 ana grupta sınıflandırılabilir.

Kollajenazlar: MMP1, MMP8, MMP13

Gelatinazlar: MMP2, MMP9

Stromelysinler: MMP3, MMP10, MMP11

Son zamanlarda bunlara eklenen membran tip metalloproteinaz 1-5 (MT-MMPs)

İnterstisyel kollajenaz (MMP 1, Fibroblast kollajenaz):

MMPs ailesinin prototipik üyesidir. Latent formu 55 kDa ağırlığında, aktif formu 43 kDa ağırlığındadır (33). Tip I, Tip II, Tip III interstisyel kollajeni sindirir. İnterstisyel kollajenler bazal membranda bulunan Tip IV kollajenden ve perisellüler olarak bulunan Tip V kollajenden farklıdır (26). Ayrıca kollajen tip V, II ve X kollajenin yıkılmasında rol oynar.

Nötrofil kollajenaz (MMP 8):

75 kDa büyüklüğünde proenzimdir ve aktif formu 58 kDa büyüklüğündedir. Tip I, II, III interstisyel kollajeni yıkar, nötrofillerce üretilir ve diğer interstisyel kollajenazdan farklı bir genden derive edilir. Nötrofil kollajenazda, fibroblast kollajenazda bulunmayan altı glikozilasyon sahası vardır ve bu nedenle nötrofil kollajenaz artmış glikozilasyondan sorumludur (30).

Kollajenaz 3 (MMP 13):

Tip I kollajeni yıkar.

Gelatinaz A (MMP 2):

Latent formu 72 kDa, aktif formu 66 kDa ağırlığındadır (33). TipIV kollajeni, gelatini, ek olarak tipV, VII, X, kollajeni, elastin ve fibronektini, laminini parçalar.

Gelatinaz B (MMP 9):

Gelatin ve tip IV bazal membran kollajeni için spesifiktir. Latent formu 92 kDa, aktif formu 84 kDa ağırlığındadır.

Stromelysin 1 (MMP 3, Transin):

Latent formu 57 kDa, aktif formu 46 kDa ağırlığındadır (33). Substratı, proteoglikanlar, laminin, fibronektin, tip III, IV, V, IX kollajen ve gelatinlerdir.

Stromelysin 2 (MMP 10):

Latent formu 57 kDa, aktif formu 46 kDa ağırlığındadır (33). Substratı, fibronektin, gelatinler, tip III, IV ve V kollajendir. Transin 2 olarak da bilinen ve insan tümörlerinden kopyalanan bu molekülün, aminoasit dizilimi, büyüklüğü ve substrat spesifitesi stromelysin 1 ile benzer özellikler taşımakla birlikte, aralarında gen ayrılığı vardır (35).

Stromelysin 3 (MMP 11):

Stromelysin 1 ve stromelysin 2 ile aminoasit sekans benzerliği vardır. α 1-proteaz inhibitörleridir (33). İnsanlarda görülen stromal hücre kaynaklı çeşitli kanser dokularında varlığı onaylanmış, ancak epitelyal hücre ile ilişkili kanserlerde saptanamamıştır (32). Ek olarak uterus, plasenta ve insan embriyosunda bulunur.

Matrilysin (MMP 7, Putative matrix metalloproteinase1, PUMP 1):

Ek metalloproteinaz olarak da bilinen bu molekülün latent formu 28 kDa, aktif formu 19 kDa ağırlığındadır. Metalloproteinaz ailesinde

stromelysinlerin bir alt grubu olarak bilinir ve gelatin, elastin, fibronektin, laminin, entaktini parçalama özelliği nedeni ile stromelysinlere benzer geniş substrat spesifitesi gösterir (26, 32).

Metalloelastaz (MMP 12):

Elastin, fibronektin ve kazeini parçalar. Murin makrofajlarından klonlanır.

Metalloproteinazların Spesifik Doku İnhibitörleri (TIMP)

MMP'ları inhibe eden bazı faktörlerden biri, genel proteinaz inhibitörü olarak bilinen ve yüksek molekül ağırlığı nedeni ile dokulara girmesi zor olan alfa 2-makroglobulin diğeri ise antikollajenaz aktiviteye sahip olan serum C-reaktif proteindir. Bunun yanısıra bazı spesifik MMPs doku inhibitörleri (TIMPs) tanımlanmıştır (Tablo 1). TIMPs, MMPs aktivitesini hem proenzim aktivasyonu aşamasında hem de substrat parçalanması sırasında regüle eder. Diğer proteinaz inhibitörleri ile olduğu gibi aktivite sadece spesifik lokalizasyonlarda ortaya çıkar (36). MMPs ve TIMPs arasında bulunan oran çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde değişmektedir.

Tablo 1: Metalloproteinazların doğal inhibitörleri

TIMP	Molekül Ağırlığı (kDa)	Fonksiyonu
TIMP1	28	Pro MMP-9 ve çeşitli aktive MMP leri inhibe eder.
TIMP2	21	Pro MMP-2 ve aktive MMP 2'yi inhibe eder.
TIMP3	21.6	Tanımlanmamış

II.1.4. Astım ve Egzersiz İlişkisi

Astım, sağlıklı yaşam için egzersiz yapan bireylerde ve performans sporcularında bir sağlık sorunu olabilmektedir. Egzersiz sırasında hava

yollarında oluşan bronkodilatasyon, artan oksijen ihtiyacının karşılanması için gereklidir. Astımlı bireylerde ise alerjen duyarlılığına yanıt olarak hücrelerden salınan mediyatörlerin neden olduğu bronkokonstrüksiyon egzersiz sırasında astım ataklarının ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu durum astım hastalarının egzersizden kaçınmalarına neden olur. Özellikle astım hastası çocukların kendine güveninde, duygusal durumunda ve gelişiminde olumsuz etkiler görülür (37). Astımlı olmak spor yapmayı engelleyen bir durum değildir. Aksine astımlı çocukların tedavisinde fizik aktivite büyük önem taşımaktadır. Spor ve egzersiz, astım semptomlarını hafiflettiği gibi çocuğun psikososyal gelişimini ve yaşam kalitesini de geliştirebilir (38). Bu hastalara astım tedavisine ek olarak özel antrenman yöntemleri kullanarak uygun şiddette ve sürede egzersiz yapmaları önerilmektedir. Astım hastalarına en sık yüzme ve su sporları önerilmektedir. Astımlı bir çocukta, haftada üç defa bir saatlik yüzme sporu yapılması ile krizlerin sıklığı %79, hastaneye yatırılma sayısı %84, okula devamsızlık %81 oranında azalmaktadır (39). Bisiklet, tenis, atletizm, golf, jimnastik önerilen diğer sporlardır.

II.1.5. Çocukluk Çağı Astımında Klinik Belirti ve Bulgular

Astımlı hastaların tanısı ve klinik değerlendirilmesinde anamnez çok önemlidir, semptomların zamanı ve ortaya çıkış şekli dikkatle değerlendirilmelidir. Astımın en sık görülen semptomları, dispne, göğüste sıkışma hissi, öksürük ve hışıltıdır. Astımlı hastalar dispneyi, inhalasyon ve ekspirasyon zorluğu ile göğüste sıkışma hissi olarak tanımlamışlardır (40). Hışıltı; daralmış hava yollarından geçen yüksek hızlı akıma bağlıdır. Bu ses hasta tarafından da rahatlıkla duyulabilir. Hışıltının zaman zaman ortaya çıkması tanıdan uzaklaştırmamalıdır. Öksürük ise diğer semptomlara eşlik edebileceği gibi tek başına da bulunabilir. Öksürük çoğunlukla hastalar düzelmeye başladığında, hava yolunu tıkayan mukus tıkaçları ekspektorasyon için trakeabronşiyal ağaç içinde yer değiştirdiğinde ortaya çıkar. Tanı konulamayan öksürüğü olan hastaların %30-50'sinde astım saptanmaktadır (41).

II.1.6. Çocukluk Çağı Astımında Solunum Fonksiyon Testlerinin Kullanımı

Astımda solunum fonksiyon testleri, obstrüksiyonun, reversibilitenin, bronş aşırı duyarlılığının saptanmasında ve ayrıca tedavinin yararlılığının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Spirometrinin noninvaziv olması, hastalar tarafından iyi tolere edilmesi, hastalığın şiddetini ve progresyonunu göstermesi kullanımını yaygınlaştırmıştır.

FEV1 (zorlu vital kapasite 1. saniyede), astımdaki obstrüksiyonun en iyi göstergesidir. Erken dönemdeki astım hastalarının çoğunda FVC (zorlu vital kapasite) korunmuştur. Bu nedenle özellikle erken dönem obstrüksiyonunun saptanmasında FEV1/FVC oranı kullanılmalıdır. Ağır astımlılarda ise rezidüel volümdeki artışa bağlı olarak FEV1/FVC oranı korunmuş olabilir. Gün içi değişkenliğin değerlendirilmesinde ise PEF (zirve akım hızı) değeri tercih edilir. PEF astım tanı ve tedavi izleminde oldukça yardımcı bir testtir. Günlük PEF değişkenliğinin %20'nin üzerinde olması, astım için tanı koydurucudur. FEF 25-75 (Zorlu vital kapasitenin %25 ve %75'inde zorlu ekspiratuar akım), küçük hava yollarının durumunu gösteren ve efordan bağımsız bir parametredir. Ancak tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı FEV1 kadar yüksek değildir. Klinik olarak astımı düşündüren olgularda diğer solunum parametreleri normal olsa bile FEF 25-75 'te azalma anlamlı kabul edilmelidir (42).

Solunum fonksiyon testlerine göre astımın sınıflandırılması Tablo2'de görülmektedir.

Tablo 2.Solunum fonksiyon testlerine göre astımın sınıflandırılması

	FEV1(Beklenen)	PEF Değişkenliği
Hafif İntermitan	>%80	<%20
Hafif Persistan	>%80	%20-30
Orta Persistan	%60-80	>%30
Ağır Persistan	<%60	>%30

II.1.7. Astım Ağırılığının Derecelendirilmesi

Astımlı hastaların sınıflandırılması tedavilerinin standardizasyonunda kolaylık sağlamaktadır. 'Global Initiative for Asthma' (GINA) ilk olarak 1992 yılında tanı ve tedavi rehberi yayınlamış ve 2002 yılında yenilenmiştir. Bu rehberde, astım klinik bulguları ve solunum fonksiyon testleri göz önüne alınarak derecelendirme yapılmıştır (Tablo 3) (43).

Tablo 3 Astım'ın derecelendirmesi

Astım Derecesi	Klinik Bulgular	Solunum Fonksiyon Testleri
İntermitan	Semptomlar haftada 1'den az Noktürnal semptomlar ayda 2'den az Alevlenmeler kısa	PEF veya FEV1>%80 PEF veya FEV1 değişkenliği <%20
Hafif Persistan	Semptomlar haftada 1'den fazla Noktürnal semptomlar ayda 2'den fazla, haftada 1'den az Semptomlar aktivite ve uykuyu etkileyebilir.	PEF veya FEV1>%80 PEF veya FEV1 değişkenliği %20-30
Orta Persistan	Her gün semptomlu Noktürnal semptomlar haftada 1'den sık Semptomlar günlük aktiviteyi etkiler.	PEF veya FEV1 %60-%80 PEF veya FEV1 değişkenliği >%30
Ağır Persistan (Şiddetli)	Alevlenmeler sık Semptomlar her gün devamlı Noktürnal ataklar sık Fiziksel aktivite kısıtlı	PEF veya FEV1<%60 PEF veya FEV1 değişkenliği >%30

II.1.8. Cilt Testleri ve Spesifik Ig E Antijenleri

Astım hastası çocuklara IgE'ye bağlı alerjinin rolünü anlamak için, duyarlı bir yöntem olan alerjen cilt testi (prick testi) yapılmalıdır. Cilt testlerinde, cildi çizme veya delme yolu ile cilt içine dilüe antijen ekstresi

verilir. Rutin olarak test edilmesi gereken alerjenler; ev tozu akarları, çim polenleri, kedi, köpek, inek sütü, un, yumurta, balık, fıstık ve latekstir. Cilt testleri yapılırken hastanın antihistaminik gibi ilaçları almaması gerekir. İki yaşın altındaki çocuklarda alerjenlerle duyarlanma süreleri kısa olduğundan özel bir durum olmadıkça cilt testi yapılması önerilmez.

Sık rastlanan alerjenlere karşı spesifik IgE antikorların invitro tayini, duyarlılıkları ve özgüllükleri çok yüksek (>%90) olan radyoallergosorbent test (RAST) ve enzim bağlı immün assay (ELISA) yöntemleri ile yapılmaktadır. Spesifik IgE testleri cilt testlerinden sonra yapılmalıdır. Hem deri testleri hem de spesifik IgE sonuçları klinik hikaye ve bulgular ile birlikte değerlendirilmelidir (44).

II.1.9. Çocukluk Çağı Astım Tedavisi

Astım tedavisinin hedefleri şunlardır:

- 1.Kronik ve sıkıntı veren tüm semptomları önlemek
- 2.Solunum fonksiyonlarının mümkün olduğu kadar normal sınırlara yakın olmasını sağlamak
- 3.Günlük aktivitelerini kısıtlama olmadan yapabilmesini sağlamak
- 4.Hastaneye yatış ve acil servislere atak nedeniyle başvurunun olmaması veya en aza indirilmesi
- 5.Optimal tedavide minimal yan etki
- 6.Hastaların ve ailelerinin beklentilerini karşılamak ve onları tam anlamıyla tatmin etmek

Astım tedavisinin yukarıdaki hedeflere ulaşabilmesi için belli bir program çerçevesinde, standardize edilerek uygulanması gerekmektedir. Tedavi yaklaşımları aşağıdaki şekildedir;

- Hasta eğitimi: Hastalar astım, kronik inflamasyon, ilaç özellikleri, atak nedenleri ve belirtileri, ilaç dozları ve gerektiğinde ilaç dozunun artırılması konusunda eğitilmelidir. Bu eğitim düzenli aralıklarla sürdürülmelidir.
- Hastalığı tetikleyen etkenlerden uzaklaşma (Ev içi alerjenler, kimyasal maddeler, infeksiyonlar, ilaçlar, gastroözafajial reflü (GÖR), vs.)

- Hastalığın ağırlığının belirlenmesi: Semptomların şiddeti ve süresiyle solunum fonksiyon testi anormallikleri göz önüne alınarak hastalık derecelendirilir.
- İlaç tedavi planı: İlaçlar iki ana gruba ayrılır;
 - a) Kontrol edici ve koruyucu ilaçlar (inhale ve sistemik kortikosteroidler, kromalin sodyum, Lökotrien reseptör antagonistleri, uzun etkili β_2 -agonistler ve uzun etkili teofilinler)
 - b) Rahatlatıcı ve bronkodilatör ilaçlar (Kısa etkili β_2 -agonistler, teofilinler ve antikolinergikler)

Astım, hastadan hastaya ve aynı hastada değişiklikler gösterdiğinden hastalığın şiddetine göre ilaç dozunun ve çeşidinin ayarlandığı 'basamak tedavisi' uygulanmaktadır (Tablo 4). Basamak tedavisinin temelini, hastalığın şiddetine göre artan ve azalan kortikosteroidler oluşturur. Hastanın semptomlarına göre uygun basamaktan başlanır ve tam kontrol sağlandıktan sonra bir basamak inilir. Tüm basamaklarda ihtiyaç halinde kısa etkili β_2 -agonistler eklenir.

Tablo 4: Astımda basamak tedavisi

		Orta veya yüksek doz inhale steroid veya	Yüksek doz inhale steroidler uzun etkili bronkodilatatörler (uzun etkili inhale veya oral beta-2-agonist ve/veya uzun etkili teofilin)
İhtiyaç halinde İnhalasyon kısa etkili beta-2 agonist	Düşük doz inhale steroid veya Kromolin sodyum (çocukta tercih edilir) veya Nedokromil sodyum (çocukta tercih edilir) Alternatifler: Uzun etkili teofilin veya Lökotrien antagonistleri	Orta doz inhale steroid uzun etkili bronkodilatatör (uzun etkili teofilin veya uzun etkili beta-2 agonist) Alternatif: Orta veya yüksek doz steroid lökotrien antagonistleri	Ek olarak: Oral steroid kürü (5-10 gün 0.5-1 mg/kg/gün prednizolon veya eşdeğeri) Bu kür hastanın yanıtına göre gerekirse uzatılabilir.
İNTERMITTAN	PERSİSTAN	PERSİSTAN	PERSİSTAN
HAFİF	HAFİF	ORTA	AĞIR
Haftada 2 kezden az semptom Sadece egzersiz veya belli temas sonrası	Gündüz Semptomları: > Haftada 2 (3-6) Gece Semptomları: >Ayda 2 (3-4) PEF, FEV1 \geq %80 Δ PEF: %20-%30	Gündüz Semptomları: Her gün Gece Semptomları >Haftada 2(Ayda5'ten fazla) PEF, FEV1: %60-%80 Δ PEF >%30	Gündüz Semptomları Sürekli Gece Semptomları: Çok sık PEF, FEV1 <%60 Δ PEF >%30

II.1.9.1. Kortikosteroidler

Kortikosteroidler astımın tedavisinde kullanılan en etkili ilaçlardır. Yan etkileri nedeniyle uzun süreli kullanılmadığından inhalasyon yolu ile verilen steroidler geliştirilmiştir. İnhalasyon yolu ile verilen steroidlerin kana geçişleri çok düşüktür ve direkt bronş mukozasında etki gösterirler.

Steroidler, hava yolunda inflamatuvar hücrelerin migrasyonunu önleyerek inflamasyonu baskılar, epitel hücrelerinin yenilenmesini sağlar, hava yolunda ödem gelişmesini engeller, mukus salgılanmasını azaltarak hava yollarında mukus birikimini ayrıca β_2 reseptörlerin β_2 agonistlere karşı tolerans geliştirmesini önler (45).

II.1.9.2. β_2 -agonistler

Kısa etkili β_2 -agonistler akut ataklarda, semptomların çok kısa süre içinde giderilmesi amacıyla kullanılırlar. Uzun etkili β_2 -agonistler ise astımın uzun süreli tedavisinde antiinflamatuvar ilaçlara ek olarak daha iyi semptom kontrolü sağlamak amacıyla kullanılırlar. Etkileri 12 saat süreyle devam ettiğinden özellikle gece boyunca bronkodilatasyon sağlamak amacıyla kullanılırlar (45).

II.1.9.3. Lökotrien Reseptör Antagonistleri

LT'ler, bronş mukozasında inflamatuvar hücrelerde sentez edilen ve astım patogeneğinde rolleri olan mediyatörlerdir. LTC₄ ve LTE₄ Cys LT1 reseptörüne bağlanarak bronkospazm, ödem, mukus hipersekresyonu ve eozinofilik inflamasyonda artışa neden olurlar. Lökotrien reseptör antagonistleri etkilerini Cys LT1 reseptörünü bloke ederek gösterirler. Astımın akut ve kronik tedavisinde Lökotrien antagonistlerinin kullanımı ile FEV₁'de %5-15 arasında artış saptanmıştır (45).

II.1.9.4. Çocukluk Çağı Astım Tedavisinde Egzersizin Yeri

Astımlı çocukların tedavisinde fizik aktivite büyük önem taşımaktadır. Astımlı çocuklarda, egzersiz uygulamasında en temel problem, nefes yetmezliği ve egzersizin indüklediği bronkokonstrüksiyon oluşmasıdır. Çoğu astımlı çocuk yaşadığı olumsuz deneyimler ve astım ataklarının tekrarlayacağı korkusuyla egzersizden kaçınmakta hatta günlük aktivitelerini bile kısıtlamaktadır. Fizik aktivitenin azalmasıyla birlikte kötü olan fiziksel kondisyon daha da kötüleşmektedir. Sonuç olarak çocukta kendine güvende azalma, sosyal izolasyon, düşük sosyal beceri, davranışsal ve emosyonel bozukluklar ve düşük okul performansı gelişmektedir (46). Bu kısır döngünün kırılması, ailelerin ve çocukların eğitimiyle ve egzersizin uygun şartlarda, sürede, şiddette yapılmasıyla aşılabilir. Astımlı çocuklara, iskelet kaslarının çalışmasıyla enerji tüketimine neden olan vücut hareketlerini içeren aerobik egzersiz programları önerilmektedir. Astım hastalarına en sık yüzme, su sporları, aerobik ve bisiklet egzersizleri önerilmektedir. Ayrıca grup olarak

yapılan egzersizler kendisi gibi astım olan arkadaşlarının performansını görme fırsatı verdiği, çocuğu cesaretlendirdiği ve sosyalleşmesine katkı sağladığı için önerilmektedir.

Yapılan çalışmalarda astımlı çocuklarda egzersizin, astım semptomlarını hafiflettiği, akciğer kapasitesini artırarak akciğer fonksiyonlarında iyileşme sağladığı, maksimal oksijen kullanım hızını (VO₂max) arttırdığı, immün sistemi güçlendirdiği, medikasyon ihtiyacını azalttığı, çocuğun psikososyal gelişimini ve yaşam kalitesini de arttırdığı gösterilmiştir (47). Ayrıca egzersiz programının devamında çocukların egzersiz performanslarının ve dayanıklılıklarının arttığı da göze çarpan bulgular arasındadır. Egzersiz yapan astımlı çocukların aileleriyle görüşüldüğünde olumlu geri bildirimler alınmıştır. Aileler çocuklarının sosyopsikolojik gelişimlerinin, astımla ilgili bilgilerinin arttığını ve hastalıklarıyla daha kolay baş ettiklerini, anksiyetelerinin azaldığını gözlemlemişlerdir (46). Bu bilgiler ışığında astımlı çocuklarda tedavide standart ilaç tedavisine eklenen egzersizin yeri ve önemi kaçınılmazdır. Astımlı olmak spor yapmayı engelleyen bir durum değildir. Astımlı çocukların günlük aktiviteleri içine mutlaka egzersize yer verilmeli ve bir yaşam biçimi haline getirilmelidir.

III. GEREÇ VE YÖNTEM

III.1. Araç ve Gereçler

Santrifüj	Hettich Rotina 35 R/Soğutmalı (Germany)
Elisa Okuyucu	BioRead, Spectra II (Avusturya)
Elektronik Terazı	Sartorius/Basic (USA)
Manyetik Karıştırıcı	Ikamag RH / Isıtmalı (Germany)
Otomatik Pipetler	Biohit-Proline-İsolab
Derin Dondurucu	Nuaire Ultralow Freezer (-85 °C)
Cam Pipetler	Precicolor HBG (Germany)
Vorteks	Yellowline (USA)
Spektrofotometre	Shimadzu UV 1208
pH metre	Sartorius PP-15.
Benmari:	Medingen W 22 (0-99 °C).

III.2. Yöntem

III.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Kontrol Grubu: Tamamen sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubu (n=13)

Grup 1: Astım tanısı yeni konmuş, ilaç tedavisi uygulanan 8-13 yaş arası çalışma grubu (n=15)

Grup 1a: Grup 1'in ilaç tedavisi öncesi değerleri

Grup 1b: Grup 1'in ilaç tedavi sonrası değerleri

Grup 2: Astım tanısı yeni konmuş, ilaç tedavisine ek olarak egzersiz uygulanan 8-13 yaş arası çalışma grubu (n=15)

Grup 2a: Grup 2'nin ilaç tedavisi ve egzersiz öncesi değerleri

Grup 2b: Grup 2'nin ilaç tedavisi ve egzersiz sonrası değerleri

III.2.2. Çalışma Düzeni

Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Alerji Bilim Dalı ve Solunum Birimi ile birlikte yürütüldü. Sağlıklı bireylerden oluşan 8-13 yaş grubundaki 13 çocuk kontrol grubuna, yeni astım tanısı almış ve daha önce herhangi bir astım tedavisi başlanmamış 8-13 yaş grubundaki 30 çocuk ise hasta gruplarımızı oluşturmak üzere çalışmaya dahil edildi. 30 hastadan 15'ine standart olarak 250-375 µg/gün inhale flutikazon (inhale steroid), intermittant β₂ agonist ve. Montelukast (sisteinil LT reseptör antagonisti) verildi (Grup 1). Diğer 15 hastaya ise aynı standart tedaviye ek olarak egzersiz programı uygulandı (Grup 2). Hasta gruplarının, çalışma başlangıcındaki (tedavi öncesi ve tedavi+egzersiz öncesi) ve sonundaki (tedavi sonrası ve tedavi+egzersiz sonrası), astım semptom skorları ve solunum fonksiyon testleri (FEV₁, FVC, FEV₁/FVC, PEF) ayrıca 24 saatlik idrarda LTE₄ ve kreatinin düzeyleri, serum örneklerinde MMP-9, ET-1, MDA, Ig E ve Spesifik Ig E düzeyleri (Ala Top), plazmada ise MDA düzeyleri tayin edildi.

Hastaların aileleri çalışma konusunda bilgilendirilerek, rızalarının alındığına dair bilgilendirilmiş onay formları imzalatıldı.

III.2.3. Egzersiz Programı

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Anabilim dalında uygulandı. Egzersiz uygulaması 8 hafta boyunca, dörder kişilik gruplar halinde haftada 2 kez birer saat kondisyon bisikleti ile yaptırıldı. Antrenman yoğunluğu ve şiddeti her hasta için ayrı ayrı belirlenerek çalışmanın standardizasyonu sağlandı. Dayanıklılığı arttırmak ve egzersizden yarar görmek için önerilen antreman yoğunluğu azami kalp hızının (HR max) % 80 'i olarak kabul edildi. Submaksimal kalp hızları, hastaların bazal kardiyak nabızları sayılarak ve bulunan değerlerin %50'si bazal kardiyak nabza eklenerek hesaplandı. Submaksimal kalp hızının %80'i hedef

kalp hızımızı belirledi. Pedal çevirme hızları ise pulsoksimetre yardımıyla hastaların hedef kalp hızlarına karşılık gelecek şekilde belirlendi (48).

Çalışmaya katılan her bireyin 8 hafta boyunca, 15 dakika süren ısınma egzersizi sonrasında belirlediğimiz hızda 45 dakika boyunca pedal çevirmeleri sağlandı.

Egzersiz sırasında oluşabilecek ataklar için önlem olarak hastalardan kullandıkları ilaçları yanlarında bulundurmaları istendi. Fakat 8 haftalık program boyunca egzersiz sırasında hiç atak geçiren olmadı.

III.2.4. Solunum Fonksiyon Testleri

Solunum Fonksiyon Testleri, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Pediatrik Alerji Bilim Dalı ve Solunum Birimi polikliniğinde bulunan (Cosmed Pony-FX, İtalya) spirometri cihazı ile çalışma başlangıcında ve sonunda tespit edildi.

III.2.5. Kan ve İdrar Örneklerinin Alınması

Astım hastalarından çalışma başlangıcında ve sonunda, kontrol grubundan ise çalışma başlangıcında bir kez venöz kan örneği ve 24 saatlik idrar örneği alındı. Kan örnekleri 30 dakika içerisinde +4 °C 'de 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve -80 °C'de saklandı.

24 saatlik idrar numuneleri, volümleri ölçüldükten sonra plastik idrar tüplerine porsiyonlanıp -80 °C'de saklandı.

III.2.6. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

24 saatlik idrarda LTE4 ve kreatinin düzeyleri, serum örneklerinde MMP-9, ET-1, MDA, Ig E ve Spesifik Ig E düzeyleri, plazmada ise MDA düzeyleri tayin edilmiştir.

III.2.6.1. LTE4 Tayini

LTE4 düzeyleri, 24 saatlik idrarda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI USA). LTE4'e spesifik antikolar kuyucuklarda bağlı olarak mevcuttur. Ölçümün ilk basamağında

standartlar ve örnekler kuyucuklara pipetlendi. Ardından kit içinde mevcut olan LTE4 asetilkolinesteraz (AChE) tracer ve EIA antiserum Dye tüm kuyucuklara pipetlendi. 18 saat oda ısısında inkübasyonun ardından bağlı olmayan antikor-enzim reaktifini uzaklaştırmak için 6 yıkama işlemi yapıldı. Ardından Ellman's Reagent substrat solüsyonu kit içinde belirtilen oranlarda kuyucuklara pipetlendi. 30-90 dakika oda ısısında karanlıkta inkübasyonun ardından ELİSA okuyucuda 450 nm'de standart ve örneklerin absorbansları okutuldu. Ölçüm değerlerinin hesaplanmasında kitin içinde bulunan 100 ng/ml'lik stok standart solüsyonu kullanıldı. Çalışmamızda stok standart solüsyonun dilüsyonuyla 500, 250, 125, 62.5, 31.3, 15.6, 7.8 pg/ml'lik standart solüsyonları hazırlanarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı ve 24 saatlik kreatinin değerlerine bölünerek birimleri pg/mgkreatin'e dönüştürüldü.

III.2.6.2. 24 Saatlik İdrarda Kreatinin Tayini

24 saatlik idrarda kreatinin düzeyleri Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Rutin Biyokimya laboratuvarında bulunan Cobas Integra 800 (Roche Diagnostic) otoanalizöründe Jaffe metoduyla spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

III.2.6.3. MMP-9 Tayini

MMP-9 düzeyleri serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü (Bender MedSystems GmbH, Vienna, Austria, Europe). MMP-9'a spesifik antikorlar kittede kuyucuklara bağlı olarak mevcuttu. Ölçümün ilk aşamasında örnek kuyucukları 3 kez yıkama solüsyonu (wash buffer) ile yıkandı. Standartlar ve örnekler belirtilen oranlarda kuyucuklara pipetlendi. Daha sonra kitin içinde bulunan antikorlar (detection antibody) tüm kuyucuklara pipetlendi. 2 saat oda ısısında inkübe edildi. Bağlı olmayan antikor-enzim reaktifini uzaklaştırmak için 6 kez yıkama işlemi yapıldı. Anti Rabbit Ig G HRP (Horse Rish Peroksidase) enzim solüsyonu kittede belirtilen ölçülerde kuyucuklara pipetlenerek 1 saat oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara tetrametilbenzidin (TMB)

substrat solüsyonu eklendi. 10 dakika oda ısısında inkübasyonun ardından stop solüsyonu eklendi. ELİSA okuyucuda 450 nm'de standart ve örneklerin absorbansları okutuldu. Ölçüm değerlerinin hesaplanmasında kitin içinde bulunan 150 ng/ml'lik stok standart solüsyonu kullanıldı. Çalışmamızda stok standart solüsyonun dilüsyonuyla 150, 75, 37.5, 18.8, 9.4, 4.7, 2.3 ng/ml'lik standart solüsyonları hazırlanarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

III.2.6.4. Endotelin-1 Tayini

Endotelin düzeyleri, serumda ELISA yöntemi ile hazır ticari kit kullanılarak ölçüldü (Cayman Chemical Ann Arbor, MI USA). Endotelin'e spesifik antikolar kitte kuyucuklara bağlı olarak mevcuttu. Ölçümün ilk aşamasında standart ve örnekler belirtilen oranlarda Non Spesifik Mouse serum ile dilüe edildi. Dilüsyon yapılan standartlar ve örnekler belirtilen ölçülerde kuyucuklara pipetlendi. Ardından kit içinde mevcut olan Endotelin AChE-Fab Conjugat belirtilen ölçülerde tüm kuyucuklara pipetlendi. 18 saat 2-8°C de inkübasyonun ardından bağlı olmayan antikor-enzim reaktifini uzaklaştırmak için 6 yıkama işlemi yapıldı. Ardından anti Ellman's Reagent substrat solüsyonu kuyucuklara pipetlendi. 30-90 dakika oda ısısında karanlıkta inkübasyonun ardından ELİSA okuyucuda 450 nm'de standart ve örneklerin absorbansları okutuldu. Ölçüm değerlerinin hesaplanmasında kitin içinde bulunan 5 ng/ml'lik stok standart solüsyonu kullanıldı. Çalışmamızda stok standart solüsyonun dilüsyonuyla 31.3, 15.6, 7.8, 3.9, 1.95, 0 pg/ml'lik standart solüsyonları hazırlanarak örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

III.2.6.5. Ig E ve Spesifik Ig E

Ig E ve Spesifik Ig E düzeyleri Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Hormon Laboratuvarında bulunan Immulite 2000 (Bio DPC) cihazında kemiluminesans yöntemle serum örneklerinde tayin edilmiştir.

III.2.6.6. MDA Ölçüm Prensibi

Plazma MDA düzeyleri Satoh ve Yagi'den modifiye edilen yöntemle göre, MDA'nın tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek oluşturduğu pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak okunmasıyla tayin edildi (49).

Kullanılan reaktifler:

1. 1/12 N H₂SO₄
2. %10 Fosfotungustik Asit
3. 2M Na₂SO₄
4. %0.675 Tiyobarbitürik asit (2 M Na₂SO₄' de çözülmüş)
5. n-bütül alkol
6. Standart 5nmol/L malondialdehid bis dietil asetal (1,1,3,3 tetra ethoksiopropan)

Deneyin Yapılışı:

Kapaklı santrifüj tüpüne 4 mL 1/12 N H₂SO₄, 0.3 mL plazma, 0.5 mL %10 Fosfotungustik asit konulup tüpler oda ısısında 5 dakika bekletildi. 10 dk 3000/devir/dk santrifüjlenip süpernatantı atıldı. Presipata 3ml H₂O eklendi. Tekrar aynı devirde santrifüjlenip süpernatant atıldı.

	Blank	Standart	Numune Örnek
Distile Su	4.0 ml	3.0 ml	4.0 ml
Standart		1.0 ml	
Tiyobarbitürik Asit	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

Tüpler bu işlemlerden sonra 60 dk kaynar su banyosunda bekletilip soğutuldu. 3.0 ml bütül alkol köre, standarda ve numuneye eklendi. Hesaplama 530 nm'de köre karşı yapıldı ve değerler nmol/ml cinsinden bulundu.

III.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma verileri, SPSS 10.0 istatistik paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Mann Whitney U testi, Wilcoxon işaretli sıra testi ve ki kare testi ile incelendi.

IV. BULGULAR

Bu çalışmaya, ilaç tedavisi uygulanan 15 astımlı (grup 1) ile ilaç tedavisine ek olarak egzersiz uygulanan 15 astımlı (grup 2) ve 13 sağlıklı çocuktan oluşan kontrol grubu olmak üzere üç grup dahil edildi. Grupların tedavi öncesi ve sonrası ile tedavi+egzersiz öncesi ve sonrası LTE4, MDA, MMP-9, ET-1, IgE ve spesifik IgE düzeyleri tayin edildi. Ayrıca solunum fonksiyon testleri, semptom skorları, deri testleri uygulandı.

ASTIMLI HASTA GRUBU (GRUP 1+GRUP 2) İLE KONTROL GRUBUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Astımlılarda ilaç tedavisi alan 1. grup ve ilaç tedavisi + egzersiz uygulanan 2. gruptan oluşan astımlı grup (Grup 1+Grup 2) ile kontrol grubunun demografik (yaş, cinsiyet)özellikleri ile deri testi, IgE ve spesifik IgE düzeyleri Tablo.5'de gösterilmiştir.

Tablo 5: Grup 1+Grup 2 ve kontrol grubu demografik özellikleri ile deri testi, IgE ve spesifik IgE düzeyleri (ortalama değerleri)

	(Grup 1+Grup 2) (n=30)	Kontrol Grubu (n=13)	Gruplar arası farklılık (p)
Yaş	9.8	10.3	0.333
Cinsiyet (Kız)	8 %53.3	7 %46.7	0.086
Cinsiyet (Erkek)	22 %78.6	6 %21.4	0.086
Deri Testi (Pozitif)	30 %100	0 %0	0.000*
Ig E	23.7	18.04	0.170
Spesifik Ig E (Negatif)	19 %59.4	13 %40.6	0.011*
Spesifik Ig E (Pozitif)	11 %100	0 %0	0.011*

*=p<0.05

Astımlı grup ile kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, IgE düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo5).

Astımlı grup ile kontrol grubu arasında deri testi ve spesifik IgE düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla p=0.000, 0.011) (Tablo5).

Astımlılarda sadece ilaç tedavisi alan 1. grup ve ilaç tedavisi + egzersiz uygulanan 2. grubun başlangıç değerleri (Grup 1+Grup 2) ile kontrol grubunun biyokimyasal değerleri (LTE4, MDA, ET-1, MMP-9) Tablo 6'de gösterilmiştir.

Tablo 6: Grup 1+Grup 2'nin başlangıç biyokimyasal değerleri ile kontrol grubunun biyokimyasal değerleri (ortalama ± standart sapma)

	Grup 1+Grup 2 (n=30)	Kontrol (n=13)	Gruplar arası farklılık (p)
LTE4 (pg/ml)	679.00±505.75	326.69±170.33	Grup 1+Grup 2>kontrol 0.020*
MDA (nmol/ml)	3.40±0.96	2.46±0.58	Grup 1+Grup 2>kontrol 0.000*
ET-1 (pg/ml)	25.82±3.78	19.82±3.73	Grup 1+Grup 2>kontrol 0.000*
MMP-9 (ng/ml)	67.62±12.27	44.61±6.66	Grup 1+Grup 2>kontrol 0.000*

*=p<0.05

Astımlı grup ile kontrol grubu arasında çalışma başlangıcı LTE4, MDA, ET-1, MMP-9 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla p=0.020, 0.000, 0.000, 0.000) (Tablo6).

GRUP 1 VE GRUP 2'NİN YAŞ, CİNSİYET VE SOLUNUM FONKSİYON
TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Grup 1 ve Grup 2'nin demografik (yaş ve cinsiyet) dağılımları Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: Grup 1 ve Grup 2. demografik dağılımları (ortalama±standart sapma)

	GRUP 1 (n=15)	GRUP 2 (n=15)	Gruplar arası farklılık (p)
Yaş	9.9±1.78	10.1±2.02	0.3
Cinsiyet (Kız)	2 %24	6 %75	0.099
Cinsiyet (Erkek)	13 %59.1	9 %40.9	0.099

*=p<0.05

Grup 1 ve Grup 2 arasında demografik özellikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 7).

Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) solunum fonksiyon testleri (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF) ve semptom skoru değerleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8: Grup 1a ve Grup 1b solunum fonksiyon testi ve semptom skoru değerleri (ortalama±standart sapma)

	GRUP 1a (tedavi öncesi) (n=15)	GRUP 1b (tedavi sonrası) (n=15)	Gruplar arası farklılık (p)
FEV1	84.51±19.12	87.71±19.20	0.398
FVC	82.91±15.00	84.72±14.73	0.721
FEV1/FVC	101.62±16.73	104.35±18.91	0.213
PEF	72.51±19.61	76.30±17.80	0.444
Semptom Skoru	7.20±3.00	4.70±2.10	Grup 1b>Grup 1a 0.001*

*=p<0.05

Grup 1'in tedavi öncesi ve tedavi sonrası semptom skoru değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0.001) (Tablo 8)

Grup 1'in tedavi öncesi ve sonrası solunum fonksiyon testleri (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 8).

Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) solunum fonksiyon testleri ve semptom skoru değerleri Tablo 9'de gösterilmiştir.

Tablo 9: Grup 2a ve Grup 2b solunum fonksiyon testi ve semptom skoru değerleri (ortalama±standart sapma)

	GRUP 2a (tedavi+egzersiz öncesi) N=15	GRUP 2b (tedavi+egzersiz sonrası) N=15	Gruplar arası farklılık (p)
FEV1	85.00±13.50	96.00±11.40	Grup 2b> Grup 2a 0.002*
FVC	80.80±12.00	90.8±11.20	Grup 2b> Grup 2a 0.007*
FEV1/FVC	105.60±10.60	108±10.70	0.372
PEF	63.60±19.10	67.9±14.00	0.270
Semptom Skoru	9.00±2.30	3.20±1.20	Grup 2a> Grup 2b 0.001*

*=p<0.05

Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi ve tedavi+egzersiz sonrası FEV1, FVC ve semptom skoru değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla p=0.002, 0.007, 0.001) (Tablo 9).

Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi ve tedavi+egzersiz sonrası FEV1/FVC, PEF değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 9).

Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) solunum fonksiyon testleri (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF) ve semptom skoru değerleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10 Grup 1a ve Grup 2a solunum fonksiyon testi ve semptom skoru değerleri (ortalama±standart sapma)

	GRUP 1a (tedavi öncesi) (n=15)	GRUP 2a (tedavi+egzersiz öncesi) (n=15)	Gruplar arası farklılık (p)
FEV1	84.53±19.10	85.2±13.46	0.70
FVC	82.86±14.98	80.80±12.11	0.66
FEV1/FVC	101.60±16.74	105.60±10.60	0.70
PEF	72.46±19.68	63.7±18.99	0.23
Semptom Skoru	7.20±3.00	9.00±2.30	0.09

*=p<0.05

Grup 1'in tedavi öncesi ile grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi solunum fonksiyon testleri (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF), semptom skoru değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 10).

Grup 1'in tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) solunum fonksiyon testleri (FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF) ve semptom skoru değerleri Tablo 11'da gösterilmiştir.

Tablo 11: Grup 1b ve Grup 2b solunum fonksiyon testi ve semptom skoru değerleri (ortalama±standart sapma)

	GRUP 1b (tedavi sonrası) (n=15)	GRUP 2b (tedavi+egzersiz sonrası) (n=15)	Gruplar arası farklılık (p)
FEV1	87.70±19.20	96.40±11.38	Grup 2b> Grup 1b 0.062
FVC	84.70±14.70	90.80±11.27	0.41
FEV1/FVC	104.20±18.90	108.20±10.67	0.95
PEF	76.30±17.80	67.86±14.12	0.21
Semptom Skoru	4.70±2.10	2.20±1.20	Grup 1b>Grup 2b 0.001*

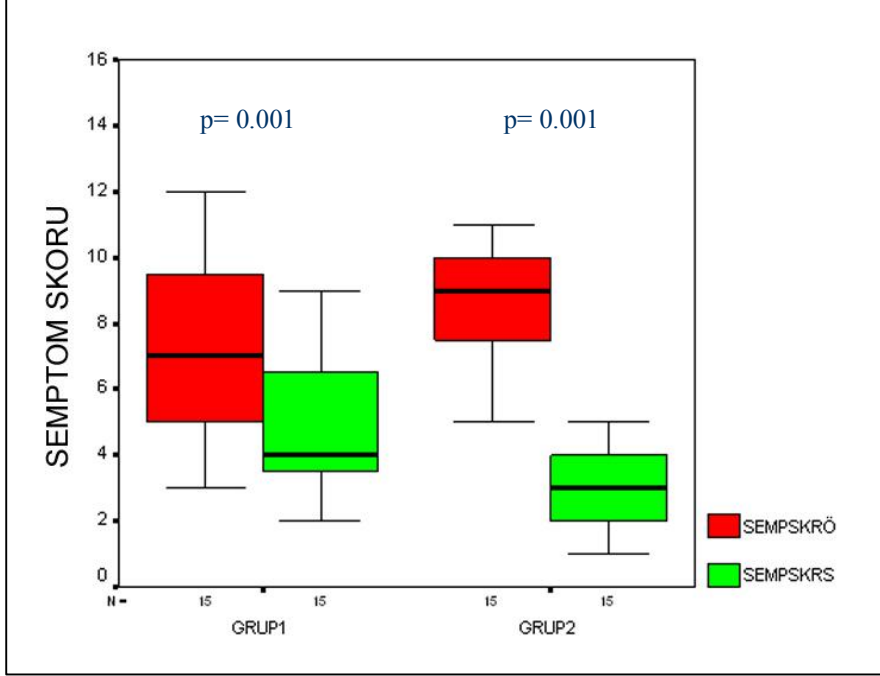
*=p<0.05

Grup 1'in tedavi sonrası ile grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası semptom skoru değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0.050) (Tablo 11).

Grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası FEV1 değerleri, Grup 1'in tedavi sonrası FEV1 değerlerinden yüksek bulunmuştur. Fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.062) (Tablo 11).

Grup 1'in tedavi sonrası ile grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası FVC, FEV1/FVC, PEF değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 11).

Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) semptom skorlarının değerleri Grafik 1'de gösterilmiştir.



Grafik-1. Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) Semptom Skoru değerleri

GRUP 1 VE GRUP 2'NİN BİYOKİMYASAL ANALİZLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) biyokimyasal değerleri (LTE4, MDA, ET-1, MMP-9) Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12: Grup 1a ve Grup 1b'nin biyokimyasal değerleri (ortalama±standart sapma)

	GRUP 1a (tedavi öncesi) n=15	GRUP 1b (tedavi sonrası) n=15	Gruplar arası farklılık (p)
LTE4 (pg/ml)	714.00±445.00	300.10± 158.00	Grup 1a> Grup 1b 0.009*
MDA (nmol/ml)	2.51±7.40	2.10±0.58	Grup 1a> Grup 1b 0.001*
ET-1 (pg/ml)	25.10±3.90	24.00±3.10	0.750
MMP-9 (ng/ml)	65.50±11.20	59.40±11.30	Grup 1a> Grup 1b 0.020*

*=p<0.05

Grup 1'in tedavi öncesi ve tedavi sonrası LTE4, MDA, MMP-9 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla p=0.009, 0.001, 0.020) (Tablo 12).

Grup 1'in tedavi öncesi ve tedavi sonrası ET-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 12).

Grup 2'in tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) biyokimyasal değerleri(LTE4, MDA, ET-1, MMP-9) Tablo 13'da gösterilmiştir.

Tablo 13: Grup 2a ve Grup 2b'nin biyokimyasal değerleri (ortalama±standat sapma)

	GRUP 2a (tedavi+egzersiz öncesi) (n=15)	GRUP 2b (tedavi+egzersiz sonrası) (n=15)	Gruplar arası farklılık (p)
LTE4 (pg/ml)	643.00±573.00	346.10±266.00	Grup 2a> Grup 2b 0.010*
MDA (nmol/ml)	3.20±0.47	2.20±0.47	Grup 2a> Grup 2b 0.001*
ET-1 (pg/ml)	26.50 ± 3.60	21.30±2.40	Grup 2a> Grup 2b 0.001*
MMP-9 (ng/ml)	70.00± 13.30	50.00±14.40	Grup 2a> Grup 2b 0.001*

*=p<0.05

Grup 2'in tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) LTE4, MDA, ET-1, MMP-9 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla p=0.010, 0.001, 0.001, 0.001) (Tablo 13).

Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ile grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) biyokimyasal değerleri (LTE4, MDA, ET-1, MMP-9) Tablo 14'da gösterilmiştir.

Tablo 14: Grup 1a ve Grup 2a'nın biyokimyasal değerleri (ortalama±standat sapma)

	GRUP 1a (tedavi öncesi) n=15	GRUP 2a (tedavi+egzersiz öncesi) n=15	Gruplar arası farklılık (p)
LTE4 (pg/ml)	714.33±445.70	643.60±573.00	0.370
MDA (nmol/ml)	3.60±1.26	3.20±0.47	0.660
ET-1 (pg/ml)	25.10±3.93	26.50±3.60	0.130
MMP-9 (ng/ml)	65.48±11.20	69.70±13.30	0.340

*=p<0.05

Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ile grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) LTE4, MDA, ET-1, MMP-9 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 14).

Grup 1'in tedavi sonrası (Grup 1b) ile grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) biyokimyasal değerleri (LTE4, MDA, ET-1, MMP-9) Tablo 15'de gösterilmiştir.

Tablo 15: Grup 1b ve Grup 2b'nin biyokimyasal değerleri (ortalama±standart sapma)

	GRUP 1b (tedavi sonrası) (n=15)	GRUP 2b (tedavi+egzersiz sonrası) (n=15)	Gruplar arası farklılık (p)
LTE4 (pg/ml)	299.50±158.50	344.66±267.00	0.900
MDA (nmol/ml)	2.10±0.60	2.17±0.47	0.400
ET-1 (pg/ml)	24.20±3.10	21.26±2.43	Grup 1b> Grup 2b 0.007*
MMP-9 (ng/ml)	59.40±11.3	50.13±14.43	Grup 1b> Grup 2b 0.060

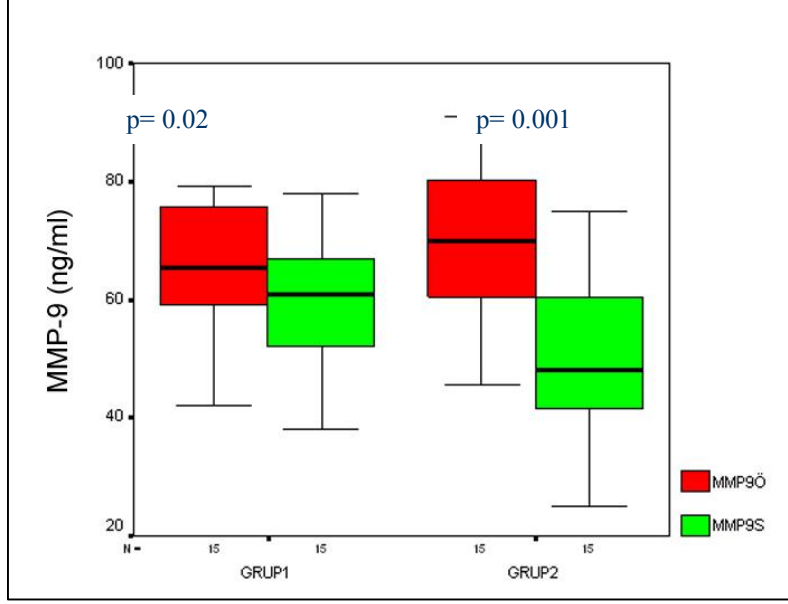
*=p<0.05

Grup 1'in tedavi sonrası (Grup 1b) ile grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) ET-1, düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0.007) (Tablo 15).

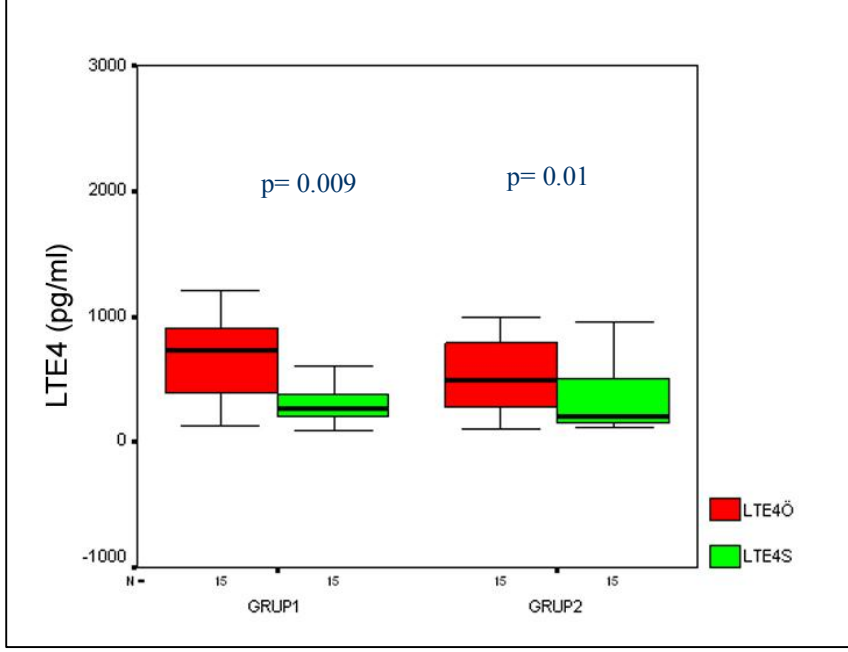
Grup 1'in tedavi sonrası (Grup 1b) MMP-9 değerleri, Grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) MMP-9 değerlerinden yüksek bulunmuştur. Fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.060) (Tablo 15).

Grup 1'in tedavi sonrası (Grup 1b) ile grup 2'nin tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) LTE4, MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 15).

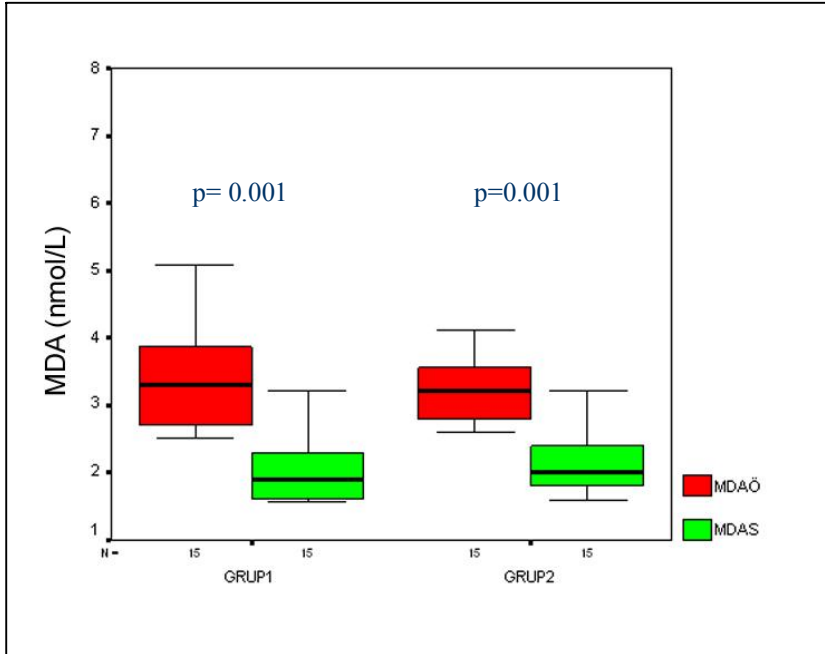
Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) biyokimyasal analizlerinin sonuçları Grafik 2-6'da gösterilmiştir.



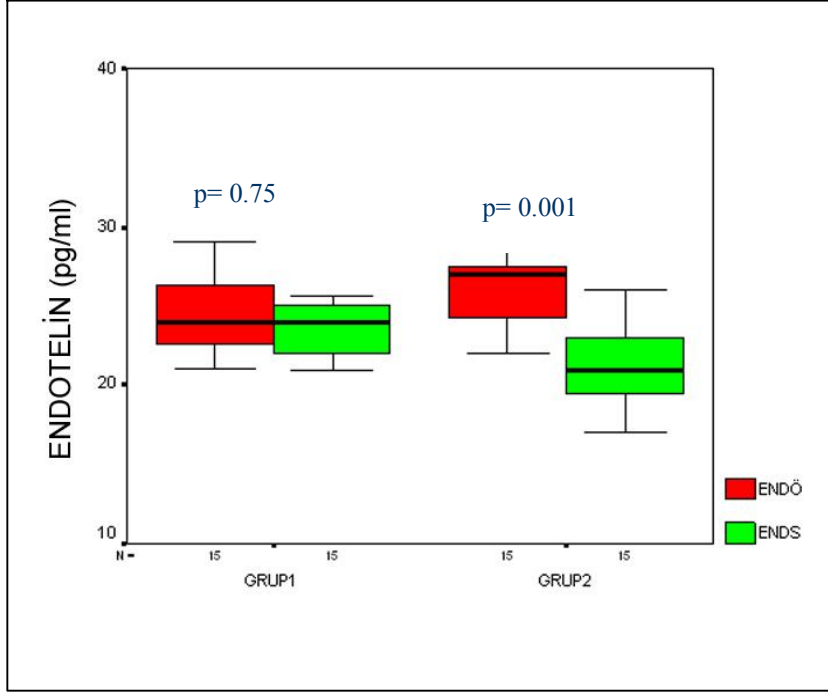
Grafik-2. Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) MMP-9 düzeyleri



Grafik-3. Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) LTE4 düzeyleri



Grafik-4. Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) MDA düzeyleri



Grafik-5. Grup 1'in tedavi öncesi (Grup 1a) ve tedavi sonrası (Grup 1b) ile Grup 2'nin tedavi+egzersiz öncesi (Grup 2a) ve tedavi+egzersiz sonrası (Grup 2b) Endotelin-1 düzeyleri

V. TARTIŞMA

Astım mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve epitel hücreleri gibi birçok hücrenin rol oynadığı alt havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır (1).

Çocukluk çağı astımında en önemli risk faktörü olan alerjik duyarlılaşma, genetik potansiyeli olan bir çocuğun çevresel alerjenlere karşı duyarlılaşmasıyla başlamaktadır. Alerjik duyarlılığın gelişmeye başlamasıyla birlikte, ortama fazla miktarda antijene spesifik IgE salınır ve sistemik dolaşım ile tüm vücuda yayılır (6). Duyarlı hale gelmiş bir çocuk aynı alerjen ile tekrar karşılaştığında, alerjen dakikalar içinde mast hücre-IgE kompleksine bağlanır ve oluşan transmembran sinyal iletimi sonucunda mast hücre içindeki granüllerde yer alan mediatör içerikleri hücre dışına boşalır. Granüllerden, histamin, triptaz, kimaz, kininojenaz gibi vazoaktif ve inaktif pro-proteinleri aktifleyici özellik içeren mediatörler salınır. Ayrıca mast hücre membranında alerjen-IgE birleşimi sürecinde membran lipidlerinden de novo olarak birçok araşidonik asit ürünü mediatör sentezlenir (17). Astımlıların hava yollarında eosinofil, mast hücresi, bazofil ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerde artış görülür. Bu hücrelerin cys LT prekürsörü olan büyük araşidonik asid havuzları oldukları ileri sürülmüştür (50). Ayrıca astmatiklerin eosinofillerinde cys LT'leri aktif hale getiren LTC₄ sentez enziminin arttığı da gösterilmiştir (51).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda proteaz/antiproteaz dengesindeki bozulmanın da astım patogeneğinde rol oynadığı ileri sürülmüştür(52, 53). Bu dengede önemli yere sahip MMP, astımda meydana gelen yeniden yapılanmanın vazgeçilmez öğeleridir (54, 55). Bu enzimler normal şartlarda sadece hasarlanmış matriksi parçalayarak normal doku onarım dengesini sağlarken, patolojik süreçlerde artan üretimleri ve aktiviteleri uygun olmayan onarım mekanizmaları ile doku hasarı ve yeniden yapılanmaya neden olmaktadır.

Bronşiyal epitel hücrelerinin hava yolu fizyolojisinde tamamlayıcı rol oynadığı da bilinmektedir. Hava yolu hastalıklarının patofizyolojisinde epitelde yapılıp salınan ET, sitokin, kemokin ve eikosonoidlerin de rol aldığı

kabul edilmektedir. Ayrıca astım hastalığında meydana gelen lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin oluşturduğu doku hasarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Lipid peroksidasyon son ürünü olan MDA düzeyleri ölçülerek astımın derecesi hakkında bilgi edinilebilmektedir.

Astımlı çocukların tedavisinde konvansiyonel olarak kullanılan inhale antiinflamatuvar ve diğer gerekli olan antiastmatik tedavi yanında fizik aktivitenin büyük önem taşıdığı bilinmekte ve astımlılara uygun şiddette ve sürede egzersiz yapmaları önerilmektedir. Egzersiz, astım semptomlarını hafiflettiği gibi çocuğun psikososyal gelişimini ve yaşam kalitesini de yükseltmektedir. Fakat egzersizin bu etkilerini hangi mekanizmalarla meydana getirdiği tam olarak açığa kavuşmamıştır. Yapılan literatür taramalarında çocukluk çağı astım tedavisinde konvansiyonel tedaviye eklenen egzersizin yararlılığını klinik olarak gösteren çalışmalar olmasına rağmen biyokimyasal açıdan bu yararı gösteren çalışmalara rastlanamıştır.

Biz çalışmamızda astım patogenezinin ve semptomlarından sorumlu tutulan MDA, ET -1, MMP -9 ve LTE4 düzeylerini tayin ederek, çocukluk çağı astımında standart ilaç tedavisine eklenen egzersizin yararlılığını ve altında yatan mekanizmayı göstermeyi amaçladık. Çalışmamız, bir ilk olması ve astım tedavisine yeni yaklaşımlar kazandıracak olması nedeniyle önem taşımaktadır.

Çalışmamızda öncelikle sadece standart tedavi verilen ve tedaviye ek olarak egzersiz uygulanan gruplar ile kontrol grubunun demografik özelliklerini (yaş, cinsiyet) karşılaştırdık ve gruplar arasında farklılık olmadığını saptadık (Tablo 5). Ayrıca bu iki grubun çalışma başlangıcındaki alerjen deri testlerini, spesifik Ig E ve LTE4, MDA, ET-1, MMP-9 düzeylerini de karşılaştırdık ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulduk (sırasıyla p= 0.000, 0.011, 0.020, 0.000, 0.000, 0.000) (Tablo 5, 6). Bu bulgular astımlılar ile kontrol grubumuzun demografik özellikler bakımından birbirine benzer fakat biyokimyasal açıdan farklı bireylerden seçildiğini ve astımın alerjik zeminde geliştiğini göstermektedir.

Sadece standart tedavi uyguladığımız grubumuz ile tedaviye ek olarak egzersiz uyguladığımız grubumuzun demografik özelliklerini ayrıca çalışma

başlangıcındaki solunum fonksiyon testlerini, semptom skorlarını ve LTE4, MDA, ET-1, MMP-9 düzeylerini de karşılaştırdık ve anlamlı bir fark saptayamadık (Tablo 7, 10, 14). Farklılığın olmaması gruplar arasında standardizasyonun varlığını gösterdiğinden çalışmamıza ek kazanç sağlamıştır. Ayrıca sadece standart ilaç tedavisi uyguladığımız grubun tedavi öncesi ve sonrası semptom skorlarını ve solunum fonksiyon testlerini karşılaştırdık. Tedavi sonrası semptom skorlarında azalma anlamlı iken ($p=0.001$), solunum fonksiyon testlerindeki artış ise anlamlı değildi (Tablo 8). Tedaviye ek olarak egzersiz uyguladığımız grupta ise çalışma sonrasında hem semptom skorlarında hem de solunum fonksiyon testlerinden FEV1 ve FVC' de anlamlı artış saptadık ($p= 0.001, 0.02, 0.007$) (Tablo 9). İki grubun tedavi sonrası solunum fonksiyon testlerini ve semptom skorlarını karşılaştırdığımızda ise standart tedavisine egzersiz eklediğimiz grupta solunum fonksiyon testlerinden FEV1 de istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir artış ve semptom skorlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptadık ($p=0.062, 0.001$) (Tablo 11). Bu bulgular egzersizin, standart astım tedavisine ek olarak iyileşme üzerine oldukça anlamlı olumlu etkileri olduğunu desteklemektedir.

Nicolette ve arkadaşlarının astımlı 8-13 yaş arasındaki 7 çocuk üzerinde yaptığı kapsamlı egzersiz programı sonucunda akciğer fonksiyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme saptanamamış olsa da başa çıkma, özgüven, algı, atletik yeterlilik içeren psikososyal indekslerin önemli ölçüde geliştiği ve astım semptomlarının hafiflediği gösterilmiştir (48).

Goldberg ve arkadaşları yaptıkları çalışmada astımlı çocukların tedavisinde fiziksel aktivitenin büyük önem taşıdığını, egzersizin astım semptomlarını hafifleterek çocuğun psikososyal gelişimine ve hayat kalitesine önemli katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (38). Yapılan başka çalışmalarda da düzenli yapılan antrenmanlar sonucunda astım semptom skorlarında anlamlı bir azalma ve akciğer fonksiyonlarında iyileşme olduğu gösterilmiştir (56). Bu sonuçların bizim çalışmamızın bulgularıyla uyumlu olması, standart astım tedavisine eklenen egzersizin iyileşme üzerine olumlu katkı sağladığı düşüncemizi desteklemiştir.

Ayrıca çalışmamızda sadece tedavi uyguladığımız grubumuzun tedavi öncesi ve sonrası LTE4, MDA, MMP-9 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma (sırasıyla $p= 0.009, 0.001, 0.02$) ve tedavisine egzersiz eklediğimiz grubumuzda ise çalışma sonrasında LTE4, MDA ve MMP-9 düzeylerine ek olarak ET-1 düzeylerinde de anlamlı bir azalma saptadık (sırasıyla $p= 0.01, 0.001, 0.001, 0.001$) (Tablo 12, 13). Her iki grubun tedavi sonrası ve tedavi+egzersiz sonrası LTE4, MDA, MMP-9 ve ET-1 düzeylerini karşılaştırdığımızda ise sadece Endotelin düzeyleri arasında anlamlı farklılık olduğunu, egzersiz etkisiyle endotelin düzeylerinin azaldığını gördük ($p=0.007$) (Tablo 15). Çalışmamızda sadece standart ilaç tedavisi uyguladığımız grup ile ilaca ek olarak egzersiz uyguladığımız grubun son değerleri arasında sadece ET -1 düzeylerinde anlamlı azalmanın olması, standart astım tedavisine eklenen egzersizin ET -1 düzeylerini azaltarak iyileşmeye katkıda bulunduğunu ve iyileşme sürecini hızlandırdığını desteklemektedir.

Yapılan son çalışmalar, ET'nin astımda birincil rol oynadığını ve birçok patogenez ve semptomdan sorumlu olduğunu göstermiştir. ET, astımda, bronkokonstrüksiyon, mukus sekresyonu, plazma eksudasyonu ve yapısal respiratuar mukozanın yeniden yapılanmasından sorumlu tutulmaktadır (57). Ayrıca, memelilerde hava yolu düz kasında yapılan pek çok çalışmada, ET'in en potent spazmojen olduğu da kanıtlanmıştır (58). ET üretimi pek çok faktör ile düzenlenmektedir. Anjiotensin 2, arjinin vasopresin gibi endojen substansların endotelial hücre kültürlerinde ET'in üretimini arttırdığı atrial natriüretik peptid'in ise ET düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (59). Egzersiz, bu ve benzeri maddelerin salınımına etki ederek ET seviyelerini azaltmış olabilir. Astımda standart tedaviye eklenen egzersizin, en güçlü bronkokonstrüktör maddelerden biri olan ET düzeylerini azaltması, egzersizin önemini açıkça ortaya koymuştur.

Davis ve arkadaşları sağlıklı bireylerde yaptıkları çalışmada stresli ve uzun süren egzersizin orta şiddette ve kısa süreli egzersizin aksine ET-1 düzeylerini yükselttiğini saptamışlardır (60). Bu bulgular ışığında astımlıların

standart tedaviye eklenen egzersizden yarar görebilmeleri için uygun süre ve şiddette egzersiz yapmaları gerektiği açıktır.

Ackerman ve arkadaşları, astmatik ve non astmatiklerin hava yolu epitel hücrelerinde ET düzeylerini araştırmışlardır. Astmatiklerin epitelyal hücrelerinde non astmatiklere göre proinflamatuvar sitokinlerden IL-1, histamin ve ET-1 salınımının arttığını saptamışlardır (61).

Helset ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise ET'in monositlerden proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-1 ve IL-6'nın salınımını sağladığı gösterilmiştir (62).

Yapılan diğer çalışmalarda, alerjen verilmesini takiben ET1'in invitro olarak astmatik bronşiyal hücrelerinde GM-CSF salgılatarak epitel hücrelerinin myofibroblastlara dönüşümünü sağladığı ve bronşiyal subepitelyal fibrozise yol açtığı da gösterilmiştir (63).

Aoki ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, astımlı hastalardaki plazma ET-1 düzeyleri ile FEV1/FVC oranları arasında negatif korelasyon bulmuşlardır (64). Biz de çalışmamızda standart tedaviye ek olarak egzersiz uyguladığımız grupta çalışma sonrasında hem semptom skorlarında hem de solunum fonksiyon testlerinden FEV1 ve FVC' de iyileşme saptamıştık ($p=0.001, 0.02, 0.007$) (Tablo 9). Sadece ilaç alan ve ek olarak egzersiz uyguladığımız grupların çalışma sonrası solunum fonksiyon testlerini ve semptom skorlarını karşılaştırdığımızda ise tedavisine egzersiz eklediğimiz grupta solunum fonksiyon testlerinden FEV1 de istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte bir artış ve semptom skorlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptamıştık. Bulgularımız ışığında, diğer çalışmalarla uyumlu olarak solunum fonksiyon testlerindeki ve semptom skorlarındaki iyileşmelerin ET- 1 düzeylerindeki düşüş ile ilişkili olabileceğini söyleyebiliriz.

Lokal ya da sistemik etkileri ile inflamatuvar yanıtta ve astım patofizyolojisinde rol oynayan mediatörlerden biri de LT'lerdir. LTE4, LTC4'ün idrarla stabil şekilde atılan ekstrasellüler bir metabolitidir. LT yolunun aktivasyonu, idrar LTE4 düzeyinde artışa neden olur (50). Cys LT'ler birçok mekanizma ile akciğer fonksiyon kapasitesinde azalmaya neden olabilirler.

LTE4, erken faz alerjik cevapta direk olarak hava yolu düz kas reseptörüne bağlanarak bronkokonstrüksiyona, geç faz yanıtta ise hava yolu inflamasyonuna neden olmaktadır. Ayrıca, eosinofil proliferasyonunu ve adezyon moleküllerini arttırarak potent kemoatraktan olarak etkir ve sonuç olarak inflamatuvar cevabın artışına yol açar (65).

Yaptığımız literatür taramalarında astım ve LTE4 düzeylerinin egzersiz ile ilişkisini araştıran çalışmalara rastlayamasak da literatürlerde LT yolunun akut astımda aktive olduğunu ve akut astım patogenezinde LT' lerin önemli rol oynadığının ileri sürüldüğünü saptadık.

Green ve arkadaşlarının 15-46 yaş arası 146 hastada yaptığı çalışmada, akut astım atağı sırasında ve iyileşme dönemlerinde idrar LTE4 düzeyleri tayin edilmiştir. Bu çalışmada akut astım atağı sırasındaki LTE4 düzeylerinin ataktan 2 hafta sonra azaldığı hatta sağlıklı bireylerdeki değerlere gerilediği ve hastaların semptomlarının azaldığı gösterilmiştir (50). Sampson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise akut astım nedeniyle tedavi edilen çocuklarda tedavi sonrası LTE4 düzeyleri, sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. (66).

Bu verilerden yola çıkarak çalışmamızda, tedavi alan ve tedaviye ek olarak egzersiz uygulanan hasta gruplarımız ile kontrol grubumuzda üriner LTE4 düzeylerini araştırdık. Çalışmamızda, yalnızca standart tedavi uygulanan grupta tedavi öncesi ve sonrası LTE4 düzeyleri arasında ve tedavisine egzersiz eklediğimiz grubumuzun tedavi öncesi ve sonrası LTE4 düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptadık ($p=0.009$, 0.010) (Tablo 12, 13). İki grubun çalışma sonrası LTE4 düzeylerini karşılaştırıldığımızda ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptayamadık. Bulgularımız ışığında astım patogenezinden sorumlu tutulan LTE4'ün, hastalarımıza uyguladığımız inhale steroid, intermittant β_2 agonist ve Montelukast (sisteinil LT reseptör antagonisti) tedavisi sayesinde düştüğünü ve tedaviye eklenen egzersizin LTE4 düzeylerinin düşüşüne ek bir katkı sağlamadığını söyleyebiliriz. Fakat gruplarımızdaki hasta sayılarının düşük olması da sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Hasta sayısının arttırılarak konuyla

ilgili başka çalışmalar yapılması durumunda standart tedaviye eklenen egzersizin LT düzeylerine olan etkilerini daha iyi değerlendirebiliriz.

Yapılan literatür çalışmalarında inhale steroidlerin LT düzeylerini etkilemediği yönünde pek çok çalışmaya da rastlanmıştır. Osaki ve arkadaşlarının, acil servise akut astım atağı ile başvuran atopik ve non atopik astımlı hastalarda üriner LTE4 düzeylerini sağlıklı gruba göre yüksek olarak bulmaları astımın her iki tipinde de LT'lerin önemli rol oynadığını desteklemektedir. Yine bu çalışmada iyileşme dönemindeki LTE4 düzeyinin, steroid kullanımından bağımsız olarak azaldığı da ileri sürülmüştür (67). Vachier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, yine inhale steroidlerin LTE4 düzeylerini etkilemediği gösterilmiştir (68). Yapılan bir diğer çalışmada, antilökotrien ilaçların gerek diğer ilaçlarla kombine olarak, gerekse tek başına kullanıldığında astımlı hastaların semptom skorlarında ve solunum fonksiyon testlerinde düzelme sağladığı ve β_2 -agonist ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir (69) Sisteinil LT reseptör antagonistlerinin bronkodilatör etkileri çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Bu etki, cys LT'lerin düz kas spazmı gibi bilinen etkilerinin reseptör düzeyinde inhibe edilmesinin sonucudur. Bu ilaçların aynı zamanda bronş mukozasında eozinofillerin ve diğer inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu azalttığı da bazı çalışmalarda gösterilmiştir (70). Bu bilgiler ışığında LT reseptör antagonistlerinin astım tedavisinde önemli bir yeri olduğunu düşünmekteyiz. İn hale steroid ve intermittant β_2 agonist tedavisine rağmen persistan obstrüksiyonu olan hastalarda LT reseptör antagonistlerinin kullanılması tedaviye kazanç sağlayabilir.

Çalışmamızda standart tedaviye eklenen egzersiz sonrasında akciğer fonksiyonları ve semptom skorlarında saptanan iyileşmeye tedavide kullanılan cys LT reseptör antagonistlerindeki katkısının olduğunu düşünmekteyiz.

Yapılan diğer çalışmalarda cys Lökotrienlerin düzeyi ile persistan hava yolu obstrüksiyonu ve akciğer fonksiyon testleri arasında ilişki olduğu da gösterilmiştir.

Severian ve arkadaşları, atopik astımlı çocuklarda stabil dönemdeki LTE4 düzeylerini sağlıklılarla karşılaştırmışlar ve stabil astımlı çocuklarda

LTE4 düzeylerinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Yine bu çalışmada, orta ve ileri dereceli astımlılarda kontrol grubuna göre yüksek LT düzeyleri saptanmıştır. Orta ve ileri derecedeki astım hastalarının LT düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bu çalışmada bu bulguların yanı sıra üriner LTE4 ile FEV1 ve FVC arasında ters bir ilişki olduğunda gösterilmiştir (71). Rabinovitch ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, diğer çalışmaya benzer olarak LTE4'ün %5'lik artışı ile FEV1 düşüşü arasında anlamlı ilişki gözlenmiştir (72).

Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar ışığında LTE4 ölçümü ile kan alma, bronşiyal biyopsi gibi invaziv bir girişim yapmadan hava yolu inflamasyonunu değerlendirmenin mümkün olacağı, ayrıca LTE4 düzeylerinin astım semptomlarının ve akciğer fonksiyon testlerinin tamamlayıcısı olarak da kullanılabileceği kanısına vardık.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda astım patogenezinde, proteaz/antiproteaz dengesindeki bozulmanın da rol oynadığı ileri sürülmektedir (52, 53). Bu dengede önemli yere sahip MMP'ları, astımda yeniden yapılanmanın vazgeçilmez öğeleridir (54). Bronşiyal astımda en çok üzerinde durulan matriks proteazı MMP-9'dur. Yapısal hücrelerden çok inflamatuvar hücrelerden üretilen MMP-9, hava yolu inflamasyonunun yanı sıra hava yolu remodülasyonu, matrix reorganizasyonu ve düz kas hipertrofisinde de rol almaktadır. Ayrıca MMP üretimine paralel olarak fibrozisin arttığı da gösterilmiştir (55). Hava yolu yeniden yapılanması ve inflamasyonu ile öksürük, wheezing gibi astım semptomları arasında ilişki olduğu düşünülse de altında yatan mekanizma tam olarak açığa kavuşmamıştır. Yapılan bazı çalışmalarda çocukluk çağı astımında yeniden yapılanmanın ve akciğer fonksiyonlarındaki kayıpların birlikte meydana geldiğini ileri sürmektedir (73, 74, 75).

Çalışmamızda, tedaviye eklenen egzersizin yararlılığını saptamak için, astım patogenezinin ve semptomlarından sorumlu tutulan MMP-9 düzeylerini değerlendirdik. Yapılan literatür taramasında tedaviye eklenen egzersizin iyileşme üzerine olan etkilerini MMP-9 düzeyleriyle karşılaştıran çalışmaya rastlayamadık. Bu açıdan bir ilki gerçekleştiren çalışmamızda,

sadece standart tedavi uygulanan grubun tedavi öncesi ve sonrası MMP-9 değerlerinin ve tedavisine egzersiz eklediğimiz grubun tedavi+egzersiz öncesi ve sonrası MMP-9 değerlerinin farklı olduğunu saptadık (p sırasıyla.0.02, 0.001) (Tablo 12, 13). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte tedaviye ek olarak egzersiz uyguladığımız grubun MMP-9 değerlerinin daha düşük olması (p=0.06) (Tablo 15) egzersizin iyileşme üzerindeki etkilerini daha objektif olarak göstermiştir. Hasta gruplarındaki sayı artırılarak yeni çalışmalar yapıldığında MMP-9 düzeylerinin istatistiksel bir fark göstereceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda astımda standart tedaviye eklenen egzersizin MMP-9 düzeylerini azaltarak hastalığın iyileşmesine olumlu etkileri bulunduğu gösterilmiştir. Yaptığımız literatür taramaları da astımda, egzersizin MMP-9 düzeylerine olan etkilerini irdeleyen çalışmalara rastlanmasa da yapılan çalışmalar astım ve MMP-9 arasındaki ilişkiyi açıklar niteliktedir.

Çalikoğlu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, astımlı hastaların balgamlarında sağlıklı kontrollere göre MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin arttığını, ayrıca MMP-9 düzeyi ve FVC değeri arasında ise anlamlı korelasyon olduğunu saptamışlardır (76).

Ohbayashi ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada astımlı hastaların bronkoalveolar lavaj, balgam, serum gibi değişik örneklerinde MMP-9 düzeylerinin, bronşiyal biyopsi örneklerinde ise MMP-9 immün reaktivitesinin arttığını ortaya koymuşlardır (77).

Onho ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada astmatik kişilerin eozinofillerinde MMP-9 ekspresyonunun arttığı ayrıca eozinofillerin hava yolu bazal membranına göç ettiği gösterilmiş ve buna dayanarak MMP inhibisyonunun astım için yeni bir tedavi stratejisi olabileceği vurgulanmıştır (78).

Mattos ve arkadaşları, stabil astımlılarda balgam MMP-9 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğunu, tedaviden 28 gün sonra alınan örneklerde ise MMP-9 aktivitesinin düştüğünü saptamışlardır (79).

Boulay ve arkadaşları, alerjen inhalasyonundan 16-24 saat sonra aldıkları balgam örneklerinde MMP-9 düzeylerini kontrol grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptadıkları halde TIMP1 düzeylerinde değişiklik saptayamamışlardır (80).

Yapılan diğer çalışmalarda bronşektazi gibi nştrofilik infiltrasyonla ilgili solunum yolu hastalıklarında, kistik fibrozisde ve solunum yetmezliği için ventile edilen çocuklarda da MMP düzeylerinin yüksek olduğu gözlenmiştir (81).

Çalışmamızda standart astım tedavisine eklenen egzersiz sonrasında azalan MMP-9 seviyelerine ve artan solumun fonksiyon testlerine bakarak, bronşiyal hasarın ve havayolu yeniden yapılanmasının kontrol altına alındığı ve böylece hastaların semptomlarının azaldığı yorumunu yapabiliriz. MMP-9 seviyelerini düşüren MMP inhibitşrlerinin kullanılmasının astım tedavisine olumlu katkılar getireceğini söyleyebiliriz. Bu amaçla, MMP'lerin etkilerini azaltmak için MMP inhibitşrleri geliştirilmektedir. Fakat bu konuda daha kapsamlı araştırmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Astımda, inflamatuvar hücrelerin immünolojik yada nonimmnolojik uyarılması, süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi SOR üretimine neden olur (82). SOR, astımla ilgili birçok patofizyolojik proeste rol almaktadır. Düzeyleri antioksidan savunma sistemleri tarafından dengede tutulmaktadır. Bu dengenin SOR lehine bozulması protein, lipid, nükleik asit gibi önemli moleküllerde yıkıcı reaksiyonları başlatabilir SOR'a bağlı doku hasarı oluşumunda en önemli mekanizma hücre zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyona uğramasıdır. MDA, lipid peroksidasyonun son yıkım ürünüdür. Bu molekül oksijen redüksiyonu yaparak süperoksit anyon ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur, hücre ve dokularda hasarlayıcı etki meydana gelir (83).

Biz alışmamızda, astımlı hastalarda inflamatuvar sürecin ve oksidatif stresin göstergesi olan MDA düzeylerini değerlendirdik. Sadece tedavi verdiğimiz grubun tedavi öncesi ve sonrası MDA değerleri arasında ve tedavisine egzersiz eklediğimiz grubun tedavi+egzersiz öncesi ve sonrası MDA değerleri arasında anlamlı fark olduğunu saptadık (p sırasıyla 0.001, 0.001) (Tablo 12, 13). Tedavi alan grubun tedavi sonrası ile tedaviye ek olarak egzersiz yapan grubun tedavi+egzersiz sonrası MDA değerlerini

karşılaştırdığımızda ise anlamlı bir fark saptayamadık. Bulgularımız, astım hastalarına verdiğimiz tedavinin inflamasyonu kontrol altına alarak ve serbest radikal artışını engelleyerek MDA seviyelerinin düşüşüne yardımcı olduğunu, fakat tedaviye eklenen egzersizin MDA düzeylerinin azalmasına ek bir yarar sağlamadığını göstermiştir.

Rahman ve arkadaşlarının çalışmasında, akut astım atağı geçiren grupta sağlıklı gruba göre belirgin yüksek MDA düzeyleri bulunmuştur. Yine bu çalışmada, stabil astım hastalarındaki MDA düzeyleri sağlıklılara göre anlamlı yüksek bulunmuştur (84). Çalikoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmasında da stabil astımlı hastalardaki MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır (85). Tuğ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada diğer çalışmaların sonuçlarına benzer olarak astımlı hastalarda hem atak halinde hem de ataklar arası devrede serum MDA seviyeleri kontrol grubu değerlerinden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Fakat stabil dönemdeki hastalar ile atak sırasındaki hastaların MDA düzeyleri arasında ise anlamlı fark saptanmamıştır (86). Sharma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise astım hastalarında 24-48 saatlik standart tedavinin ardından MDA düzeylerinin düştüğü fakat kontrol grubuna göre yüksek kaldığı, üç haftalık semptomsuz süreyi takiben MDA düzeylerinin kontrol grubunun değerlerine yaklaştığı da saptanmıştır (87).

İncelediğimiz literatürler astım hastalarında MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ve tedaviye cevap olarak düştüğünü göstermiştir. Bu bulgular bizim çalışmamızın bulgularıyla uyumludur fakat astım tedavisine eklenen egzersizin MDA seviyelerine etkili olup olmadığının gösterilebilmesi için bu konuda ayrıntılı çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ışığında astım patogenezeninden sorumlu tutulan ET-1'in ve MMP-9'un tedaviye eklenen egzersize bağlı olarak azaldığını ve hastalığın iyileşmesi üzerinde olumlu etkiler yarattığını gösterdik. Ayrıca ilaç tedavisine eklenen egzersizin semptom skorunda ve solunum fonksiyon testlerinden özellikle FEV'1 de artış sağladığı da elde ettiğimiz bulgular arasındadır. Yapılan literatür

taramalarında çocukluk çağı astım tedavisinde konvansiyonel tedaviye eklenen egzersizin yararlılığını klinik olarak gösteren çalışmalar olmasına rağmen biyokimyasal açıdan bu yararı gösteren çalışmalara rastlayamadığımızdan bir ilk olma özelliği taşıyan çalışmamızın, daha geniş hasta gruplarıyla yapılan çalışmalarla desteklenmesi uygun olacaktır. Ayrıca çalışmamızda, egzersiz yaptırdığımız grupta, egzersiz programının devamı boyunca çocukların astım ile ilgili korkularının ve anksiyetelerinin azaldığını ve özgüvenlerinin arttığını gözlemledik. Bu bulgular bize, astımlı çocukların tedavisinde fizik aktivitenin büyük önem taşıdığını göstermektedir. Egzersizin, astım tedavisindeki yerinin öneminin aydınlanmasıyla, astım tedavisine yeni yaklaşımlar kazandıracağını düşünmekteyiz.

VI. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Astımlı çocuklar genellikle yaşadıkları olumsuz deneyimler ve astım ataklarının tekrarlayacağı korkusuyla egzersizden kaçınmaktadır. Fizik aktivitenin azalmasıyla birlikte fiziksel kondisyonları kötüleşmektedir. Sonuç olarak çocukta kendine güvende azalma, sosyal izolasyon, düşük sosyal beceri, davranışsal ve emosyonel bozukluklar ve düşük okul performansı gelişebilmektedir. Bu kısır döngünün kırılması, ailelerin ve çocukların eğitimiyle ve uygun şartlarda, sürede, şiddette egzersiz yapılmasıyla aşılacaktır.

Çalışmamızda tedaviye eklenen egzersizin yararlılığını biyokimyasal mediatörler aracılığıyla göstermeyi amaçladık. Astım patogenezinden sorumlu tutulan ET-1'in ve MMP-9'un tedaviye eklenen egzersize bağlı olarak azaldığını ve hastalığın iyileşmesi üzerinde olumlu etkiler yarattığını gösterdik. Ayrıca ilaç tedavisine eklenen egzersizin semptom skorunda ve solunum fonksiyon testlerinden özellikle FEV'1 de artış sağladığı da elde ettiğimiz bulgular arasındadır. Ayrıca çalışmamızda, egzersiz yaptırdığımız grupta, egzersiz programının devamı boyuca çocukların astım ile ilgili korkularının ve anksiyetelerinin azaldığını ve özgüvenlerinin arttığını da gözlemledik. Bu bulgular bize, astımlı çocukların tedavisinde fizik aktivitenin büyük önem taşıdığını göstermiştir.

Bu bilgilerin ışığında astımlı çocukların ailelerine astımlı olmanın spor yapmayı engelleyen bir durum olmadığı tam tersine hastalığın iyileşmesine katkı sağladığının anlatılmasını önermekteyiz. Astımlı çocukların günlük aktiviteleri içinde mutlaka egzersize yer verilmesi ve bir yaşam biçimi haline getirilmesi gerektiği çalışmamız sonucunda ulaştığımız bir gerçektir.

VII. ÖZET

Çalışmamızda astım patogenezinin ve semptomlarından sorumlu tutulan mediatörlerden, üriner Lökotrien E4 (LTE4) ile plazma Endotelin-1 (ET-1), Metalloproteinaz-9 (MMP-9), ve Malondialdehit (MDA) düzeylerini tayin ederek, astımda standart ilaç tedavisine eklenen egzersizin yararlılığını ve altında yatan mekanizmayı göstermeyi amaçladık.

Sağlıklı bireylerden oluşan 8-13 yaş grubundaki 13 çocuk kontrol grubunu, yeni astım tanısı almış ve daha önce herhangi bir astım tedavisi başlanmamış aynı yaş grubundaki 30 çocuk ise hasta gruplarımızı oluşturmak üzere çalışmaya katıldı. 15 hastaya standart olarak 250-375 µg/gün inhale flutikazon (inhale steroid), intermittant β₂ agonist ve Montelukast (sisteinil LT reseptör antagonisti) verildi (Grup 1). Diğer 15 hastaya ise aynı standart tedaviye ek olarak egzersiz programı uygulandı (Grup 2). Egzersiz, 8 hafta boyunca, dörder kişilik gruplar halinde haftada 2 kez birer saat kondisyon bisikleti ile yaptırıldı. Antrenman yoğunluğu azami kalp hızının % 80'i olarak kabul edildi. Hasta gruplarının, çalışma başlangıcındaki (tedavi öncesi ve tedavi+egzersiz öncesi) ve sonundaki (tedavi sonrası ve tedavi+egzersiz sonrası), astım semptom skorları ve solunum fonksiyon testleri [zorlu vital kapasite 1. saniyede (FEV1), zorlu vital kapasite (FVC), FEV1/FVC, zirve akım hızı (PEF)] değerlendirildi. Ayrıca hastalardan çalışma başlangıcında ve sonunda, kontrol grubundan ise çalışma başlangıcında birer kez venöz kan örneği ve 24 saatlik idrar örneği alındı. 24 saatlik idrarda LTE4 ve kreatinin düzeyleri, serum örneklerinde MMP-9, Endotelin, Ig E ve Spesifik Ig E düzeyleri plazma örneklerinde ise MDA düzeyleri ölçüldü. Çalışma verileri, SPSS 10.0 istatistik paket programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Mann Whitney U testi, Wilcoxon işaretli sıra testi, ki kare testi ile incelendi.

Tedaviye eklenen egzersiz sonucunda ET-1 düzeylerinde grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı azalma (24.2 ± 3.10 pg/ml vs 21.2 ± 2.43 pg/ml, $p= 0.007$), MMP-9 düzeylerinde (59.4 ± 11.3 ng/ml vs 50.1 ± 14.43 ng/ml, $p=0,06$) ve semptom skorunda (4.7 ± 2.10 vs 2.2 ± 1.20 , $p= 0.001$)

azalma ile solunumfonksiyon testlerinden özellikle FEV1 de (87.7 ± 19.20 vs 96.4 ± 11.38 , $p= 0.062$). anlamlı artış saptadık. LTE4, MDA, FVC, FEV1/FVC ve PEF düzeylerinde tedaviye eklenen egzersiz sonrası anlamlı fark saptayamadık.

Sonuç olarak, çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ışığında astım patogenezinin sorumlu tutulan ET-1'in ve MMP-9'un tedaviye eklenen egzersize bağlı olarak azaldığını ve hastalığın iyileşmesi üzerinde olumlu etkiler yarattığını gösterdik. Ayrıca ilaç tedavisine eklenen egzersizin semptom skorunda ve solunum fonksiyon testlerinden özellikle FEV'1 de artış sağladığı da elde ettiğimiz bulgular arasındadır. Çalışmamızda, egzersiz yaptırdığımız grupta, egzersiz programının devamı boyuca çocukların astım ile ilgili korkularının ve anksiyetelerinin azaldığını ve özgüvenlerinin arttığını da gözlemledik. Bu bulgular bize, astımlı çocukların tedavisinde fizik aktivitenin büyük önem taşıdığını göstermektedir. Egzersizin, astım tedavisindeki yerinin öneminin aydınlanmasıyla, astım tedavisine yeni yaklaşımlar kazandıracağını düşünmekteyiz.

VIII. SUMMARY

The aim of this study was to clarify the effect of the addition of exercise to medical treatment in asthma and to demonstrate underlying mechanism by determining MDA, ET-1, MMP-9 and LTE4 levels, which are accused in the pathogenesis and symptomatology of asthma.

In our study, we have use a grup of 13 healty children between 8-13 years old as the control grup. Patient grup consisted of 30 children that have been recently diagnosed as asthmatic. 15 patients (Group 1) were started on standard treatment, 250-375 µg/day inhaled fulitikazon (inhaled steroide), intermittant β₂ agonist and montelukast (cysteinile LT receptor antagonist). Remaining 15 patients (Group 2) were started to the exercise program in addition to the standard treatment. For the exercise applications, patients have undergone one-hour condition cycling twice a week for 8 weeks in 4-individual groups. Exercise intensity was minimum 80 % of the maximum heart rate. Pre-study (before treatment and prior to treatment+exercise) and post-study (after treatment and following treatment+exercise) asthma symptom score and respiratory function tests [Forced Expiratory Volume in first second (FEV1), Forced Vital Capacity (FVC), FEV1/FVC, Peak Expiratory Flow (PEF)] of patient groups were examined. Moreover, one venous blood sample and 24-hour urine sample were obtained from the control group only at the beginning of the study, two venosus blood samples and 24- hour urine samples one at the beginning and one at the end of the study from patient groups. LTE4 and creatinine levels were detected in 24-hour urine samples while, MMP-9, ET-1, Ig E and specific Ig E levels were determined in serum and MDA levels were measured in plasma samples. Study data were statistically examined by using SPSS 10.0 statistical software. Mann Whitney U test, Wilcoxon rank-order test and chi-square test were used.

When we compare group 1 and group 2 post treatment values, we found significant decreases in group 2 at ET-1(24.2 ± 3.10 pg/ml vs 21.2 ± 2.43 pg/ml, $p= 0.007$), MMP-9 (59.4 ± 11.3 ng/ml vs 50.1 ± 14.43 ng/ml, $p=0,06$) concentrations, and symptom scores. (4.7 ± 2.10 vs 2.2 ± 1.20 , $p=$

0.001) In addition, there was a significant increase in group 2 FEV 1 values compared to group1 (87.7 ± 19.20 vs 96.4 ± 11.38 , $p= 0.062$). However, we observed no significant differences in LTE4, MDA, FVC, FEV1/FVC and PEF parameters.

In conclusion, our results revealed that ET-1 and MMP-9 parameters being proposed as pathogenetic factors of asthma are, decreased by additional exercise program to the medical treatment. These findings show the beneficial effects on improvement of disease in accordance with the findings obtained in our study. Moreover, another finding is that exercise added to the medication cause to increase in respiratory function tests, especially in FEV1, and symptom scores. In the exercise group of our study, we observed that while children's fears and anxieties about asthma decreased and their self confidence increased during the exercise program. We suggest that exercise shall create new approaches for asthma treatment following the clarification of importance attributed to the exercise in asthma treatment.

IX. KAYNAKLAR

1. Blake KV. Montelukast: Data from clinical trials in the management of asthma. *Ann Pharmacother* 1999; 33: 1299-1314.
2. Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Dergisi* 2000;1: ek 1.
3. Weiss ST. Asthma: Epidemiology. In: Fishman A(ed), *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. McGraw-Hill 1998;735-743.
4. Selcuk ZT, Caglar T, Unlu T, et al. The prevalence of allergic diseases in primary school children in Edirne, Turkey. *Clin Exper Allergy* 1997;27:252-269.
5. Selçuk ZT, Çağlar T, Enünlü T, et al. Prevalence of allergic disease in primary school children in Edirne, Turkey. *Clin Exper Allergy* 1997;27:252-269.
6. Peter J. Barnes. Pathogenic Mechanisms in Asthma and COPD. *Asthma and COPD Basic Mechanisms and Clinical Management*, 1st ed., Elsevier. 2002: 343-356.
7. Kopelman GH, Meijer GG, Bleecker ER, et al. Genetics of asthma. Clark TJH, Godfrey S, Lee, TH, Thomson NC (eds) *Asthma*. Arnold, London, 2000;146-174.
8. Epidemiologic evidences for asthma and rhinitis comorbidity. *J Allergy and Clin Immunol* 2000;106 (5) 201-205.
9. Kalliomaki M, Isolauri E. Pandemic of atopic diseases – a lack of microbial exposure in early infancy? *Curr Drug Targets Infect Disord* 2002;2:193-199.
10. Umetsu DT, McIntire JJ, Akbari O, Macaubas C, DeKruyff RH. Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nat Immunol*. 2002 Aug;3(8):715-20.
11. Respiratory infections: Their role in airway responsiveness and pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1990,85:671-683.
12. Boushey HA, Cory DB, Fahy JV. Asthma. Murray JF, Nadel JA (eds) *Textbook of Respiratory Medicine*. WB Saunders Company, Philadelphia. 2000;1247-1289.
13. Medici TC, Shimid AZ, Hacki M, Wetter W. Are asthmatics salt-sensitive? A preliminary controlled study. *Chest* 1993; 104:1183-1184.

14. Miller. Buse WW, Holgate ST. Cellular and mediator mechanisms of allergic inflammation. Holgate ST, Church MK, Lichtentein LM (eds) Allergy. Mosby, London 2001;337-352.
15. Barnes PJ, Djukanovic R, Holgate ST. Pathogenesis of asthma. Gibson GJ, Geddes DM, Costabel V, Sterk PJ, Corrin B (eds). Respiratory Medicine. WB Saunders, Edinburg 2003;1212-1264.
16. Prof. Dr. M. Remzi Önder, Uzm. Dr. Burcu Barutçuoğlu Ege Üniversitesi yayınları Endotel. 2005, 9-40.
17. Costa JJ, Weller PF, Galli SJ. The cells of the allergic response: mast cells, basophils, and eosinophils. JAMA 1997; 278:1815–1822.
18. Dujukanovic R. Airway inflammation and its consequences: Implications for treatments for children and adults. Allergy Clin Immunol 2003; 109: 539-548.
19. Misso NLA, Powers KA, Gillon RL et al. Reduced platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in atopic asthmatic patients. Clin Experimental Allergy 1995; 26:838-847.
20. Tahan V, Akkaya A ve ark. Primer akciğer kanserlerinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. Tüberküloz ve Toraks Dergisi 1999;47:31-35.
21. Lanan S, Donaldson K, Brown D, McNee W. Effects of cigarette smoke and its condensate on alveolar cell injury in vitro. Am J Physiol 1994;266:92-100.
22. Onur, A.E. Defibrotidin aterojenik diyet uygulanan tavşanlarda beyin ve böbrek serbest radikal ve antioksidanlara etkisi, 1999, EÜTF Biyokimya ABD Uzmanlık Tezi.
23. R.Gavlik, D. Jabstrzebski, D. Ziora Concentration of endothelin in plasma and fluid from asthmatic patients. J Physiol Pharmacol.2006 Sep;57 Suppl 4:103-110
24. Handerson WR Jr. Role of leukotrienes in asthma. Ann Allergy 1994;72:272-278.
25. O'Byrne PM. Leukotrienes in the pathogenesis of asthma. Chest 1997;111:27-34.

26. Ennis BW, Matrisian LM. Matrix degrading metalloproteinases. *Journal of Neuro-Oncology* 1994;18:105-109.
27. Hewitt R, Dan K. Stromal cell expression of components of matrixdegrading protease systems in human cancer. *Enzyme Protein* 1996;49:163-173.
28. Ingel K Demedts, Guy G Bruselle, Ken R Bracke. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD *Current opinion in Pharmacology* 2005, 5:257-263.
29. Çalıkoğlu M, Ünlü A, Tamer L. Kronik obstrüktif akciğer hastaları ve astımlılarda indükte balgamda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri. *Tüberküloz ve toraks dergisi* 2006;54(2): 114-121.
30. Gordon JL, Drummond AH, Galloway WA. Metalloproteinase inhibitors as therapeutics. *Clinical and Experimental Rheumatology* 1993; 11(Suppl.8):91-94.
31. Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Tig April* 1990; vol.6 no.4.121-125.
32. Evans JD, Ghaneh P, Kawesha A, Neoptolemos JP. Role of Matrix Metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer. *Digestion*. 1997; 58:520-528.
33. Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NHV. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 2000; 84:654-64.
34. Nagase H, Fields GB. Human matrix metalloproteinase specificity studies using collagen sequence-based synthetic peptides. *Biopolymers (Peptid science)* 1996; vol. 40, 399-416.
35. Welgus HG. Stromelysin: Structure and function. *Progress in Inflammation Research and Therapy*. 1991; 61-65.
36. Murphy G. The regulation of connective tissue Metalloproteinases by natural inhibitors. *Progress in İnflammation Research and Therapy* 1991 35:69-76.
37. MacLean, WE, J.M Perin, S.Gortmaker, and C.B. Pierre. Psychological adjument of children with asthma: effects of illness severity and recent stressfull life events. *J. Pediatr. Psychol.* 1992;17:159-172.

38. Goldberg, B. Children, sports, and chronic disease. *The Physician and Sportmedicine* 1990;18:45-56.
39. Astımlı çocuklarda eğitimin rolü astım kampları ve astım spor ilişkisi. *Alerjik Hastalıklar Bronşiyal Astım* Editör Prof. Dr. Recep Aydilek Cilt 2, sf.37-42.
40. Eliot M, Adams L, Cockcroft A. The language of breathlessness. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:826-832.
41. Johnson D, Osborn LM. Cough variant asthma a review of clinical literature. *J Asthma* 1991;28:85-90.
42. Quackenboss JJ, Lebowitz MD, Krzyzanowski M. The normal range of diurnal changes in peak expiratory flow rates. Relationship to symptoms and respiratory disease. *Am Rev Respir Dis* 1991;143: 323-333.
43. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. NHLB/WHO workshop report. National Institutes of health. National Heart, Lung, and Blood Institute. Publication No: 02-3659, Revised 2002.
44. Menardo JL, Bousquet J. Early diagnosis of allergy in infancy. *Allergy and Clinical Immunology International* 1996.8:155.
45. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sağlıkta Birikim Dergisi Editör Doç. Dr. Cengiz Kırmaz 2005 Cilt:1 Sayı:1 78-82.
46. NHMJ van Veldhoven, A Vermer Department of Educational Sciences Children with asthma and physical exercise: effects of an exercise programme. *Clinical Rehabilitation* 2001;15: 360-370.
47. Paul T. Pianosi, and Heather S. Davis. Determinants of Physical Fitness in Children With Asthma. *Pediatrics* March 2004;vol:113, no3; 225-229.
48. Nicholette H.M.J. van Veldhoven, Jan M. Bogaard. Effect Of An Exercise Programme For Children With Asthma *Pediatric Exercise Science*, 2000, 244-257.
49. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin. Chim. Acta.* 1978;90: 37-43.

50. S A Green, M-P Malice, W Tanaka, C A Tozzi and T F Reiss Increase in urinary leukotriene LTE₄ levels in acute asthma: correlation with airflow limitation. *Thorax* 2004;2; 100-104.
51. Cowburn AS, Sladek K, Soja J, et al. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest* 1998;101:834–836.
52. Demedts IK, Brusselle GG, Bracke KR, et al. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 257-263.
53. Culpitt SV, Rogers DF, Traves SL, et al. Sputum matrix metalloproteinases: Comparison between chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Respir Med* 2005; Jun;99(6): 703-710.
54. Ohbayashi H. Matrix metalloproteinases in lung diseases. *Curr Protein Pept Sci* 2002; 3: 409-421.
55. Kelly EA, Jarjour NN. Role of matrix metalloproteinases in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 28-33.
56. Colland, V.T, Learning to cope with asthma; a behavioural self management programme for children. *Patient Education and Counseling*. 1993;22:141-152.
57. R. Gawlik, D. Jastrzebski, D. Ziora, J. Jarzab Concentration of Endothelin in Plasma and Bal Fluid from Asthmatic Patients *Journal of Physiology and Pharmacology* 2006, 57, Supp 4, 103-110.
58. Roy G. Goldie, Peter J. Henry Endothelins and Asthma. *Life sciences*, ;vol. 65, No.1, pp. 1-15,.
59. Seiji MAEDA, Takashi Miyauchi, Motoyuki Iemitsu. Resistance Exercise Training Reduces Plasma Endothelin-1 Concentration in Healthy Young Humans. *J. Cardiovasc. Pharmacol* 2004;44:s.443-446.
60. Davis PG, Ferguson MA, Alderson NL, Effect of exercise duration on plazma endotelin-1 concentration. *J Sports Med Phys Fitness* 2005,45:419-423.
61. V. Ackerman, S. Carpi, A. Bellini, G. Vassalli, M. Marini. Constitutive expression of endothelin in bronchial epithelial cells of patients with

- symptomatic and asymptomatic asthma and modulation by histamine and interleukin-1 Clin. Immunol 96 1995: 618-627.
62. E. Helset, T. Sildnes, R. Seljelid. Effect of endothelin antagonism on the production of cytokines in eosinophilic airway inflammation Mediators Inflamm 2;1993. 417-422.
63. Goldie, Peter J. Henry Endothelins and Asthma. Life sciences, 1999; vol. 65, No.1, pp. 1-15.
64. Aoki T, Kojima T, Ono A, Unishi G, Yoshijama S. Circulation Endotelin-1 levels in patients with bronchial asthma. Ann Allergy. 1994 Oct; 73(4): 365-369.
65. Braccioni F, Dorman SC, o'Byrne PM, Inman MD, Denburg JA et al. The effect of cysteinil leukotrienes on growth of eosinophil progenitors from peripheral blood and bone marrow of atopic subjects. J Allergy Clin Immunol 2002;110: 96-101
66. Sampson AP, Castling DP, Green CP, et al. Persistent increase in plasma and urinary leukotrienes after acute asthma. Arch Dis Child 1995;73: 221–225.
67. Oosaki R, Mizushima Y, Kawasaki A, et al. Urinary excretion of leukotriene E₄ and 11-dehydrothromboxane B₂ in patients with spontaneous asthma attacks. Int Arch Allergy Immunol 1997;114:373–378.
68. Vachier I, Kumlin M, Deviller P, et al. Urinary LTE₄ and EDN in untreated and steroid-dependent asthmatic patients. Eur Respir J 1996; 9: Suppl. 23, 417-418.
69. Barnes N, Wei LX, Reis TF, et al. Analysis of montelukast in mild persistent asthmatic patients with near normal lung function. Respir Med 2001;95: 379-386.
70. Nakamura Y, Hoshino M, Sim JJ, et al. Effect of leukotriene receptor antagonist, pranlukast, on cellular infiltration in the bronchial mucosa of patients with asthma. Thorax 1998;53; 835-841.
71. C. Severien, A. Artlich, S. Jonas, G. Becher Urinary excretion of leukotriene E₄ and eosinophil protein X in children with atopic asthma. Eur Respir J 2000;16: 588-592.

72. Nathan Rabinovitch, Lening Zhang, Erwin W. Gelfand, Urine leukotriene E4 levels are associated with decreased pulmonary function in children with persistent airway obstruction. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118: 635-40
73. Holgate ST, Lackie P, Wilson S, Roche W, Davies D. Bronchial epithelium as a key regulator of airway allergen sensitization and remodeling in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:113–117.
74. Sears MR, Greene JM, Willan AR et al. A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *N Engl J Med* 2003; 349:1414–1422.
75. Martinez FD. Toward asthma prevention does all that really matters happen before we learn to read? *N Engl J Med* 2003; 349:1473–1475.
76. Çalıkoğlu M., Ünlü A., Tamer L., Özgür E. Kronik obstrüktif akciğer hastaları ve astımlılarda indükte balgamda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri. *Solunum* 2002; cilt.4, sayı:4:458-462.
77. Ohbayashi H, Shimokata K. Matrix metalloproteinase-9 and airway remodeling in asthma. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 177-181.
78. Onho I, Ohtani H, Nitta Y, et al. Eosinophil as source of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 212-215.
79. W. Mattos, S. Lim, R. Russell, A. Jatakanon, K.F. Chung and P.J. Barnes, Matrix metalloproteinase-9 expression in asthma: effect of asthma severity, allergen challenge, and inhaled corticosteroids, *Chest* 122 (2002), pp. 1543–1552.
80. M.E. Boulay, P. Prince, F. Deschesnes, J. Chakir and L.P. Boulet, Metalloproteinase-9 in induced sputum correlates with the severity of the late allergen-induced asthmatic response, *Respiration* 2004, pp. 216–224.
81. G. M. Doherty w, S. V. Kamathw, F. de Courcey, S. N. Christiew, A. Chisakutaw, J. D. Lyonsw, L. G. Heaney ,M. Enis and M. D. Shields Children with stable asthma have reduced airway matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio *Clin Exp Allergy* 2005; 35:1168–1174.

82. Misso NLA, Powers KA, Gillon RL et al. Reduced platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in atopic asthmatic patients. *Clin. Experimental Allergy* 1995;26:838-847
83. Şahin Ü, Tahan V, Akaya A ve ark. Primer akciğer kanserlerinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 1999;47;31-35.
84. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, McNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smoker. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1055-1060.
85. Barnes PJ. Reactive oxygen species and airway inflammation. *Free Radic Biol Med* 1990;9;235-243.
86. Tuncer Tuğ, Selim Murat Terzi, Necati Sarı, Nemci Özdemir. Akut Atak ve Stabil Dönemdeki Astımlı Hastalarda Lipid Peroksidasyonu ve Eritrosit Katalaz Düzeylerinin Değerlendirilmesi. *Solunum* 2004 vol:6, sayı:5, sayfa 220-225.
87. Sharma A, Bansal S, Nagpal RK. Lipid peroxidation in bronchial asthma. *Indian J. Pediatr.* 2003 Sep;70(9):715-717.