

Allerjik Rinit Hayvan Modeli ve Balın Allerjik Rinit Üzerinde Tedavi Edici Etkisi

Animal Model of Allergic Rhinitis and Therapeutic Effect of Honey in Allergic Rhinitis

¹Seda Türkoğlu Babakurban, ²Erkan Yurtcu, ¹Selim S Erbek

¹Başkent Üniversitesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Ankara
²Başkent Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Özet

Allerjik rinit hastalığının patofizyolojisinin açıklanması ve tedavisinde kullanılabilecek alternatif etken maddelerin bulunabilmesi amacıyla çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Literatürde allerjik rinit semptomlarını iyileştirmeye yönelik kullanılan maddelerden biri de baldır. Balın bu etkiyi gerçekleştirme mekanizması henüz açıklanamamıştır. Bu çalışmada allerjik rinit hastalığı modelini sıçanlar üzerinde oluşturup, allerjik rinit hastalığı tedavisinde balın etkinliğini değerlendirmek amaçlanmıştır. 6 adet sıçandan 0.5 cc venöz kan alındıktan sonra allerjen olarak 25 µg ovalbumin, 2.5 mg alüminyum hidroksit distile su içinde 0, 7, ve 14. günlerde intraperitoneal yolla sıçanlara verilerek sensitizasyon sağlandı. Bir hafta sonra 7 gün boyunca her bir nazal pasaja 50 mikrogram ovalbumin intranasal yoldan verilerek allerjik rinit semptomlarının ortaya çıkışı sağlandı. Deney başlangıcındaki ve sonundaki serum IgE değerleri spektrofotometrik olarak belirlendi. İntranasal ovalbumin verilmeden 30 dakika önce 3 adet sıçana 1 gr/kg dozunda bal su ile karıştırılarak gavaj yoluyla verildi. 7. günün sonunda intranasal ovalbumin çözeltisi verildikten sonra bal verilen grup ile bal verilmeyen grup arasında hayvanların burun kaşıma ve hapşırıkları 10 dk izlenerek sayılıp, gruplar arasında karşılaştırıldı. Bal verilen grupta kaşıntı skorları ve hapşırık skorları daha düşük saptandı, ancak bu fark istatistiksel anlamlı değildi (p=0,513; p:0,127). İki grup arası serum total IgE değerleri arasında istatistiksel anlamlılık tespit edildi (p=0.046). Ovalbumin kullanılarak sıçanlarda 1 ay içinde allerjik rinit modeli oluşturulabilmektedir. Balın serum IgE düzeyinde yaptığı değişiklik ve allerjik rinit semptomları üzerindeki etkisi nedeniyle allerjik rinit tedavisinde diğer tedavilere alternatif veya ek bir tedavi olabileceği ve bu ön çalışmadan yola çıkarak daha ileri çalışmalar yapılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Allerjik rinit, ovalbumin, bal

Abstract

Numerous animal models are developed in order to describe pathophysiology of the allergic rhinitis and to find alternative treatment. One of the substances used in the literature to improve the symptoms of allergic rhinitis is honey. Mechanisms of honey to accomplish this effect have not yet been explained. In this study, the aim was creating allergic rhinitis in rats, and evaluating the efficacy of honey in the treatment of allergic rhinitis disease. 0.5 cc venous blood sample was taken from 6 rats. To provide sensitization, 25 µg ovalbumin, dissolved in 2.5 mg aluminum hydroxide, was injected to rats via intraperitoneal way on 0,7, and 14th days. After one week, to give rise the symptoms of allergic rhinitis, 50 µg ovalbumin were given intranasal during 7 days. 30 minutes before giving intranasal ovalbumin, 1gr/kg honey dissolved in the water was given by gavage. At the beginning and end of the experiment, serum IgE levels were determined by spectrophotometry. On the last day of the experiment the number of itching nose and sneezing of rats was counted for 10 min and compared between two groups. Itching nose and sneezing scores were lower in the honey-treated group, but this difference was not statistically significant (p= 0.513; p= 0.127). Statistical significance was found between serum total IgE levels between the two groups (p= 0.046). Allergic rhinitis model in rats using ovalbumin can be achieved within 1 month. Honey changed the serum IgE levels and symptoms of allergic rhinitis. Due to the these results of preliminary study , honey can be an alternative treatment besides other treatment modalities for allergic rhinitis and further studies can be done in the future.

Key words: Allergic rhinitis, ovalbumin, honey

GİRİŞ

Allerjik rinit çevresel etkenlere karşı spesifik IgE yanıtı ile oluşan immünojik bir hastalıktır. Majör kronik respiratuar bir hastalık olan allerjik rinit ile ilgili popülasyon çalışmalarına bakıldığında allerjik rinit görülme sıklığının %25-35 oranında olduğu belirtilmektedir ve insidansı özellikle gelişmekte olan ülkelerde giderek artmaktadır. Bu artış hijyen hipotezi ile açıklanmaktadır (1). Ancak allerjik rinit patogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Allerjik rinit tedavisinde günümüzde

antihistaminik, steroid, anti-IgE antikor tedavileri uygulanmaktadır. Ancak bu ilaçların da ciddi yan etkileri olabilmektedir. Allerjik rinit hastalığının hem patofizyolojisinin açıklanması hem de tedavisinde kullanılabilecek alternatif etken maddelerin bulunabilmesi amacıyla çeşitli hayvanlar üzerinde allerjik rinit modelleri geliştirilmiştir (1). Literatürde allerjik rinit semptomlarını iyileştirmeye yönelik kullanılan maddelerden biri de baldır. Balın bu etkiyi gerçekleştirmesinin mekanizması net olmakla beraber immünoşüpresif etkisi ile IgE aracılı hipersensitiviteyi baskılayarak

alerji semptomlarını azalttığı düşünülmektedir (2). Farelerde ovalbumin spesifik IgE antikor seviyesinin birçok farklı bal çeşidi kullanılarak, süprese edildiği gösterilmiştir (3). Bu proje bir ön çalışma olarak dizayn edilmiştir ve sıçanlar üzerinde alerjik rinit modeli oluşturularak balın alerjik rinit semptomları üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylandı (Proje no: DA13/53), Başkent Üniversitesi Araştırma fonunca desteklendi ve National Research Council tarafında yayınlanan laboratuvar hayvanlarını koruma ve kullanma kılavuzuna uygun olarak yapıldı. Çalışmada 6 adet, ortalama 100 gr ağırlığında 5-6 haftalık S. Dawley sıçan kullanıldı. Çalışmanın başlangıcında 6 adet sıçandan 0.5 cc venöz kan alınıp, serum kısmı ayrıştırılarak çalışma sonuna kadar -20 °C'de saklandı. Allerjen olarak 25 mikrogram ovalbumin (Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri) ve 2.5 mg alüminyum hidroksit (Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri) 0.75 cc distile su içinde çözüldükten sonra 0, 7 ve 14. günlerde intraperitoneal yolla sıçanlara verilerek sensitizasyon sağlandı. Ardından bir hafta sonra 7 gün boyunca her bir burun deliğine 50 mikrogram ovalbumin 61,25 mikrogram distile su içinde çözüldükten sonra intranasal yoldan verilerek alerjik rinit semptomlarının ortaya çıkışı sağlandı. Sıçanlar tedavi verilen ve verilmeyen olarak iki gruba ayrıldı. İntranazal ovalbumin verilmeden 60 dk önce 3 adet sıçana 1 gr/kg dozunda bal su ile karıştırılarak gavaj yoluyla verildi. 7. günün sonunda bal verilen grup ile bal verilmeyen grup arasında hayvanların burun kaşıma ve hapşırıkları en son verilen ovalbumin dozundan sonra 10 dakika izlenerek sayılıp, gruplar arasında karşılaştırıldı. 7. günde en son intranasal ovalbumin verildikten 24 saat sonra 6 adet sıçandan tekrar 0.5 cc venöz kan alınıp, serum kısmı ayrıştırıldı. Başlangıçtaki ve deney sonundaki serumda IgE düzeyleri ELISA kit (Abcam, Cambridge, UK) kullanılarak belirlendi.

İstatistiksel analiz

Bu çalışma bir ön çalışma olarak planlandığı için örneklem sayısı hesaplanması ve güç analizi yapılmamıştır. Bu durum çalışmanın istatistik gücünü azaltmıştır ancak buna rağmen gruplar arası farklılıklar Mann Whitney U testi kullanılarak analiz edilmiş ve p değerinin 0.05 altında olması anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

İki grup alerjik rinit semptomları açısından karşılaştırıldığında; bal verilmeyen grupta ortalama kaşıntı sayısı 42,33/10 dakika iken bal verilen grupta 39,0/10 dakika olarak belirlendi. Bal verilen grupta kaşıntı skoru daha düşük saptandı, ancak istatistiksel anlamlı değildi (p=0.513) (Tablo 1). Bal verilmeyen grupta hapşırık sayısı 99,33/10 dakika iken bal verilen grupta 68,67/10 dakika olarak belirlendi. Bal verilen grupta hapşırık skoru daha az saptandı, ancak istatistiksel anlamlı değildi (p=0.127) (Tablo 1). İki grup serum total IgE düzeyleri açısından karşılaştırıldığında; deney sonunda bal verilmeyen grupta ortalama serum total IgE düzeyi 8,33 ng/

ml, bal verilen grupta ise 3,3 ng/ml olarak belirlendi. Bu iki değer arası farklılık istatistiksel anlamlı idi (p=0.046). Bal verilmeyen grupta deney sonunda ölçülen total serum IgE düzeyi, deney başlangıcında ölçülen total serum IgE düzeyinden daha yüksekti. Bal verilen grupta ise deney sonunda ölçülen total serum IgE düzeyi, deney başlangıcında ölçülen total serum IgE düzeyinden daha düşüktü (Tablo 1).

TARTIŞMA

Allerjik rinit, insidansı giderek artan atopik hastalıklar arasında en sık görülenidir. Alerjik rinit tedavisinde, sorumlu spesifik allerjenden korunma ilk ve en önemli konudur. Eğer korunma mümkün değilse veya yetersiz kalıyorsa, ilaç tedavisine geçilmesi gerekmektedir. İlaç tedavisinde antihistaminikler, lökotrien inhibitörleri, sistemik ve topikal steroidler, kromolin sodyum, dekonjestanlar gibi çeşitli gruplarda ilaçlar kullanılır (1). Ancak uygun ilaç ve çevre kontrolünün yetersiz kaldığı durumlarda ise immünoterapi kullanılmaktadır. Literatürde alerjik rinit patofizyolojisini ve bazı ilaçların etkilerini araştırmak için alerjik rinit modeli oluşturularak birçok hayvan deneyi yapılmıştır. Hayvan deneylerinde alerjik rinit oluşturmak için çeşitli allerji yapıcı maddeler kullanılmıştır. Bu maddelerden en sık kullanılanı 'chicken egg albumin' (yumurta beyazı albumini) olarak adlandırılan ovalbumin ve Japon sedir ağacı polenidir. Kayasuga ve ark. (4) fareler üzerinde yaptığı çalışmada immünizasyon için ovalbumini önce intraperitoneal ardından intranasal olarak kullanmışlar ve ovalbumin verilen grupta nazal mukozada eozinofil artışını tespit etmişlerdir. Yasui ve ark. (5) ise yine kobaylarda ovalbumini bir hafta ara ile iki kez aerosolize olarak uygulayarak sensitizasyon yapmışlar ve Tromboxane A₂'nin kobaylarda antijenin indüklediği nazal plazma eksudasyonunda histamin kadar etkili olduğunu göstermişlerdir. Makino ve ark. (6) yaptığı çalışmada sedir ağacı poleni ile kobaylarda sensitizasyon yaparak 'Gyokuheifu-san' (GHS) isimli maddenin alerjik rinitte koruyucu ve tedavi edici etkilerini değerlendirmiştir. Polen inhalasyonundan sonra hayvanlarda hapşırık, burunda kaşıntı ve gözde yaşarma gibi alerjik rinit semptomları ortaya çıkmış, fakat GHS ile tedavi edilen grupta daha az hapşırık saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara paralel olarak ovalbumin ile önce intraperitoneal sonra intranasal olarak uygulanarak alerjik rinit modeli oluşturulmuş ve ardından balın alerjik rinit semptomları üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir.

Allerjik rinit, atopik dermatit, bronşial astma gibi atopik hastalıklarda, ortak çevresel antijenlere karşı cevap olarak IgE üretimi artmaktadır. Biz de çalışmamızda ovalbumin sensitizasyonu sonrasında total IgE düzeyinin arttığını ve bal verilen grupta bu düzeyin azaldığını gördük. Alerjik rinit tedavisinde birçok farklı grup ilaç kullanılmaktadır. Bal ise alerjik rinit semptomlarını azalttığı düşünülen yaygın bir yiyecektir. Asha'ari ve ark. (2) yaptıkları çalışmada yüksek dozda balın (1g/kg) standart tedavi ile beraber 4 hafta süreyle verilmesinin alerjik rinit semptomlarında kontrol grubuna göre belirgin azalma gösterdiğini saptamışlardır. Duddukuri ve ark. (3) ise farelerde ovalbumin ile sensitizasyon sonrası balın

Tablo 1. Serum total IgE düzeyleri ve alerjik rinit semptom skorları

	Deney başlangıç total serum IgE (ng/ml)	Deney sonu total serum IgE (ng/ml)	Hapşırık sayısı /10 dakika	Kaşıntı sayısı /10 dakika
Bal verilmeyen	7.91	8.33	99.33	42.33
Bal verilen	10.41	3.3	68.67	39.0
p değerleri	0.346	0.046	0.127	0.513

IgG değerlerinde düşüş yarattığını göstermişlerdir. Balın bu etkisinin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber immünoşüpresif etki ile IgE antikor cevabını azalttığı, IgE aracılı mast hücre aktivasyonunu azalttığı, Th1/Th2 cevabını düzenlediği ve antiinflammatuar etkisi ile allerjik rinit semptomlarını azalttığı düşünülmektedir (2). Biz de çalışmamızda balın total serum IgE değerlerinde anlamlı düşüş yarattığını, allerjik rinit semptomlarında azalma yarattığını gösterdik.

Sonuç olarak, ovalbuminin intraperitoneal ve intranasal kullanılarak sıçanlarda oluşturulan allerjik rinit modelinde, bal total serum IgE düzeylerinde düşüşe ve allerjik rinit semptomlarında azalmaya neden olmuştur. Ancak bu çalışma bir ön çalışma olarak planlandığı ve örneklem sayısının da bu nedenle çok az olması sebebi ile yeterli istatistiksel güce sahip değildir. Bu nedenle balın allerjik rinit üzerindeki etkilerinin açıklanabilmesi için daha geniş çaplı çalışmalar gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Shin JH, Kim SW, Park YS. Role of NOD1-mediated signals in a mouse model of allergic rhinitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2012;147(6): 1020-26.
2. Asha'ari ZA, Ahmad MZ, Jihan WS, Che CM, Leman I. Ingestion of honey improves the symptoms of allergic rhinitis: evidence from a randomized placebo-controlled trial in the East Coast of Peninsular Malaysia. *Ann Saudi Med* 2013;33(5):469-75.
3. Duddukuri GR, Kumar PS, Kumar VB, AthotaRR. Immunosuppressive effect of honey on the induction of allergen-specific humoral antibody response in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;114:385-88.
4. Kayasuga R, Iba Y, Hossen M, Watanabe T, Kamei C. The role of chemical mediators in eosinophil infiltration in allergic rhinitis in mice. *International Immunopharmacology* 2003; 3:469-73.
5. Yasui K, Asanuma F, Arimura A. Inhibitory effect of a TP-receptor antagonist, S-1452, on antigen-induced nasal plasma exudation in guinea pig model for allergic rhinitis. *Pharmacology* 2001;63:65-70.
6. Makino T, Ito Y, Sasaki S, Fujimura Y, Kano Y. Preventive and curative effects of Gyokuheifu-san, a Formula of traditional Chinese medicine, on allergic rhinitis induced with Japanese cedar pollens in kobay. *Biol Pharm Bull* 2004;27(4):554-8.