

DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS ve D.FARINAE ANTİJENLERİ İLE YAPILAN İMMÜNÖTERAPİNİN EXVİVO DEĞERLENDİRİLMESİ

EXVİVO EVALUATION OF IMMUNOTHERAPY WITH DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS AND D.FARINAE

Dr. Salih ÇANAKÇIOĞLU*, Dr. İrfan KÜÇÜK*, Dr. Nail YILMAZ**

K.B.B. ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi 1 : 115-119

ÖZET: *Dermatophagoides pteronyssinus ve D.farinae antijenleri ile yapılan immünoterapide ex vivo değerler tedavi öncesinde ve sonrasında değerlendirildi. Nazal eozinofilide anlamlı azalma bulundu ($p < 0.05$). Serum total IgE değerinde fark görülmedi. ($p > 0.05$). Serum spesifik IgE değerlerinde ise artış tespit edildi ($p < 0.05$). Serum total IgG, IgA ve IgM değerleri ise immünoterapi sonrasında normal sınırlar içersinde kaldı.*

Anahtar Sözcükler: *İmmünoterapi, Dermatophogoides pteronyssinus.*

SUMMARY: *Pretreatment and posttreatment ex vivo values has evaluated in immunotherapy which done with Dermatophagoides pteronyssinus and D. farinae antigens. Nasal eosinophilia showed meaningful decrease ($p < 0.05$). We did not find any difference between levels of serum IgE ($p > 0.05$). We found increase in serum specific IgE levels ($p < 0.05$). Serum total IgG, IgA, and IgM levels after immunotherapy found in normal borders.*

Key Words : *Immunotherapy, Dermatophagoides pteronyssinus.*

GİRİŞ

Sürekli allerjik rinitlerin etyolojik ajanı olan Dermatophagoides pteronyssinus (Dp) ve D.farinae (Df) dünyada en yaygın ve insanlarda en fazla antijenik stimülüs uyandıran türleridir.

Yüzyılın başında Noon ve Freeman tarafından başlatılan immünoterapi çalışmaları 1940'lardan sonra ex vivo laboratuvar tekniklerinin gelişmesi nedeni ile daha objektif verilerin elde edilmesine olanak sağlamıştır. IgE'nin keşfi ile spesifik antikorun tayini immünoterapide başarıyı artıran en önemli etken olmuştur.

* İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kulak-Burun-Boğaz Anabilim Dalı, Allerji Merkezi

** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Pnömoftizyoloji Anabilim Dalı, İmmünositoloji Laboratuvarı. İSTANBUL

Bu araştırmanın amacı Dp ve Df antijenleriyle yapılan immünoterapide ex vivo yöntemlerle elde edilen sonuçları, diğer araştırmalarla değerlendirmektir.

YÖNTEM VE GEREÇLER

Hasta Seçimi: Bu çalışmaya, 1989-1991 yıllarında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz Anabilim Dalı Allerji Merkezine başvuran ve yapılan tetkikler sonucunda sürekli allerjik rinit tanısı konan 30 hasta dahil edilmiştir. Çalışmaya özellikle, immünoterapi görmemiş, son 4 aydır hiçbir anti allerjik ilaç kullanmamış, şikayetlerinin süresi minimum 2 yıl olan ve Dp-Df spesifik IgE skoru 3 ve üzerinde olan hastalar alınmıştır.

Serum Total IgE Tayini: İ.Ü. CTF Pnö-

mofitziyoloji A.B.D. İmmünositoloji laboratuvarında Enzim İmmüno Assay (EIA) yöntemi ile serum total IgE tayini immünoterapi öncesinde ve sonrasında yapıldı. Ölçümden önce serum total IgE'yi yüksek gösterecek olan parazit değerlendirilmesi redifiye edildi. Total IgE'nin EIA yöntemi ile ölçümünde Ventrex test kitleri kullanıldı.

Serum Spesifik IgE Tayini : Spesifik IgE tayini immünoterapi yapılmasına karar vermede ve etkinliğini değerlendirmede çok önemli parametredir. Bu nedenle, her hastanın immünoterapi öncesi ve sonrası D.pteronysinus ve D.farinae allerjenlerine karşı serum spesifik IgE tayini İ.Ü. CTF Pnömoftizyoloji A.B.D. İmmünositoloji laboratuvarında Ventrex test kitleriyle enzim immünoassay yöntemi kullanılarak yapıldı. Spesifik IgE sonuçlarının değerlendirilmesi Tablo 1'de görülmektedir.

Spesifik IgE Skoru	Spesifik IgE değerleri	Spesifik IgE Konsantrasyonları
0	500	Tayin edilemez
0/1	501-750	Çok düşük
I	751-1600	Düşük
II	1601-3600	Orta derecede
III	3601-8000	Yüksek
IV	8001-18000	Çok yüksek
V	18001-40000	Çok yüksek
VI	>40000	Çok yüksek

İmmünolojik Parametreler : Tüm hastalara, immünoterapi öncesi ve sonrasında İ.Ü. CTF Merkez Laboratuvarında blokan antikor tayinini saptamak için, RIA yöntemiyle serum total IgG ölçümü, ayrıca aynı yöntemle serum total IgA, total IgM ölçümü yapıldı.

Nazal Smear: Her hastanın immünoterapi öncesi ve sonrasında sağ ve sol burun boşluğu materyali sümkürme yöntemiyle lamaların üzerine yayılarak İ.Ü. CTF Pnömoftizyoloji A.B.D. İmmünositoloji laboratuvarında Hansel metodu ile değerlendirildi.

Mikroskopla eozin boyası alan eozinofillerin, polimorfonükleer lökositlerin total sayısına oranı her iki lamda ayrı ayrı tespit edilerek, bunların % değerlerinin ortalaması tek bir skor olarak yorumlandı, %20'nin üzerindeki eozinofil sayısı nazal eozinofili olarak kabul edildi.

İmmünoterapi: Dp ve Df allerjenlerine karşı Allergofarma Firmasından sağlanan solüsyonlar, end point titrasyon dilüsyon tekniğiyle haftalık aralarla 6 ay süresince 4 ayrı şişede uygulandı. Bu uygulamada herbiri bir diğerinin 10 katı değişen dozlardaki şişeler en küçük doz olan 0.05 mi den başlanarak 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 mi dozlarda allerji merkezimizce bizzat tatbik edilerek hastalar 30 dakika süreyle gözetim altında bulunduruldu.

İstatistiksel değerlendirme : Exvivo tetkiklerin tedavi öncesi ve sonrası değerlendirilmesinde Student-t testi kullanıldı.

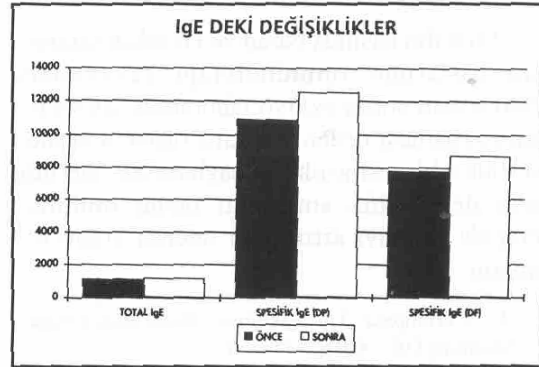
Serum total IgA, IgM ve IgG değerleri normal sınırlar içinde bulunduğundan test edilmedi. Araştırmamızda istatistiksel güvenlik düzeyi 0.05 alınmıştır.

BULGULAR

Dp ve Df antijenleri immünoterapisi 30 hastaya uygulandı. Exvivo tetkikler tedavi öncesi ve sonrasında ayrı ayrı değerlendirildi.

Serum Total IgE : Hastaların immünoterapi öncesi ve sonrası değerleri Tablo 2, Grafik 1'de görülmektedir.

	Total IgE	Spesifik IgE (D.P)	Spesifik IgE (D.F)
İmmünoterapi Öncesi	1115.90+2464.16	10894.23+7053.81	7787.16+6653.41
İmmünoterapi Sonrası	1175.76+2322.27	12526.66+6993.54	8721.66+7086.90
Karşılaştırma Sonucu	T=0.3032 P>0.05	T=1.9932 P<0.05	T=1.8917 P<0.05



GRAFİK 1 : SERUM TOTAL-SPEŞİFİK IG E DAĞILIMLARI

Serum Spesifik IgE : İmmünoterapi öncesi ve sonrası belirlenen serum spesifik IgE değerleri Tablo 2, Grafik 1'de sunulmuştur.

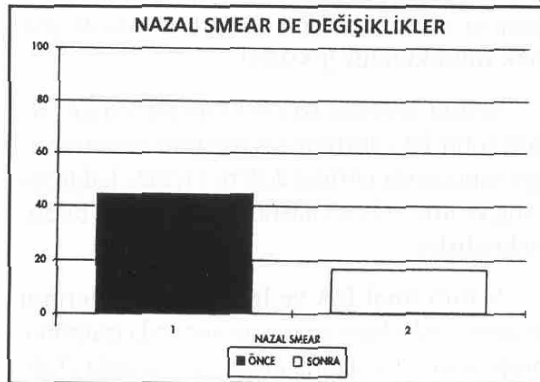
İmmünolojik Parametreler : Tablo 3'de serum total IgA, IgG, IgM değerleri bulunmaktadır.

	İmmünoterapi Öncesi	İmmünoterapi Sonrası
IgG mg/dl	1471.73 + 254.37	1288.83 + 235.24
IgA mg/dl	254.96 + 78.94	275.96 + 140.42
IgM mg/dl	201.4 + 99.08	178.66 + 85.87

IgG, IgA, IgM sonuçları
Normal değerler
IgG : 800-1800 mg/dl
IgA : 90-450 mg/dl
IgM : 65-250 mg/dl

Nazal Smear : Sağ ve sol burun deliklerinden ayrı ayrı alınan nazal smear sonuçları Tablo 4, Grafik 2'de görülmektedir.

	Nazal Smeardeki Eozinofil Yüzdesi
İmmünoterapi Öncesi	44.70 + 30.28
İmmünoterapi Sonrası	16.83 + 13.87
Karşılaştırma Sonucu	T = 7.5356 P < 0.05



GRAFİK 2 : NAZAL EOZİNOFİLİ DAĞILIMI

TARTIŞMA

Yaklaşık olarak 50000 tür içeren ev tozu keneleri içerisinde, en fazla klinik öneme sahip olan ve insanlarda antijenik etkisi yüksek olan D. pteronyssinus ve D. farinae'dir. Bunun dışındaki D. microceras, E. maynei vb. birkaç tür da-

ha antijenik özelliğe sahip olmasına rağmen, dünyada yaygın olarak bulunmamaktadır (15).

Sürekli allerjik rinitlerin en önemli allerjenlerinden olan bu iki ev tozu kenesi türünün immünoterapisindeki özelliklerini, etkilerini ve sonuçlarını karşılaştırarak değerlendirmek amacıyla 1989-1992 yılları arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kulak-Burun-Boğaz Anabilim Dalı Allerji Merkezimizde Dp ve Df allerjenlerine karşı spesifik antijen cevabı bulunan hastaların, yapılan 6 aylık başlangıç immünoterapi sonuçlarının klinik, ex vivo değişimleri tedavi öncesinde, tedavi süresinde ve tedavi sonrasında değerlendirildi.

Günümüzde çalışmalarda kabul edilen nazal smear'deki %20 oranı çalışmamızda sınır olarak kabul edildi. (Tablo IV, Grafik 2). Tedavi öncesi %44 olan ortalama, tedavi sonrasında %16 olarak tespit edildi. Bu aradaki fark ise anlamlıydı (p>0.05).

Fadal ve Nalebuff (4) ev tozu kenelerine karşı yaptıkları endpoint dilüsyon immünoterapi tekniğinde nazal eozinofili cevabının %22'den, tedavi sonrasında %14'e düştüğünü bildirmektedirler. Sasaki ve Ark., (15) ev tozu antijenlerine karşı yaptıkları immünoterapi sonrası nazal smear'de eozinofillerin azaldığını hatta kaybolduğunu tespit ettiler. Biz ise başka bir araştırmamızda, immünoterapi sonucunda nazal eozinofili de azalma bulduk. Bu bulgumuz istatistiksel olarak anlamlı idi (p>0.05) (3).

Hastalarımızın serum total IgE değerleri Tablo 2, Grafik 1'de görülmektedir. Bu fark test edildiğinde istatistiksel anlamlılık bulunamadı (p>0.05).

Bu konuda yapılan çalışmalara baktığımızda, total serum IgE düzeyleri immünoterapi tedavisiyle değişiminin anlamlı olmadığı görülmektedir. Ancak uzun süreli immünoterapi (2 yıl ve daha fazla) tedavisi sonuçlarında anlamlı farklar bulunabilmektedir.

Katellaris ve Ark. (12) 2 yıllık immünoterapi tedavisinden sonra serum total IgE düzeyinin kontrol grubundan anlamlı olarak daha az olduğunu serum total IgE düzeyinde değişiklik bulamamışlardır (p>0.05). Pauli ve ark. (14)

yaptıkları D.pteronysinus immünoterapisinde 2., 6., 12., aylarda serum total IgE de anlamlı değişiklik bulamadılar ($p>0.05$). Bizde yaptığımız başka bir araştırmada immünoterapi sonrası serum total IgE düzeyinde anlamlı değişiklik bulamadık ($p>0.05$)(3).

Atopik hastalıkların teşhisinde ve tedavisinde spesifik antikorun belirlenmesi hastalığın prognozu açısından son derece önemlidir. Bu sebeple, allerjik hastalıklarda cilt testleriyle saptanan spesifik antijenlerin serum IgE antikor titrasyonları RAST ve EIA gibi tekniklerle, serumda, nazal veya bronş sekresyonlarında ölçülmektedir (4). Klasik bilgilere baktığımızda yeterli immün cevap oluşturulmuşsa serum spesifik IgE cevabının azalması gerekmektedir.

Bu konudaki araştırmaları incelediğimizde, Bousquet ve ark. (2) mevsimsel allerjik rinitli 25 hastaya çayır polenleriyle yaptıkları immünoterapi sonrasında serum spesifik IgE cevabında artış tespit ettiler. Haahtela ve ark. (7) mevsimsel allerjik rinitli 58 hastaya çayır polen ekstratlarıyla yaptıkları 3 yıllık immünoterapi sonucunda ilk 6 ayda spesifik IgE de önce artış, fakat ikinci ve üçüncü yılın sonunda ise anlamlı bir azalma bulmuşlardır. Georgitis ve ark. (5) ise 50 çayır polenli hastaya yaptıkları immünoterapi sonucunda serum spesifik IgE cevabındaki artışı anlamlı buldular ($p>0.001$). Hedlin ve ark. (8) kediye allerjik 32 hastada 3 yıllık immünoterapinin ilk yılında serum spesifik IgE cevabının anlamlı düzeyde arttığını ($p>0.001$), ikinci yılın sonunda ise azaldığı ($p>0.01$) bildirmektedir. Gramer ve ark.(6) 50 hastalık serilerinde 6 aylık tedavi sonucunda serum spesifik IgE cevabında anlamlı değişiklik olmadığını ve bu sonucunda Bruce ve ark. nin sonuçlarıyla uyumlu olduğunu bildirmektedirler. Litwin ve ark. (10) ragweed immünoterapisi sonucunda serum spesifik IgE cevabında artış tespit ettiler, fakat bu cevabı istatistiksel anlamlı bulamadılar.

Çalışmamızda serum spesifik IgE antikor tayinini EIA yöntemiyle tespit ettik. Dp ve Df allerjenlerinde spesifik antikor seviyesini immünoterapi öncesinde ve sonrasında olmak üzere iki kez değerlendirdik. Sonuçlar Tablo 2, Grafik 1'de görülmektedir. İmmünoterapinin altıncı ayı sonunu da Dp ve Df antijenleri serum

spesifik antikor cevabındaki artmayı istatistiksel olarak test ettiğimizde anlamlı bulduk ($p>0.05$). Neuchrist ve ark. (13) da Dp ve Df antijenleriyle yaptıkları immünoterapi sonucunda 6. ve 12. aylarda serum spesifik IgE düzeylerinde anlamlı artış tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Bousquet ve ark. (1) Dp allerjili 20 hastalı çalışmalarında, serum spesifik IgE düzeyinde kısa süreli (6 ay) immünoterapi sonunda anlamlı bir değişiklik bulamadılar. Loriga ve ark. (11) da 26 hastalık serilerinde ev tozu kenelerine karşı yaptıkları immünoterapinin altıncı ayı sonunda spesifik IgE cevabındaki değişikliğin anlamlı olmadığını bildirmektedirler.

IgG antikorları serumda dön ayrı subgrup olarak bulunmaktadır. Bu antikorlardan IgG4 serum total IgG'nin %4'ünü oluşturur. Bu nedenle spesifik olarak yapılan çalışmalarda aslında bu spesifik IgG4 seviyesindeki değişimlerin vurgulanmasının sonuçları yansıtmakta daha gerçekçi olacağı beklenmektedir. Çalışmamızda serum total IgG seviyesi Tablo 3'de görüldüğü gibi normal değerler içersindedir.

Pauli ve ark. (14) Df allerjeni immünoterapisi sonucunda 2., 6. ve 12. aylarda serum spesifik IgG (IgG4) antikorlarında anlamlı bir artış tespit ettiler. Aynı sonuçları Bousquet'in (1) Dp antijeni immünoterapisi sonuçlarında da görmek mümkündür ($p<0.01$).

Serum spesifik IgG'deki artışa karşın, serum total IgG antikor seviyesinin immünoterapi sonucunda normal değerler içinde kaldığını Yang ve ark. (17) 95 hastalık serilerinde bildirmektedirler.

Serum total IgA ve IgM parametrelerinin de değerlendirdiğimiz araştırmamızda immünoterapi öncesi ve sonrasındaki sonuçlarla (Tablo 3) serum total IgG gibi normal sınırlar içersinde kalmıştır. Bu sonuçlar Yang ve ark. nin (17). Katelaris ve ark. nin (9) sonuçlarıyla aynı paraleldedir.

Çalışmamızda, elde ettiğimiz exvivo sonuçları bize 6 aylık immünoterapi tedavisinin, organizmanın spesifik antijene karşı verdiği immün cevabın farklılığını, bu fark ise, cevabın patogenezinin daha tam aydınlatılmadığı hipo-

tezini desteklemektedir. Ayrıca, immünoterapinin devamı ile birinci ve ikinci yıl sonundaki ex vivo sonuçların daha anlamlı olacağıda beklenmektedir.

Yazışma Adresi: Dr. Salih Çanakçıoğlu
İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
KBB Anabilim Dalı, Allerji Merkezi
İSTANBUL

KAYNAKLAR

1. BOUSQUET, J., CALVAYRAC, P., B., HEJJAOU, A., DHIVERT, H., HEWITT, B., MICHEL, F.B.: Immunotherapy with a standardized dermatophagoides pteroyssinus extract. *J. Allergy Clin. Immunol* 76:734-44, 1985.
2. BOUSQUET, J., MAASCH, H., MARTINOT, B., HEJJAOU, A., WAHL, R., MICHEL, F.B.: Double-blind, placebo, controlled immunotherapy with mixed grass-pollen allergoids. *J. Allergy Clin. Immunol* 82:439-446, 1988
3. ÇANAKÇIOĞLU, S.: Allerjik rinitte tedavi (immünoterapi ve ketotifen) sonuçlarının karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. İstanbul, 1986.
4. FADAL, R.G., NALEBUFF, D J.: A study of optimum dose immunotherapy in pharmacological treatment failures. *arch. Otolaryngol* 160:38-43, 1980.
5. GEORGTISS, J.W., REISMAN, R.E., CLAYTON, W.F., MUELLER, U.R., WYPYCH, J.L., ARBESMAN, C.E.: Local intranasal immunotherapy for grass-allergic rhinitis. *J. allergy Clin. Immunol* 71:7176, 1983.
6. GRAMMER, L.C., SAUGHNESSY, B.S., MARTHA, A., PATTERSON, R.; Asthma as a variable in a study of immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol* 73:557-560, 1984.
7. HAHTELA, J., WIHL, J.A., MUNCH, E., VTLKKA, V., HAGELUND, C.H., WATSON, H.K.: Hyposensitization in hay fever with grass pollen extracts: A three-year study comparing a dialyzed alum adsorbed extract with Allpyrall. *Annals of Allergy* 52:355-362, 1984.
8. HEDLIN, G., LONNEVING, V.G., HEILBORN, H. LILJA, G., MOORLIND, K., PEGELOW, K., SUNDIN, B. LOWENTEN, H.: immunotherapy with cat and dog dander extracts. *J. Allergy Clin. Immunol* 87:955-964, 1991.
9. KATELARI, C.H., WALLS, R.S.: A Study of possible ili effects from prolonged immunotherapy in treatment of allergic diseases. *Annals of Allergy* 53:257-261, 1984.
10. LETWIN, A., FESÇE, J., FISCHER, T., MICHAEL, M.: Regulation of the human immune response to ragweed pollen by immunotherapy. A controlled trial comparing the effect of immunosuppressive peptic fragments of shart ragweed with standart treatment. *Clin. and Exp. Allergy* 21:457-465, 1991.
11. LORIGA, R.L., PEREZ, L., SANTIAGO, V., CALDEREN, Z., CASALS, H., CASAGUANA, M.: Evaluation of immune parametres (including IgG1) during immunotherapy. *Allergol. Immunopathol. (madr)*, 17:119-27, 1989.
12. MERINEY, D.K., KOTHARI, H., CHINOY, D, GRTECO, M.H.: The clinical and immunologic efficacy of immunotherapy with modified ragweed extract (allergoid) for ragweed hay fever. *Annals of Allergy* 56:34-38, 1986.
13. NEUCHRIST, C., EBNER, H., HAVALEC, L., KRAFT, D.: Comparative studies of the effectiveness of specific immunotherapy in house dust mite allergy. *Wien Klin Wochenschr*, 4:504-511, 1989, (Eng. Abs.).
14. PAULI, G., BESSOT, J.C., BİGOT, H., DELAUME, G., HORDLE, D.A.: Clinical and immunologic evaluation of tyrosine-adsorbed Dermatophagoides pteronyssinus extract: A double-blind placebo-controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol* 74:524-535, 1984.
15. SASAKI, Y., ARAKI, A., KOCA, K.: The mast cell and eosinophil in nasal secretion. *Annals of Allergy* 39:106-108, 1977.
16. SOLOMON, V.R., MATHEWS, K.P.: Aerobiology and inhalant Allergens. in Middleton, E., Reed, C.E., Ellis, E.F., *Allergy: Principles and Practice*, vol 2, eh 53, pp:1143-1202, The C.V. Mosby Company, 1983.
17. YANG, W.H., DORVAL, G., OSTERLAND, K., GLNORE, N.J.: Circulating immune complexed uring immunotherapy. *J. Allergy Clin. Immunol* 63:303-307, 1979.