

ANTI-ALLERJİK ÖLÇÜSÜNÜN DEĞERLENDİRİLMESİ

POTASYUM HUMAT ÖZELLİKLERİ

Justin John Gandi

Yüksek Lisans Derecesi için gerekli şartları yerine getirerek sunulan tez
Sağlık Bilimleri Fakültesi Eczacı İlişkisel Anabilim Dalı Eczacı İlişkisel Doktorası
Pretoria Üniversitesi'nde.

Ocak 2007

süpervizör: Profesör CE Medlen
Eczacı İlişkisel Anabilim Dalı ,
Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Pretoria Üniversitesi.

İÇİNDEKİLER

Soyut	5
Özet	7
teş ekkürler	9
Tablo listesi	10
Rakamları n listesi	12
Kı saltmalar	13
Bölüm 1: Literatür Taraması	16
1.1. Giriş	16
1.1.1. Alerjik rinit	16
1.1.2. eozinofiller	16
1.1.3. bazofiller	17
1.1.4. nö trofiller	18
1.1.5. sitokinler	19
1.1.6. hümik asitler	20
Amaç ve hedefler	22
Bölüm 2: Malzemeler ve yöntemler	24
2.1. Klinik çalış ma	24
2.1.1. birincil sonuç	
2.1.2. İkincil sonuç	24
2.1.3. Çalış ma planı ve yanı tı n değerlendirilmesi	24
2.1.4. sonuç parametreleri	25
2.2. Deri delme testi	26
2.3. eozinofil değerlendirmesi	27
2.3.1. Malzemeler	27
2.3.2. boyama yöntemi	27

2.3.3. derecelendirme yöntemi	28
2.4. bazofiller	28
2.4.1. Beckman Coulter Alerjenite Kiti	28
2.4.1.1. Kullanım amacı	28
2.4.1.2. Özet ve açıklama	28
2.4.1.3. Malzemeler	31
2.4.1.4. test prensibi	32
2.4.1.5. Yöntem	33
2.5. sitokin tahlili	36
2.5.1. FlowCytomix insan Th1/Th2 10pleks	36
2.5.1.1. Kullanım amacı	36
2.5.1.2. Özet	36
2.5.1.3. Malzemeler	37
2.5.1.4. test prensibi	38
2.5.1.5. Yöntem	38
2.6. Nötrofil yapışma testi	41
2.6.1. Malzemeler	41
2.6.2. Yöntem	44
Bölüm 3: Sonuçlar	47
3.1. Güvenlik testi	47
3.2. Toplam semptom puanı	50
3.3. Deri delme testi	50
3.4. eozinofil sayısı	51
3.5. Nötrofil yapışma testi	52
3.6. bazofiller	55
3.7. sitokin seviyeleri	55
Bölüm 4: Tartışma	57

4.1. Güvenlik testi	57
4.2. Toplam semptom puanı	57
4.3. Deri delme testi	57
4.4. eozinofiller	58
4.5. nötrofiller	59
4.6. bazofiller	60
4.7. sitokinler	61
Bölüm 5: Sonuç	63
Bölüm 6: Referanslar	64

ÖZ

Turbadan elde edilen humatın anti-enflamatuar özellikleri olması na rağmen, sapropeller ve mumya tanınmalarını gösteren, anti ile ilgili herhangi bir klinik çalışmaya yapılmamıştır. Kömürden elde edilen humatın enflamatuar etkileri. Leonardit humatı karşılaştırıldı. İki grupta bir sıçan modelinde temas aşırı duyarlılığına baskılamada prednizolon ile olumlu bir şekilde.

Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı tarafından hazırlanan bir rapora göre Ürünlerin toksisite çalışmaları (Şubat 1999), linyit kömüründen çıkarılan hümkik asitler 1g/kg vücut ağırlığı kadar yüksek oral dozlarda kronik bir çalışmada sıçanlar üzerinde toksik etki görülmedi, farelerde hümkik asitlerin ağızdan uygulanması ndan sonra LD50 rapor edilmiştir. 11g/kg BW'den büyük olmak. Bu rapor yakın zamanda ayrı bir kuruluş tarafından onaylanmıştır.

ders çalışması.

Bu çalışmanın amacı, ilacın güvenliğini ve terapötik etkinliğini belirlemektir. saman belirtilerini ve semptomlarını azaltmada oral potasyum humat (Humiboost™) çimen poleni mevsiminde atopik hastalarda ateş. Bu paralel çift körlü plasebo kontrollü faz II çalışması nda potasyum humat, rastgele bir şekilde atanmıştır. Akut atopik hastalarda (n = 40) günde bölünmüş dozlar halinde 1.8 g'lık doz saman nezlesi belirtileri belirlemek için kan ve burun örnekleri kullanıldı. Potasyum humatın güvenliği/ve bazofil aktivasyonu, sitokin seviyeleri üzerindeki etkileri ve eozinofil migrasyonu. Anti-alerjik olduğunu belirlemek için bir deri prick testi kullanıldı. üzerindeki etkilerini belirlemek için semptom skoru ölçeği kullanılmıştır. saman nezlesi belirtileri.

Latrobe vadisi potasyum humat™'nin klinik güvenliği kanıtlanmıştır. Bu çalışmada cilt delme testi sonuçları nda ve eozinofilde önemli bir azalma ile doğrulandı. Bu ürünün kesinlikle anti-inflamatuar ve ayrıca anti-alerjik olduğunu sayar. özellikler, ancak toplam semptom skoru ile anlamlı bir fark olmaması nedeniyle henüz alerjik rinit semptomlarını hafiflettiği kanıtlanmıştır. önemli değil nötrofil yapışma testi ile ilgili olarak farklılıklar gözlemlendi, bu nedenle potasyum humatın daha spesifik bir anti-alerjik etkiye sahip olduğunu düşündürür. İle etki mekanizması na bakıldığında, etkisine ilişkin umut verici sonuçlar bulunmaktadır.



IL-4, IL ekspresyonunu azaltarak eozinofillerin toplanması ve aktivasyonu
5, IL-8 ve IL-1 β , istatistiksel anlamlı lı ğa ulaş masa da.

Anahtar kelimeler: Hümik asit, alerjik rinit, eozinofiller, bazofiller, sitokinler,
nötrofiller, iltihaplanma.

ÖZET

Turbadan elde edilen humatı n anti-enflamatuar özellikleri olması na rağmen, sapropel ve mumya zaten tanı mlanmı ş olması na rağmen, anti ile ilgili herhangi bir klinik çalı ş ma bulunmamaktadır . Linyitten elde edilen humatı n inflammatuar etkileri yapı lmamı ş tı r. göre bir önceki çalı ş ma, leonarditten türetilen hümatı n Bir sı çan modelinde temas aş ı rı duyarlı lı ğı nı n baskı lanması .

"Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı " tarafı ndan hazı rlanan bir rapora göre Ürünler üzerinde toksisite çalı ş maları " (Ş ubat 1999) humien emin, ne linyitten ekstrakte edildi, oral olarak sı çanlarda yapı lan kronik bir çalı ş ma sı rası nda hiçbir toksik etkisi olmadı . 1g/kg vücut ağı rlı ğı kadar yüksek dozlar. Rapora göre farelerde LD50, hümik asitlerin oral uygulaması ndan sonra, 11 g/kg vücut ağı rlı ğı ndan fazla. Bu rapor yakı n zamanda ayrı bir çalı ş mada doğrulandı .

Bu çalı ş manı n amacı , ilacı n güvenliğini ve terapötik etkinliğini değerlendirmektir. potasyum humat (Humiboost®) ve etkinliğini belirlemek için sı rası nda atopik bireylerde saman nezlesi belirti ve semptomları nı belirlemek çim ve polen sezonunu azaltı r. Bu paralelde, çift kör, plasebo kontrollü faz II çalı ş ması potasyum humat, baş ı na 1.8 g'lı k bir dozajda randomize edilmiş tir. gün, saman nezlesi semptomları olan atopik hastalara (n=40) uygulandı . kan ve Potasyum humatı n güvenliğini ve/veya etkinliğini test etmek için nazal örnekler kullanı lmı ş tı r. bazofil aktivasyonunu, sitokin seviyelerini ve eozinofil gö çünü belirlemek için. Ayrıca bir levha sı rası nda humatı n anti-alerjik aktivitesini belirlemek için kullanı lan prick testi Saman nezlesi semptomları üzerindeki etkilerini ölçmek için semptom skor ölçeği kullanı ldı . belirlemek

Latrobe vadisinden potasyum humatı n klinik güvenliği bu çalı ş madadı r. kanı t. Bu çalı ş ma ayrıca esas olarak deri iğnesinden sonuçlar elde etti. test ve eozinofil sayı ları , potasyum humatı n kesinlikle antiinflammatuar olduğunu doğrular ani-alerjik aktivitelere sahip olmanı n yanı sıra. Toplam semptom skoru durumunda ancak, bunun semptomları olduğunu kanı tlayacak anlamlı bir fark yoktu. alerjik rinit düzelmez. Daha fazla anlamlı fark gözlenmedi nötrofil yapı ş ma deneyine gelince, potasyum humatı n

daha spesifik bir anti-alerjik etkiye sahiptir. Etki mekanizması na gelince iş e alı mı nı n ve aktivasyonunun olduğunu ö ne süren umut verici gözlemler yaptı .
eozinofiller, Il-4, Il-5, Il-8 ve
Il-1 β , bu istatistiksel olarak anlamlı olmasa da.

Anahtar terimler: Muminik asit, saman nezlesi, eozinofiller, bazofiller, sitokinler, nötrofiller,
ve iltihaplanma.



TEŞ EKKÜRLER

Aş ağı daki kiş ilere en içten teş ekkürlerimi ve takdirlerimi sunmak isterim:

Danı ş manları m, Profesörler Connie Medlen, Jacques Snyman ve Dr. Ronel Meeding, tüm rehberlikleri, eleş tirileri ve bilgileri için.

Bayan Maryna Steinmann, yönetimiyle ilgili tüm yardı mları için klinik çalı ş ma.

Tüm katkı ları ve katkı ları için Dr. Duncan Cromarty, Dr. Gisela Jooné ve Margo Nell laboratuvarla ilgili tüm iş lere iliş kin bilgi ve gerektiğinde hücre hatları .

İstatistiklerle ilgili tüm katkı ları için Profesör Piet Becker.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1

Tam kan sayımı için patoloji sonuçları (HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, NE, LY, MO, EO, BA ve PLT), karaciğer (alkalin fosfataz ve gama GT) ve böbrek (sodyum, potasyum, kreatinin, üre ve urat) fonksiyon testleri tedavi edilen ve plasebo grubunun çalışması ndan önce ve sonra elde edilen hastalar (sf 48).

Tablo 2

Tedavi edilen ve plasebo gruplarını n çalışması ndan önceki ve sonraki toplam semptom skorları (pg 50).

Tablo 3

Muamele edilmiş vs.'nin çalışması ndan önce ve sonra kabartı ölçümleri (mm cinsinden çap) deri delme testlerine göre plasebo grupları (sf 51).

Tablo 4

Alınan yaymalarda eozinofil varlığı nı n derecesi (derecelendirme sistemi kullanılarak) tedavi edilen vs plasebo grupları .

Tablo 5

Potasyum humatının istirahat ve uyarılmış nötrofillerin adezyonu üzerindeki etkileri artan konsantrasyonlarda işlendiğinde BHK 238-1 hücre hattına yapılmış potasyum humat (sf 53).

Tablo 6

Potasyum humatının istirahat ve uyarılmış nötrofillerin adezyonu üzerindeki etkileri artan konsantrasyonlarda işlendiğinde BHK 333-1 hücre hattına yapılmış potasyum humat (sf 54).

Tablo 7

Aktive edilenlerin yüzdesindeki farka göre plasebo ve tedavi edilen gruplar tedaviden önce ve sonra bazofiller (sf 55).

Tablo 8

Denemeden önce ve sonra Th1 sitokinlerinin ortalama ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla (sf 56).

Tablo 9

Denemeden önce ve sonra Th2 sitokinlerinin ortalama ortalamaları ve standart sapmaları sırasıyla (sf 56).

Ş EKİL LİSTESİ

Ş ekil 1

Tam kan sayı mı için patoloji sonuçları (HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, NE, LY, MO, EO, BA ve PLT), karaciğer (alkalin fosfataz ve gama GT) ve böbrek (sodyum, potasyum, kreatinin, üre ve urat) fonksiyon testleri bunlar plasebo grubunda yapı ldı (sayfa 49).

Ş ekil 2

Tam kan sayı mı için patoloji sonuçları (HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, NE, LY, MO, EO, BA ve PLT), karaciğer (alkalin fosfataz ve gama GT) ve böbrek (sodyum, potasyum, kreatinin, üre ve urat) fonksiyon testleri potasyum humatla tedavi edilen grupta yapı ldı (sf 49).

Ş ekil 3

Potasyum humatı n istirahat ve uyarı lmı ş nötrofillerin adezyonu üzerindeki etkileri artan konsantrasyonlarda iş lendiğinde BHK 238-1 hücre hattı na yapı ş ma potasyum humat (sf 53).

Ş ekil 4

Potasyum humatı n istirahat ve uyarı lmı ş nötrofillerin adezyonu üzerindeki etkileri artan konsantrasyonlarda iş lendiğinde BHK 333-1 hücre hattı na yapı ş ma potasyum humat (sf 54).

KISALTMALAR LİSTESİ

ALP	Alkalin fosfataz
ANKOVA	kovaryans analizi
ANOVA	varyans analizi
İLE	Alerjik rinit
OLUMSUZLUK	bazofiller
BHK	Bebek hamster böbrek fibroblastları
BW	Vücut ağırlığı
CCR3	Kemokin kompleman reseptörü 3
CD	Farklılaşma kümesi
CRE	kreatinin
CR3	Tamamlayıcı Reseptör 3
CRTH2	Timus yardımcı hücresi 2 üzerindeki kemoatraktan
DMEM	Dulbecco'nun değiştirilmiş Eagle ortamı
DMSO	dimetil sülfoksit
DNBF	2,4-dinitro-florobenzen
DP	Prostaglandin D reseptörü
ECP	Eozinofil katyonik protein
EDTA'lı	Etilendiamintetraasetik asit
EO	eozinofiller
EPX	Eozinofil proteini X
FBI	Floresan boncuk immün testi
FITC	Floresan izotiyosiyanat
g	Gram/Yerçekimi
GGT	gama-glutamin transaminaz
HBSS	Hanks dengeli sodyum solüsyonu
HCT	hematokrit
HGB	Hemoglobin
HIV	İnsan bağışıklık eksikliği virüsü
ICAM	Hücre içi adezyon molekülü
IFN	interferon
IgE	İmmüoglobulin E
IgG	İmmüoglobulin G

ONLAR	İnterlökün
K	Potasyum
Kilogram	Kilogram
L	Litre
LD	Ödürücü doz
LT	lökotrien
LY	lenfositler
MCH	Ortalama hücre hemoglobini
MCHC	Ortalama hücre hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama hücre hacmi
ul	mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MO	monositler
ÇÜNKÜ	Mieloperoksidaz
O	Sodyum
HAYIR	nötrofiller
HAYIR	nötrofil elastaz
NF	nükleer faktör
deniz mili	Nanometre
OKB	O-fenilendiamin
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PBS	Fosfat tamponlu salin
bilgisayar	fospotidilkolin
ÜZERİNDE	polietilen
PGD	prostaglandin
PLT	trombositler
PMA	Forbol miristat asetat
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
RANTES	Aktivasyon üzerine düzenlenen normal T hücresi ekspresyon edilir ve salgılanan
kırmızı kan hücreleri	Kırmızı kan hücreleri
rcf	bağımlı santrifüj alanı



RDB	Reaktif seyreltme tamponu
DMV	kırmızı hücre dağılım genişliği
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SD	Standart sapma
SPT	Deri delme testi
Tc	Timus sitotoksik hücreleri
TGF	tümör büyüme faktörü
inci	T yardımcı lenfosit
TNF	Tümör nekroz faktörü
Vfin	son cilt
vs	E karşı
WBC	Beyaz kan hücresi

BÖLÜM 1 LİTERATÜR İNCELEMESİ

1.1. Giriş

1.1.1. Alerjik rinit

Alerjik rinit, diğer alerjik hastalıklarla yakından ilişkili olan inflamatuvar bir hastalıktır. Koşullar ve sistemik bir bağışıklık bozukluğunun yerel bir tezahürü olarak görülebilir (Holgate, 1999). Ani alerjik tepkiler ağrılı olarak histamindir.

Aracıları ve sulu burun akıntısı, nazal veya oküler kaşıntı gibi semptomları açıklar ve hapşırma. Geç yanıtı daha karmaşık ve sistemik bir bağışıklık içerir.

Daha sonra burun tıkanıklığı, yorgunluk vb. semptomlara yol açan aktivasyon.

IL-4, 5 gibi kemokinlerin tipik ekspresyonu ile temel olarak Th2 tipi bir reaksiyon,

6, 8 ve 13, eotaksin ve RANTES'in yanı sıra adezyon moleküllerinin yukarı regülasyonu

ICAM-1 ve P-selektin (Elias ve diğerleri, 2003).

Başarılı tedavi, yalnızca lokal semptomların belirti ve semptomlarını bastırmak değildir.

Atopik hastalıkların tezahürlerini değil, aynı zamanda temel immün serbestleşmeyi ele almak için

Daha eksiksiz ve kalıcı bir tedavi oluşturmak için. Bugüne kadar, tedaviler

esas olarak topikal veya sistemik antihistaminikler, glukokortikosteroidler ve dekonjestanlar.

Tüm bu ilaçlar nispeten pahalıdır ve lokal veya sistemik

yan etkiler ve ayrıca anormal bağışıklık tepkisini nedensel olarak ele almaz.

1.1.2. eozinofiller

Doku eozinofillerinin birikmesi, alerjik rinitin karakteristiğidir.

eozinofiller olmayan bireylerin nazal mukozasında nadiren bulunur.

atopik ve burun semptomları yok. Eozinofillerdeki artışlar hem

burun mukozasını lamina propria ve epiteli (Bredde ve diğerleri, 1993, 1995,

Bentley ve diğerleri, 1992, Jacobson ve diğerleri, 1999) ve geri kazanımları da

nazal lümen örnekleri (Andersson ve diğerleri, 1989, Pipkorn ve diğerleri, 1988, Salib ve diğerleri, 2005).

Aktif alerjik rinit sınırsızda, artan birikimin bir kombinasyonu olduğu görülmektedir. doku eozinofillerinin sayısı ve yoğun degranülasyon, yüksek düzeyde ekstraselüler üretim. eozinofil granül ürünlerinin hedef dokuda birikmesi. Bunlarla karşılaşılması doku değişiklikleri, eozinofil aktivasyonunun nazal lümen belirteçlerinde değişiklikler vardır (Ahlstrom-Emanuelsson ve diğerleri, 2004). Nazal lavaj tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada mevsimsel rinit eozinofil sayısı 20 kat artış göstermiştir. Polen sayımlarını yakından takip eden polen mevsimi boyunca lavaj sıvısı ve hastaların belirti skorları (Pipkorn ve ark. 1988).

Eozinofillerin, eozinofillerle ilişkili inflamatuvar ve sitotoksik olaylara aracılık ettiği düşünülmektedir. bronşiyal astım, rinit ve ürtiker dahil olmak üzere alerjik bozukluklar (Gleich ve ark., 1993, Kroegel ve diğerleri, 1994). Bu yorum çok yerleşik olanla uyumludur. hipereozinofilik disfonksiyonların açığa çıkması olduğu gözlemler doku hasarı, özellikle endomiyokardiyal fibroz (Wardlaw ve diğerleri, 1995).

Eozinofil granülü, önceden oluşturulmuş oldukça toksik katyonik proteinlerin bir spektrumunu kapsar. yapabildiği majör temel protein ve eozinofil katyonik protein dahil hedef hücrelerin zar yapısını bozarak doku hasarına neden olur (Gleich ve ark., 1993). Eozinofiller ayrıca PAF, lökotrien C4, Enflamasyona neden olabilen aktif oksijen türleri ve çeşitli sitokinler, hava yolunun önemli bileşenleri olan bronkokonstriksiyon ve mukus hipersekresyonu alerjik işlev bozukluğu (Weller, 1994). Proinflamatuvar efektör işlevi Eozinofiller, birikmiş çok sayıda çalışmada desteklenmiştir. 1980'ler boyunca.

1.1.3. bazofiller

Araştırma, bazofillerin alerjik hastalılardaki olası rolüne dair içgörüyü sağlamıştır. ve patojenlere karşı bağımlılık. En önemlisi, bazofillerin hızla büyük miktarlarda düzenleyici sitokinler interleukin IL-4 üretir (Brunner ve ark., 1993; Arock ve diğerleri, 1993) ve IL-13, (Li ve diğerleri, 1996; Gibbs ve diğerleri, 1996; Ochensburger, 1996) CD40L'nin (Yanagihara) kurucu ifadesi ile birlikte ve diğerleri, 1998; Gauchat ve diğerleri, 1993) ve CCR3 (Uguccioni ve diğerleri, 1997) yüzeylerinde, efektör hücreler olarak bilinen rollerinin ötesine geçen spekülasyonları körikledi. IgE aracılı reaksiyonlar.

Bazofillerin ayrı ca doğrudan indükleyerek alerjide önemli bir rol oynadığı öne sürülmüş tür. T hücrelerinden bağımsız olarak B hücrelerinde IgE izotipine geçiş. Üretilen bazofiller varlığında kültürasyondan sonra insan göbek kordonu kanı mononükleer hücrelerinden uygun sitokinlerin, tespit edilebilir CD40L seviyelerini ifade ettiği ve IgG4'ü indüklediği ve Alerjenle uyarıldı. Bu durumda B hücrelerinde IgE sentezi. IgE indüksiyonu IL-4 ve IL-13'ün monoklonal ile nötralize edilmesiyle sentez tamamen iptal edildi antikorlar veya çözünür CD40 ile CD40L (Yanagihara ve arkadaşları, 1998). Bu yüzden IL-4 ve IL-13'ün ana kaynağı olarak bazofillerin ve Yapısal olarak CCR3 ve CD40L'yi yüzeylerinde ifade etmek, önemli bir rol oynayabilir. Ancak astım ve diğer alerjik durumların patolojisindeki rolü hafife alınmıştı.

1.1.4. nötrofiller

Nötrofiller, kemokinler, süperoksit salarak iltihaplanmaya katkıda bulunabilir. anyon ve granüler enzimler. Epitel astarındaki sıvılarda nötrofil elastaz (NE) hava yollarını hücre dışı matrisin yapılarını tahrip ettiği bildirilmiştir. tir, daha fazla enflamatuar sitokin salınmasını (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β) indükler ve klinik belirtiler üretir (Teran ve diğerleri, 1997; Nadel ve diğerleri, 1999; Gadek ve diğerleri, 1979). Nötrofiller ayrıca lipidler (LTB4, PAF, TXA2, LTA4), proteazlar (elastaz, kolajenaz, MMP-9), mikrop öldürücü ürünler (laktoferrin, MPO, lizozim), reaktif oksijen ara ürünleri (süperoksit, H2O2, OH $^-$) ve nitrik oksit (Sampson, 2000).

Bu sitokinlerin ek bir nötrofil alımı ve hiper getirmesi muhtemeldir. cevaplanabilirlik. Ancak, büyük miktarlarda salma potansiyelleri nedeniyle histotoksik ve diğer proinflamatuar ajanlar, bu hücre ayrıca önemli doku yaralanmasına neden olur. Bu nedenle uygunsuz veya aşırı aktivasyon in vivo nötrofiller, çok çeşitli patojenlerin patogeneğinde yer almıştı. inflammatuar hastalıklar (Brezilya ve diğerleri, 2005).

Nötrofiller büyük miktarlarda LTB4 üretir ve ayrıca onun öncüsü LTA4'ü salgırlar. Nötrofil, hava yolu yapısal hücrelerine apozisyonda olduğunda, LTA4 LTB4'e veya çok güçlü bir bronkokonstriktör olan LTC4'e dönüşür (Sala et al., al., 1997). LTB4, nötrofiller, eozinofiller, monositler için güçlü bir kemoatraktandır.

ve fibroblastlar. LTB4 ayrı ca nükleer faktör (NF)-kB'yi de aktive eder (Stankova ve ark., 1992), IL-5, IL-6 ve IL-8'in sentezini teşvik eder (Yamaoka ve diğerleri, 1993) ve B hücrelerinde IgE sentezini arttırır (Yamaoka ve diğerleri, 1994). LTB4'ün damlatılması insan hava yolları 4 saat sonra nötrofiliye yol açar (Martin ve diğerleri, 1991). Ek olarak, nötrofiller, alerjen tehdidinin ardından akciğere giren ilk hücre tipidir (Smith ve diğ., 1992; Teran ve diğerleri, 1995; Casale ve diğerleri, 1997). Eozinofillerin aksine, nötrofiller, alerjen tehdidinin ardından geçicidir.

1.1.5. sitokinler

Th1 ve Th2 hücreleri birbirini antagonize eder, alerjik enflamasyon

Th2-sitokinlerin Th1-sitokinlere göre baskınlığı (Romagnani, 2000).

Böylece Th2 hücrelerinin nazal mukozaya infiltrasyonu, alerjik hastalıklarda tarif edilmiştir (Yanagihara ve diğerleri, 1998; Ying ve diğerleri, 1994). Th2 hipotezine göre

alerjide Th2 hücreleri IgE sentezini desteklerken Th1 hücreleri IgE sentezini inhibe eder.

Bu karşıt etkilere diferansiyel sitokin üretimi neden olur. Th2 hücreleri

IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13'ü salgırlar, ancak interferon (IFN)-y'yi salgılamaz.

Th1 hücreleri IL-2, IFN-y ve tümör nekroz faktörü (TNF)-α salgırlar, ancak Th2- salgılamaz.

sitokinler. Th2-sitokinleri, IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-13, IgE üretimini düzenler

ve büyüme, oysa IL-4 ve IL-5, eozinofillerin ve IL-4, IL-9'un aktivasyonunu düzenler

ve IL-10, mast hücrelerinin ve bazofillerin aktivasyonunu düzenler. yerel ifadesi

Alerjik rinitte Th1- ve Th2-sitokinleri de karşıt olarak incelenmiştir (Linden ve diğerleri, 1995; Durham ve diğerleri, 1996; Pawankar ve diğerleri, 1996; Klimek ve diğerleri, 1999; Benson ve diğerleri, 2000).

sonuçlar (Linden ve diğerleri, 1995; Durham ve diğerleri, 1996; Pawankar ve diğerleri, 1996; Klimek ve diğerleri, 1999; Benson ve diğerleri, 2000).

al., 1999; Benson ve diğerleri, 2000).

Nazal sıvılarla ilgili iki çalışmada, IL-4/IFN-y oranları okul çağındaki çocuklarda daha yüksekti.

sağlıklı kontrollere göre alerjik rinit (Benson ve ark., 1997, 2000). ayrıca

Th2 hipotezini destekleyen Th2 sitokinleri, artan

burun biyopsilerinde ve sıvılarda eozinofillerin, ECP ve IgE'nin varlığı, ancak nötrofillerin bulunmaması

alerjik riniti olan hastalardan (Ying ve diğerleri, 1994; Benson ve diğerleri, 1997, 2000;

Cameron ve diğerleri, 2000)

Th1- ve Th2-sitokinler, nazal mukozadaki diğer hücreler tarafından salgılanabilir. CD8+ T hücreleri, NK hücreleri, B hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri, bazofiller ve epitel hücreleri (Varney ve diğerleri, 1992; Salvi ve diğerleri, 1999). Mast hücreleri ve bazofiller Th2- salgılayabilir. bir alerjene doğrudan yanıttan olarak sitokinler (Cameron ve diğerleri, 2000; Wilson ve diğerleri, 2000). Nazal epitel hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri, fibroblastlar, örneğin salınan akışını ve aktivasyonunu indükleyebilen eotaksin, IL-1 β , IL-8 ve TNF- α eozinofiller (Bradding ve diğerleri, 1995; Abdelaziz ve diğerleri, 1998; Terada ve diğerleri, 2000).

Bu hücrelerden sitokin salınımı dolaylı olarak Th2 ile etkileşimlerden kaynaklanabilir. hücreler, örneğin IL-4 ve IL-13'e maruz kalan nazal fibroblastlar eotaksin salgırlar (Terada ve diğerleri, 2000). Bununla birlikte, nazal epitel hücreleri doğrudan yanıttan olarak sitokinler de salabilir. alerjenlerin proteolitik aktivitesine (Tomee ve diğerleri, 1998). Ayrıca, epitel tepkiler hızlı bir şekilde oluşur. Epitel hücreleri bu nedenle akut olaylarda nedensel bir role sahip olabilir. Th2 hücreleri, mast hücreleri ve bazofillere ek olarak alerjik inflamasyon.

IL-1 β , IL-8 ve TNF- α 'nın yerel yükselmeleri bazı çalışmalarda tanımlanmıştır. alerjik rinit (Sim ve diğerleri, 1994; Weido ve diğerleri, 1996; Bradding ve diğerleri, 1995; Bachert ve diğerleri, 1995). Epitelyal ve diğer hücreler de immünoşüpresif salgılayabilir. sitokinler (Holgate, 2000). Şu anda 100'den fazla sitokinin tarif edilmiş ve bunların bilinmeyen bir sayısı alerjik düzenlemede yer alabilir. iltihaplanma.

1.1.6. hümkik asitler

Hümkik asitler, ayrışmasından kaynaklanan makrokoloidal moleküllerdir. bitkiler ve içme suyu, turba, toprak ve linyitin doğal bileşenleridir. Çamur 19. yüzyılda romatizma gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde humik ve fulvik asitlerce zengin banyolar kullanılmıştır (Baatz, 1988; Lent, 1988; Kleinschmidt, 1988; Kovarik, 1988). Turba, Birinci Dünya Savaşı sırasında da kullanıldı. enfeksiyonları önlemek, ağrıyı hafifletmek için sahra hastanelerinde yaraları ve amputasyonları tedavi etmek ve iyileşmeyi kolaylaştırdı (Haanel, 1924; Van Beneden, 1971)

Halihazırda birkaç hümkik asit bazlı topikal ve oral ilaç bulunmaktadır. satışı sunulmuştur. Terapötik özellikleri şu şekilde özetlenmiştir:

Schepetkin ve diğ erleri, (2002) antibakteriyel, antitoksik, anti-ülserojenik, anti-artritlik, anti-alerjik ve anti-inflamatuar. Kleinschmidt (1988) ve Iubitska ve Ivanov (1999), sodyum humat tedavisinin klinik durumu iyileş tirdiğini göstermiş tir. osteoartroz hastaları nı n durumu (Soliev, 1983) muhtemelen anti enflamatuar ve kemik yenileyici özellikler (Kelginbaev ve diğ erleri, 1973; Suleimanov, 1972).

Hümik maddelerin yararlı etkileri kı smen hümik maddenin yeteneğine atfedilmiş tir. toksik bileş ikleri veya metalleri emmek veya ş elatlamak için asitler (Stackhouse ve Benson, 1989; Shanmukhappa ve Neelaktan, 1990; Nifant'eva ve diğ erleri, 1999; Sauvant ve diğ erleri, 1999; Marx ve Heumann, 1999) ve ksenobiyotikleri emmek (Nielsen ve diğ erleri, 1997; Prosen ve Zupancic-Kralj, 2000), mutajenler (Ferrara ve diğ erleri, 2000) ve mikotoksinler (Jansen van Rensburg ve diğ erleri, 2002). üzerine yapı lmı ş çeş itli mekanik çalı ş malar mevcuttur. son yı llarda bitümlü kö mürden elde edilen potasyum humat. kamyonet Rensburg ve diğ erleri, (1999 ve 2000) ve Jooné ve diğ erleri, (2003) bu ürünün IL2 sitokin üretimini artı rarak lenfosit proliferasyonunu uyarı r. Bu yanı t, HIV ile enfekte olmuş lenfositler söz konusu olduğ unda daha da çarpı cı ydı . bireyler (Jooné ve diğ erleri, 2003) ve ayrı ca ex vivo olarak gözlemlendi : HIV pozitif bireylere iki hafta boyunca günde 4 g ürün verilmesi.

Potasyum humatı n, enflamatuar hücrelerin degranülasyonunu ş uş ekilde inhibe ettiğ i bulunmuş tur: proinflamatuar bir adezyon molekülü olan CR3'ün ifadesinin yanı sı ra, ş uş ekilde ifade edilir: insan nötrofilleri, CR3'ün ligandı olan ICAM 1'e bağ lanmanı n azalması na yol açar iltihaplı endotel hücrelerinde bulunur (Jooné ve diğ erleri, 2001). Leonardit türevi humat CR3 ifadesinin benzer inhibisyonuna neden olur (Veriler Farmakoloji, UP). İnsan nötrofillerinin bu ürüne maruz kalması , Doza bağ lı bir ş ekilde aktive olan ancak dinlenmeyen hücreler tarafı ndan CR3 ekspresyonunun azalması . Adezyon moleküllerinin ekspresyonunun aktif fagositler tarafı ndan inhibisyonu ve ayrı ca her ikisi de sorumlu olan granül polipeptitlerin salı nı mı nı n inhibisyonu Enflamatuar süreçler sı rası nda doku hasarı , anti için çekici hedeflerdir. enflamatuar ilaçlar.

Turbadan elde edilen humatı n anti-enflamatuar özellikleri olması na rağmen, sapropeller ve mumya tanı mlanmı ş tı r, anti-

kömürden elde edilen humatın enflamatuar etkileri. Leonardit humat karşılaştırıldığında bir sıçan modelinde temas aşırı duyarlılığına baskılamada prednizolon ile olumlu bir şekilde. Van Rensburg ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (baskıda) DNBF'nin sıçanlarda indüklenen temas aşırı duyarlılığı, linyit kömürü türevli humat ile azaltıldı. 61 mg/kg BW dozunda, hemen sonra gavaj ile uygulandı. duyarlılaşma. Anti-enflamatuar etkiler, aşığı dakilerden birine bağlı olabilir: hassaslaştırmanın inhibisyonu veya spesifik yüklemenin inhibisyonu veya her ikisi. Ayrıca humatın proinflamatuar molekülleri adsorbe etme olasılığı da vardır. sitokinler ve tamamlayıcı faktörler. Aynı çalışmada ayrıca kahverengi olduğu da bulunmuştur. Günde 1000 mg/kg BW dozunda kömürden elde edilen humatın herhangi biri üzerinde etkisi olmamıştır. bir ay boyunca uygulandığında güvenlik parametreleri üzerinde herhangi bir etki olmamıştır. gebe dişisıçanlardan sonraki yavrulara 5 ila 5. günlerde 500 mg/kg BW uygulandı. 17 gebelik (Van Rensburg ve diğerleri, baskıda).

Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı tarafından hazırlanan bir rapora göre Ürünlerin toksisite çalışmaları (Şubat 1999), linyit kömüründen çıkarılan hümik asitler 1g/kg vücut ağırlığı kadar yüksek oral dozlarda toksik etki görülmez. teratojenik etkisi yoktur hamile sıçanlara uygulandığında ve göre herhangi bir mutajenik etkiye sahip değildir. mutajenite için standart testlere. Oral uygulamadan sonra sıçanlarda LD50 hümik asitler, Van Rensburg ve diğerleri tarafından onaylanan 11 g/kg vücut ağırlığına üzerindedir. al., (baskıda).

Niş almak

1. Gönüllülerde potasyum humatı n güvenlik profilini belirlemek
2. Potasyum humatı n anti-alerjik özelliklere sahip olup olmadığı nı belirlemek
3. Potasyum humatı n bazofil aktivasyonu üzerindeki etkisini belirlemek için sitokin seviyeleri ve eozinofil migrasyonu

hedefler

1. Alerjik bireylerde potasyum humatı n güvenliğini gözlemleyerek test edin.
hematolojik, böbrek ve karaciğer enzim belirteçleri
2. Alerjik hastalığı olan kişilerde potasyum humatı n etkinliğini test edin.
rinit
3. Potasyum humatı n bazofil aktivasyonu, sitokin seviyeleri üzerindeki etkisini belirleyin
ve in vivo eozinofil migrasyonu

BÖLÜM 2

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

2.1 Klinik Araştırma

2.1.1. Birincil sonuç

muzdarip hastalarda potasyum humat ve plasebo tedavisini araştırma için

saman nezlesi kullanarak:

- (a) Toplam semptom skoru/12 saatlik periyot
- (b) Etki Yaşam Kalitesi

2.1.2. İkincil sonuçlar:

- (a) Ürün güvenlik profili ile plasebo karşılaştırması
- (b) Etki başlangıcı
- (c) Nazal inflamasyon belirteçleri
- (d) Kutanöz aşırı duyarlılık reaksiyonu
- (e) Bazofil aktivasyonu üzerindeki etki
- (f) Th1/Th2 sitokinleri üzerindeki etki

2.1.3. Çalışma planı ve yanıtın değerlendirilmesi

Bu paralel çift kör plasebo kontrollü faz II çalışması, potasyum humat (1.8g

bölmüş dozlarda/gün) rastgele atopik hastalara (n = 40) atandı.

akut saman nezlesi semptomları ile. Doz dikkate alınarak hesaplandı

Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalardan hem güvenlik hem de etkililik göz önünde bulundurulmalıdır (Van Rensburg ve diğ., baskıda).

Analizi tek bir seansta tedavi etmek amacıyla en az 40 hasta kaydedilecektir.

Güney Afrika'daki merkez.

Tedavi süresi 30 gündü ve öncesinde bir haftalık (7 gün) alıştırma dönemi vardı.

Müfettiş lerin sitesinde dört ziyaret vardı :

- 1'i ziyaret edin: ilk ziyaret – tarama
- Ziyaret 2: vizit 1'den sonraki 7 gün içinde ve 48 saat sonra randomizasyon ziyareti
alerjik rinitin orta ila ş iddetli semptomları , yani ortalama TSS > 6
- 3'ü ziyaret edin: Klinik etkililiği değerlendirmek için 2. ziyaretten 14 gün (+ 3 gün) sonra
- 4'ü ziyaret edin: Son değerlendirme için 3. ziyaretten sonra 28 gün (+3)

Klinik ihtiyaca göre hastalarla ek ziyaretler düzenlenecektir.

2.1.4 Sonuç parametreleri

Toplam semptom puanı değerlendirmesi

Burun semptomları

Nazal olmayan semptomlar

- Hapşırma Göz kaşıntısı (yanma kaşınma vb.)
- Akan burun gözlerin yırtılması
- burun kaşıntısı Kulakları n / ve damakları n kaşınması
- burun tıkanıklığı Oküler kızamık (konjunktival enjeksiyon)

Hastanın seçilebilmesi için nazal semptomlara eşit veya daha büyük bir puana sahip olması gerekiyordu.

randomizasyondan 48 saat önce her iki günde 6'dan fazla (12 üzerinden > 6). bu

İncelenen benzer denemelere göre bu denemeye katılımları için gereken temel miktar.

Hasta, aşığıdaki puanlama yöntemini kullanarak bir günlük üzerinde öz değerlendirme yaptı :

- 0 = Semptom yok
- 1 = Hafif semptomlar ara sızara ortaya çıkar ancak rahatsız edici değildir
- 2 = Orta derecede semptomlar, sıklıkla mevcut ve rahatsız edici
- 3 = Şiddetli semptomlar sürekli mevcut ve işlev veya

uyku veya diğer günlük aktivite

Potasyum humatı n güvenliği, tam kan sayı mı , karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, yani sodyum, potasyum, kreatinin, alkalın fosfataz, gama GT, üre ve urat. Kan örnekleri Ampath® laboratuvarları na gönderildi (SANAS Akredite Laboratuvarı ISO-IEC 17025 tı bbi test laboratuvarı # M0066) kimyanı n bir Roche Modular P800'de ve hematolojinin bir Roche Modular P800'de yapı ldı ğı Beckman Coulter LH 750.

Güvenliğini/ve etkilerini belirlemek için kullanı lan kan ve burun örnekleri bazofil aktivasyonu, sitokin seviyeleri ve eozinofil migrasyonu üzerindeki potasyum humatı n, klinik çalı şı madan temin edilmi ş tir. Nötrofil yapı şı ma testi için kullanı lan kan sağlı klı öğrenci gönüüllüer tarafı ndan sağlandı . Verilerin yanısı ra tüm veri yakalama analiz adayı n sorumluluğundaydı . Yapı lan istatistiksel analiz bir varyans analiziydi (ANOVA) ve veriler taban çizgisi için ayarlandı bu nedenle denekler arası deği ş kenliği telafi eder.

2.2. Deri delme testi

Deri prick testi (SPT), deriyi belirlemenin ucuz, hızlı ve doğru bir yoludur. atopik bireyde nedensel alerjenler. SPT karmaş ı k değildir ve uygulamalı dı r ve birkaç basit yönergeye bağlı kalarak, yüksek oranda tekrarlanabilirlik elde etmek mümkündür. Sonuçlar. Yeni alerjen tanı mlaması için özellikle yararlı dı rlar, ancak aynı zamanda gı da, ilaç ve böcek alerjilerinde tanı için seçilmi ş olgularda kullanı lmaktadır .

Test, alerjen ekstraktı nı n dermise verilmesine bağlı dı r. daha sonra IgE aracılı bir yanıtla sonuçlanır ve daha sonra bir kabarma ile karakterize edilir ve parlama reaksiyonu. SPT en iyi ön kolları n volar veya iç tarafı nda yapı lı r. bükülmelerden ve bilek bölgelerinden kaçınmak. Deriyi delmek için bir neş ter kullanı ldı dü ş ü ş . Sö zde "damla delme" yöntemiyle, çizilmeye gerek yoktur veya cildi kaldı rı n ve kan alı nmamalı dı r. Neş ter kuru gazlı bezle silinir alerjenlerin taşı nması nı önlemek için her iğne arası nda.

Reaksiyonlar, sonuçları n değerlendirilebileceği 10-15 dakika içinde gerçekleş melidir.

Her test serisine pozitif ve negatif kontroller de dahil edildi. Olumsuz

kontrol solüsyonu, alerjen ekstraktı nı korumak için kullanı lan seyreltici dir. 3'lük bir reaksiyon

Negatif kontrolden mm daha büyük pozitif olarak kabul edilir. Sonuç olarak, SPT, güvenli, basit ve ucuzdur ve anında yeniden üretilebilir sonuçlara sahiptir. klinisyen Vaka öyküsü ve klinik bulgularla bağlantılı olarak, değerli teşhis aracı .

2.3. eozinofil değerlendirmesi

2.3.1. Malzemeler

Burun deliklerinden toplanan eozinofilleri boyamak için 3 farklı solüsyon kullanıldı .
konular, yani:

1. Çözüm: Fiksatif (%95 Etanol)

ve

2. Çözüm: "Rapidiff" Hematoloji lekesi 1 - eozin lekesi (Kırmızı) (Mikrobiyoloji

Teşhis Reaktifleri, Rosettenville, Güney Afrika)

ve

3. Çözüm: "Rapidiff" Hematoloji lekesi 2 - metilen mavisi (Mikrobiyoloji

Teşhis Reaktifleri)

ve

Durulama için damıtılmış su

2.3.2. boyama yöntemi

Boyama yöntemini optimize ettikten sonra, aşağıdaki yöntemin en iyisi olduğu bulundu.

eozinofil sayısı nı ayırt etmek için uygundur. Burun sürüntüsü alındığı anda

bir cam slayt üzerine yuvarlandı ve daha sonra slayt boyunca yayıldı . Slayt havadaydı

kurutuldu ve fiksatif ile 5 saniye süreyle dolduruldu; fiksatif daha sonra yavaşça boşaltıldı

slayttan bir kağıt havluya. Slayt daha sonra eozin solüsyonu ile dolduruldu.

40 saniye boyunca; eozin daha sonra slayttan bir kağıt havlu üzerine yavaşça boşaltıldı .

Slayt daha sonra 15 saniye süreyle metilen mavisi çözeltilisi ile dolduruldu ve

Metilen mavisi yavaşça slayttan bir kağıt havluya boşaltıldı . Slayt o zaman

Slayt 5 saniye distile su ile yıkanarak durulandı . Slayt o zaman

havayla kurumaya bırakıldı ve yağa daldırılarak incelendi.

2.3.3. derecelendirme yöntemi

100 lökosit başına mevcut eozinofil sayısı olarak bir derecelendirme ölçüğü (aşığıya bakın), Berman ve diğerleri, 1991'de tarif edildiği gibi tedaviye yanıtı izlemek için kullanıldı.

Kullanılan derecelendirme:

- 1: Hücre görülmedi
- 2: Yaymada sadece arasıra eozinofiller.
- 3: Var ama yetersiz ve yayma boyunca dağılımı düşük.
- 4: Yaklaşık 15-30 hücre
- 5: Yaklaşık 30-75 hücre
- 6: Yaklaşık > 75 hücre

2.4. bazofiller

2.4.1. Beckman Coulter Alerjenite Kiti (Alerjenite Kiti, Hücresel Analiz

Alerji)

2.4.1.1. Kullanım amacı

Alerjenite Kiti, optimize edilmiş üç renkli floresan kombinasyonundan oluşur. monoklonal antikor reaktifi, bir aktivasyon solüsyonu, IgE için pozitif kontrol aracı, bazofil aktivasyonu, bir durdurma solüsyonu, bir parçalayıcı ve bir fiksatif solüsyon. Bu aktifleştirilmiş bazofillerin belirlenmesi için "In Vitro Diagnostic Use" amaçlıdır. üzerinde gerçekleştirilen doğru bazofil yolluk aracı na (CRTH2posCD203cposCD3neg) dayalı tam kan örnekleri.

2.4.1.2. Özet ve açıklama

Bu kitin reaktifleri, dinlenme halindeki ve aktive edilmiş olanları tanımlamak ve ayırt etmek için tasarlanmıştır. akış sitometrisi ile bazofiller. Bu amaçla 3 renkli bir kombinasyon kullanılır. Bu bir 2-floresan murin monoklonal antikor karışımı (CD203c-PE ve CD3-PC7) ve bir floresan sıçan monoklonal antikor (CRTH2-FITC).

CRTH2

T helper 1 (Th1) ve T helper 2 (Th2) lenfosit alt grupları , sitokin profili üretimi. Th1'in hücrelerde yer aldığı bildirilirken Th2 profilinin hümmoral immün yanı tlara duyarlı olduğu bilinmektedir ve alerji. Aynı ca Th1- ve Th2 benzeri sitokin profilleri Tip I ve Tip olarak bilinir. 2 yanı t (Mosmann ve diğerleri, 1996; Sander ve diğerleri, 1991; Romagnani, 1995; Carter ve diğerleri. al., 1997).

CRTH2, Kemoatraktan Reseptörü olarak bilinen yedi transmembranlı bir moleküldür. tercihen insan Th2 ve T sitotoksik üzerinde ifade edilen homolog molekül (Tc2) hücreleri, ancak Th1 ve Tc1 hücreleri üzerinde değil (Cosmi ve diğerleri, 2001). İki G proteinine bağlı reseptörleri, Prostaglandin D reseptörü (DP) ve CRTH2 olarak tanı mlanmış tır. Prostaglandin D2 (PGD2) için reseptörler, ancak sinyal yolları nda farklı lık gösterirler (Hirai ve diğerleri, 2001, 2002).

PGD2, alerjenle aktive edilen arakidonik asidin ana metabolitidir. mast hücreleri ve proinflamatuvar olarak çeş itli alerjik hastalı klarda yer almış tır. lipid aracı (Hirai ve diğerleri, 2002). CRTH2 aynı ca güvenilir bir yüzey iş aretleycidir IL-4 üretebilen dolaş ı mdaki T (Th ve Tc) hücreleri ile seçici olarak iliş kilidir (as IL-5 ve IL-13 gibi), ancak IFN değil (Cosmi ve arkadaş ları , 2000, 2001).

Monoklonal antikor (mAb) BM 16, 55 ila 70 kDa proteini çökeltir. CRTH2 ile transfekte edilmiş JURKAT'ı n ve yerleş ik Th2 klonunun hücre lizatları (örn. PGD2 reseptörüne karşı lık gelen klon 6L21) (Nagata ve diğ., 1999). normal arası nda tam kan lökositleri, CRTH2, bazofiller ve eozinofiller üzerinde yüksek oranda ifade edilir; hümmoral bağı ş ı klı k için duyarlı olduğu bilinen Th2 ve Tc2 hücrelerinde olduğu gibi tepkiler ve alerji (Nagata ve diğerleri, 1999; Cosmi ve diğerleri, 2001).

CD203c

Bazofiller ve mast hücreleri, alerjik ve enflamatuar reaksiyonlar (Holgate, 2000; Galli, 2000; Johnston ve diğerleri, 1990). Her iki hücre türleri, yüksek afiniteli IgE reseptörünü yüksek oranda ifade eder. MAb 97A6 bir yüzeyi tanı r antijen yani 97A6 (CD203c) insan periferik kan bazofillerinde eksprese edilir, ancak eksprese edilmez

diğer kan hücreleri üzerinde (Bühring ve diğerleri, 1999). Aynı zamanda olgun mast hücreleri ile reaksiyona girer ve bazofillerin ve mast hücrelerinin CD34 kemik iliği progenitörleri ile. Ayrıca 97A6 antijen, anti-IgE antikoru ve çeşitli bazofillerin aktivasyonundan sonra yukarı regüle edilir. alerjenler (Platz ve diğerleri, 2001).

mAb 97A6 tarafından tanımlanan bazofil aktivasyon markörü, ekto ile aynıdır. nükleotit pirofosfat / fosfodiesteraz 3 (E-NPP3), bir tip II transmembran hidrolizinde yer alan bir ektoenzim ailesine ait protein. hücre dışı nükleotitler.

Alerjenite pozitif kontrol

Bazofiller, IgE yüksek afiniteli reseptörü ifade eder. Anti-IgE, IgE'yi tanımlayan reseptörlerine bağlanır ve sonuç olarak bazofil aktivasyonunu indükler. Bu reaktif IgE aracılı aktivasyon pozitif kontrolü sağlar.

Alerjenite aktivasyon çözümü

Bu, in vitro aktivasyonuna izin veren optimize edilmiş kalsiyum açığından zenginleştirilmiş bir tampondur. anti olarak EDTA (etilendiamintetraasetik asit) kullanan tam kandan bazofiller

praktik olarak

Alerjenite durdurma çözümü

Bu, in vitro aktivasyonu durdurmaya izin veren optimize edilmiş EDTA ile zenginleştirilmiş bir tampondur. bazofillerden.

Alerjenite hafifletici solüsyon

Bu reaktif, biyolojik preparatların hazırlanmasında kırmızı kan hücrelerinin parçalanması için tasarlanmıştır. akış sitometrik analizi için örnekler. Ana aktif bileşen bir siklik amindir, kırmızı kan hücrelerinde bulunan karbonik anhidraz ile temas halinde dönüşür. bu hücreler için oldukça litik olan bir bileşim dönüşür.

Alerjenite fiksatif solüsyonu

Alerjenite fiksatif solüsyonu, sabitleyerek tam kan örneğinin hazırlanmasına izin verir. Eritroliz sırasında hücre süspansiyonu. Ayrıca müstahzar sabitlemek için kullanılarak akış sitometri analizinden önce.

2.4.1.3. Malzemeler

Kit tarafından sağlanan malzemeler:

Alerjenite kiti 100 test yapılmasına izin verir ve aşağıdakileri içerir:

Alerjenite CRTH2-FITC / CD203c-PE / CD3-PC7 – 1 flakon (2ml, sıvı format) – 20 µl/test.

Alerjenite Pozitif Kontrol – 1 şişe [0.2mg, dondurularak kurutulmuş, fosfat tamponlu içinde 2mg/mL sığır serum albümini (BSA) içeren salin (PBS)] – 20µl/test.

Alerjenite Aktivasyon Solüsyonu – 2 şişe. (2x5ml, kalsiyum içeren sıvı format tamponlu solüsyonda) – 100µl/test.

Alerjenite Durdurma Solüsyonu – 1 flakon (10ml, EDTA ve %0,1 içeren sıvı format sodyum azid) – 100µl/test.

Alerjenite Parçalama Solüsyonu – 3 şişe (3x100ml, siklik içeren sıvı format ana aktif bileşen olarak amin) – 2ml/test.

Alerjenite Sabitleyici Solüsyon – 1 flakon (10ml, %8 formik içeren sıvı format asit).

Bu kitin reaktifleri, kitin içinde verildiği şekilde bir set olarak kullanılmalı ve başkalarıyla karıştırılmamalıdır. ayrıdır. Testler yapılırken, tüm reaktiflerin flakon etiketindeki aynı lot numarası.

Kit tarafından sağlanmayan malzemeler:

Deiyonize su.

PBS arabelleği

EDTA antikoagülanlı vakumlu kan alma tüpleri

Plastik test tüpleri (12 x 75 mm).

37°C su banyosu.

Vorteks karıştırıcı .

Zamanlayıcı .

Kalibre edilmiş tekrarlayıcı pipet (20µl, 100µl, 2ml) ve uçlar.

Dondurmak için tüpler.

Akış sitometresi.

alerjenler

2.4.1.4. test prensibi

İlgili hücre popülasyonu, varlığında monoklonal antikörlerle boyanır.

alerjen veya kontroller. Eritrositler daha sonra akış sitometrisinden önce parçalanır analiz.

T lenfositleri (CD3 pozitif hücreler) hariç tutulduktan sonra, bazofiller aş ağıdakiler kullanılarak analiz edilir:

CRTH2 ve CD203c ifadesi. Aktif olmayan ve dinlenen bazofiller CRTH2posCD203cdimCD3neg olarak

tanımlanırken, in vitro aktive edilmiş bazofiller CRTH2posCD203cbrightCD3neg olarak tanımlanır.

Her kan örneği için en az üç analiz gerçekleştirilir:

Tüp # "Neg" = Negatif Kontrol Tüpü

Tüp # "Konum" = Pozitif Kontrol Tüpü

Tüpler "Test" (alerjenin farklı dilüsyonlarını kullanılması önerilir)

Her birey için alerjen [Laboratory Specialties (PTY) LTD, Johannesburg, Güney Afrika], tespit edildiği üzere, katılımcıların en çok alerjisi olduğu şeydi. araştırmanın tarama kısmında deri prick testi sırasıyla.

Her numunedeki kırmızı kan hücreleri bir "Fix-and-Lyse" karışımı ile parçalanır ve akış sitometrisi ile analiz edilen kalan hücreler.

Akış sitometresi, ışık difüzyonunu ve hücrelerin floresansı analiz eder. Yapar elektronik pencerede ilgilenilen popülasyonun sıralandırması mümkündür. Işığın ortogonal yayılımını ilişkilendiren bir histogram üzerinde tanımlanır (Yan Dağılım veya SS) ve dar açılı ışığın yayılması (İleri Saçılma veya FS). Sitometrede bulunan iki farklı parametreyi birleştirilen histogramlar uygulama için yolculuk aşamasında destek olarak kullanılır.

Ayrırt etmek için sıralandırmış hücrelerin floresansı analiz edilir. lekesiz olanlardan olumlu lekeli olaylar.

2.4.1.5. Yöntem

reaktiflerin hazırlanması

Tüm reaktifler deneyden önce oda sıcaklığına (18 - 25°C) getirildi.

Kit, kullanıma hazır reaktiflerden oluşuyordu:

- CRTH2-FITC / CD203c-PE / CD3-PC7.

- Alerjenite Aktivasyon Solüsyonu.

- Alerjenite Durdurma Çözümü.

Sulandırma gerekli değildi ve reaktifler doğrudan flakondan kullanıldı.

Alerjenite pozitif kontrol

Dondurularak kurutulmuş pozitif kontrol, filtrelenmiş 1 ml 0.22µm ilave edilerek sulandırıldı.

0.2mg/ml konsantrasyonu elde etmek için deiyonize su, yeterli miktarda

Pozitif kontrolün toplam numune hazırlama sayısı için hazırlanmıştı.

"Fix-and-Lyse" hazırlığı

Alerjenite Parçalayıcı Çözelti (3x100ml). Reaktif doğrudan iş eden kullanıldı .

Alerjenite Sabitleyici Solüsyon (1x10ml). Reaktif doğrudan iş eden kullanıldı .

Alerjenite Parçalama Solüsyonu ve Alerjenite kullanan bir "Fix-and-Lyse" karışımı
Fiksatif Çözelti, toplam örnek hazırlama sayısı için günlük olarak hazırlandı .

Toplam sayı için yeterli miktarda "Fix-and-Lyse" karışımı hazırlandı .
örnek hazırlama.

PBS %0,1 formaldehit hazırlama

PBS %0,1 formaldehit, 1 ml PBS'nin 12,5 ul ile karıştırmasıyla hazırlandı (örnek
iki tüp için) alerjenite fiksatif solüsyonu. Yeterli miktarda PBS hazırlayın
Toplam numune hazırlama sayısı için %0,1 formaldehit.

Numune Gereksinimleri

Periferik kan örnekleri aseptik olarak steril boş altı ml'lik kan içine alındı .
Antikoagülan olarak EDTA içeren toplama tüpü. EDTA ile toplanan örnekler saklandı
işlenene kadar oda sıcaklığında (18 - 25°C).

EDTA ile toplananlar işlenmek üzere 24 saatten daha eskiydi.

Taze örnekler kullanıldı .

Tüm numuneler kit reaktifleri ile işlendi.

Numune oda sıcaklığında (18-25°C) tutuldu ve çalkalanmadı . bu
numune, pipetlemeden önce hafifçe çalkalanarak homojenleştirildi. Örnekler
bunları aldıktan sonra 24 saat içinde işlenir.

Alet ayarlama prosedürü

Akış sitometresi, ileri saçılma, yan saçılma ve üçünü tespit edecek şekilde donatıldı .
FITC-, PE- ve PC7- konjuge analizine izin veren floresan kanalları

antikorlar (sı rası yla 504 – 541 / 568 – 590 / 750 – 810 nm maksimum tepe emisyon).

Akı ş sitometresinin floresan için uygun ş ekilde hizalandı ğı ndan ve standardize edildiğinden emin olunması yoğunluk (üreticinin tavsiyelerine göre).

Akı ş sitometresinin floresan telafisi için uygun ş ekilde ayarlandı ğı ndan emin olun.

Numune iş leme prosedürü

Aş ağı daki prosedür, ile toplanan tam kan örneği için optimize edilmiş tir.
Antikoagülan olarak EDTA.

Tüm reaktifler deneyden önce oda sıcaklığı na (18 – 25°C) getirildi.

Deney için kullanılacak doğru alerjen seyreltme aralığı .

Her deney için, uygun sayıda tüp etiketlendi:

- Tüp # "Neg" = Negatif Kontrol Tüpü
- Tüp # "Konum" = Pozitif Kontrol Tüpü
- Tüpler "Test" (uygun alerjenin farklı dilüsyonları)

"Neg" numaralı tüpe 20µl PBS, # tüpe 20µl alerjenite pozitif kontrol eklendi

"Konum", tüplerde 2µl test edilen alerjen "Test". Ardından 20µl CRTH2-FITC / CD203c

Her tüpe PE/CD3-PC7 reaktifi eklendi. Daha sonra 100µl aktivasyon solüsyonu

Her tüpe eklenir. Daha sonra her bir tüpe 100 ul tam kan pipetlendi.

Tüpler daha sonra yavaş ç a vortekslendi ve 15 dakika 37°C'de su içinde inkübe edildi.

ı ş ıktan korunan banyo. Daha sonra her bir tüpe 100 µl stop solüsyonu eklendi ve 5 saniye hafifçe vortekslendi. Daha sonra 2 ml "Fix-and-Lyse" karışımı ilave edildi.

her tüp ve vortekslendi. Tüpler daha sonra oda sıcaklığı nda (18 – 25°C) 10 dakika, ı ş ıktan koruyarak.

Tüpler daha sonra 200 g'de 5 dakika santrifüjlendi ve süpernatant aspire edildi.

Her tüpe 3 ml PBS eklendi. Tüpler 5 dakika santrifüj edildi.

200 g ve süpernatant aspire edildi. Hücre peleti, 0.5 ml PBS içinde yeniden süspansiyon edildi
%0,1 formaldehit. Daha sonra akı ş sitometresinde elde edildi.

2.5. sitokin tahlili

2.5.1. FlowCytomix insan Th1/Th2 10pleks (hIFN- γ , hIL-1 β , hIL-2, hIL-4, hIL-
5, hIL-6, hIL-8, hIL-10, hTNF- α , hTNF- β) kiti.

2.5.1.1. Kullanım amacı

Akı ş la kantitatif tespit için Multiplex Floresan Boncuk İmmünoassay (FBI)
İnsan İnterferon- γ , İnterleukin-1 β , İnterleukin-2, İnterleukin-4 sitometresi,
İnterleukin-5, İnterleukin-6, İnterleukin-8, İnterleukin-10, tümör nekroz faktörü
(TNF) hücre kültürü süpernatantları nda, serumda, plazmada, tam kanda veya diğer
vücut sıvıları . Sadece araştırma amaçlıdır. Teşhis veya tedavi amaçlı kullanılmaz
prosedürler.

2.5.1.2. Özet

Th1 sitokinleri (Tip-1 sitokinler olarak da anılır) ve Th2 sitokinleri terimi
(Tip-2 sitokinler olarak da anılır), tarafından salgılanan sitokin modellerini ifade eder.
sonucunu belirleyen murin CD4 (+) T hücrelerinin iki farklı alt popülasyonu
hümmoral veya hücre aracı bağışıklığa karşı bir antijenik yanıt.

CD4'ü ekspresyen eden T-hücreleri dışındaki çok sayıda hücrenin,
Th1 ve Th2 sitokinleri üretir. Bu hücreler arasında CD8 (+) T hücreleri, monositler,
doğal öldürücü hücreler, B hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri, bazofiller ve diğer hücreler.

Tip-1 sitokinler arasında IL-2, IFN- γ , IL-12 ve TNF- β bulunurken, Tip-2 sitokinler
IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13'ü içerir. Tip-1 yardımcı hücreler (Th1), ancak tip-2 değil
yardımcı hücreler (Th2), IL-2, IFN- γ ve TNF- β salgı larken Th2 hücreleri, ancak Th1'i salgı lamaz
hücreler, IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10'u ekspresyen eder (Linden ve diğerleri, 1995; Durham ve diğerleri, 1996;
Pawankar ve diğerleri, 1996; Klimek ve diğerleri, 1999; Benson ve diğerleri, 2000).

Bu iki farklı hücre tipinin evriminin altı nda yatan moleküler mekanizmalar ortak öncülerden hala tam olarak bilinmemektedir. Transgenik çalışmalar IL-4 geninin boş mutasyonları nı taşıyan fareler, IL-4'ün bir fonksiyonel bir Th2 immün yanıtı nı n oluş turulması nda önemli bir rol oynar. bu farklı sitokin sekresyonu paternleri, immün olarak farklı fonksiyonlara karşı lı k gelir. efektörler.

Th1 hücreleri, hücre aracı lı efektör yanıtı nı teş vik eder. Th2 hücreleri esas olarak yardımcı hücrelerdir. B hücresi geliş imini etkileyen ve hümmoral tepkileri artırır. B hücreleri tarafından ağır lı klı olarak IgE'den oluş an antikorları n salgı lanması . Her iki tip Th hücresi salgı ladıkları sitokinler ile birbirlerini etkilerler; Örneğin IFN- γ , Th2 klonları nı düzenlerken, IL-10 gibi Th2 sitokinleri Th1 fonksiyonları nı baskı layabilir. IFN-y'nin murin Th2 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir, ancak Th1 yardımcı T-lenfosit klonları . Böylece, bu iş levsel alt kümelerin olduğu anlaş ılmaktadır. öyle ki, hangi alt kümenin bir karar içinde baskı n olduğu kararı enfeksiyon da sonucunu belirleyebilir.

2.5.1.3. Malzemeler

Kit, aş ağı dakiler dı ş ı nda tüm malzemeleri sağladı :

Bir lazerle (488nm veya 532nm) donatılmış bir akış sitometresi (FC 500)
575 nm'de ve uzak kı rı mı zı da (685 - 690) floresans emisyonları nı algı lama ve ayı rt etme

(deniz mili)

Bir akış sitometresi için numune alma tüpleri

Alüminyum folyo

5ml ve 10ml dereceli pipetler

Tek kullanı mlı k uçlu 10 μ l ila 1.000 μ l ayarlanabilir tek kanallı mikropipetler

Tek kullanı mlı k uçlu 20 μ l ila 300 μ l ayarlanabilir çok kanallı mikropipetler

Çok kanallı mikropipet rezervuarı

Reaktiflerin hazırlanması için gerekli beherler, mataralar, silindirler

Cam damıtılmış veya deiyonize su

girdap karıştırmacı

2.5.1.4. test prensibi

Mikroküreler, her biri ile spesifik olarak reaksiyona giren antikorlarla kaplıdır. multipleks sistemde tespit edilecek analitler. Boncuklar şu şekilde ayrıştırılabilir: boyutları ve farklı spektral adresleri ile. Her biri için kaplanmış boncuk karışımını ölçülecek analit, numuneler veya standart karışımı ile inkübe edilir. bu numunede bulunan analitler, flüoresan boncuklara bağlı antikorlara bağlanır.

Biyotin konjuge ikinci bir antikor karışımını eklenir, spesifik antikorlar bağlanır ilk antikorlar tarafından yakalanan analitler. Fikoeritrin eklenir, bağlanır biyotin eşleniği ve floresan sinyaller yayar.

2.5.1.5. Yöntem

Testte plazma kullanıldı. Plazma mümkün olan en kısa sürede pıhtıdan uzaklaştırıldı. pıhtılaşma ve ayrılardan sonra.

Yağ boncukları n aglütinasyonuna neden olur. Lipemik numunelerin santrifüjlenmesi (yaklaşık 16.000 rcf for 5 min) önce analiz yapıldı.

Klinik numuneler 2° ila 8°C arası nda tutuldu ve -'de saklanmadan önce hızla ayrıldı. Biyoaktivite kaybını önlemek için 20°C.

Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi ve iyice vortekslendi.

Tahlil tamponunun hazırlanması

Şişenin içeriği iyice karıştırıldı. 50ml deney tamponu konsantresi eklendi

450ml damıtılmış suya eklenir ve köpürmeyi önlemek için hafifçe karıştırılır ve 2°C'de saklanır. 8°C.

standartın hazırlanması

Analit sayısı belirlendi. Şişeler birkaç saniye santrifüjlendi

liyofilize standart toplamak için açmadan önce bir mikro santrifüjde saniye

alt. Liyofilize standart, distile su eklenerek sulandırıldı.

standart şişe üzerindeki etikete göre, sağlamak için flakon iyice döndürüldü.

içeriğin kantitatif çözünürlüğü. Pipetlemeden önce on dakika beklendi.

standart. Standart karışımının nihai hacmi 200 µl idi.

Sulandırılmış her standarttan 10µl, Standart 1 etiketli bir şişeye eklendi.

daha sonra Assay Buffer ile 200µl nihai hacme kadar dolduruldu.

Standart karışım oluş turma

Sulandırılmış her standardın 1:20 dilüsyonu yapıldı.

Şişeler, pipetlemeden önce bir mikro santrifüjde birkaç saniye santrifüjlendi.

yeniden oluşturulmuş standart

Standart karışımının hazırlanması için seri dilüsyonlar

100µl tahlil tamponu (1x), standart 2 ila 7 olarak etiketlenmiş 6 tüpe eklendi.

standart 1 daha sonra 2 etiketli tüpe aktarıldı, tüp 2'nin içeriği daha sonra

karıştırıldı ve 50µl 3 etiketli tüpe aktarıldı.

7 standart dilüsyon sırası. Kullanımdan sonra kalan herhangi bir çözündürülmüş veya önceden seyreltilmiş standart

atıldı.

Boncuk karı ş ı mı nı n hazı rlanması

Boncuk karı ş ı mı aş ağı daki hesaplamaya göre hazı rlandı :

Kuyu baş ı na 25µl boncuk karı ş ı mı gerekliydi. 17 kuyu olduğu kabul edildi.

2 standart eğri ve 2 boş artı kurulum için ek bir standart 1 için gereklidir.

Daha sonra ihtiyaç duyulan boncuk karı ş ı mı nı n son hacmi (Vfin) hesaplandı .

Vfin = kuyu sayısı x 25µl. Pipetleme rezervuarı için yuvarlatı lmı ş tı r. Bireysel

boncuk ş iş eleri 5 saniye vortekslendi ve nihai hacmin (Vfin) 1/20'si pipetlendi

her boncuk "Bead Mix" etiketli bir ş iş eye yerleş tirildi. ile son hacme (Vfin) kadar dolduruldu.

Reaktif Seyreltme Tamponu (RDB).

Biyotin konjugatı nı n hazı rlanması

Biyotin-eş lenik karı ş ı mı aş ağı daki hesaplamaya göre hazı rlandı :

Kuyu baş ı na 50 ul biotin-konjugat karı ş ı mı gerekliydi. 17 kuyu olduğu kabul edildi

2 standart eğri ve 2 boş luk artı ek bir standart 1 için gerekliydi.

kurmak. İhtiyaç duyulan biyotin-eş lenik karı ş ı mı nı n son hacmi (Vfin) hesaplandı .

Vfin = kuyu sayısı x 50µl. Pipetleme rezervuarı için yuvarlatı lmı ş tı r.

Bireysel boncuk ş iş eleri 5 saniye vortekslendi ve son hacmin 1/20'si pipetlendi

(Vfin) "Biotin-konjugat Karı ş ı mı " etiketli bir ş iş eye. Doldurulmuş

Reaktif Seyreltme Tamponu (RDB) ile son hacme (Vfin) kadar.

Streptavidin-PE'nin hazı rlanması

Testte konsantre streptavidin-PE ç özeltisinin seyreltilmesi

Tampon (1x) yapı ldı .

Tüpleri kullanarak test prosedürü

Bu durumda inkübasyonlar tüplerde gerçekleştirildi. Santrifüj adımları gereklidi

Test performansı için. Test için gerekli sitometre tüplerinin sayısı belirlendi.

İstenen numune sayısı artırılarak çalıştırma için gereken uygun sayıda tüp

boşluklar ve standartlar. 25µl standart karışım dilüsyonları 1 ila 7 eklendi.

Belirlenmiş tüpler Körtüplere 25µl Assay Buffer eklendi. 25µl

akış sitometresi için belirlenen standart karışım dilüsyonu 1-17 eklendi

kurmak. Belirlenen numune tüplerine 25µl numune eklendi. 25µl boncuk

Körtüpler dahil tüm tüplere karışım eklendi. 50µl biotin

Körtüpler dahil tüm tüplere konjugat karışımı eklendi. İçerikler

Her tüp karışıtırlı ve oda sıcaklığında (18° ila 25°C) 2 saat inkübe edildi,

alüminyum folyo ile ışıktan korunmuş tur. Streptavidin-PE daha sonra hazırlandı .

Tüm tüplere 1 ml tahlil tamponu eklendi ve 5 dakika 200 x g'de döndürüldü.

Süpernatant daha sonra her bir tüpten dikkatli bir şekilde atıldı ve geriye 100 ul sıvı kaldı .

her tüpte. Bu adımlar daha sonra tekrarlandı . Daha sonra 50 µl streptavidin-PE eklendi.

körtüpler dahil tüm tüpler. Her bir tüpün içeriği iyice karışıtırlı .

ve ışıktan koruyarak oda sıcaklığında (18° ila 25°C) 1 saat inkübe edildi.

alüminyum folyo.

Tüm tüplere 1 ml tahlil tamponu eklendi ve 5 dakika 200 x g'de döndürüldü.

Süpernatant daha sonra her bir tüpten dikkatli bir şekilde atıldı ve geriye 100 ul sıvı kaldı .

her tüpte. Bu adımlar daha sonra tekrarlandı . 500µl tahlil tamponu daha sonra eklendi

her tüp Daha sonra akış sitometresinde elde edildi.

2.6. Nötrofil yapılaşma testi

Bu tahlil, Håkanson ve diğerleri, 1994 tarafından tarif edildiği gibi ve kandan alınan kan üzerinde yapıldı .

sağlıklı öğrenci gönüllüleri.

2.6.1. Malzemeler

Venöz kan, mililitre kan başına 5 U koruyucu içermeyen heparin ile karışıtırlı .

Gönlü sağlı klı donörler kullanı ldı ve alı nan kan miktarı not edildi.

çok sık kullanı lmaması için bireylerden alı nmı ş tı r.

Enstrümantasyon:

Santrifüjleme adı mları için 40 °C'de sıcaklık kontrollü bir santrifüj kullanı ldı . A

Hücreleri numaralandı rmak için mikroskop kullanı ldı ve tekrar süspansiyon haline getirmek için bir girdap kullanı ldı .
hücreler.

Reaktiflerin hazı rlanması :

Nötrofillerin izolasyonundan aş ağı daki reaktifler hazı rlandı :

heparin

90 mg Heparin (Sigma Diagnostics, St Louis, MO, ABD) 30 ml içinde seyreltildi.

arı tı lmı ş su. Daha sonra karı ş tı rı ldı , süzüldü ve sterilize edildi. 0.1ml miktarı
heparin her mililitre kan için kullanı ldı . Çözelti 4°C'de saklandı .

histopak

Histopaque (Sigma) olduğu gibi kullanı ldı ve 4°C'de saklandı .

Amonyum Klorür

8,3 g Amonyum klorür (Merck, Darmstadt, Almanya), 1 g NaHCO₃ (Merck) ve

74 mg EDTA (Sigma) 1 L distile suda eritildi ve 4°C'de saklandı .

Fosfat tamponlu salin

0,923 mg BBL™ FTA Hemaglutinasyon Tamponu (BBL Microbiology Systems, Becton Dickenson and Company, ABD)

100 ml distile suda çözüldürüldü ve pH değerinde olduğundan emin olmak için kontrol edildi.
7.4.

Hanks Dengeli Tuz Çözeltisi (HBSS)

HBSS (Highveld Biologicals (Pty) Ltd., Johannesburg, SA) aş ağı dakilere göre yapı lması tır :
üreticinin talimatları .

Lökosit sayma sı vı sı

2 ml'ye 0,1 ml %0,1 (100 mg/100 ml) centiyan menekş e solüsyonu (Merck) eklendi
buzlu asetik asit (Saarchem-Holpro Analytics Ltd). Daha sonra 100 ml distile su
eklendi ve solüsyon 4°C'de saklandı .

Nötrofil yapı ş ma tahlili için aş ağı daki reaktifler kullanı ldı :

Tahlil tamponu:

8,1816 g NaCl (Labchem Ltd)

0,3728 g KCl (Saarchem-Holpro Analitik Ltd.)

0,2033 g MgCl (Saarchem-Holpro Analitik Ltd.)

0,1110 g/L CaCl (BDH Ltd Poole İngiltere)

0,50445 g/L Glikoz (BDH Ltd Poole Engeland)

2,383 g/L HEPES (Sigma)

30 mg insan serum albümini (Sigma)

62,9 mg/L MnCl₂ (Merck, Darmstadt, Almanya)

Yukarı daki bileş enlerin tümü, 1 L damı tı lması su içinde çözüldürüldü ve pH
7.4'e ayarlandı .

Forbol miristat asetat (PMA) (uyarı cı)

20ul PMA (Sigma) stok solüsyonu (1mg/ml DMSO) 1ml distile suya eklendi.

Bu çözelti, orijinal çözeltinin 100 ul'sini 1.9 ml damı tı lması suya ekleyerek seyreltildi.
su. Daha sonra 3 ml yeni çözeltiye 1 ml ilave edilerek seyreltildi.
arı tı lması su.

O-fenilendiamin Çö zeltisi (OPD)

A. Sitrat fosfat tamponu:

Sitrik asit (MW 192.1) 6,724 g/L (Saarchem-Holpro Analytics (Pty) Ltd.)

Na₂HPO₄ (MW 142.0) 9,5 14g/L (Saarchem-Holpro Analytics (Pty) Ltd)

Yukarı da belirtilen tampon aş ağı daki gibi hazı rlandı :

Reaktifler ayrı ayrı 400 ml distile su içinde çö züldü. Küçük miktarlarda

Sı k sı k karı ş tı rarak sitrik aside Na₂HPO₄ eklendi. pH değeri

çö zelti sı k sı k kontrol edildi, her ş ey birbirine karı ş tı rı ldı ğı nda pH

yaklaş ı k 5. Solüsyon daha sonra damı tı lmı ş su kullanı larak 1 L'ye ve pH'ı 5'e tamamlandı .

B. TRITON X-100

1 g/L TRITON X-100 (%0,1) (Sigma) kullanı ldı .

C. O-fenilendiamin (OPD)

1 g/L OPD (Sigma) kullanı ldı .

D. H₂O₂

(Stok solüsyonu = 10mol)

400ul/ L H₂O₂ (4umol/L) (Sigma) kullanı ldı .

A, B, C ve D çö zeltileri birlikte karı ş tı rı ldı . Buna substrat çö zeltisi denir.

H₂SO₄ (durdurma solüsyonu) (1 mol/L) (Saarchem-Holpro Analytics (Pty) Ltd., Krugersdorp, SA)

1L distile suda 28ml.

2.6.2. Yöntem (Boyum, 1968)

İ drar ş iş esine veya kan alma torbası na 500 µl heparin eklendi. Gerekli olan

hacim kan ve heparin daha sonra birlikte iyice karı ş tı rı ldı . 15 ml Histopaque

daha sonra 50 ml'lik kademeli plastik bir tüpe (Ficoll tüpü) eklendi. Kan daha sonra dikkatlice

Histopaque üzerine yerleş tirildi ve tüp üste kadar dolduruldu. Tüpler o zamanlar Oda sıcaklığına ayarlanmış santrifüjde 1800 devirde 25 dakika santrifüj edildi.

Plazma, trombositler, monositler, lenfositler ve histopaktan oluşan üst tabakalar plastik bir pipet kullanılarak çıkarıldı ve plastik bir kaba birlikte atıldı. %5 hipoklorit çözeltisi ile. Geriye kalan tabaka ise granülosit tabakasıdır. gerekli nötrofilleri içerir. Granülosit tabakası ve üstünden ± 3 mm kırmızı kan hücresi süspansiyonu çıkarıldı ve 50 ml'lik temiz bir tüpe pipetlendi ve buz soğukluğunda %0,84 amonyum klorür (NH₄Cl) ile doldurulmuş tur. içindikiler iyice karıştırılarak buzda 10 dakika dinlenmeye bırakıldı. Kırmızı kan hücreleri parçalandı bu adımsırasında.

Tüp daha sonra 1200 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. Elde edilen süpernatant sıvı atıldı ve pelet tutuldu. Pelet hala kırmızı kan hücreleri içeriyorsa (kırmızımsı renk), amonyum klorür ve santrifüj adımları tekrarlandı. bu Saklanan beyaz pelet, nötrofillerin en fazla olduğu granülositleri içerir. bolluk.

Pelet daha sonra vortekslendi ve tüp fosfat tamponlu salinle dolduruldu. İçinde birkaç tüp durumunda, hepsi bu aşamada havuzlandı. Bu adımlar dahil edildi kalan amonyum klorürü yıkayın. Tüp 10 santrifüj edildi 1100 rpm'de dakika. Nihai süpernatant sıvı atıldı. tüp daha sonra vortekslendi ve hücreler soğuk PBS içinde yeniden süspansiyon edildi ve daha sonra bir hemositometre kullanılarak 2.5 X 10⁶ hücre/ml'lik bir konsantrasyona kadar PBS ile seyreltildi. Hücreler buz üzerinde tutuldu kullanılmaya kadar.

Polimorfonükleer lökosit adezyonu, deneysel prosedür

Yuvarlak tabanlı 96 oyuklu doku kültürü plakaları (steril) kullanıldı.

Kuyulara aş ağıdakiler eklendi:

DMEM	100 ul
BHK 238-1/331-7 hücreleri	100 ul

Hücreler daha sonra bir CO2 inkübatöründe 37°C'de 24 saat inkübe edildi.

Fibroblast tek tabakaları, 96 oyuklu mikro titre plakası nda üç kez yı kandı tahlil tamponu ile. Her kuyucuğa 140ul tahlil tamponu eklendi. Daha sonra 20µl potasyum humat (DMEM içinde yapı lımı ş tı r) eklenmiş tir (nihai potasyum humat konsantrasyonu = 100 ug/ml). Hücreler, bir CO2 inkübatöründe 37°C'de 15 dakika süreyle inkübe edildi. Daha sonra 20 µl PMNL süspansiyonu ($2,5 \times 10^6$ /ml) (PMNL: FIBRO = 5:1 optimal için adezyon) her kuyucuğa ilave edildi ve ardı ndan 20ul PMA solüsyonu (uyarı cı) veya 20ul distile su (dinlenme) eklendi.

Plakalar 1 saat 37°C'de inkübe edildi. İnkübasyondan sonra yapı ş mayan PMNL kuyucuklardan çı karı ldı ve plakalar, tahlil tamponu ile üç kez yı kandı . 100ul OPD substrat solüsyonu eklendi ve 5 dakika inkübe edildi. 100ul H2SO4 _ reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa eklendi. Absorbans 492 nm'de okundu.

Yapı ş an granüositlerin toplam miktarı n ($2,5 \times 10^6$ /ml) yüzdesi baş langı çta kuyulara eklenmiş olan standart bir eğriden hesaplanmı ş tı r, baş langı ç PMNL miktarı nı n seri dilüsyonları (%1 ila %100) (basit regresyon kullanı larak) analiz) aş ağı daki gibidir:

Tahlil tamponu içindeki baş langı ç miktarı ndan ($2,5 \times 10^6$ /ml) PMNL'den 5 seyreltme yapı ldı . 140 ul analiz tamponu, 96 oyuklu bir mikrotitre plakası nı n 12 oyuğuna ilave edildi. PMNL, $2,5 \times 10^6$ ve $0,07 \times 10^6$ 'nı n seyreltilmiş süspansiyonları ndan 20, 0,6 x 10⁶ , 0,3 x 10⁶ , 0,15 x 10⁶ , 20, 0,6 x 10⁶ , 0,3 x 10⁶ , 0,15 x 10⁶ , distile su eklendi. bu plaklar daha sonra bir CO2 inkübatöründe 37°C'de 1 saat inkübe edildi .

Plaka daha sonra 8 dakika/1500 rpm için santrifüjlendi. Süpernatant dikkatlice peleti bozmadan pipet ile uzaklaş tı rı ldı . 100µl OPD eklendi. substrat çözeltisi ve 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra 100µl H2SO4 (1mol/L) eklendi. reaksiyonu durdurmak için her kuyu. Absorbans 492 nm'de okundu.

BÖLÜM 3

SONUÇLAR

3.1. Güvenlik testi

Potasyum humatı n klinik güvenliği tam kan testi ile belirlendi.

sayı m, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri yani sodyum, potasyum, kreatinin, alkalın fosfataz, gama GT, üre ve urat. Hastalardan kan örnekleri alı ndı denemeden önce ve sonra ve test için Ampath laboratuvarları na® gönderildi.

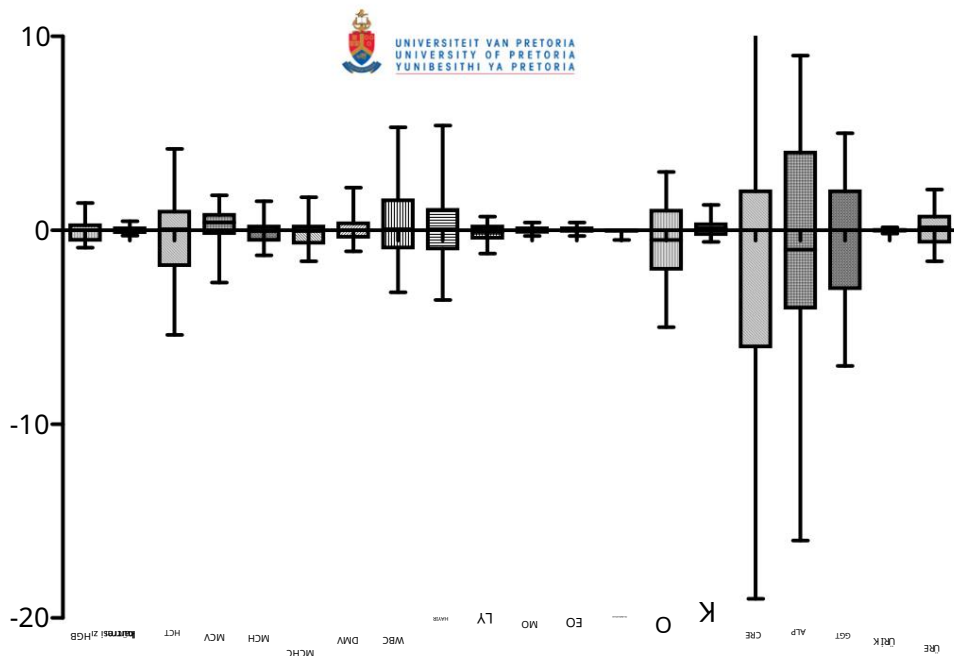
Patoloji sonuçları nı n analizinden sonra, bir ANOVA aracı lı ğı yla gözlemlendi. tüm parametreler güvenli aralı ktaydı ve önemli bir fark yoktu tedavi edilen gruba karşı plasebo ile ilgili olarak, böylece potasyum humatı n bu dozda kullanmak güvenli olabilir (Tablo 1, Ş ekil 1 ve 2).

Tablo 1: Tam kan sayı mı için patoloji sonuçları (HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, NE, LY, MO, EO, BA, PLT), karaciğer (alkalin fosfataz, gama GT) ve böbrek (sodyum, potasyum, kreatinin, üre ve urat) fonksiyon testleri Tedavi edilen ve plasebo grubunun çalı ş ması ndan önce ve sonra elde edilen hastaları n oranı .

	İş lenmiş				plasebo			
	Önceki		Sonrası nda		Önceki		Sonrası nda	
	Kötü	SD	Kötü	SD	Kötü	SD	Kötü	SD
HGB (g/dl)	14.14	1.45	14.4	1.10	14.10	1.18	14.08	1.38
RBC (10 ¹² /L)	4.69	0.50	4.80	0,37	4.76	0,33	4.76	0,37
HCT (%)	41.46	4.10	42.29	2,76	41.21	4.22	41.38	3,88
MCV (fL)	88.58	2,86	88.28	2.98	87.07	4.60	86.99	4,98
MCH (sf)	30.22	1.30	30.09	1.35	29.55	1.75	29.64	1.97
MCHC (g/dl)	34.09	0,75	34.08	0,71	33.93	0,73	34.05	0,62
RDW (%)	12.97	0,74	13.15	0,82	13.31	1.03	13.27	0.95
WBC (10 ⁹ /L)	8.11	2,85	7.36	2.30	7.27	2.14	7.03	1.62
NE (10 ⁹ /L)	4.92	2.60	4.42	2.06	4.37	1.97	4.02	1.59
LY (10 ⁹ /L)	2.43	0.50	2.20	0.50	2.15	0.42	3.54	5.48
MO (10 ⁹ /L)	0.52	0,25	0.54	0.17	0.46	0,15	0.82	1.72
EO (10 ⁹ /L)	0.20	0,15	0.23	0,14	0,24	0.20	0,22	0.13
BA (10 ⁹ /L)	0.02	0.03	0.01	0.02	0.02	0.04	0.08	0.17
PLT (10 ⁹ /L)	289.35	74.35	299.05	77.74	310.50	66.08	320.900	60.42
Yok (mmol/L)	137.90	1.80	138.60	1.96	137.90	1.95	138,50	1.85
K (mmol/L)	4.31	0.42	24.51	90.03	4.52	0.49	4.37	0.42
CRE (µmol/L)	72.15	18.51	73.95	12.93	75.35	12.98	75.45	13.17
ALP (U/L 37°C)	56.15	11.65	57.00	11.23	58.16	12.97	58.40	14.63
GGT (U/L)	15.10	9.52	17.55	8.88	15.00	6.90	15.35	6.95
ÜRİK (mmol/L)	0,26	0.08	0,27	0,06	0,275	0.08	0,28	0.08
ÜRE (mmol/L)	3.74	1.38	3.90	1.05	4.18	0.91	4.06	1.16

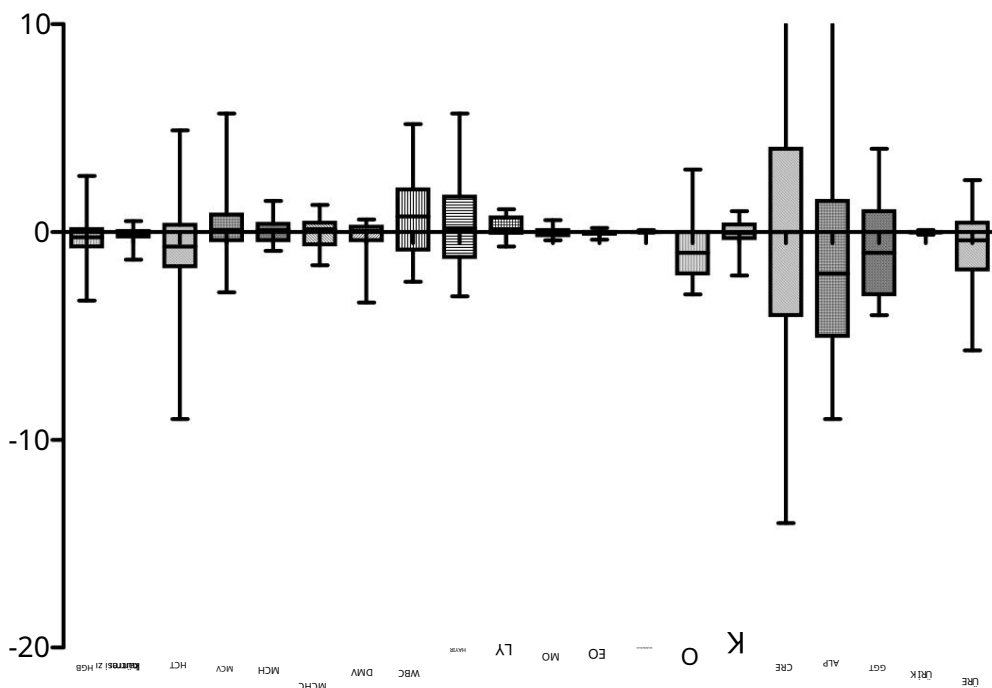
HGB: Hemoglobin, RBC: Kı rmı zı kan hücreleri, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama hücre hacim: MCH: Ortalama hücre hemoglobini, MCHC: Ortalama hücre hemoglobini konsantrasyon, RDW: Kı rmı zı hücre dağı lı m geniş liği, WBC: Beyaz kan hücresi, NE: Nötrofiller, LY: Lenfositler, MO: Monositler, EO: Eozinofiller, BA: Bazofiller, PLT: Plateletler, NA: Sodyum, K: Potasyum, CRE: Kreatinin, ALP: Alkalin fosfataz, GGT: Gamma-glutamin transaminaz.

plasebo



Ş ekil 1: Tam kan sayı mı için patoloji sonuçları (HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, NE, LY, MO, EO, BA, PLT), karaciğer (alkalin fosfataz, gama GT) ve böbrek (sodyum, potasyum, kreatinin, üre ve ürat) fonksiyon testleri plasebo grubunda yapı ldı .

Hümik asit



Ş ekil 2: Tam kan sayı mı için patoloji sonuçları (HGB, RBC, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC, NE, LY, MO, EO, BA, PLT), karaciğer (alkalin fosfataz, gama GT) ve böbrek (sodyum, potasyum, kreatinin, üre ve ürat) fonksiyon testleri potasyum humatla tedavi edilen grup üzerinde yapı ldı .

3.2. Toplam Semptom Skoru

Çeşitli zamanlar için puanları karşılaştırılmasından elde edilen verileri analiz ederken bir ANOVA kullanılarak ve taban çizgisine göre ayarlanarak önemli bir fark gözlenmedi plasebo grubunu tedavi edilen grupla karşılaştırırken (Tablo 2).

Tablo 2: Tedavi ve plasebo çalışmasından önceki ve sonraki toplam semptom skorları gruplar.

	İlk 48 Saat		1. Mid 48 Saat		2. Mid 48 Saat		3. Mid 48 Saat		Son 48 Saat	
	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam	Sabah Akşam
İşlenmiş	30.8	33.7	29.8	31.1	26.2	26.7	26.7	26.8	26.4	28.6
plasebo	30.1	34.5	28.5	31.3	24.7	28.3	22.6	25.7	22.0	24.2

Sabah: 2 sabah için ortalama puan.

Akşam: 2 akşam için ortalama puan.

İlk 48 Saat: Denemenin ilk 2 gününün ortalama puanları .

1. Orta 48 Saat: Denemenin 7. ve 8. günlerinin ortalama puanları .

2. Orta 48 Saat: Denemenin 14. ve 15. günlerinin ortalama puanları .

3. Orta 48 Saat: Denemenin 21. ve 22. günlerinin ortalama puanları .

Son 48 Saat: Deneme süresinin son 2 gününün ortalama puanları .

3.3. Cilt Prick Testi

Tarama sürecinin bir parçası olarak her katılımcı için deri prick testi yapıldı ve sonuçtan, katılımcıların en çok alerjik olduğu alerjen seçildi denemenin sonunda tekrarlanacak pozitif histamin ile birlikte.

Bir ANOVA kullanarak ve taban çizgisine göre ayarlayarak istatistiksel analizle, önemli bir önceki ve sonraki sonuçları karşılaştırırken $p < 0,05$ ile fark gözlemlendi tedavi edilen ve plasebo gruplarını karşılaştırırken (Tablo 3).

Tablo 3: Çalışma madan önce ve sonra kabartı ölçümleri (mm olarak çap)
 cilt delme testlerine göre tedavi edilen plasebo grupları na karşı .

	Kabarcık çapı (mm)			
	Önceki		Sonrasında	
	Kötü	SD	Kötü	SD
İş lenmiş	8.69	4.71	*6.26	2,79
plasebo	10.66	3,85	9.67	3.91

* İstatistiksel önemi gösteren ($p < 0.05$)

3.4. eozinofil sayısı

Nazal eozinofili, nazal alerjinin ayrırt edici özelliği olarak kabul edilir (Gleich ve diğerleri, 1994). Eozinofiller normalde nazal sekresyonları n lekeli yayması nda görülmezler. bu eozinofillerin artan mevcudiyeti, dahil olmak üzere bir iş e alı m dengesi içerebilir olgun hücrelerin kemotaksisi, progenitörlerinin çoğalması ve dokunun yok edilmesi eozinofiller (Gibson ve diğerleri, 1990). izlemek için bir derecelendirme ölçüğü kullanı labilir. tedaviye yanıt.

Bir ANOVA kullanarak ve taban çizgisine göre ayarlayarak istatistiksel analizle, önemli bir keyfi bir sayı olarak ifade edilen sonuçlarda (1-6 arası nda) fark gözlendi karşı laştı rıldı ğı nda yaymada bulunan eozinofillerin derecesine karşı lı k gelir. sı rası yla tedavi edilen ve plasebo grupları nı n sonuçları ndan önce ve sonra (Tablo 4).

Tablo 4: Yaymalarda eozinofil varlığı nı n derecesi (derecelendirme sistemi kullanı larak) tedavi edilmiş ve plasebo grupları ndan elde edilmiş tir.

	Eozinofil varlığı nı n derecesi			
	Önceki		Sonrasında	
	Kötü	SD	Kötü	SD
İş lenmiş	2.63	1.12	*1.84	0.60
plasebo	2.80	0,83	2,95	0,76

* İstatistiksel önemi gösteren ($p < 0,05$)

3.5. Nötrofil yapışma testi

Bu tahlil, potasyum humatının genel bir özelliği olup olmadığını belirlemek için yapılmıştır. anti-alerjik eylem veya eylemin daha spesifik bir anti-alerjik etkiye sahip olup olmadığını. bu nötrofil adezyon testi, yapışık olan nötrofillerin miktarını ölçer.

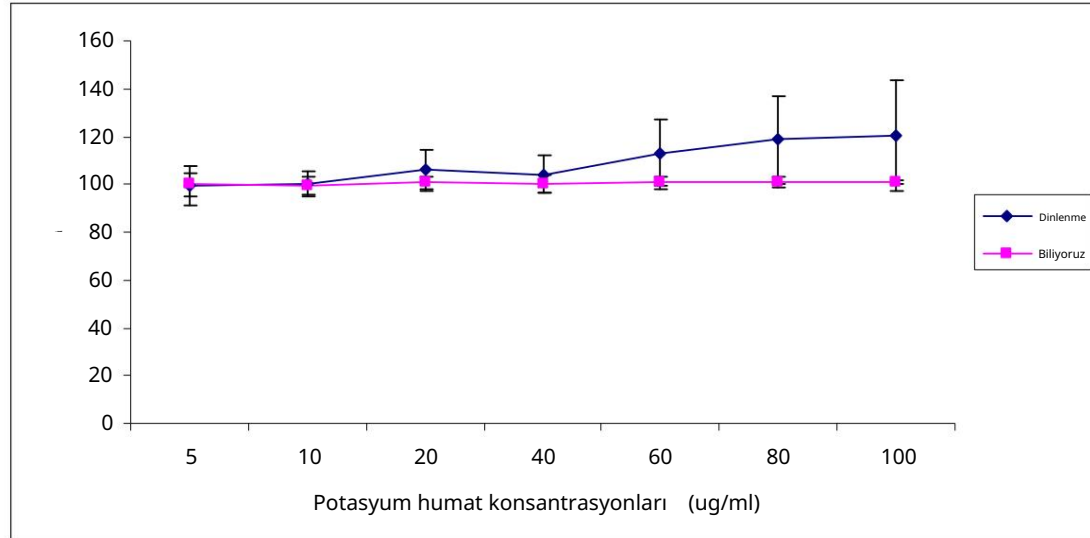
Sırasıyla BHK 238-1 ve 331-7 hücre hatları. BHK 331-7, ICAM-1 içerir ve bu nedenle nötrofillerin ICAM-1'e bağlanması için daha spesifiktir. Her ikisi de uyarılmı ve dinlenme hücreleri ölçüldü. Yapışık nötrofiller analiz edilerek nicelleştirildi MPO sürümü. Her tahlil üç kopya halinde çalıştırıldı ve daha sonra üç kez tekrarlandı; sonuçlar daha sonra havuzlandı ve ardından bir ortalama ve standart sapma (SD) bulundu. bu değerlerden (Tablo 5 ve 6) ve çizilen diyagramlardan (Şekil 3 ve 4) hesaplanmıştır.

Sonuçlardan da görüldüğü gibi, aralarında önemli bir fark yoktu.

uyarılmı ve dinlenen hücrelere göre önemli bir fark olmadığı gibi potasyum humat ile tedavi edilen hücrelerin artan konsantrasyon aralığı, bu da potasyum humatın daha spesifik bir anti-alerjik etkiye sahip olduğunu düşündürür. Bu hem BHK 238-1 hücre hattı hem de BHK 331-7 hücre hattı için gözlemlendi sırasıyla (Tablo 5 ve 6, Şekil 3 ve 4).

Tablo 5: Potasyum humatının istirahat ve uyarı lımı ş nötrofillerin yapı ş ması üzerindeki etkileri artan konsantrasyonlarla iş lendiğinde BHK 238-1 hücre hattı na yapı ş ma üzerine potasyum humat.

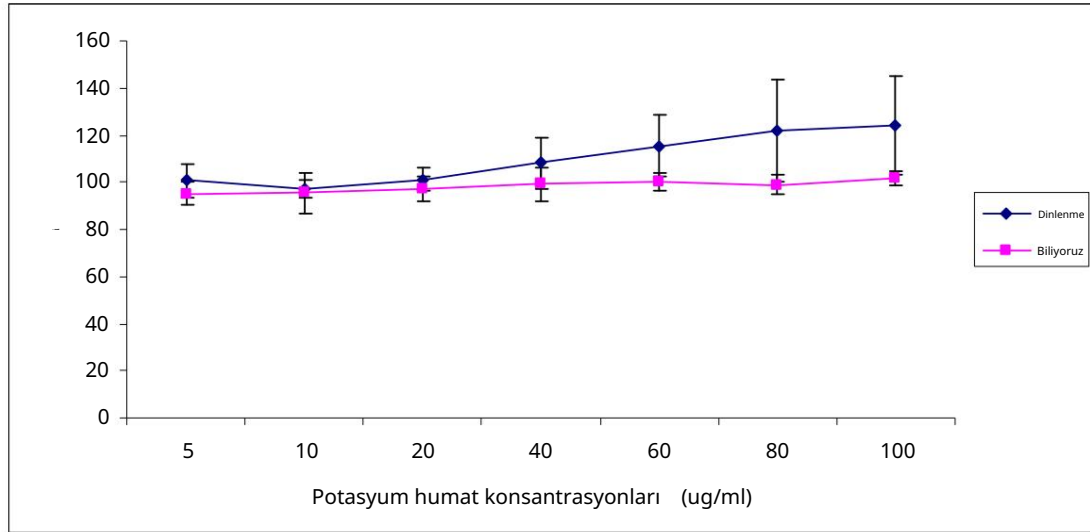
Potasyum humat ($\mu\text{g/ml}$)	Kontrol yüzdesi olarak yapı ş ma ortalaması						
	5	10	20	40	60	80	100
Dayanma							
Ortalama	99,55	100,10	105,94	104,19	113,18	118,67	120,50
SD	7,97	5,24	8,39			13,95	
uyarı lımı ş							
Ortalama	100,17	99,62	100,69	100,25	100,65	101,00	101,05
SD	4,86	3,91			3,96	2,65	2,25



Ş ekil 3: Potasyum humatının istirahat ve uyarı lıma karşı adezyon üzerindeki etkileri artan ile tedavi edildiğinde BHK 238-1 hücre hattı na yapı ş ma üzerine nötrofiller potasyum humat konsantrasyonları .

Tablo 6: Potasyum humatının istirahat ve uyarı lımı ş n6trofillerin yapı ş ması ¼zerindeki etkileri artan konsantrasyonlarla iş lendiğinde BHK 331-7 h¼cre hattı na yapı ş ma ¼zerine potasyum humat.

Potasyum humat (µg/ml)	Kontrol y¼zdesi olarak yapı ş ma ortalaması						
	5	10	20	40	60	80	100
Dayanma							
Ortalama	100,63	97,04	101,13	108,05	115,49	123,97	21,57
SD	6,89	3,70	4,79	10,88	12,86		21,15
uyarı lımı ş							
Ortalama	95,08	95,37	4,75	97,08	99,16	99,85	98,91
SD	8,64			5,2	6,98	3,74	4,16
							3,00



ř ekil 4: Potasyum humatının istirahat ve uyarı lmaya karş ı adezyon ¼zerindeki etkileri artan ile tedavi edildiğinde BHK 331-7 h¼cre hattı na yapı ş ma ¼zerine n6trofiller potasyum humat konsantrasyonları .

3.6. bazofiller

İlgili hücre popülasyonu, monoklonal antikorlarla boyandı .

alerjen veya kontrollerin varlığı . Sınırlı olarak boyanmış hücrelerin floresansı pozitif lekeli olayları lekesiz olaylardan ayırt etmek için analiz edildi.

Bu prosedür, örneğin hasta başına iki kez gerçekleştirilir. Önce (2. Ziyaret) ve sonra (4. Ziyaret) ve sonuçlar aktifleştirilmiş bazofillerin yüzdesi olarak ifade edilir.

Pozitif ve test arasındaki farkı kullanarak verileri analiz ederken ve

sonra negatif ile ANOVA kullanan test arasındaki fark ve

taban çizgisi için ayarlama yapıldığında, karşılaştırıldığında önemli bir fark gözlenmedi.

öncesi ve sonrası ile ilgili olarak tedavi edilen grubunki ile plasebo grubu

sonuçlar (Tablo 7).

Tablo 7: Yüzde farkı açısı ndan tedavi edilen gruplara karşı plasebo tedaviden önce ve sonra aktif bazofiller.

	2'yi ziyaret edin			Ziyaret 4					
	% Aktif Bazofiller			% Aktif Bazofiller Pozitif					
Plasebo Pozitif	Negatif Test	Ortalama	42,05	8,05	Negatif Test	43,79	8,32	49,05	24,57
50,71	SD 27,33	11,22	31,89			15,11	29,26		
İşlenmiş									
Ortalama	40,75	5,06	41,22	38,87	8,63	47,53			
SD	25,2	7,36	19,83	25,94	17,42	26,51			

3.7. Sitokin seviyeleri

Mikroküreler, her biri ile spesifik olarak reaksiyona giren antikorlarla kaplıdır.

multipleks sistemde tespit edilecek analitler. Boncuklar şu şekilde ayırt edilebilir:

boyutları ve farklı spektral adresleri ile.

Klinik çalışması sırasında her katılımcı için çalışma öncesi ve sonrası serum

Sitokinleri aynı anda FBI kullanarak analiz etmek için donduruldu.

Hem pro hem de anti inflamatuvar sitokinler için verileri analiz ederken

ANOVA ve başlangıca göre ayarlandı. Burada, şu durumlarda önemli bir fark gözlenmedi:

tedavi edilenle plasebo grubunun karşılaştırılması (Tablo 8 ve 9).

Th1 Sitokinler

Tablo 8: Th1 sitokinlerinin ve öncesi ortalama ortalamaları ve standart sapmaları

sırasıyla duruşmadan sonra.

sitokinler	Sitokin seviyeleri (pg/ml)											
	IFN-G		IL-1B		IL-2		IL-8		TNF-A		TNF-B	
	önce	sonra	önce	sonra	önce	sonra	önce	sonra	önce	sonra	önce	sonra
plasebo												
Ortalama	24,66	28,59	21,93	29,77	41,56	46,09	96,66	126,23	31,88	58,89	51,15	62,59
SD	9,45	19,62		9,88		23,5		18,38		27,91		51,67
İşlenmiş												
Ortalama	30,22	40,17	57,69	52,65				30,23	26,28	30,23		
SD	24,37	49,45	75,94	55,65				28,47	26,62	28,47		

Th2 Sitokinler

Tablo 9: Th2 sitokinlerinin öncesi ve öncesi ortalama ortalamaları ve standart sapmaları

sırasıyla duruşmadan sonra.

sitokinler	Sitokin seviyeleri (pg/ml)							
	IL-10		IL-6		IL-4		IL-5	
	Önce	sonra	Önceki	Sonrası nda	Önceki	Sonrası nda	Önce	sonra
plasebo								
Ortalama	19.66	24.15	9.25	11.84	450.94	455.98	59.79	110.97
SD	14.03	20.91	5.86	9,11	1847,11	1397,49	54.04	176.98
İşlenmiş								
Ortalama	21.72	265.67	474.73	556.63	119.91	110.94	19.05	14.58
SD	13.56	992,31	1784,16	2081,55	78.65	110.98	30.76	16.57

BÖLÜM 4

TARTIŞ MA

4.1. Güvenlik testi

Klinik çalış mada Latrobe vadisi potasyum humatTM'nin güvenliği , günlük dozda 1.8g, bildirilen veya gözlemlenen herhangi bir yan etki olmaksız ın kurulmuş tur. Herş ey hematoloji ve biyokimyasal parametreler normal sını rlardaydı ve plasebo ve tedavi edilen gruplar arası nda istatistiksel olarak anlamlı farklar saptandı . karşı laşt ırıldı , bu nedenle potasyum humat ın sahip olmadığı sonucuna varıldı . 30 gün boyunca bu dozda alındı ğı nda yan etkiler.

4.2. Toplam semptom puanı

Toplam semptom skoru anlamlı bir farklı lık göstermemesine rağmen, Sı rasıyla tedavi edilen ve plasebo grupları nın karşı laşt ırılması , puanlarda azalma eğilimi her iki grup için de gözlemlendi, bu da denemenin Polen dalgalanmaları nı hesaba katmak için polen mevsimine kası tlı olarak girip çı kmak sayı m, her iki grubun semptomları nı hafifletti. İkinci bir deneme planlanı yor polen dalgalanması nı ortadan kaldı rmak için sezon içi dönemle sını rlandı rılması .

4.3. Deri delme testi

Alerjen, önceden hassaslaş mış bir kiş inin cildine girdiğinde, Bir mast hücrenin yüzeyindeki IgE molekülleri köprülenir ve direğin degranülasyonu hücre oluş ur. Histamin içeren önceden oluş turulmuş granüller salı nı r ve ardı ndan eozinofiller ve nötrofiller tarafı ndan dermisin progresif infiltrasyonu bölgeye kemotaktik faktörler tarafı ndan çekilir. Ancak bazı ajanlar mast oluş umuna neden olabilir. IgE aracılı olmayan mekanizmalar tarafı ndan hücre histamin salı nı mı .

Bir ANOVA kullanarak ve taban çizgisine göre ayarlayarak istatistiksel analizle, önemli bir önceki ve sonraki sonuçları karşı laşt ırırken $p < 0,05$ ile fark gözlemlendi sı rasıyla tedavi edilen ve plasebo grupları nın yüzdesi, tedavi edilen katılı mcı ları n %70'i

plasebonun %65'ine kıyasla son ziyaretlerinde azalmı ş bir kabartı ya sahip olmak grup. Plasebo grubundaki azalma, denemenin telafi etmek için yapı lan polen sezonuna girip çıktı . Polenlerdeki dalgalanmalar ve bunun istenmemesi çalı ş mada belirleyici bir faktördür.

Bir enflamatuar yanı t olan parlama ölçümlerini karşı laş tı rı rken alerjen, ikisi arası nda önemli bir fark olduğu gösterilmiş tir. gruplar ve taban çizgisi için ayarlama yapı lı rken, tedavi edilen grupları n parlama ölçümleri önemli ölçüde azaldı . Böylece potasyum humatı n bir anti olarak çalı ş tı ğı nı kanı tlı yor. enflamatuar ajan.

4.4. eozinofiller

Eozinofillerin tutulumu, alerjik rinitin bir ticari markası dı r. Birikimler Hücrelerin lokal doku bölgelerine taş ınması , sitokinlerin ve diğer hücrel ve humoral arabulucular (Gleich ve diğerleri, 1994). Eozinofiller nazal bölgede nadiren bulunur. atopik olmayan ve nazal semptomları olmayan bireylerin mukozası . artı ş ları Eozinofiller, hem lamina propriada hem de nazal epitelyumda belirgindir. mukoza (Breddin ve diğerleri, 1993, 1995, Bentley ve diğerleri, 1992, Jacobson ve diğerleri, 1999) ve nazal lümen örneklerinde iyileş meleri de artmaktadı r (Andersson ve ark., 1989, Pipkom ve diğerleri, 1988, Salib ve diğerleri, 2005).

Eozinofil granül bileş enlerinin, ECP ve eozinofilin yüksek konsantrasyonları nazal lavajda protein X (EPX) ve ayrı ca eozinofil peroksidaz tanı mlanmı ş tı r Aktif mevsimsel alerjik riniti olan hastaları n her ikisi de olmayanlarla karşı laş tı rı ldı ğı nda rinitli denekler ve mevsim dı ş ı aynı mevsimsel rinitliler (Wilson ve ark., 1998, Ahlstrom-Emanuelsson ve diğerleri, 2004, Klimek ve diğerleri, 1996, Lorenzo ve diğerleri, 1997, Svensson ve diğerleri, 1990, Wilson ve diğerleri, 1998). Nazal lavajdaki ECP seviyeleri hem eozinofillerin sayı sı yla iliş kili bulunmuş tur (Andersson ve diğerleri, 1989, Miller ve diğerleri, 1982, Wilson ve diğerleri, 1998, Bickmore 1978), iş e alı m ve Bu hastalı kta eozinofillerin aktivasyonu ve semptom skoru (Ahlstrom-Emanuelsson ve diğerleri, 2004).

Bir ANOVA kullanılarak ve taban çizgisine göre ayarlanarak istatistiksel analiz yapıldıktan sonra, bir öncesi ile karşılaştırıldı. $p < 0.05$ ile anlamlı fark gözlemlendi ve sırasıyla tedavi edilen ve plasebo gruplarındaki sonuçlarından sonra, tedavi edilenlerin %55'i son vizite göre eozinofil derecelendirmesinde azalma olan katılımcılar plasebo grubunun %5'i.

Eozinofillerin işlevi ve aktivasyonu, klinik hastalık için kritik olarak kabul edilir. ekspresyonu, bu hücrelerin etkinleştirildiklerinde aracıları serbest bırakma yetenekleri sayesinde inflamasyonun gelişmesine neden olur. Yani eozinofillerin alımı azaltmada Potasyum humatın anti-alerjik etkisini bir başka vekil belirteç üzerinde kanıtlar. alerjik rinitin toplamı değerlendirirken anlamlı olmaması nedeniyle semptom puanları, semptomların gerçek anlamda hafifletilmesi henüz kanıtlanmamıştır.

İki grubun smearları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğu görüldü. için sonuçları ayarlarken gösteren iki grup arasındaki fark başlangıçta tedavi edilen grupların nazal eozinofil alımı önemli ölçüde azalmıştır, saman nezlesi için diğer tedavilerle koreledir (Di Lorenzo ve ark., 2004).

4.5. nötrofiller

Nötrofiller kendi kemokinlerini serbest bırakarak iltihaplanmaya katkıda bulunabilirler. süperoksit anyonu ve granüler enzimler. sıvılarda nötrofil elastaz (NE) hava yollarını epitel astarını yapılarını tahrip ettiği bildirilmiştir. hücre dışı matris, daha fazla enflamatuar sitokin salınımını indükler ve üretir klinik semptomlar (Teran ve diğerleri, 1997; Nadel ve diğerleri, 1999; Gadek ve diğerleri, 1979). Nötrofiller ayrıca lipidler, proteazlar, mikrop öldürücü ürünler, reaktif oksijen ara ürünleri (süperoksit, H_2O_2 , OH^-) ve nitrik oksit (Sampson, 2000).

Bu sitokinlerin nötrofil alımına ve aşırı duyarlılığa katkıda bulunma olasılığı yüksektir. Ancak, büyük miktarlarda histotoksik ve diğer maddeleri salma potansiyelleri nedeniyle proinflammatuar ajanlar, bu hücre ayrıca önemli doku üretme kapasitesine sahiptir. incinme. Bu nedenle nötrofillerin in vivo uygunsuz veya aşırı aktivasyonu,

çok çeşitli enflamatuar hastalıkları n patogenezinde yer almaktadır (Brezilya ve al., 2005).

Nötrofil yapışma tahlili, hücreye yapışan nötrofillerin miktarını ölçer. Sırasıyla BHK 238-1 ve 331-7 hücre hatları. BHK 331-7, ICAM-1 içerir ve bu nedenle nötrofillerin ICAM-1'e bağlanması için daha spesifiktir. Her ikisi de uyarımlı ve dinlenme hücreleri ölçüldü. MPO salınımı miktarı belirlenmiş yapışık maddenin analizi nötrofiller.

Sonuçlardan görüldüğü ve hesaplandığı gibi, hiçbir şeyin olmadığı açıkça belirtilmiştir. uyarılan ve dinlenen hücreler arasında önemli farklılıklar olduğu gibi, artan doz ile nötrofil adezyonu ile ilgili olarak önemli bir fark potasyum humat tedavisi aralığı. Bu, hem BHK 238-1 hücresi için gözlemlendi hattı ve sırasıyla BHK 331-7 hücre hattı. Bu, burada şunu gösterir: Potasyum humatın hem uyarılan hem de uyarılan nötrofillerin adezyonu üzerinde hiçbir etkisi olmamasıdır. dinlenme ve dolayısıyla salınan MPO miktarı üzerinde hiçbir etkisi olmaz ve sırayla nötrofil yapışması na göre enflamatuar tepki üzerinde hiçbir etkisi yoktur.

4.6. bazofiller

Bazofil saflaştırma, kanda tespit ve aktivasyonun izlenmesi için yeni araçlar olarak Floresans ile aktive edilen hücre sayımını flandırması geliştirilmiş ve pazarlanmıştır, şimdi, artan hücre sayısıyla belgelenen, bu hücre tipine yönelik yeni bir ilgi artışı bazofillerin immünoyolojisini ele alan yayınlar ve laboratuvarlar.

Böylece bazofiller artık araştırmaya çok daha uygun hale geldi ve sonuç olarak bağışıklık sistemindeki rollerinin algılanması sadece efektör hücrelerden değil, yüksek afiniteli immünoyoglobulin E (IgE) sayesinde alerjik reaksiyonlara dahil olurlar lökotrienlerin ve histaminin reseptör aktivasyonuna bağımlı bir hücreye salınması potansiyel olarak parazitlere karşı bağışıklık tepkilerini modüle etmede derinden yer alırlar ve alerjenler (Irani ve diğerleri, 1989, Walls ve diğerleri, 1990).

Pozitif ve test arasındaki farkı kullanarak verileri analiz ederken ve sonra negatif ile ANOVA kullanan test arasındaki fark ve

taban çizgisi için ayarlama yapıldığında, karşılaştırıldığında önemli bir fark gözlenmedi. Öncesi ve sonrası ile ilgili olarak tedavi edilen grubunki ile plasebo grubu sonuçlar. Plasebo grubunun %64,71'i bazofil stimülasyonunda azalma yaşadı tedavi edilen grubun %35,71'ine kıyasla, bu muhtemelen kontrolsüz hastaları n bulunduğu yer ve tesise geliş yolları nı n belirlendiği durumlar bilinmemektedir ve hastaları n bazofillerinin halihazırda uyarılmış olması na yol açabilir. Bu gelecekteki benzer çalışmalarda bu yöntemin kullanılması durumunda dikkate alınmalıdır.

Bu nedenle, bu dozda potasyum humatı n bazofil stimülasyonu ve dolayısıyla histamin salınımı ve bu nedenle daha fazlasına sahip olabilir. Spesifik antiinflatuar etki, ancak kontrolsüz olması nedeniyle bu kesin değildir. Yukarıda belirtilen durumlar.

4.7. sitokinler

Çalışmalar, T yardımcı (Th) hücrelerinin birbirini dışlayan Th1'e bölündüğünü bildirmektedir. (esas olarak IL-2 ve IFN- γ üretir) ve Th2 (esas olarak IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 ve IL-13) hücreleri. Bu iki alt küme, sergileyen hücrelerle birlikte hareket eder. Sınırsız sitokin profili (yani Th0) (Mosmann ve diğerleri, 1986, 1989, 1996, Cherwinski ve diğerleri, 1987). Th1 hücreleri öncelikle hücre aracı bağışıklıkta yer alır Th2 hücreleri ise humoral ve alerjik bağışıklıkta önemli bir rol oynar. Tepkiler (Mosmann ve diğerleri, 1996).

Th2 sitokinlerinin baskın olduğu AT yardımcı (Th) 1/Th2 sitokin dengesizliği, AR'de patojenik öneme sahip olduğu öne sürülmüştür. Th2 hücreleri önemli bir rol üstlenir. Özellikle IL-4 üretimi yoluyla humoral ve alerjik bağışıklık tepkileri, IL-5 ve IL-10. Th2 hücreleri, akciğerde geç faz yanıtında kolaylıkla bulunabilir. ve deriye antijenlerin intradermal enjeksiyonundan sonra. Bazı sitokinler bu hücreler tarafından salgılanan doğrudan proinflatuar etkilere sahiptir; hem IL-4 hem de IL-5 eozinofillerin ve mast hücrelerinin işlenmesi ve hayatta kalmasını teşvik eder (Mosmann ve diğerleri, 1986, 1989, 1996, Cherwinski ve diğerleri, Romagnani 1997).

IL-8 ve MPO Düzeyleri, kronik rinosinüziti olan kişilerde daha yüksektir.

IL-8, sinüs dokusunda nötrofilleri toplar ve aktive eder. Nazal epitel hücreleri,

örneğin nötrofiller, mast hücreleri, fibroblastlar eotaksin, IL-1 β , IL-8 ve Eozinofillerin akışını ve aktivasyonunu indükleyebilen TNF-a (Bradding ve diğerleri, 1995, Abdelaziz ve diğerleri, 1998, Terada ve diğerleri, 2000).

Hem Th1 hem de Th2 sitokinleri için verileri analiz ederken bir ANOVA ve başlangıca göre ayarlama yapıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi tedavi edilenle plasebo grubu karşılaştırıldı. Belirli korelasyonlar ve eğilimler gözlemlendi. Aktif eozinofillerin akışına neden olan IL-4 ve IL-5 ile ilgili olarak ve sırasıyla IgE üretimini teşvik eder, plasebo grubunun ortalaması arttı tedavi edilen grubunki azaldıkça, nazal sonuçlarla ilişkili olarak eozinofil boyama ve derecelendirme sonucu. Azalan miktarın teyit edilmesi nazal eozinofillerin sayısı, IL-4 ekspresyonunun azalmasını bir sonucu olabilir ve IL-5 sitokinleri.

IL-8 ve IL-1 β ile ilgili olarak, bu sitokinlerin her ikisi de plasebo grubunun artan ekspresyonuna karşı tedavi edilen grup. bu da olabilir eozinofillerin azalmasından ve salgılanmasını azalmasından sorumludur. IL-8 ayrıca nötrofillerin alımında ve aktivasyonunda azalmaya yol açar; inflamasyonun azalmasına yol açar.

Bazı sitokin testlerindeki büyük farklılıklar nedeniyle, bilinmeyen veya kontrolsüz olaylar, bu sonuçların yorumlanması çok zorlaştırdı.

5. Sonuç

bulunan eozinofil sayısı sında önemli bir azalma görülmesine rağmen nazal yaymalarda ve sonrasında gelişen kabarıklıkların boyutunda azalma Potasyum humat kullanan grupta alerjen tehdidi, herhangi bir sonuca varılamadı Potasyum humatın bir antihistaminik ajan olarak etkinliği üzerine yapılmıştı.

Bu çalışmanın süresinin, öğrencinin öğrenim gördüğü aylarla sınırlanması durumunda farklı olabilir. polen sayısı en yüksek seviyededir. Daha yüksek bir potasyum humat dozu da verebilir. daha olumlu anti-alerjik sonuçlar. Çünkü çok sayıda bilgi ve birikim Potasyumun özellikleri, etki mekanizması, işlevi ve kullanımları hakkında bilgi mevcuttur. humate, geniş bir tahlil ve test yelpazesi olmuştur ve şu anda yapılmaktadır. olası kullanımlarını ve etki mekanizmalarını belirlemek için üzerinde çalışılmıştır. potasyum humat

Kontakt hipersensitiviteye ilişkin bir fare modeli, potasyum kullanımı nda büyük umut vadediyor bir anti-inflamatuar ajan olarak humat (Van Rensburg ve diğerleri, baskıda). Bu çalışmada deri prick test sonuçlarındaki anlamlı düşüş ile doğrulanmıştır. Potasyum humat, anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. bununla ilgili olarak etki mekanizması, bu çalışmada elde edilen ön sonuçlar göstermektedir ki Potasyum humat, eozinofillerin toplanmasını ve aktivasyonunu şu şekilde azaltabilir: IL-4, IL-5, IL-8 ve IL-1 β ifadesini baskılamak.

Bu sonuçları doğrulamak ve mekanizmayı daha iyi anlamak için Potasyumun hem anti-enflamatuar hem de anti-alerjik özelliklerinin etkisi humat, sitokinlere odaklanan daha derinlemesine çalışmaları yapılmalıdır. soru.

6. Referanslar

Abdelaziz MM, Devalia JL, Khair OA. (1998) Mevsimsel alerjik riniti olan hastaları n nazal epitel hücrelerinden sitokin salı nı mı ve epitelyal geçirgenlikte eozinofil kaynaklı değiş iklikler üzerinde feksofenadin etkisi. J Allergy ClinImmunol 101: 410-420.

Ahlstrom-Emanuelsson CA, Greiff L, Andersson M, Persson CGA, Erjefalt JS. (2004) Alerjik rinitte eozinofil degranülasyon durumu: mevsimsel alerjen maruziyeti ö ncesi ve sı rası ndaki gözlemler. Eur Respir J. 24:750-7.

Andersson M, Andersson P, Venge P, Pipkorn U.(1989) Alerjene bağlı aşı rı duyarlı lı kta nazal lavajlarda eozinofiller ve eozinofil katyonik protein: topikal glukortikosteroid tedavisinin etkileri. Alerji 44:342-8.

Andersson M, Svensson C, Andersson P, Pipkorn U. (1989) Doğal alerjen maruziyeti sı rası nda saman nezlesi olan hastalarda nazal mukozanı n alerjik inflamatuvar yanıtı nı n objektif olarak izlenmesi. Am Rev Respir Dis 139:911-4.

Arock M, Merle-Beral H, Dugas B. (1993) insan lö semik ve aktive edilmiş normal bazofiller tarafı ndan IL-4 salı nı mı . J Immunol 151: 1441-1447.

Baatz H. (1988) Jinekolojide Moor terapisi., Moor terapisi: temeller ve uygulamalar, Flaig, W., Goecke, C. ve Kauffels, W. 161 - 168, Ueberreuter, Viyana-Berlin.

Bachert C, Wagenmann M, Hauser U. (1995) Proinflamatuvar sitokinler: nazal sekresyonda ölçüm ve adezyon reseptörü ekspresyonunun indüksiyonu. Int Arch Allergy Immunol 107: 106-108.

Benson M, StrannegaÊ rd IL, Wennergren G. (1997) Mevsimsel alerjik riniti olan okul çocukları ndan alı nan nazal sı vı lardaki sitokinler. Ped Allergy Immunol 8:1 43-149.

Benson M, StrannegaÊ rd IL, StrannegaÊ rd OÊ . (2000) Alerjik rinitte topikal steroid tedavisi nazal sı vı TH2 sitokinlerini, eozinofilleri, eozinofil katyonik proteini ve IgE'yi azaltı r ancak IFN-gama, IL-1beta, TNFalfa veya nö trofiller üzerinde anlamlı bir etkisi yoktur. J Alerji Kliniği Immunol 106: 307-312.

Bentley AM, Jacobson MR, Cumberworth V ve ark. (1992) Mevsimsel alerjik rinitte nazal mukozanı n immünohistolojisi: aktive edilmiş eozinofillerde ve epitelyal mast hücrelerinde artı ş . J Alerji Kliniği İmmunol. 89:877-83.

Berman D, Toerien A. (1991) Eozinofillerin Analizi. ALLSA PRATİK ALERJİ EL KİTABI. Ek xii.

Bernard A, Brottier P, Georget E, Lepage V, Boumsell L. (1984) Katı lı mcı laboratuvarları n araştı rmacı ları tarafı ndan insan lö kosit farklı laş ma antijenleri üzerine ilk uluslararası çalı ş tayı n ortak raporu. Leucocyte Typing I, Bernard, A. ve ark., Springer Verlag, 9-135.

Bickmore JT. (1978) Alerji ve enfeksiyonda nazal sitoloji. ORL. Alerji. 40:39-46.

Borowitz M, Bauer KD, Duque RE, Horton AF, Marti G, Muirhead KA, Peiper S, Rickman W. (1998) Akı ş sitometrisinin klinik uygulamaları : Lenfositlerin kalite güvencesi ve immünofenotiplemesi; onaylanmı ş kı lavuz NCCLS, 21, 18.

Böyum A. (1968) İnsan kanı ndan lökosit izolasyonu. İlave gö zlemler: Eritrosit toplayı cı maddeler olarak metilselüloz, dekstran ve fikor. Tarama J Clin Lab Invest. 21: 31-50.

Bradding P, Feather IH, Wilson S, Bardin P, Holgate ST, Howarth PH. (1993) Normal ve çok yı llı k rinit hastaları nı n nazal mukozası nda sitokinlerin immünolokalizasyonu: insan alerjik iltihabı nda IL-4, IL-5 ve IL-6 kaynağı olarak mast hücresi. J İmmunol. 151:3853-65.

Bradding P, Feather IH, Wilson S, Holgate ST, Howarth PH. Mevsimsel rinitte sitokin immünoreaktivitesi: topikal bir kortikosteroid ile düzenleme. (1995) Am J Resp Crit Care Med. 151: 1900-6.

Bradding P, Mediwake R, Feather IH. (1995) TNF alfa, nazal mukozal mast hücrelerinde lokalizedir ve akut alerjik rinitte salı nı r. Klinik Exp Alerji 25:406-415.

Brezilya TJ, Dagleish MP, McGorum BC, Dixon PM, et al. (2005) Doğal ve kendiliğinden düzelen bir hava yolu iltihabı modelinde pulmoner nötrofil alı mı ve klirensinin kinetiği. Klinik Exp Alerji. 35:854-865.

Brunner T, Heusser CH, Dahinden CA. (1993) İnterlö kin 3 (IL-3) ile hazı rlanan insan periferik kan bazofilleri, immünoglobulin E reseptörünün uyarı lması na yanı t olarak IL-4 üretir. J Exp Med 177: 605-611.

Bühring HJ, Simmons PJ, Pudney M, Müller R, Jarrossay D, van Agthoven A, Willheim, M, Brugger W, Valent P, Kanz L. (1999) Monoklonal antikor 97A6, insan bazofilleri ve bunları n üzerinde ifade edilen yeni bir yüzey antijenini tanı mlar. multipotent ve unipotent progenitö rler. Kan 7: 94, 2343-2356.

Bühring HJ. (2002) E-NPP3 (CD203c). Lö kosit tiplleme VII, Bölüm Yeni CD antijenleri, MC10, Oxford University Press, 377-378.

Cameron L, Hamid Q, Wright E. (2000) Ex vivo alerjen maruziyetinden sonra alerjik nazal mukozada epsilon germ hattı gen transkriptlerinin, IL-4 ve IL-13'ün yerel sentezi. J Alerji Kliniği Immunol 106: 46-52.

Carter LL, Swain SL. (1997) Sitokin üretiminin tek hücre analizleri. Curr. görüş . İmmunol 9: 177-182.

Casale TB, Costa JJ, Galli SJ. (1997) TN alfa insan akciğer alerjik reaksiyonları nda önemlidir. Am J Respir Cell Mol Biol. 15:35-44.

Cherwinski H, Schunacher JH, Brown KD, Mosmann TR. (1987) İki tip fare yardı mcı T hücre klonu. J Uzm Med. 166:1229-44.

Cosmi L, Annunziato F, Iwasaki M, Galli G, Manetti R, Maggi E, Nagata K, Romagnani S. (2000) CRTH2, sağlıklı kta dolaş ı mdaki insan tip 2 Th ve tip 2 T sitotoksik hücrelerinin tespiti için en güvenilir belirteçtir. ve hastalı k. EUR. J. immünol. 30: 2972-2979.

Cosmi L, Annunziato F, Maggi E, Romagnani S, Manetti R. (2001) Tip 2 T hücrelerinde ifade edilen Kemoatraktan Reseptörler ve hastalı ktaki rolleri. Int. Arch Allergy Immunol 125: 273-279.

Cosmi L, Annunziato F, Galli G, Manetti R, Maggi E, Romagnani S. (2001) CRTH2: insan Th2 ve Tc2 hücrelerinin saptanması için belirteç. Temel ve Klinik İmmünolojide İlerleme 2001: 25-29.

Di Lorenzo G, Pacor ML, Pellitteri ME ve diğerleri. (2004) Mevsimsel alerjik rinit için monoterapide flutikazon sulu nazal sprey, flutikazon artı setirizin, flutikazon artı montelukast ve setirizin artı montelukast'ı karşı laş tı ran randomize, plasebo kontrollü çalı ş ma. Clin Exp Allergy 34:259-67.

Giydirme LG. (1997) Numune iş leme, saklama ve hazı rlama. Curr. Protokoller Sitometri. Bölüm 5, 5.0.1-5.2.15.

Durham SR, Ying S, Varney VA. (1996) Çimen poleni immünoterapisi, nazal mukozada CD41 T lenfositlerinin ve eozinofillerin alerjen kaynaklı infiltrasyonunu inhibe eder ve interferon-gama için mRNA ifade eden hücre sayısı nı arttı rı r. J Allergy Clin Immunol 97: 1356-1365.

Ferrara G, Loffredo E, Simeone R, Senesi N. (2000) Vicia faba'nı n çatı uçları nda hümik ve fulvik asidin antimutajenik ve desmutajenik etkilerinin değerlendirilmesi. Environ Toxicol 15:513-517.

Gadek JE, Kelman JA, Fells G ve ark. (1979) İdiyopatik pulmoner fibrozlu hastaları n alt solunum yolları nda kollajenaz. İngilizce J.Med. 301: 737-42.

Galli SJ. (2000) Mast hücreleri ve bazofiller. Curr. görüş . Hematol 7: 32-39.

Gibbs BF, Haas H, Falcone FH. (1996) Saflaş tı rı lı mı ş insan periferik kan bazofilleri, immünolojik aktivasyonun ardı ndan interlökin-13'ü ve önceden oluş turulmuş interlökin-4'ü serbest bır akı r. Eur J Immunol 26: 2493-2498.

Gibson PG, Manning PJ, O'Byrne PM ve ark. (1991) Alerji kaynaklı astı m tepkisi. Am Rev Pespri Dis. 143: 331-335

Gleich GJ, Adolphson CR, Leiferman KM. (1993) Eozinofilik lökositin biyolojisi. Annu Rev Med 44: 85-101.

Aynı GJ, Kay AB ve ark. (1994) Alerji ve iltihaplanmada eozinofiller. New York: Marcel Dekker. 1-24: 1-496.

Håkansson L, Nielsen LS, Teder P. (1994) Transfekte edilmiş fibroblast hücre hatları kullanılarak E-selektin, VCAM-1 ve ICAM-1'e nötrofil ve eozinofil yapışması için ölçümü. *J Immun Methods* 176: 53-66.

Haanel BF. (1942) Turba hakkında gerçekler. Maden Şubesi Yayın No. 614

Hannet I, Erkeller-Yüksel F, Lydyard P, Deneys V, DeBruyère M. (1992) İnsan kan lenfosit alt popülasyonlarındaki gelişimsel ve olgunlaşma değişiklikleri. *immünol. Bugün* 6: 13, 215-218.

Hirai H, Tanaka K, Yoshie O, Ogawa K, Kenmotsu K, Takamori Y, Ichimasa M, Sugamura K, Nakamura M, Takano S ve Nagata K. (2001) Prostaglandin D2, T yardımcı tip 2 hücrelerde, eozinofillerde seçici olarak kemotaksiyi indükler ve yedi transmembran reseptörü CRTH2 aracılığıyla bazofiller. *J. Uzm. Med.* 2: 193, 255-261.

Hirai H, Tanaka K, Takano S, Ichimasa M, Nakamura M ve Nagata K. (2002). Son Teknoloji: İndometazinin Prostaglandin D2 Reseptörü, CRTH2 Üzerinde Agonistik Etkisi. *J. Immunol.* 168: 981-985.

Holgate ST. (1999) *J Allergy Clin Immunol* 104: 1139-1146.

Holgate ST. (2000) Epitel hasarı ve yanıtı. *Klinik Exp Alerji* 30: 37-41

Holgate ST. (2000) Mast hücrelerinin ve bazofillerin inflamasyondaki rolü. *klinik Tecrübe. Alerji* 30: 28-32

Iubitskaya NS, İvanov EM. (1999) Osteoartroz hastalarını tedavisinde sodyum humat. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 5; 22-24.

Jacobson MR, Juliusson S, Lowhagen O, Balder B, Kay AB, Durham SR. (1999) Alerjik rinitte topikal kortikosteroidlerin epitelyal eozinofil ve mast hücrelerinde mevsimsel artışlara etkisi: burun fırçası ve biyopsi yöntemlerinin karşılaştırılması. *Klinik Exp Alerji.* 29:1347-55.

Jansen van Rensburg C, Dekker J, van Rensburg CEJ, van Ryssen JBJ. (2002) Piliçlerde oksihumatin aflatoksinikoz üzerine etkisi. *Güney Afrika Otlak Derneği ve Güney Afrika Hayvan Bilimi Derneği Ortak Kongresi* 13-17 Mayıs, Christiana Aventura.

Johnston SL, Holgate ST. (1990) Alerjik hastalıklarda hücrel ve kimyasal mediatörlerin rolleri. *Curr. görüş.* İmmünol 2: 513-524.

Jooné GK, Dekker J, van Rensburg CEJ. (2001) Oksihumatin anti inflamatuvar özelliklerinin in vitro araştırılması. 11. Uluslararası İmmünoloji Kongresi. Sockholm, İsveç 22-27 Temmuz.

Joone GK, Dekker J, van Rensburg CEJ. (2003) Oksihumatin immün sistemi uyarıcı özelliklerinin araştırılması. *Doğa Bilimleri Editörleri Dergisi.* 58c: 263-267.

- Kallus J. (1964) Gastrit, das gastroduodenale Üküs ve Neydhartinger Moor.
8. Uluslararası Universal Moor ve Turba Araş tı rmaları Kongresi Raporu, Länderverlag
112-114.
- Kelginbaev NS, SorokinaVA, Stefanidu AG, Ismailova VN. (1994) Deneylerde ve klinik koş ullarda
Mumie astil preparatları ile uzun tübüler kemik kı rı kları nı n tedavisi. Exp Surg Anestezi
18: 31-35.
- Kleinschmidt J. (1988) Romatizmal hastalı klar için Moor tedavisi., Moor tedavisi: temel bilgiler
ve uygulamalar, Flaig, W., Goecke, C. ve Kauffels, W. 216 - 224, Ueberreuter, Viyana-Berlin.
- Klimek L, Riechelmann H, Amedie R. (1996) Ot-polen alerjik rinitte burun salgı ları nda ve kan
serumunda eozinofil katyonik protein. Ben J Rhinol. 10:319-22.
- Klimek L, Dorman D, Jarman ER. (1999) Kı sa süreli mevsim ö ncesi huş ağacı poleni allergoid
immünoterapisi semptomları , spesifik nazal provokasyonu ve nazal sekresyonlardaki sitokin
düzeylerini etkiler, ancak alerjik riniti olan hastalarda periferik T hücre yanı tları nı etkilemez.
Klinik Exp Alerji 29: 1326-1335.
- Kovarik R. (1988) Turba müstahzarları veya hümik maddelerin kadı n hastalı kları nda
kullanı mı üzerine., Turba tedavisi: temeller ve uygulamalar.
- Kroegel C, Warner JC, Virchow JR, Matthys H. (1994) Sağlı kta ve hastalı kta pulmoner
bağı ş ı klı k hücreleri: eozinofil lökosit (Bölüm II). Eur Respir J 7: 743-760.
- Lent W. (1988), GDR, Polonya, Çekoslovakya ve SSCB'de turba araş tı rması ve uygulaması
hakkı nda rapor Turba tedavisi: temel bilgiler ve uygulamalar, Flaig.
- Li H, Sim TC, Alam R. (1996) IL-13, insan bazofilleri tarafı ndan serbest bı rakı ldi ve bunlarda lokalize
edildi. J Immunol 156: 4833-4838.
- Linden M, Greiff L, Andersson M. (1995) Soğuk algı nlı ğı ve alerjik rinitte nazal sitokinler.
Klinik Exp Alerji 25: 166-172.
- Lorenzo G, Mansueto P, Melluso M ve ark. (1997) Çim polenine karş ı alerjik rinit: polen
mevsimi di ş ı nda ve sı rası nda doğal nazal sı vı lavajı nda ve serumda mast hücresi ve
eozinofillerin inflamatuvar mediatörlerinin ölçümü. J Alerji Kliniği İmmunol. 100:832-7.
- Martin RJ, Cicutto LC, Smith HR, Ballard RD, Szeffler SJ. (1991) Nokturnal astı mda hava yolları
enflamasyonu. Am Rev Solunum Dis. 143:351-7.
- Marx G, Heumann KG. (1999) Krom ve bakı r komplekslerinin hümik maddelerle kinetik
kararlı lı ğı nı n izotop etiketleme deneyleriyle kütle spektrometrik olarak incelenmesi.
Fresenius'un J Anal Chem 364; 489-494.
- Miller RE, Paradise JL, Friday GA, Fireman P, Voitin D. (1982) Eozinofiller için nazal yayma:
mevsimsel alerjik riniti olan çocuklarda değeri. Ben J Dis Child. 136:1009-11.

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. (1986) İki tip murin yardımcı T hücreleri klonu. Lenfokin aktiviteleri ve salgılanan proteinlerin profillerine göre tanımlanmış. *J Immunol.* 136:2348-57.

Mosmann TR, Coffman RL. (1989) Th1 ve Th2 hücreleri: farklı lenfokin salgılayan modelleri, farklı fonksiyonel özelliklere yol açar. *Annu Rev Immunol.* 7:145-73.

Mosmann TR, Sad S. (1996) T hücreleri alt kümelerinin genişleyen evreni. Th1, Th2 ve daha fazlası. *J Immunol Bugün.* 17:138-46.

Nadel JA, Takeyama K, Augusti C. (1999) Astımda hipersekresyonda nötrofil elastazının rolü. *EUR. Nefes al. J.* 13 : 190-6.

Nagata K, Tanaka K, Ogawa K, Kemmotsu K, Imai T, Yoshie O, Abe H, Tada K, Nakamura M, Sugamura K, Takano S. (1999) İnsan Th2 hücreleri tarafından in vivo olarak yeni bir yüzey molekülünün seçici ifadesi. *J. Immunol.* 162: 1278-1286.

Nagata K, Hirai H, Tanaka K, Ogawa K, Aso T, Sugamura K, Nakamura M, Takano S. (1999) Yetim bir T-yardımcı -2-hücre reseptörü olan CRTH2, bazofiller ve eozinofiller üzerinde ifade edilir ve bunlara yanıt verir mast hücre kaynaklı faktör(ler). *FEBS Mektupları* 459: 195-199.

Nielsen T, Helweg C, Siigur K, Kirso U. (1997) Polisiklik aromatik bileşiklerin hüyük asit Talanta 44;1873-1881'e emilimini karakterize etmek için HPLC kapasite katsayılarını uygulaması.

Nifant'eva TI, Shkinev VM, Spivakov BY, Burba P. (1999) Sudaki hüyük maddelerin ve bunların metal türlerinin membran filtrasyon çalışmaları: özlü bir genel bakış. Bölüm 2. Koşullu kararlılık sabitlerinin ultrafiltrasyon kullanılarak değerlendirilmesi. *Talanta* 48; 257-267.

Ochensberger B, Daepf GC, Rihs S, Dahinden CA. (1996) İnsan kanı bazofilleri, IgE reseptörüne bağımlı ve bağımsız aktivasyona yanıt olarak interlökin-13 üretir. *Kan* 88: 3028-3037.

Pawankar RU, Okuda M, Suzuki K. (1996) Alerjik ve enfeksiyöz rinitte nazal mukozal gd T hücrelerinin fenotipik ve moleküler özellikleri. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1655-1665.

Pipkorn U, Karlsson G, Enerback L. (1988) İnsan alerjik mukozasını doğall alerjen maruziyetine hücresef tepkisi. *J Allergy Clin Immunol.* 82:1046-54.

Platz IJ, Binder M, Marxer A, Lischka G, Valent P, Buhning HJ. (2002) Duyarlı bireylerde bazofil aktivasyon belirteci ekto nükleotid pirofosfataz/fosfodiesteraz 3'ün Hymenoptera-venom kaynaklı yukarı regülasyonu. *Int Arch Allergy Immunol* 126: 4, 335-42.

Prosen H, Zupancic-Krajf L. (2000) Triazin herbisitlerin hüyük asitlerle etkileşimi. *Kromatografi* 51 (ek);S155-S164.

Romagnani S. (1995) İnsan TH1 ve TH2 hücrelerinin biyolojisi. J. Clin. İmmunol 3, 15: 121-129.

Romagnani S.(1997) Th1/Th2 paradigması . İmmunol Bugün. 8:263-6.

Romagnani S. (2000) Lenfositlerin alerjik hastalıkta rolü. Alerji Kliniği Immunol 105: 399-408.

Sala A ve ark. (1997) Polimorfonükleer lökosit: kis-lö kotrienlerin transselüler biosentezi için ayarlanmış bir hücre. J Physiol Pharmacol. 48:665-73.

Salib R, Lau L, Howarth PH. (2005) Doğal olarak oluşan alerjik rinitte eotaksin-1'in nazal lavaj sıvı konsantrasyonları : hastalık aktivitesi, nazal lüminal eozinofil akışı ve plazma protein eksüdasyonu ile ilişkisi. Klinik Exp Alerji. Basımda.

Salvi S, Holgate ST. (1999) Hava yolu epiteli, mukozal immüoglobulin A üretiminde önemli bir rol oynayabilir mi? Clin Exp Allergy 29: 1597-1605.

Sampson AP. (2000) Eozinofillerin ve nötrofillerin inflamasyondaki rolü. J. Clin ve Exp. Alerji. 30: 22-27.

Sander B, Anderson J, Anderson U. (1991) İmmüofloresan ve paraformaldehit-saponin prosedürü ile sitokinlerin değerlendirilmesi. immünol. Rev 119: 65-93.

Sauvant MP, Pepin, D ve Guillot J. (1999) Hüyük maddelerin ve fenolik bileşikleri alüminyumun in vitro toksisitesi üzerindeki etkileri. Ekotoksikoloji ve Çevresel Güvenlik 44: 47-55.

Shanmukhappa H. ve Neelakantan K. (1990) Hüyük asidin bakır, kadmiyum ve tek hücreli alg Synechosystis Aquatilis'e kurşun üzerindeki etkisi. Boğa Ortamı Kontam Toxicol 44: 840-843.

Shepetkin I, Khlebnikov A., Kwon BS. (2002) Humus maddesinden türetilen ilaçlar: Mumyaya odaklanın. İlaç Geliştirme Araştırması 57: 150-159.

Shores EW, Love PE. (1997) T hüyük gelişimi ve seçiminde TCR zinciri. Cur. görüş . İmmunol 9: 380-389.

Sim TC, Grant JA, Hilsmeier KA. (1994) Antijen tehdidinden sonra alerjik deneklerin nazal sekresyonlarında proinflamatuvar sitokinler. Am J Respir Crit Care Med 149:339-344.

Smith HR, Larsen GL, Cherniack RM, et al. (1992) Geç astımlı tepkileri olan ve hava yolu tepkisinde artış olan kişilerde iltihaplı hüyükler ve eikozanoid aracılar. J Alerji Kliniği İmmunol. 89:1076-84.

Solyev TS. (1983) Spesifik olmayan biyostimülatör Mumie ile deforme osteoartroz tedavisi. Med J Öncek 8: 19-21.

Stackhouse RH. ve Benson WH. (1989) Hüyük asidin üç değerlikli kromun toksisitesi ve biyoyararlanı mı üzerindeki etkisi. *Ekotoksikoloji ve Çevresel Güvenlik* 17: 105-111.

Stankova J, Rola-Pleszczynski M. (1992) Leukotriene B₄, insan monositlerinde c-fos ve c-jun gen transkripsiyonunu ve AP-1 bağlanma aktivitesini uyarı r. *Biochem J* 282:625-9.

Stelzer GT, Marti G, Hurley A, McCoy P Jr, Lovett EJ, Schwartz A. (1997) ABD Akı ş sitometrisi ile hematolojik neoplazinin immünofenotipik analizine ili ş kin Kanada konsensüs önerileri: Laboratuvar prosedürlerinin standardizasyonu ve validasyonu. *Sitometri*. 30: 214-230.

Suleimanov I. (1972) Osteoartiküler tüberküloz nedeniyle ameliyat edilen hastalarda Mumie'nin kemik rejenerasyonu üzerindeki etkileri. *Ortop Travma Protez* 33: 64-66.

Svensson C, Andersson M, Persson CG, Venge P, Alkner U, Pipkorn U. (1990) Doğal alerjen maruziyeti sı rası nda saman nezlesi olan hastalarda nazal mukozal yüzeyde albümin, bradikinin ve eozinofil katyonik protein. *J Alerji Kliniği İmmunol*. 85: 828-33.

Terada N, Hamano N, Nomura T. (2000) Interleukin-13 ve tümör nekroz faktörü alfa sinerjistik olarak insan nazal fibroblastları nda eotaksin üretimini indükler. *Klinik Exp Alerji* 30: 348-355.

Teran LM, Carroll M, Frew AJ ve ark. (1995) Astı mlı larda segmental alerjen veya salin yüklemesinden sonra nötrofil akı ş ı ve interlökin-8 salı nı mı . *Int Arch Allergy Immuno*. 107:374-5.

Teran LM, Johnston SL, Schroder JM, Kilise MK, Holgate ST. (1997) Virüs kaynaklı astı mı olan çocuklarda nötrofil alı mı ve aktivasyonunda nazal interlökin-8'in rolü. *Am. J. Solunum. Kritik Bakı m Med*. 155: 1362-6.

Thibault G, Bardos P. (1995) $\alpha\beta$ ve $\gamma\delta$ hücrelerinde TCR ve CD3 ϵ ifadesini kar ş ı la ş tı rdı . TCR/CD3 kompleksinde iki TCR heterodimerinin üç CD3 ϵ zinciri ile ili ş kisine dair kanı t. *J. Immunol* 154: 3814-3820.

Tomee JF, van Weissenbruch R, de Monchy JG. (1998) İnhalan alerjen özleri ve hava yolu epitel hücreleri arası ndaki etkileş imler: sitokin üretimi ve hücre ayrı lması üzerindeki etki. *J Alerji Kliniği Immunol* 102: 75-85.

Tunnacliffe A, Olsson C, Traunecker A, Krissansen GW, Karjalainen K, De la Hera A. (1989) CD3 epitopları nı n çoğunluğu e zinciri tarafı ndan verilir. *Lökosit Tipleme IV, Beyaz Hücre Farklı la ş ma Antijenleri*. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 295-296.

Ugucioni M, Mackay CR, Ochensberger B. (1997) İnsan kanı bazofillerinde kemokin reseptörü CCR3'ün yüksek ifadesi. Eotaksin, MCP-4 ve diğer kemokinler tarafı ndan aktivasyondaki rol. *J Clin Invest* 100: 1137-1143.

Van Agthoven A, Terhorst C, Reinherz EL, Schlossman SF. (1981) Tüm insan periferik T lenfositlerinde ve fonksiyonel olgun T lenfositlerinde bulunan T hücresi yüzey glikoproteinleri TI ve T3'ün karakterizasyonu. EUR. J. Immunol 11: 18-21.

Van Beneden G. (1971) Sulardaki organik madde ve alneoterapi ajanları Presse Therm Clim 108: 195-204.

Van Rensburg CEJ, Dekker J, Van Rensburg EJ, Weiss R, Schneider J. (2001) Oksihumati n anti-HIV özelliklerinin in vitro araş tı rı lması . Uluslararası İmmünofarmakoloji Kongresi. Sun City, Güney Afrika. 26-20 Eylül.

Van Rensburg CEJ, Dekker J, Weiss R, Smith TL, Janse van Rensburg E., Schneider, J. (2002) Oksihumati n anti-HIV özelliklerinin araş tı rı lması . Kemoterapi 48: 138-143.

Van Rensburg CEJ, Joone G, Dekker J. (1999) Oksihumik asidin immüno-uyarı cı özelliklerinin değerlendirilmesi. Yorgunluk 2000: Uluslararası Konferans. 23-24 Nisan, Londra.

Varney VA, Jacobson MR, Suderick RM. (1992) Alerjen kaynaklı riniti takiben nazal mukozanı n immünohistolojisi. Aktive edilmiş T lenfositlerin, eozinofillerin ve nötrofillerin tanı mlanması . Am Rev Respir Dis 146:170-176.

Wardlaw AJ, Moqbel R, Kay B. (1995). Eozinofil: biyoloji ve hastalı ktaki rolü, s. 151-266. In Advances in Immunology Academic Press. Inc., Londra.

Weller PF. (1994) Eozinofiller: yapı ve fonksiyonlar. Curr Opinion Immunol 6: 85-90.

Weido AJ, Reece LM, Alam R.(1996) İntranazal flutikazon propiyonat, alerjen kaynaklı rinitte kemokinlerin ve diğer sitokinesin nazal sekresyonları n geri kazanı mını inhibe eder. Ann Allergy Asthma Immunol 77: 407-415.

Wilson SJ, Lau L, Howarth PH. (1998) Doğal olarak meydana gelen rinitte enflamatuar aracı lar. Klinik Exp Alerji. 28:220-7.

Wilson SJ, Shute JK, Holgate ST. (2000) İmmünoelektron mikroskobu ile interlö kin (IL)-4'ün insan mast hücresi salgı granüllerine lokalizasyonu, ancak IL-5'in lokalizasyonu. Klinik Exp Alerji 30: 493-500.

[PubMed] Yamaoka KA, Kolb JP. (1993) Lö kotrien B4, insan T lenfositlerinden interlö kin 5 oluş umunu indükler. Eur J Immunol. 23:2392-8

[PubMed] Yamaoka KA, Dugas B, Paul-Eugene N, Mencia-Garden JM, Braquet P, Kolb JP. (1994) Lö kotrien B4, normal insan lenfositlerinden IL-4 kaynaklı İgE üretimini arttı rı r. Hücre İmmünolü. 156:124-34.

Yanagihara Y, Kajiwara K, Basaki Y. (1998) Kültürlenmiş bazofiller, ancak kültürlenmemiş mast hücreleri, immünoojik stimülasyondan sonra B hücrelerinde insan İgE sentezini indükler. Clin Exp Immunol 111: 136-143.



Ying S, Durham SR, Jacobson MR. (1994) T lenfositleri ve mast hücreleri, alerjen kaynaklı rinitte nazal mukozada IL-4 için mRNA ifade eder. *İmmunol* 82: 200-206.