

Uzun Süreli ve Yüksek Doz Montelukast Kullanımının Deri Üzerine Etkileri: Sıçanlarda Deneysel Çalışma

Effects of High Dose and Long Term Montelukast Treatment on Skin: An Experimental Rat Study

Kaan Gideroğlu, Mualla Polat*, Tülin Fırat** *, Aysel Kükner**

Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Estetik, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi,
*Dermatoloji ve **Histoloji Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı uzun süreli yüksek doz montelukast uygulamasının normal sıçan derisi üzerindeki etkilerinin histolojik olarak değerlendirilmesiydi.

Gereç ve Yöntem: On altı sıçan rastlantısal olarak, her birinde 8 sıçan bulunan iki gruba ayrıldı. Birinci gruba (Grup I= kontrol grubu) günde 1 defa 0,2 ml %0,9'luk sodyum klorür intraperitoneal (i.p.) enjekte edilerek, ikinci gruba (Grup II=deney grubu) 1/mg/kg montelukast bulunan solüsyondan 0,2 ml günde bir defa i.p. enjekte edilerek 6 hafta süre ile tedavi uygulandı. Altı haftanın sonunda deri biyopsileri histolojik incelemeye alındı.

Bulgular: Epidermis ve dermis kalınlığı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Kontrol ve deney grubunda kollajen liflerinin yapısal özelliklerinin benzer olduğu gözlemlendi. Toluidin blue ile boyanan preparatlarda dermis tabakasında sayılan mast hücreleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında montelukast verilen grupta belirgin olarak azalmıştı (p=0.001).

Sonuç: Montelukast epidermis hücrelerinde, dermis kalınlığında ve kollajen liflerde bir değişikliğe yol açmadan dermiste mast hücre sayısını anlamlı düzeyde azaltmaktadır. Daha ileri çalışmaların desteği ile yüksek dozlarda montelukastın inflammatuar deri hastalıklarının tedavisinde etkin bir rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. (*Turkderm 2008; 42: 118-21*)

Anahtar Kelimeler: Montelukast, deri, deneysel çalışma

Summary

Background and Design: The aim of this study was to assess the effects of long term, high dose montelukast administration on normal rat skin by histological examination.

Material and Method: Sixteen rats were randomly divided into 2 groups-the control and the montelukast treated (study) group (n=8). In the control group 0.2ml of 0.9% NaCl was administered intraperitoneally (i.p.) daily for 6 weeks. In the study group the same amount of solution containing 1 mg/kg montelukast was administered i.p. daily for six weeks. At the end of the 6 weeks skin biopsies were taken and histologically examined.

Results: There was no significant difference between two groups regarding the dermal and epidermal thickness. Histologic examination of collagen fiber structure did not show difference between two groups. Toluidin blue stained specimens showed that the number of mast cells in dermis significantly decreased in montelukast treated group (p=0.001).

Conclusion: Montelukast treatment has significantly decreased the number of mast cells in dermis without any effect on the dermal or epidermal thickness and collagen fiber structure. We think that with the support of further studies, high dose montelukast may have an effective role on the treatment of inflammatory skin disease. (*Turkderm 2008; 42: 118-21*)

Key Words: Montelukast, skin, experimental study

Giriş

Lökotrienler (LT), araşidonik asitten 5-Lipoksijenaz yoluyla sentezlenen etkin biyolojik mediatörlerdir¹. Kimyasal yapılarına göre iki gruba ayrılırlar:1] sülfür bağı olanlar (sisteinil lökotrienler (cys LT), LTC₄, LTD₄, LT E₄) ve 2] sülfür bağı olmayanlar (LTB₄)². Eozinofiller, bazo-

filler ve mast hücreleri önemli LT kaynaklarıdır³. Epidermal hücrelerde nötrofil kaynaklı LTA₄'ü peptid lökotrienler olan LTB₄ ve LTC₄'e dönüştürme kapasitesine sahiptir⁴. Dolayısıyla epidermis LT sentezine aktif olarak katkıda bulunabilir². Sentezlenen peptid LT'ler inflamasyona neden olan, damar geçirgenliğinde değişiklik, dokuda inflammatuar hücre birikimi, düz kaslarda

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Mualla Polat, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dermatoloji Anabilim Dalı, Gölköy, Bolu, Türkiye Tel.: 0374 253 46 56/3366 Gsm: 0505 347 89 52 E-posta: polatmualla@gmail.com

Geliş Tarihi/Received: 14.11.2008 **Kabul Tarihi/Accepted:** 21.11.2008

*Turkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayıncılık tarafından basılmıştır. Her hakkı saklıdır.
Turkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing. All rights reserved.*



kasılma ve hava yollarında mukus salgısında artma gibi yanıt-
lara yol açmaktadır⁵. Atopik dermatit, psoriasis, kronik ürtiker
gibi inflamatuvar deri hastalıklarında bu LT'lerin rolü olduğu
düşülmektedir^{1-3,5}. Montelukast, alerjik rinit ve astım tedavi-
sinde erişkinde 10 mg /gün dozda kullanım için lisansı olan
selektif bir Cys LT reseptör antagonistidir⁶. Ancak lisansı dı-
şında pek çok klinik çalışmada, atopik dermatit, kronik ürti-
ker ve "graft versus host" reaksiyonu gibi başka hastalıkların
tedavisinde aynı dozda kullanılarak etkinliği araştırılmakta-
dır^{2,3,5-8}. Bu çalışmaların bazılarında başarılı sonuçlar bildiril-
mekle beraber, bazılarında ise daha yüksek dozlarda daha
başarılı sonuçlar elde edilebileceği, ileri sürülmektedir^{7,8}. Ya-
pılan bir deneysel çalışmada stres uygulanan sıçanlarda
10mg/kg/gün dozda 5 gün kullanıldığında mast hücre akti-
vasyonunu inhibe ettiği gösterilmiş ve inflamatuvar deri has-
talıklarının önlenmesinde etiyolojik bir rol oynayabileceği
bildirilmiştir⁹. Bunun yanı sıra, bazı deneysel çalışmalarda 1-
10 mg/kg/gün arasında değişen yüksek dozlarda kullanılarak,
iskemi- reperfüzyon hasarını önleyici, gastrik mukozayı koru-
yucu, flep yaşayabilirliğini artırıcı ve pulmoner fibrozisi en-
gelleyci etkileri olduğu gösterilmiştir¹⁰⁻¹³.
Yukarıdaki çalışmalar değerlendirildiğinde, gelecekte bu ila-
cın klinikte uzun süre ve yüksek dozlarda kullanılması olası-
lığı çok yüksektir. Bu nedenle bu çalışmada daha önce araştı-
rılmamış olan uzun süreli yüksek doz montelukast uygulama-
sının deri üzerindeki etkilerinin histolojik olarak değerlendiril-
mesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlıkları 190-220 g olan 16 adet dişi Wistar Albi-
no sıçan kullanıldı. Deneyler Fakültemizin, Histoloji ve Embri-
yoloji Anabilim dalında gerçekleştirildi. Hayvanlar her bir ka-
feste bir hayvan olacak şekilde, 12 saat ışık /12 saat karanlık
döngüsü bulunan ısı kontrollü bir odada ad libitum beslendi.
On altı sıçan rastlantısal olarak, her birinde 8 sıçan bulunan
iki gruba ayrıldı. Birinci grup (Grup I) kontrol grubu olup, bu
gruptaki sıçanlara günde 1 defa 0,2 ml %0,9'luk sodyum klo-
rür intraperitoneal (i.p.) enjekte edilerek 6 hafta süre ile te-
davi uygulandı. İkinci grup (Grup II) deney grubu olup, bu
gruptaki sıçanlara içinde 1mg/kg montelukast bulunan solü-
syondan 0,2 ml günde bir defa i.p. enjekte edilerek 6 hafta sü-
re ile tedavi uygulandı. Altı haftanın sonunda, sıçanlara 50
mg/kg ketamine hidroklorür ve 30 mg /kg klorpromazine i.p.
enjekte edilerek anestezi sağlandı. Anestezi altında, hayvan-
ların her iki skapular kemiğinin arasından orta hat üzerinde
1x1cm boyutlarında tam kat deri biyopsileri alındı. Alınan de-
ri örnekleri %10'luk formaldehit ile tespit edilerek histolojik
incelemeye alındı.

Histolojik değerlendirme

Doku takip aşamalarından geçirilen dokulardan parafin
bloklar hazırlandı. Bloklardan 4-5 µm'lik kesitler alındı. Hazır-
lanan preparatlar Hematoksilin-eozin, "toluidin blue" ve
Masson'un üçlü boyası ile boyandı. Hematoksilin-eozin bo-
yası ile boyanan preparatlarda x10 objektif büyütme altında
oküler mikrometre ile dermis ve epidermis kalınlıkları ölçü-
lürken, x40 objektif büyütmede epidermis tabakasının histo-
lojik yapısı incelendi. Toluidin blue boyası ile boyanan prepe-
ratlarda, x10 objektif büyütme ile dermisin on farklı alanın-
da mast hücreleri sayıldı. Masson'un üçlü boyası ile boyanan
preparatlarda ise kollajen lifleri, kalınlıkları ve düzenlenme-
leri açısından değerlendirildi.

İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen veriler 'SPSS 13.0 for Windows' istatistik progra-
mı kullanılarak gerçekleştirildi. Dermis ve epidermis kalınlık
ölçümünden elde edilen veriler normal dağılım gösterdiği
için t-testi ile analiz edildi. Mast hücre sayımından elde edi-
len değerler normal dağılım göstermediğinden Mann-Whit-
ney U testi ile analiz edildi. Sonuçlar, anlamlılık p<0,05 düze-
yinde değerlendirildi.

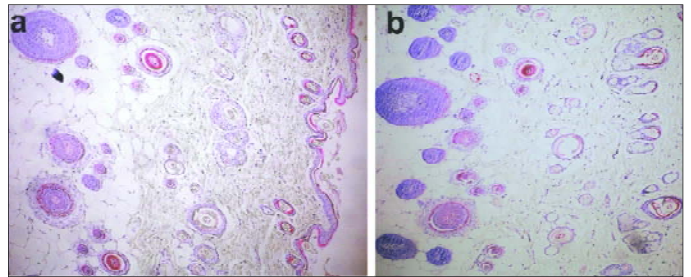
Bulgular

Tüm sıçanlar çalışma sonuna kadar hiçbir problem olmadan
yaşadı. Hematoksilin-eozinle boyanan prepatlarda okülo-
metre ile yapılan ölçümlerde, epidermis ve dermis kalınlığı
açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tab-
lo 1) (Resim 1). Deney ve kontrol grubu epidermisi histolojik
yapı olarak birbirine benzemektedir. Epidermisin incelendi-
ğinde, hücre tabakasının genellikle 3-4 katlı olduğu, en üst
katta keratinizasyonun belirginleştiği görüldü. Epidermis in-
ce olduğundan tabakaların sınırları tam olarak ayırt edileme-
di. Stratum lusidum gözlenmedi. Hücre çekirdekleri belirgin
seçildi. Yüzeydeki hücre çekirdeklerinin yassılaştığı gözlendi
(Resim 2). Masson'un üçlü boyası ile boyanan preparatlarda,
kontrol ve deney grubunda kollajen liflerinin niteliksel özel-
liklerinin benzer olduğu gözlendi. Montelukast ile tedavi uy-
gulan grupta kollejen liflerinin diziliminde ve kalınlığında
kontrol grubuyla niteliksel karşılaştırıldığında bir değişim ol-
madığı, düzensiz sıkı bağ dokusu özelliğine olduğu gözlendi
(Resim 3). "Toluidin blue" ile boyanan preparatlarda dermis
tabakasında sayılan mast hücreleri kontrol grubu ile karşılaştı-
rıldığında montelukast verilen grupta belirgin olarak azal-
mıştı (Tablo 1) (Resim 4). Mast Hücre sayıları arasındaki bu ki-
farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0.001).

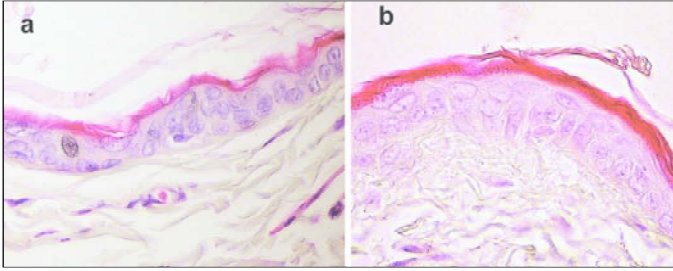
Tablo 1. Epidermis, dermis kalınlığı ölçüm ve dermiste mast hücre sayımı sonuçları

Gruplar	Dermis Kalınlığı (mm)	Epidermis Kalınlığı (µm)	Mast Hücre Sayısı
Grup I (Kontrol) (n=8)	1,48±0,16	34,4±5,6	67,3±11,4
Grup II (Montelukast) (n=8)	1,49±0,18	36,3±5,2	44,8±3,6*

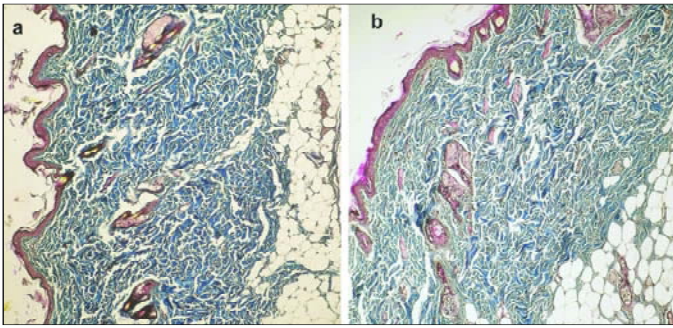
Veriler ortalama ±SD olarak verilmiştir, n: hayvan sayısı, * Grup I ile karşılaştırıldığında p=0.001.



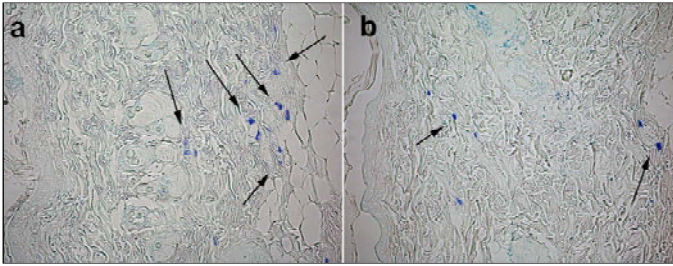
Resim 1. a) Kontrol grubunda epidermis ve dermis yapılarının görünümü. H&E x10 b) Deney grubunda epidermis ve dermis yapı ve kalınlığının kontrol grubuna benzer olduğu görülmektedir. H&E x10



Resim 2. a) Kontrol grubunda epidermis yapısı görülmekte. H&E x40 b) Montelukast verilen grupta epidermis bazal hücrelerinin sayısı ve yapısının kontrol grubuyla benzerliği görülmekte. Yüze doğru yassılaştıran hücreler kontrol grubu ile benzer yapıdadır. H&E x40



Resim 3. a) Kontrol grubunda dermisteki kollajen liflerinin dağılımı (mavi renkli alanlar) görülmekte. Masson'un üçlü boyasıx10 b) Montelukast grubunda kollajen liflerin görünümünde değişiklik olmadığı dikkat çekmekte. Masson'un üçlü boyası x10



Resim 4. a) Kontrol grubunda dermiste bir alanda yoğunlaşmış çok sayıda mast hücresi (→). Toluidine blue x10 b) Montelukast verilen grupta dermiste mast hücre (→) sayılarının azaldığı görülmekte. Toluidine blue x10

Tartışma

Bu deneysel çalışma, 6 hafta süre ile yüksek doz montelukast sodyum kullanımının sıçan derisinde epidermis, dermis kalınlığında bir değişikliğe yol açmadığını, epidermis hücre morfolojisinde bir bozukluğa sebep olmadığını ve kollajen liflerinin kalınlığında ve diziliminde bir bozulmaya neden olmadığını gösterirken mast hücre sayısında anlamlı düzeyde bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. Mast hücre sayısının anlamlı düzeyde düşük olması atopik dermatit, psoriasis, ürtiker ve Behçet hastalığı gibi inflamatuvar deri hastalıklarında montelukastın tedavide önemli bir rol oynayabileceği sonucunu ortaya çıkarmıştır. Çünkü mast hücreleri, inflamasyon üzerinde etkisi büyük olan LTLe-

rin sentezinin yapıldığı ana kaynaklardan biridir^{1-3,9}. Lökotrienler ise yukarıda bahsedilen inflamatuvar deri hastalıklarının ana mediatörleri arasında sayılmaktadırlar^{1,2}. Atopik dermatitli hastalarda "suction blister" tekniyle elde edilen deri örneklerinde LTC₄ tespit edilmiştir¹⁴. Yine bu hastalarda dolaşan aktive olmuş bazofil sayısında ve bazofillerden LTC₄ salınımında artış mevcuttur¹⁵. Psoriasisde ise psoriatik deri lezyonlarında tüm peptidil lökotrienler ve LTB₄ saptanmış ve LTB₄'ün biyolojik olarak aktif olan düzeylerde bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca psoriasisli hastaların idrarlarında istikrarlı bir LTC₄ ve LTD₄ metaboliti olan LTE₄ düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir¹⁻³. Behçet hastalığında ise LT sentezini baskılayan prostasiklin değerleri düşük, LTC₄ düzeyleri ise yükselmiş olarak bulunmuş ve kolşisin tedavisiyle mukokütanöz lezyonlarının azaldığı ve LTC₄ düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir^{16,17}.

Yukarıdaki çalışmalardan yola çıkıldığında bir Cys LT reseptör antagonisti olan montelukast sodyumun inflamatuvar hastalıkların tedavisinde etkin olmasını beklemek akılcı olacaktır. Ancak bazı klinik araştırmalarda montelukastın bu hastalıkların tedavisinde başarılı olduğu bildirilirken bazılarında ise başarısız olduğu bildirilmektedir^{2,3,5,7}. Bunun bizce iki nedeni olabilir: 1] Kullanılan montelukast dozunun düşük olması (10mg/gün doz) 2] İlacın kullanım sürelerinin çalışmalarda birbirinden farklı olması. Organ nakli sonrası "graft versus host" reaksiyonunda montelukast kullanımının daha yüksek dozlarda daha başarılı sonuçlara ulaşabileceği bildirilmesi, ilk nedeni destekleyen bir bulgudur⁸. Bizce bu konuya çözüm üretilebilmek için özellikle tedavinin erken döneminde montelukast daha 10 mg/gün' den daha yüksek dozlarda kullanımının etkili olup olmadığı prospektif randomize çalışmalar ile ve LT düzeyleri saptanarak araştırılmalı ve olası yan etkiler belirlenmelidir. Montelukastın yan etkileri arasında hafif solunum yolu enfeksiyonları, baş ağrısı ve hafif gastrointestinal yakınmalar sayılmakla beraber çok nadir görüldüğü ve güvenli bir kullanım profili sunduğu bildirilmektedir⁵. Dolayısı ile daha yüksek dozlarda kullanımının da güvenli bir profil çizmesi beklenebilir. Sonuç olarak montelukastın 1 mg /kg /gün gibi bir yüksek dozda epidermis hücrelerinde, dermis kalınlığında ve kollejen liflerde bir değişikliğe yol açmadan dermiste mast hücre sayısını anlamlı düzeyde azaltması, bu ilacın yüksek dozlarda inflamatuvar deri hastalıklarının tedavisinde etkin bir rol oynayabileceğini göstermiştir. Ancak bu konu geniş sayılı, doz bağımlı prospektif klinik çalışmalarla desteklenmelidir.

Kaynaklar

1. Aksoy L, Şentürk N, Cantürk T, Turanlı AY: Deri hastalıklarında lökotrienlerin rolü. *Türkdern* 2001;35:337-40.
2. Rackal JM, Vender RB: The treatment of atopic dermatitis and other dermatoses with leukotrien antagonists. *Skin Therapy Letter* 2004;9:1-4.
3. Kagi MK: Leukotrien receptor antagonists-A novel therapeutic approach in atopic dermatitis? *Dermatology* 2001;203:280-3.
4. Iverson L, Kristensen P, Gron B, Ziboh VA, Kragbelle K: Human epidermis transforms exogenous leukotrien A4 in to peptide leukotriens: possible role in transcellular metabolism. *Arch Dermatol Res* 1994;286:261-6.
5. Friedmann PS, Palmer R, Tan E, Ogboli M, Barclay G, Hotchkiss K, Berth-Jones J: A double-blind placebo-controlled trial of montelukast in adult atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2007;37:1536-40.
6. Capra V, Abrosio M, Rovati G: Cysteinil-leukotriene receptor antagonists: present situation and future opportunities. *Curr Med Chem* 2006;13:3213-26.

7. Di Lorenzo G, Pacor ML, Mansueto P, Esposito-Pellitteri M, Ditta V, Lo Bianco C, Leto-Barone MS, Di Fede G, Rini GB: Is there a role for antileukotrienes in urticaria? *Clin Exp Dermatol* 2006;31:327-34.
8. Or R, Gesundheit B, Resnick I, Bitan M, Avraham A, Avgil M, Sacks Z, Shapira MY: Sparing effect by montelukast treatment for chronic graft versus host disease: a pilot study. *Transplantation* 2007;83:577-81.
9. Cikler E, Ersoy Y, Cetinel S, Ercan F: The leukotriens d4 receptor antagonist, montelukast inhibits mast cell degranulation in the dermis by water avoidance stress. *Acta Histochem* 2008, doi:10.16/j.achtis.2008.04.06.
10. Sener G, Sehirli O, Velioglu-Ogunç A, Cetinel S, Gedik N, Yeğen BC, Sener G: Montelukast protects against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Pharmacol Res* 2006;65-71.
11. Sener G, Kapucu C, Cetinel S, Cikler E, Ayanoglu-Dülger G : Gas-troprotective effect of leukotriene receptor blocker montelukast in alendronat-induced lesions of the rat gastric mucosa. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;72:1-11.
12. Gideroglu K, Yilmaz F, Aksoy F, Bugdayci G, Cakici H, Hapa O: The effects of montelukast in skin flap survival. *Cur Ther Res Clin* 2008; 69:459-65.
13. Izumo T, Kondo M, Naga A: Cysteinyl-leukotriene 1 receptor antagonist attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Life Sci* 2007; 80:1882-6.
14. Talbot SF, Atkins PC, Goetzly EJ, Zweiman B: Accumulation of leukotriene C4 and histamine in human allergic skin reactions. *J Clin Invest* 1985;76: 650-6.
15. James JM, Kagey-Sabotka A, Sampson HA: Patients with severe atopik dermatitis have activated circulating basophils. *J Allergy Clin Immunol* 1993;91:1155-62.
16. Hızlı N, Sahin G, Sahin F, et al: Plasma prostacyclin levels in Behçet's disease. *Lancet* 1985;22:1454.
17. Gurer MA, Keskin N, Gulekon A, et al: Arachidonic acid metabolites and colchicine in Behçet's disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1991;43:257-9.