

# Evaluation of Histopathological Changes of Long-Term Use of Sodium Cromoglycate on Healthy Rat Nasal Respiratory Mucosa with Light Microscopy

## *Sodyum Kromoglikatın Sağlıklı Sıçan Nazal Mukozası Üzerinde Yarattığı Histopatolojik Değişikliklerin Işık Mikroskobu ile İncelenmesi*

Original Investigation  
Özgün Araştırmalar

Hande Senem Deveci<sup>1</sup>, İldem Deveci<sup>2</sup>, Pembegül Güneş<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Ear, Nose and Throat, Fatih Sultan Mehmet Training and Research Hospital, İstanbul, Turkey

<sup>2</sup>Clinic of Ear, Nose and Throat, Beykoz State Hospital, İstanbul, Turkey

<sup>3</sup>Department of Ear, Nose and Throat, Haydarpaşa Numune Training and Research Hospital, İstanbul, Turkey

### Abstract

**Objective:** To demonstrate the histopathological effects of the long-term use of cromolyn sodium on healthy rat nasal mucosa using the light microscope.

**Methods:** The animals were grouped according to the intranasal administered agents: first group (n=10), intranasal 10 µL saline administration; second group (n=10), intranasal 10 µL cromolyn sodium with the help of a micropipette for one month duration.

**Results:** When we assessed mucosal edema and increased goblet cell number, there were no statistical differences between control and study groups (p>0.05). However, the assessment of decreased epithelial thickness and squamous metaplasia between control and study groups revealed significant differences (respectively: p=0.001, p=0.001; p<0.05). Also focal ciliary loss

was statistically significant for the study group (p=0.001; p<0.01).

**Conclusion:** Sodium cromoglycate, a cromolyn type of agent has been used for a long time in the treatment of allergic diseases. Cromolyns stabilize the mast cell membrane and inhibit secretion of histamine and other autacoids (leukotrienes, etc.). Therefore, prior to contact with the allergen, topical use of cromolyns gives good symptomatic, but is less effective after exposure to the allergens. In addition, their prophylactic efficacy starts after a few weeks of regular application. However, our study demonstrated that long-term use of this substance resulted in a rhinitis medicamentosa like effect on nasal mucosa.

**Key Words:** Sodium cromoglycate, nasal mucosa, histopathology

### Özet

**Amaç:** Uzun süre kullanım sonucunda kromolin sodyum içeren topikal nazal bir spreyn sağlıklı sıçan burun mukozası üzerinde ortaya çıkarttığı histopatolojik değişiklikleri ışık mikroskopu ile incelemektir.

**Yöntemler:** Onar sıçandan oluşan iki ayrı gruptaki hayvanların bir grubunun burnuna 10 µL salin, diğer grubun burnuna 10 µL kromolin sodyum bir mikropipet yardımıyla bir ay süreyle uygulanmıştır.

**Bulgular:** Kontrol grubu ile çalışma grubu karşılaştırıldığında mukozal ödem ve artmış goblet hücre sayısında istatistik açıdan anlamlı bir değişiklik görülmedi (p>0,05). Ancak azalmış epitelyum kalınlığı ve skuamöz metaplazi anlamlı değişiklik göstermiştir (sırasıyla; p=0,005, p=0,001; p<0,05). Ayrıca daha çok fokal

kayıp olmak üzere silia kaybı da anlamlı bulunmuştur (p=0,001; p<0,01).

**Sonuç:** Sodyum kromoglikat, bir kromolin çeşidi olup uzun süredir allerjik hastalıkların tedavisinde kullanılan bir ajandır. Kromolinler, etkilerini mast hücrelerinin membranını stabilize edip histamin ve diğer otakoidlerin (lökotrien vb.) salıverilmesini inhibe ederek allerjen ile temas öncesinde topikal olarak kullanıldığında etki gösterirler. Bu profilaktik etkinliği birkaç haftalık düzenli uygulama sonrasında ortaya çıkmaktadırlar. Ancak çalışmamız göstermiştir ki, uzun süre kullanımı önerilen bu ajan burunda rinitis medikamentoza benzeri değişikliklere yol açmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Sodyum kromoglikat, nazal mukoz, histopatoloji



**Address for Correspondence/Yazışma Adresi:**  
Hande Senem Deveci, Department of Ear, Nose and Throat, Fatih Sultan Mehmet Training and Research Hospital, İstanbul, Turkey  
Phone: +90 216 578 30 00  
E-mail: deveci2006@yahoo.com  
Received Date/Geliş Tarihi: 21.01.2013  
Accepted Date/Kabul Tarihi: 20.03.2013  
Available Online Date/Çevrimiçi Yayın Tarihi: 25.04.2013

© Copyright 2013 by Official Journal of the Turkish Society of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery Available online at [www.turkarchotolaryngol.net](http://www.turkarchotolaryngol.net)  
© Telif Hakkı 2013 Türk Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Derneği Makale metnine [www.turkarchotolaryngol.net](http://www.turkarchotolaryngol.net) web sayfasından ulaşılabilir.  
doi:10.5152/tao.2013.13

### Giriş

Sodyum kromoglikat, bir kromolin çeşidi olup uzun süredir allerjik hastalıkların tedavisinde kullanılan bir ajandır. Astımda inhaler, allerjik rinitte nazal sprey, allerjik konjonktivitte göz damlası, gıda allerjisinde oral likit ve atopik dermatitte merhem formları kullanılmaktadır. Kromolinler, etkilerini mast hücre membranını stabilize edip histamin ve diğer otakoidlerin (lökotrien vb.) salıverilmesini inhibe ederek sağlarlar. Histamin reseptörleri üzerinde belirgin bloke edici bir etkinlikleri yoktur. Ayrıca trakea ve bronş dahil olmak üzere mukozal mast hücrelerini stabilize ederken, bağ dokusundakilerin üzerine etkileri yoktur. Dola-

yısıyla bronkodilatör etki göstermezler. Bu ajanlar allerjik astım, rinit ve konjunktivite proflekside kullanılabilirler (1). Allerjik rinit tedavisinde kullanılan kromolinler, sodyum kromoglikat ve nedokromildir. Kromoglikatların etkinliği mast hücre duvarı ve/veya IgE antijen bağlanımı sonucu gelişen intrasellüler olaylar yoluyla olmaktadır. Etkinlik mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber kromolinlerin mast hücre duvarında Ca kanal blokajı, fosfodiesteraz inhibasyonu ve oksidatif fosforilasyon blokajı yaptıkları öne sürülmektedir (2). Sodyum nedokromilin *in vitro* olarak enflamatuvar hücre aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (3). Ayrıca yapılan çalışmalarda, kromolinlerin etkinliğinin antihistaminik ve topikal steroidlere göre daha az olduğu saptanmıştır (4). Bu sebeple, kromolinler allerjen ile temas öncesinde topikal olarak kullanıldığında iyi sonuç vermekte ancak temas sonrası ortaya çıkan belirtiler üzerine yeterince etkili olamamaktadırlar. Ayrıca bu ajanların profilaktik etkinliği birkaç haftalık düzenli uygulama sonrasında ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada amacımız; yukarıda bahsedildiği gibi etkisini uzun süre kullanıldığında gösteren sodyum kromoglikatın, uzun süre kullanımının sağlıklı sıçan burun mukozası üzerinde ortaya çıkarttığı histopatolojik değişiklikleri ışık mikroskopu ile incelemektir. Bu sebeple ülkemizde de allerjik rinit tedavisinde kullanılan ve sodyum kromoglikat için Allergo-comod® (Ursapharm-Biem İlaç, Ankara, Turkey) intranasal topikal sprey tercih edilmiştir.

## Yöntemler

### Çalışma Düzeni ve Kurgusu

Yirmi sağlıklı yetişkin dişi Albino Wistar cinsi sıçan çalışmada kullanılmıştır. Sıçanlar 22±2°C sıcaklıkta, sadece standart laboratuvar yemeği ile beslenerek, 12 saat ışığa, 12 saat karanlığa maruz bırakılarak laboratuvar ortamında kafeslerde tutulmuşlardır. Bu çalışma Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanı Etik Kurulu'ndan izin alınarak yapılmıştır (29.06.2005-27).

Hayvanlar onar sıçandan oluşan iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba alınan sıçanların burunlarına, mikropipet yardımıyla bir ay süreyle günde iki kez 10 µL salin verilirken, ikinci gruptaki sıçanlara yine aynı yolla ve bir ay süreyle günde iki kez 10 µL kromolin sodyum (Allergocomod®, Biemİlac, Ankara, Turkey) uygulanmıştır.

### Doku Örneklemesi

Bir aylık takip süresinin sonunda son intranasal tedavi uygulandıktan 24 saat sonra tüm sıçanlara yüksek doz ketamin hidroklorür (66 mg/kg ip. and 44 mg/kg im) verilmiş ve sıçanlar dekapite edilmiş. Hayvanların intranasal mukozası doku bütünlüğü bozulmadan diseke edilmiş. Hemen akabinde %10'luk formaldehid solüsyonunda fikse edildi. Dekalsifikasyon prosedürü sonrasında sıçaların üst insisiv dişlerinin hemen arkasından horizontal kesitler alınmıştır. Bu spesmenler parafin bloklar içine gömülmüş ve 0,2 µm kalınlığında kesitler oluşturulmuştur. Tüm bu kesitler hemotoksilen-eosin ile boyanarak ışık mikroskopu ile 10X, 40X ve 100X kez büyütülerek incelenmiştir. Tüm kesitler herhangi bir taraflılık oluşturmamak amacıyla sadece tek bir patalog tarafından kodlanarak incelenmiştir.

İncelenen histopatolojik değişiklikler skuamöz metaplazi, azalmış epitel kalınlığı, mukozal ödem, silia kaybı ve artmış goblet hücre sayısı idi. Patoloğumuz spesmenleri değerlendirebilmek için yarı-kuantitatif bir değerlendirme sistemi oluşturmuştur. Buna göre; 0 (yok) ve 1 (var) olarak derecelendirilmiştir. Ancak silia kaybı 0 (yok), 1 (fokal kayıp) ve 2 (tam kayıp) olarak derecelendirilmiştir.

### İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Medyan, %25-75 Percentil, Frekans, Oran) yan ısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U test kullanılmıştır. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher's Exact testi kullanılmıştır. Anlamlılık p<0,01 ve p<0,05 düzeylerinde değerlendirilmiştir.

## Bulgular

Kontrol grubu ile çalışma grubu karşılaştırıldığında mukozal ödem ve artmış goblet hücre sayısında istatistiki açıdan anlamlı bir değişiklik görülmedi (p>0,05). Ancak azalmış epitel kalınlığı ve skuamöz metaplazi anlamlı değişiklik göstermiştir (sırasıyla; p=0,005, p=0,001; p<0,05). ayrıca daha çok fokal kayıp olmak üzere silia kaybı da anlamlı bulunmuştur (p=0,001; p<0,01) (Tablo 1, 2, Şekil 1).

## Tartışma

Mast hücre stabilizatörleri ile yapılan çalışmalar genellikle bu maddenin etkinliği ve etki mekanizmaları üzerinedir. Az sayıda yapılan histopatolojik çalışma ise allerjik rinitin nazal mukoza üzerinde oluşturduğu değişikliklerin kromolinlerle geri döndü-

**Tablo 1.** Mukozal ödem, artmış goblet hücre sayısı, azalmış epitel kalınlığı ve skuamöz metaplazinin gruplara göre dağılımı

	Mukozal ödem	Azalmış goblet hücre sayısı	Azalmış epitel kalınlığı	Skuamöz metaplazi
Grup I (n=10)	2 (%20)	1 (%10)	1 (%10)	0 (%)
Grup IV (n=10)	4 (%40)	4 (%40)	8 (%80)	8 (%80)
Binary comparison	p	p	p	p
Grup I * Grup IV	0,628	0,303	0,005**	0,001**

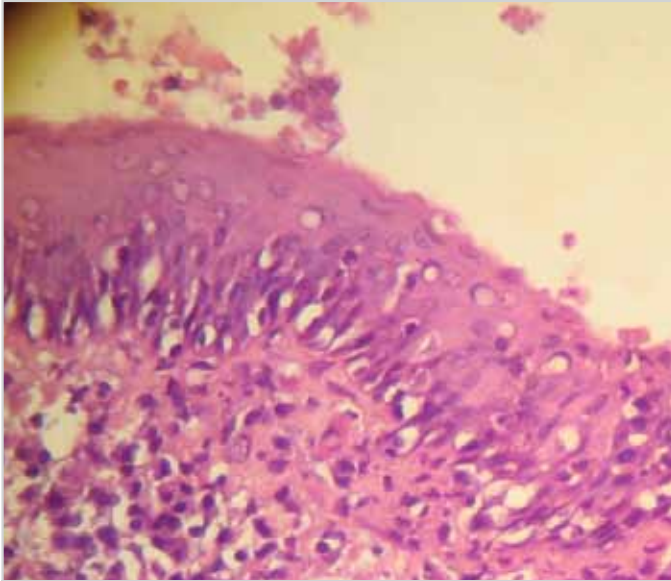
p: Fisher's Exact Test

\*p<0,05 \*\*p<0,01,

**Tablo 2.** Silia kaybının gruplara göre değerlendirilmesi

Silia kaybı	Grup I (n=10)	Grup II (n=10)
Yok	10	2
Fokal kayıp	0	6
Tamamen kayıp	0	2
Median	0	1.00
(%25-75 perc)	(0-0)	(0,75-1,25)
Grup I * Grup II	0,001**	

Mann-Whitney U Test, \*p<0,05, \*\*p<0,01



Şekil 1. Burun mukozasında skuamöz metablazi (H&E) 40X)

rülmesini araştırmıştır (5). Bu maddenin etkililiğini araştıran bir çalışmada Meltzer, kromolin sodyum içeren nazal solüsyonların mevsimsel allerjik rinitte plasebo ile karşılaştırdığında, kromolin sodyumlu nazal sprey kullananlarda allerjik semptomların daha fazla azaldığını göstermiştir (6). Xaubet ve ark.'nın (7) yaptığı bir başka çalışmada ise budesonid ve bir mast hücre stabilizatörü olan nedokromil sodyumun insan nazal mukoza ve polip epitelyal hücrelerinden salgılanan IL-6 ve IL-8 salınımı üzerine etkilerini araştırılmıştır. Nedokromil sodyumun IL-6 salınımı üzerine etkisinin olmadığı, budesonidin hem nazal polipler hem de nazal mukoza üzerindeki inhibitör etkisinin nedokromil sodyuma göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Orgel ve ark. (8) allerjik rinitli hasta grubunda kromolin kullanıldığında, mukozal sitolojide eosinofil sayısında tedavi öncesine göre belirgin azalma, hatta bir miktar bazofil ve nötrofil sayılarında da azalma olduğunu ortaya koymuşlardır.

Topikal dekonjestanlar, benzalkonyum klorid gibi koruyucu madde içersin veya içermesin rinitis medikamentoza neden olabilir (9). Rinitis medikamentozada kısaca allerjik olmayan, nazal hiperaktivite, mukozal konjesyon ve ilaca karşı gelişen tolerans söz konusudur. Hastalarda nazal konjesyon, postnazal akıntı veya hapşırma semptomları bulunabilir. Bu hastalıkta histopatolojik olarak goblet hücre hiperplazisi, skuamöz metaplazi, silia kaybı, artmış vaskülerite, submukozal ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu ve glandular hiperplazi görülür (10). Ayrıca burunlarına koruyucu madde (benzalkonyum klorid ve potasyum sorbat) tatbik edilen sıçanlarda kullanım süresine bağlı olarak, belirli bir süreden sonra hapşırma, burun kaşıma gibi semptomlar ortaya çıkartmıştır. Bu sıçanların burunları ışık mikroskobu ile incelendiğinde skuamöz metaplazi, silia kaybı, inflammasyon, ödem, damar yapısında değişiklik görülmüştür (11). Bizim çalışmamızda da skuamöz metaplazi, silia kaybı ve azalmış epitelyum kalınlığı saptanmıştır. Bu da uzun süreli kullanımı önerilen bu preparatın, aslında rinitis medikamentozadaki semptomlara benzer şikayetleri ortaya çıkarabileceği hipotezini ortaya koymaktadır.

## Sonuç

Biz bu çalışmada sodyum kromoglikat kullanılan grupta kontrol grubuna göre belirgin skuamöz metaplazi, silia kaybı ve epitelyum kalınlığında azalma olduğunu saptadık. Bu bulgunun sadece sodyum kromoglikattan mı kaynaklandığı veya Allergo-comod® nazal spreyin içindeki yardımcı maddelerin de bir etkisinin olup olmadığı kesin olarak ortaya konulamaktadır. Aslında allergo-comod®'da nazal mukoza üzerindeki advers etkileri birçok çalışmada gösterilmiş olan benzalkonyum klorür gibi bir koruyucu madde bulunmamaktadır. Bu sebeple, daha sonra saf kromolin içeren solüsyonlarla da bu etkinin varlığının gösterilmesi gerekmektedir.

## Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

## Author Contributions

Concept - H.S.D.; Design - H.S.D., İ.D.; Supervision - İ.D.; Funding - H.S.D., İ.D., P.G.; Materials - H.S.D.; Data Collection and/or Processing - H.S.D., İ.D., P.G.; Analysis and/or Interpretation - H.S.D.; Literature Review - H.S.D.; Writer - H.S.D.; Critical Review - İ.D.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

**Hakem değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

## Yazar Katkıları

Fikir - H.S.D.; Tasarım - H.S.D., İ.D.; Denetleme - İ.D.; Kaynaklar - H.S.D., İ.D., P.G.; Malzemeler - H.S.D.; Veri toplama ve/veya işleme - H.S.D., İ.D., P.G.; Analiz ve/veya yorum - H.S.D.; Literatür taraması / Literature Review - H.S.D.; Yazıyı yazan - H.S.D.; Eleştirel İnceleme - İ.D.

## Kaynaklar

1. Shirley M. Cromolyn Sodium: Basic Mechanisms and Clinical Usage. *Pediatric Asthma, Allergy & Immunology*. Fall 1988; 2: 237-54. [\[CrossRef\]](#)
2. Skoner DP, Rachelefsky GS, Meltzer EO, Chervinsky P, Morris RM, Seltzer JM, et al. Detection of growth suppression in children during treatment with intranasal beclomethasone dipropionate. *Pediatrics* 2000; 105: E23. [\[CrossRef\]](#)
3. Bruijnzel PL, Warringa RA, Kok PT, Kreuknijet J. Inhibition of neutrophil and eosinophil induced chemotaxis by nedocromil sodium and sodium cromoglycate. *Br J Pharmacol* 1990; 99: 798-802. [\[CrossRef\]](#)
4. van Cauwenberge P, Bachert C, Passalacqua G, Bousquet J, Canonica GW, Durham SR, et al. Consensus statement on the treatment of allergic rhinitis. *European Academy of Allergology and Clinical Immunology*. *Allergy* 2000; 55: 116-34. [\[CrossRef\]](#)
5. Liern Caballero M, Alberola Carbonell C, Climent Pérez JL, Miro Pérez H. Clinical and histological study to assess changes in the nasal mucosa in patients with chronic perennial rhinitis comparing sodium cromoglycate and placebo. *Rhinology* 1978; 16: 89-95.
6. Meltzer EO. Nasal Crom Study Group. Efficacy and patient satisfaction with cromolyn sodium nasal solution in the treatment

- of seasonal allergic rhinitis: a placebo-controlled study. *Clin Ther* 2002; 24: 942-52. [\[CrossRef\]](#)
7. Xaubet A, Mullol J, Roca-Ferrer J, Pujols L, Fuentes M, Pérez M, et al. Effect of budesonide and nedocromil sodium on IL-6 and IL-8 release from human nasal mucosa and polyp epithelial cells. *Respir Med* 2001; 95: 408-14. [\[CrossRef\]](#)
  8. Orgel HA, Meltzer EO, Kemp JP, Ostrom NK, Welch MJ. Comparison of intranasal cromolyn sodium, 4%, and oral terfenadine for allergic rhinitis: symptoms, nasal cytology, nasal ciliary clearance, and rhinomanometry. *Ann Allergy* 1991; 66: 237-44.
  9. Graf P, Enerdal J, Hallén H. Ten days' use of oxymetazoline nasal spray with or without benzalkonium chloride in patients with vasomotor rhinitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125(: 1128-32.
  10. Elwany SS, Stephanos WM. Rhinitis medicamentosa. An experimental histopathological and histochemical study. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1983; 45: 187-94. [\[CrossRef\]](#)
  11. Lebe E, Baka M, Yavaşoğlu A, Aktuğ H, Ateş U, Uyanıkgil Y. Effects of preservatives in nasal formulations on the mucosal integrity: an electron microscopic study. *Pharmacology* 2004; 72: 113-20. [\[CrossRef\]](#)