

Comparison of the Effect of Fluticasone Propionate and Fexofenadine with Budesonide and Fexofenadine on the Transcription Level of Autophagy-Related Genes (ATGs) in the Peripheral Blood Cells of Patients with Allergic Rhinitis

Alireza Rezaeiemanesh^{1†}, Ramin Lotfi^{2†}, Sedigheh Ranjbar³, Misagh Rajabinejad⁴, Fatemeh Rezaei Varmaziar⁵, Gelayol Asadi⁶, Mojgan Karimi⁷, Ali Gorgin Karaji⁸, Seyed Hamidreza Mortazavi⁹, Farhad Salari¹⁰

1. Associate professor of Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0003-2551-705X

2. MSc of Immunology, Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran. Orchid ID: 0000-0002-5421-5280

3. MSc of Immunology, Student Research Committee, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0002-1673-8961

4. Ph.D. student of Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. Orchid ID: 0000-0002-1217-2059

5. MSc of Immunology, Student Research Committee, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0001-7872-0786

6. MSc of Immunology, Student Research Committee, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0001-7197-541X

7. MSc of Immunology, Student Research Committee, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0002-8621-7109

8. Professor of Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0003-4537-5722

9. Allergy and Clinical Immunology Fellowship, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Orchid ID: 0000-0001-8612-3914

10. Associate professor of Immunology, Department of Immunology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. (Corresponding Author), PO-Box: 6714869914, Email: farhadsalari@gmail.com, Tel-Fax: +98-833-427-4623. Orchid ID: 0000-0003-3211-0354

† Alireza Rezaeiemanesh and Ramin Lotfi contributed equally to this study.

ABSTRACT

Background and Aim: Allergic rhinitis (AR) is an atopic condition characterized by symptoms such as sneezing, itching, rhinorrhea, and nasal congestion. Recent research has underscored the significance of autophagy in the pathogenesis and modulation of allergic rhinitis. This study aimed to compare the effects of two treatment regimens: fluticasone propionate combined with fexofenadine versus budesonide combined with fexofenadine, on the mRNA expression levels of autophagy-related genes (ATGs) in patients with allergic rhinitis.

Material and Methods: Fifty-three patients with a history of allergic rhinitis were treated for one month with either fluticasone propionate and fexofenadine (24 patients) or budesonide and fexofenadine (29 patients). After one month of treatment, serum total immunoglobulin E (IgE) levels were measured using the ELISA method. Additionally, the counts of peripheral blood eosinophils and the mRNA expression levels of autophagy-related genes, including ATG14, ATG16L1, ATG5, LC3-II, Beclin-1, and VMP-1, were evaluated in peripheral blood cells using real-time PCR. The severity of clinical manifestations was scored from 0 to 6 according to the Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) classification system.

Results: The results of the present study demonstrated that after one month of treatment with fluticasone propionate and fexofenadine, a significant increase in total serum IgE levels was observed ($P<0.01$). In contrast, patients treated with budesonide and fexofenadine showed no significant changes in total serum IgE levels compared to baseline. Furthermore, while both treatment regimens led to clinical symptom improvement and a reduction in peripheral blood eosinophil counts, the mRNA expression levels of autophagy-related genes, including ATG16L1 ($P<0.0001$), ATG5 ($P<0.0001$), LC3-II ($P<0.05$), Beclin-1 ($P<0.0001$), and VMP-1 ($P<0.0001$), were significantly downregulated in patients receiving fluticasone propionate and fexofenadine compared to those treated with budesonide and fexofenadine.

Conclusion: The current study demonstrated that the combination of fluticasone propionate and fexofenadine is significantly more effective in reducing the expression of autophagy-related genes compared to budesonide and fexofenadine.

Keywords: Allergic Rhinitis; Autophagy; Budesonide; Fexofenadine; Fluticasone propionate.

Received: Nov 13, 2024

Accepted: Mar 4, 2025

How to cite the article: Alireza Rezaïmanesh, Ramin Lotfi, Sedigheh Ranjbar, Misagh Rajabinejad, Fatemeh Rezaei Varmaziar, Gelayol Asadi, Mojgan Karimi, Ali Gorgin Karaji, Seyed Hamidreza Mortazavi, Farhad Salari. Comparison of the Effect of Fluticasone Propionate and Fexofenadine with Budesonide and Fexofenadine on the Transcription Level of Autophagy-Related Genes (ATGs) in the Peripheral Blood Cells of Patients with Allergic Rhinitis. SJKU 2025;30(4):53-70

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

مقایسه تأثیر فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با بودسوناید و فکسوفنادین بر سطح رونویسی ژن‌های مرتبط با اتوفاژی در سلول‌های خون محیطی بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک

علیرضا رضایی منش^{۱*}، رامین لطفی^{۲*}، صدیقه رنجبر^{۳*}، میثاق رجیبی نژاد^{۴*}، فاطمه رضایی ورمزیار^{۵*}، گلایول اسدی^{۶*}، مؤگان کریمی^{۷*}، علی گرگین کرچی^{۸*}، سید حمیدرضا مرتضوی^{۹*}، فرهاد سالاری^{۱۰*}

۱. دانشیار ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: X۰۰۰۳-۰۰۰۳-۲۵۵۱-۷۰۵
۲. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات انتقال خون، موسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون، تهران، ایران. کد ارکید: ۵۴۲۱-۵۲۸۰-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۳. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۱۶۷۳-۸۹۶۱-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۴. دانشجوی دکتری ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران. کد ارکید: ۱۲۱۷-۲۰۵۹-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۵. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۷۸۷۲-۰۷۸۶-۰۰۰۱-۰۰۰۰
۶. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: X۰۰۰۱-۰۰۰۱-۷۱۹۷-۵۴۱
۷. کارشناسی ارشد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۸۶۲۱-۷۱۰۹-۰۰۰۲-۰۰۰۰
۸. استاد ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۴۵۳۷-۵۷۲۲-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۹. فوق تخصص بیماری‌های آسم، آلرژی و ایمونولوژی بالینی، گروه اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. کد ارکید: ۳۹۱۴-۸۶۱۲-۰۰۰۱-۰۰۰۰

۱۰. دانشیار ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران. پست الکترونیکی: farhadsalari@gmail.com
- شماره دورنگار: ۶۷۱۴۶۹۹۱۴، شماره ۴۶۲۳-۴۲۷-۸۳۳-۹۸+، کد ارکید: ۳۲۱۱-۰۳۵۴-۰۰۰۳-۰۰۰۰
- *علیرضا رضایی منش و رامین لطفی به‌طور مساوی در این مطالعه مشارکت داشتند.

چکیده

زمینه و هدف: رینیت آلرژیک (AR) یک وضعیت اتوپیک است که با علائمی مانند عطسه، خارش، آبریزش و احتقان بینی مشخص می‌شود. تحقیقات اخیر بر اهمیت اتوفاژی در توسعه و مهار رینیت آلرژیک تأکید کرده‌اند. این مطالعه باهدف مقایسه دو رژیم درمانی تأثیر فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با بودسوناید و فکسوفنادین بر سطح بیان mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفاژی (ATGs) در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک انجام شد.

مواد و روش‌ها: پنجاه‌وسه بیمار با سابقه رینیت آلرژیک به مدت یک ماه با یکی از دو رژیم درمانی فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین (۲۴ بیمار) یا بودسوناید و فکسوفنادین (۲۹ بیمار) تحت درمان قرار گرفتند. پیش و پس از یک ماه درمان، سطح سرمی تام ایمونوگلوبولین E (IgE) با استفاده از روش ELISA اندازه‌گیری شد. همچنین، شمارش تعداد ائوزینوفیل‌های خون محیطی و سطوح بیان mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفاژی، شامل ATG5، ATG16L1، ATG14، LC3-II، Beclin-1 و VMP-1 در سلول‌های خون محیطی با استفاده از روش Real-time PCR ارزیابی گردید. علاوه بر این، شدت تظاهرات بالینی بیماران با توجه به سیستم طبقه‌بندی (ARIA) (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma)، از ۰ تا ۶ نمره‌گذاری شد.

یافته‌ها: یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که پس از یک ماه درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین سطح IgE تام سرمی بیماران به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/01$). با این حال، در بیماران دریافت‌کننده بودسوناید و فکسوفنادین سطح IgE تام سرمی در مقایسه با قبل از درمان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین باوجود بهبود علائم بالینی و کاهش تعداد ائوزینوفیل‌های خون محیطی در هر دو رژیم درمانی، سطح بیان mRNA ژن‌های اتوفاژی، از جمله ATG5 ($P < 0/0001$)، ATG16L1،

($P < 0/0001$)، ($P < 0/0001$) Beclin-1، ($P < 0/05$) LC3-II، ($P < 0/0001$) VMP-1 و ($P < 0/0001$) به طور معنی داری در بیماران درمان

شده با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین نسبت به بیماران دریافت کننده بودسوناید و فکسوفنادین کاهش یافته بود.

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که رژیم درمانی فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین در مقایسه با بودسوناید و فکسوفنادین

به طور معنی داری در کاهش بیان ژن های مربوط به اتوفاژی مؤثر است.

کلمات کلیدی: اتوفاژی، بودسوناید، رینیت آلرژیک، فکسوفنادین، فلوتیکازون پروپیونات.

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۰۸/۲۳ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۳/۱۲/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۴

اندامک‌ها و اجسام آپوپتوزی کمک می‌کند (۹). عوامل محرک اتوفآژی شامل گرسنگی، ایسکمی و استرس اکسیداتیو هستند (۱۰). این فرآیند شامل چندین مرحله آغاز، طویل شدن وزیکول، بلوغ اتوفآگوزوم، جداسازی محموله و ادغام اتوفآگوزوم-لیزوزوم است (۱۱). فاز اول، یعنی تشکیل فاگوفور، توسط کمپلکس ULK و کمپلکس کلاس III PI3K متشکل از AMBRA1، ATG14، Beclin-1، Vps15 و Vps34 تنظیم می‌شود. در مرحله دوم، کمپلکس ATG16L1 شامل ATG5-ATG12-ATG16 و کمپلکس LC3 اتوفآگوزوم را شکل می‌دهند. در نهایت، اتوفآگوزوم با لیزوزوم ادغام و یک اتولیزوزوم تشکیل می‌شود (۱۲، ۱۳). پروتئین ۱ غشای واکوئل (VMP1, Vacuole membrane protein 1) یک پروتئین تنظیم‌کننده در اتوفآژی است و بیان آن با شروع اتوفآژی همراه است و عدم وجود آن باعث مهار اتوفآژی می‌شود. مولکول VMP1 در تعامل با پروتئین Beclin-1 که یکی از پروتئین‌های کلیدی در آغاز اتوفآژی است، به تشکیل کمپلکس‌های لازم برای ایجاد اتوفآگوزوم‌ها کمک می‌کند. این کمپلکس‌ها در مراحل اولیه اتوفآژی نقش حیاتی دارند و غیاب VMP1 باعث اختلال در تشکیل این ساختارها و در نتیجه کاهش کارایی اتوفآژی می‌شود (۹، ۱۴). اتوفآژی با حذف پاتوژن‌های مهاجم، تنظیم پاسخ‌های التهابی، ارائه آنتی‌ژن و حمایت از رشد سلول‌های سیستم ایمنی، نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی ایفا می‌کند (۱۵). مطالعات مختلف ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های مرتبط با اتوفآژی (ATGs, Autophagy-related genes) را با بیماری‌های خود ایمنی و آسم بررسی کرده‌اند (۱۶، ۱۷، ۱۸). در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک نشان داده شده است که تشکیل اتوفآگوزوم و تولید پروتئین‌های Beclin-1، LC3-II افزایش می‌یابد (۱۹). همچنین، ارتباط بین اتوفآژی و بازسازی راه‌های هوایی در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۱۹، ۲۰). از سوی دیگر، بازسازی راه‌های هوایی می‌تواند اثر

رینیت آلرژیک (AR, Allergic rhinitis) یک اختلال ازدیاد حساسیت نوع یک است که با علائمی نظیر عطسه، خارش، آبریزش، گرفتگی بینی و اختلال در عملکرد حس بویایی فرد شناخته می‌شود. این اختلال می‌تواند در کودکان و بزرگسالان بروز کند و به‌طور قابل‌توجهی کیفیت زندگی فرد را تحت تأثیر قرار دهد. برآوردها نشان می‌دهد که حدود ۱۰ تا ۴۰ درصد از جمعیت جهان به این بیماری مبتلا هستند و طبقه اجتماعی-اقتصادی بالاتر به‌عنوان یکی از عوامل خطر این اختلال شناخته می‌شود (۱، ۲). ایمونوگلوبولین E (IgE) نقش کلیدی در بروز رینیت آلرژیک ایفا می‌کند. این آنتی‌بادی در نتیجه فعال شدن لنفوسیت‌های B اختصاصی آلرژن‌ها در تعامل با سلول‌های Th2 (T helper 2) و سایتوکاین IL-4 تولید می‌شود. اتصال آلرژن به مولکول‌های IgE بر سطح ماست سل‌ها و بازوفیل‌ها منجر به آزاد شدن محتوای گرانولی (مانند هیستامین) این سلول‌ها و بروز علائم بالینی مرتبط با رینیت آلرژیک می‌شود (۳، ۴). درمان رینیت آلرژیک بر اساس سیستم طبقه‌بندی ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) شامل اجتناب از آلرژن، آموزش به بیمار و خانواده، ایمونوتراپی و دارودرمانی است. داروهای مورد استفاده در درمان این اختلال شامل آنتی‌هیستامین‌ها، کورتیکواستروئیدها، آنتاگونیست‌های گیرنده لگوترین و تثبیت‌کننده‌های ماست سل است (۵، ۶، ۷). مطالعات نشان داده‌اند که برخی از داروهای ترکیبی مانند MP29-02 که از یک کورتیکواستروئید بینی (فلوتیکازون پروپیونات) به همراه آنتی‌هیستامین داخل بینی (azelastine) تشکیل شده است، مؤثرتر از مصرف هر یک از این داروها به تنهایی است (۸).

اتوفآژی یک مکانیسم کاتابولیک درون‌سلولی است که به حفظ هموستاز سلولی از طریق هضم لیزوزومی پروتئین‌ها،

شرکت کنندگان در این پژوهش رضایت‌نامه کتبی آگاهانه اخذ گردید.

استخراج RNA و real-time PCR

استخراج RNA از نمونه‌های خون محیطی با استفاده از کیت استخراج RNA شرکت یکتا تجهیز آزما (Yekta Tajhiz Azma) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کیفیت نمونه‌های RNA به روش اسپکتروفتومتری توسط NanoDrop 2000 (ThermoScientific, USA) سنجش شد. سنتز cDNA از RNA ی استخراج شده با استفاده از کیت یکتا تجهیز آزما (Yekta Tajhiz Azma) مطابق دستورالعمل‌های شرکت سازنده انجام شد. با استفاده از روش real-time PCR کمی (qRT-PCR) و دستگاه Light Cycler 96 (شرکت Roche، آلمان) و با مسترمیکس سایبرگرین مطابق پروتکل شرکت سازنده (Ampliqon Inc، دانمارک) بیان ژن‌های ATG5، ATG16L1، LC3-II، Beclin-1 و VMP-1 بررسی شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار Primer Biosoft (Beacon Designer™، آمریکا) طراحی شدند. توالی‌های پرایمرهای مورد استفاده در qRT-PCR در جدول ۱ نشان داده شده است. واکنش‌های qRT-PCR در حجم نهایی ۱۵ میکرو لیتر شامل ۷.۵ میکرو لیتر مسترمیکس SYBR Green، ۵.۵ میکرو لیتر آب دی‌یونیزه، ۱ میکرو لیتر cDNA و ۰.۵ میکرو لیتر از هر زوج پرایمر انجام شد. شرایط دمایی واکنش PCR به شرح زیر بود: ۱- پیش‌انکوباسیون: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸۰ ثانیه، ۲- امپلیفیکیشن دو مرحله‌ای برای ۴۰ چرخه: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰-۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۳- دمای ذوب: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و ۹۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ثانیه. به منظور جلوگیری از خطاهای آزمایشگاهی، تمام واکنش‌ها دو بار انجام شد. بیان نسبی

کورتیکواستروئیدها را کاهش دهد و این پدیده در بیماری‌های آلرژیک مانند آسم و رینیت آلرژیک مشاهده می‌شود. با توجه به ارتباط بین اتوفاژی و بازسازی راه‌های هوایی در AR، انتخاب مناسب‌ترین درمان برای بیماران، نیازمند شناخت دقیق از مسیرهای تحت تأثیر داروها است (۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۳). در مطالعه حاضر تأثیر رژیم درمانی فلوئیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با بودسوناید و فکسوفنادین بر بیان ژن‌های مربوط به اتوفاژی شامل Beclin-1، LC3-II، ATG5، ATG16L1، ATG14 و VMP-1 بررسی و مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه و شرکت کنندگان

این مطالعه مقطعی شامل ۵۳ بیمار ۱۸ تا ۶۰ سال مبتلابه رینیت آلرژیک با حداقل یک سال سابقه ابتلا به بیماری بود. بیماران با سابقه ابتلا به آسم و بیماری‌های عفونی، دیابت یا بیماری‌های التهابی مزمن، زنان باردار و افراد بالای ۶۰ سال در این مطالعه وارد نشدند. بیماران حداقل دو ماه قبل از ورود به مطالعه تحت درمان با کورتیکواستروئیدهای استنشاقی نبودند. بیماران به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه (۲۴ نفر)، درمان ترکیبی آنتی‌هیستامین (فکسوفنادین؛ ۶۰ میلی‌گرم در روز) و کورتیکواستروئیدهای استنشاقی ۱ اسپری/سوراخ بینی یک‌بار در روز (فلوتیکازون پروپیونات؛ ۳۲ میکروگرم در اسپری) و گروه دیگر (۲۹ نفر)، فکسوفنادین (۶۰ میلی‌گرم در روز) به همراه اسپری بودسوناید استنشاقی (۳۲ میکروگرم در اسپری) دریافت کردند. پیش و یک ماه پس از شروع درمان، ۵ سی‌سی خون محیطی از بیماران جمع‌آوری شد. همچنین اسمیرهای خون محیطی برای ارزیابی تعداد ائوزینوفیل‌ها تهیه گردید. با توجه به سیستم طبقه‌بندی ARIA، شدت تظاهرات بالینی بیماران از ۰ تا ۶ نمره‌گذاری شد (۷). این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه (کد اخلاق: IR.KUMS.REC.1399.353) تأیید شده و از همه

ژن‌های موردبررسی با استفاده از روش Pfaffl، پس از نرمال‌سازی با ژن 18s rRNA تعیین شد (۲۴).

جدول ۱. اطلاعات توالی پرایمرهای استفاده‌شده

توالی‌ها (۵' به ۳')	نام ژن
GCGCCAAATGCGTTCAGAG	ATG14 پرایمر رفت
AGTCGGCTTAACCTTTCCTTCT	ATG14 پرایمر برگشت
CGATTACGGCACACTCAC	ATG16L1 پرایمر رفت
GCTGCGTAGATCCCAGAGTT	ATG16L1 پرایمر برگشت
GCAGATGGACAGTTGCACACAC	ATG5 پرایمر رفت
GAGGTGTTTCCAACATTGGCTCA	ATG5 پرایمر برگشت
GATGTCCGACTTATTCGAGAGC	LC3-II پرایمر رفت
TTGAGCTGTAAGCGCCTTCTA	LC3-II پرایمر برگشت
GACAAATCTAAGGAGCTGCCG	Beclin-1 پرایمر رفت
ACGTGTCTCGCCTTCTCAA	Beclin-1 پرایمر برگشت
GACCAGAGACGTGTAGCAATG	VMP-1 پرایمر رفت
ACAATGCTTTGACGATGCCATAA	VMP-1 پرایمر برگشت
GTAACCCGTTGAACCCATT	18s rRNA پرایمر رفت
CCATCCAATCGGTAGTAGCG	18s rRNA پرایمر برگشت

اتاق قرار داده شد و سپس شستشوی مجدد چاهک‌ها مانند مرحله ۳ انجام شد. پس از تخلیه کامل چاهک‌ها به‌وسیله ضربات متعدد به پلیت، در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترای TMB ریخته شد و به مدت ۱۰ ثانیه به آرامی تکان داده و پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق و در محلی تاریک قرار داده شد. در آخرین مرحله، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف‌کننده واکنش (STOP) در هر چاهک ریخته و به مدت ۱۰ ثانیه مخلوط شد. درنهایت، میزان جذب نوری چاهک‌ها در طول‌موج ۴۵۰ نانومتر به وسیله دستگاه الیزا ریدر خوانده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف از معیار بیان شدند. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ (SPSS, Chicago, IL, USA) انجام شد. جداول با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۸ طراحی شد. برای مقایسه داده‌ها پیش و پس از دریافت دارو در هر گروه از تی زوجی و برای مقایسه داده‌ها بین دو گروه از

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

غلظت سرمی IgE تام در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک پیش و پس از درمان با استفاده از کیت الیزای شرکت پادتن علم (Padtan Elm) بر اساس پروتکل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. این کیت بر مبنای سنجش ایمونوآنزیماتیک بر روی فاز جامد طراحی شده است. در این سیستم از دو آنتی‌بادی مونوکلونال خرگوش و پلی‌کلونال بز که شاخص‌های آنتی‌ژنیک مختلفی را بر روی مولکول IgE شناسایی می‌کنند، استفاده شده است. ابتدا مقدار ۲۵ میکرولیتر از استانداردها، سرم‌های کنترل و سرم بیماران (که به دمای محیط رسیده بودند) در چاهک‌های مشخص‌شده، ریخته شد، سپس ۲۰۰ میکرولیتر از بافر رقیق‌کننده به آن اضافه شد. پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. در مرحله بعد، چاهک‌ها ۴ مرتبه و هر بار با ۳۰۰ میکرولیتر از محلول Wash شستشو داده شدند. در ادامه به هر چاهک، ۵۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی کونژوگه (با HRP) ضد IgE اضافه‌شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت

آنالیز آماری من ویتنی استفاده شد. مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. ویژگی‌های جمعیت شناختی افراد مورد مطالعه مشخصات اصلی بیماران در جدول ۲ نشان داده شده است.

یافته‌ها

جدول ۲. مشخصات جمعیت شناختی بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک شرکت کننده در مطالعه

P-value	گروه‌ها		تغییرها
	بیماران درمان شده با بودسوناید و فکسوفنادین	بیماران درمان شده با فلویتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین	
-	۲۹	۲۴	بیماران (تعداد)
ns	۳۲/۸ ± ۱/۹	۳۴/۴ ± ۱/۲	سن (سال، میانگین ± انحراف از معیار)
ns	۱۱/۱۸	۹/۱۵	جنس (مرد/زن)
ns	۸ ± ۱/۷	۵/۸ ± ۰/۸	مدت ابتلا (سال، میانگین ± انحراف از معیار)

ns=از نظر آماری معنی دار نیست.

شدت علائم در دو گروه بیماران پیش و پس از درمان در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین شدت علائم بالینی در هر دو گروه تحت درمان به طور معنی داری کاهش داشت ($P < 0.001$).

میانگین سنی بیماران دریافت کننده فلویتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین $34/4 \pm 1/2$ و بیماران دریافت کننده بودسوناید و فکسوفنادین $32/8 \pm 1/9$ بود. میانگین نمره

جدول ۳. مقایسه علائم بالینی بیماران AR (برحسب نمره سیستم طبقه بندی ARIA)، تعداد ائوزینوفیل های خون محیطی و سطح سرمی IgE تام در گروه های مورد مطالعه

P-value	رژیم درمانی		متغیر
	بودسوناید و فکسوفنادین	فلویتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین	
ns	۴/۰ ± ۰۳/۴۶	۵/۰ ± ۲/۲۸	عطسه قبل
ns	۰/۰ ± ۷۲/۱۸	۰ ± ۱/۲۶	عطسه بعد
	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P-value
ns	۳/۰ ± ۹۶/۴۲	۵/۰ ± ۳۲/۲۶	آبریزش بینی قبل
ns	۰/۰ ± ۶۸/۲۴	۰/۰ ± ۸۸/۳۳	آبریزش بینی بعد
	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P-value
ns	۳/۰ ± ۶۲/۳۶	۴/۰ ± ۱۶/۴	گرفتگی بینی قبل
ns	۰/۰ ± ۶۲/۱۶	۰/۰ ± ۴۸/۱۹	گرفتگی بینی بعد
	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P-value
ns	۳/۰ ± ۲۸/۴۲	۳/۰ ± ۲۸/۴۶	خارش بینی قبل
ns	۰/۰ ± ۵۶/۱۹	۰/۰ ± ۵۶/۱۷	خارش بینی بعد
	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	P-value
ns	۱/۰ ± ۹۶/۲۸	۲/۰ ± ۸۴/۴۹	خارش چشم قبل

ns	۰/۰±۴۱/۲۵	۰/۰±۶۴/۲۶	خارش چشم بعد	
	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	P-value	
ns	۱/۰±۹۳/۳۴	۲/۰±۹۶/۴۳	آبریزش چشم قبل	
ns	۰/۰±۳۹/۲۸	۰/۰±۳۶/۲۲	آبریزش چشم بعد	
	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	P-value	
ns	۴/۲±۹۶/۵۲	۲/۷۷±۵	قبل درمان	تعداد ائوزینوفیل (%)
ns	۲/۱±۶۱/۹۶	۱±۳/۵۴	بعد از درمان	
	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۱	P-value	
ns	۱۰۸/۱۰۲±۹/۵	۶۶/۵۳±۵۵/۵۵	قبل درمان	سطح سرمی IgE تام (IU/ml)
ns	۷۹/۶۸±۴۳/۰۸	۱۱۳/۷۰±۲/۵۷	بعد از درمان	
	ns	<۰/۰۱	P-value	

ns=از نظر آماری معنی دار نیست.

(۷۹/۶۸±۴۳/۰۸) در مقایسه با پیش از درمان اما تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۳).

مقایسه اثر فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با بودسوناید و فکسوفنادین بر بیان ژن‌های مربوط به اتوفاژی (ATGs)

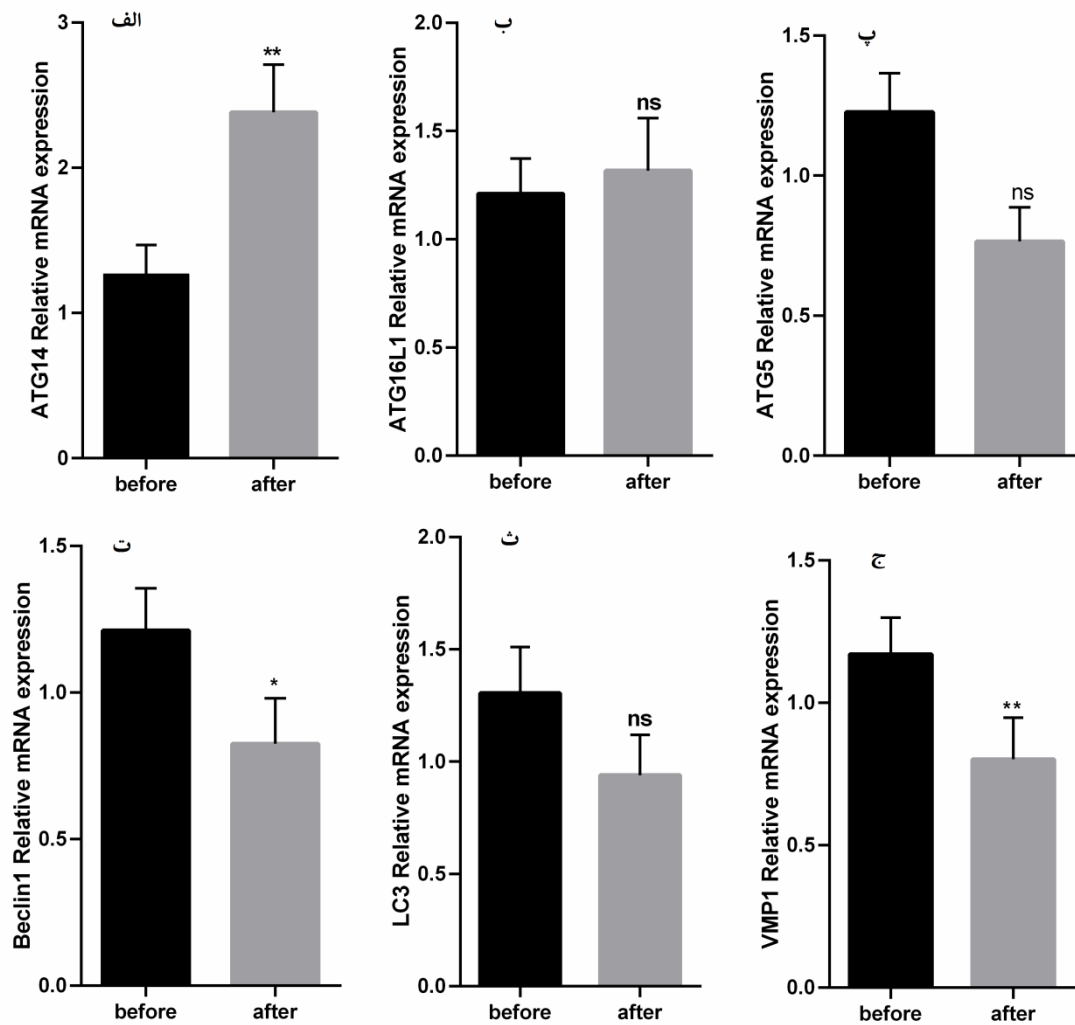
سطح بیان نسبی ژن‌های ATGs شامل ATG14، VMP-1، Beclin-1، LC3-II، ATG5، ATG16L1 و VMP-1 پیش و یک ماه پس از درمان در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک بررسی شد. مقایسه بیان نسبی mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفاژی در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک نشان داد که بیان ژن‌های Beclin-1 ($P < 0.05$) و VMP-1 ($P < 0.01$) پس از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین به طور معنی داری کاهش و بیان ژن ATG14 ($P < 0.01$) افزایش یافته است (شکل ۱ الف-ج).

کاهش تعداد ائوزینوفیل‌ها (%) پس از درمان در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک

اسمیرهای تهیه شده از خون محیطی بیماران نشان داد که در هر دو گروه، تعداد سلول‌های ائوزینوفیل (%) پس از یک ماه درمان (فلوتیکازون با فکسوفنادین $5 \pm 2/77$ در مقابل $1 \pm 3/54$ و بودسوناید با فکسوفنادین $4/96 \pm 2/52$ در مقابل $2/1 \pm 61/96$) به طور معنی داری کاهش یافته است (به ترتیب $P < 0.0001$ ، $P < 0.01$ ، جدول ۳).

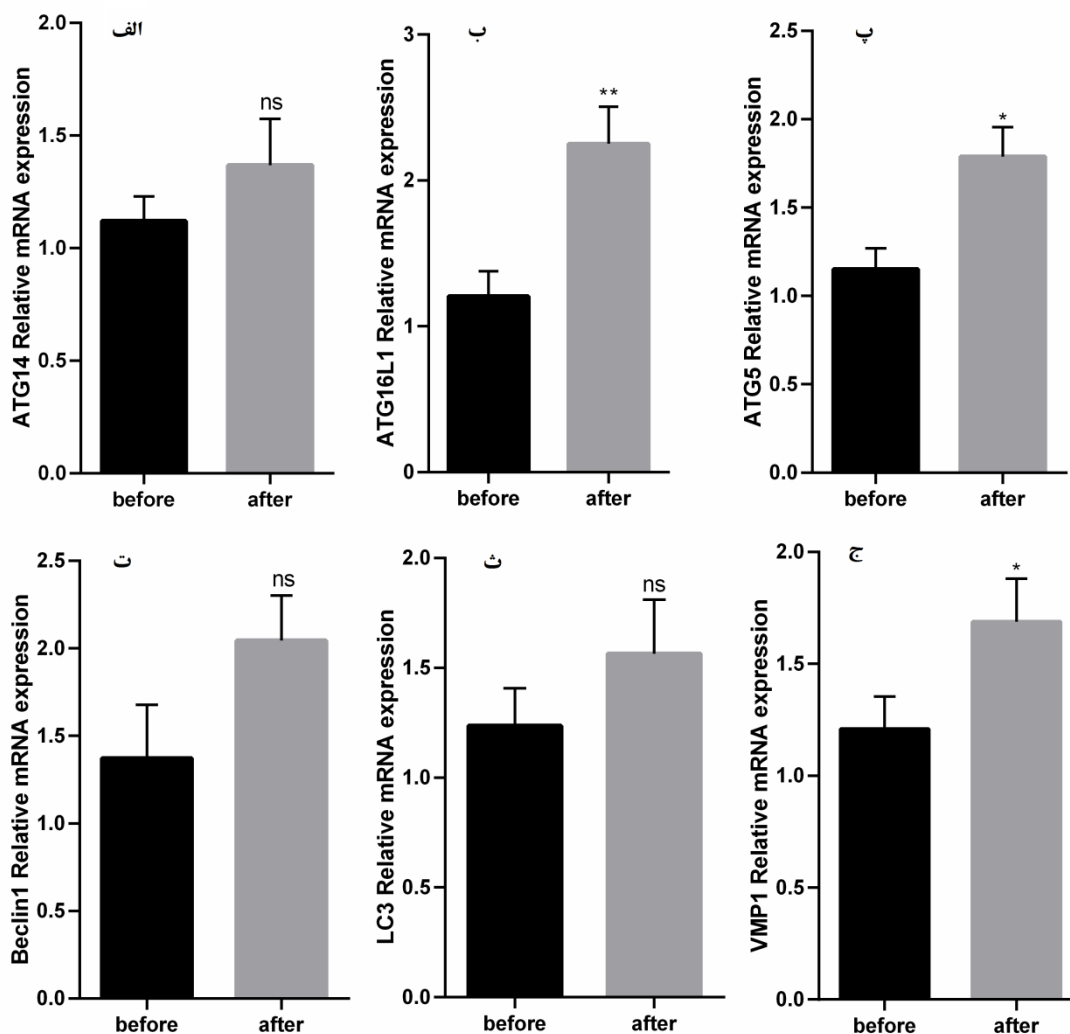
اثر درمان بر سطوح سرمی IgE تام (IU/ml) در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک

پس از یک ماه درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین افزایش معنی داری در IgE تام سرمی (IU/ml) بیماران ($66/55 \pm 53/55$ در مقابل $113/70 \pm 2/57$) مشاهده شد ($P < 0.01$). در بیماران دریافت کننده بودسوناید و فکسوفنادین با وجود کاهش سطح IgE تام سرمی ($108/9 \pm 102/5$) در مقابل



شکل ۱. مقایسه بیان نسبی mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفاژی در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین. بیان ژن‌ها قبل از درمان با روش Real-time PCR سنجش شد. ns=ز نظر آماری معنی‌دار نیست، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$.

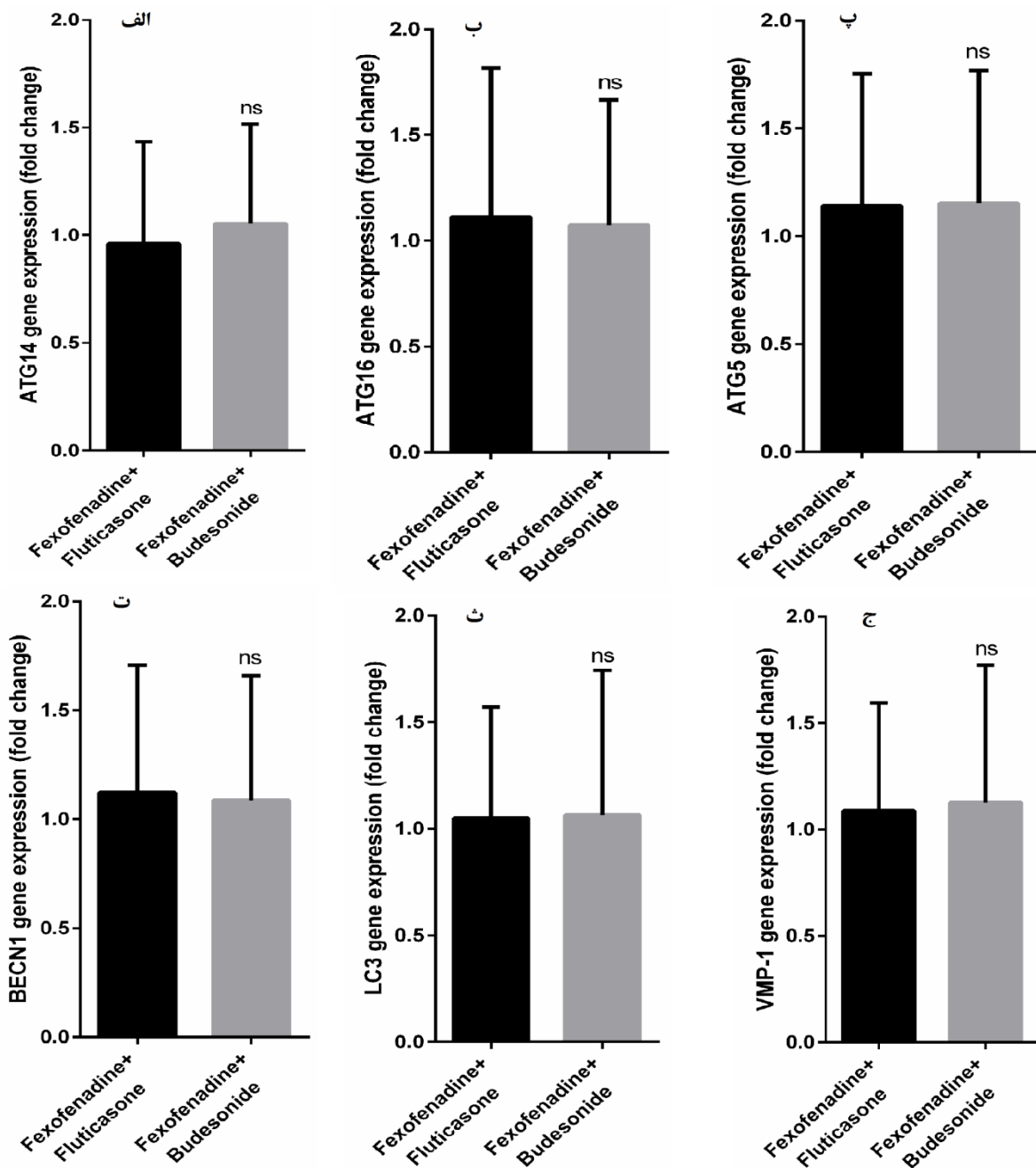
مقایسه بیان این ژن‌ها در دریافت‌کنندگان بودسوناید و فکسوفنادین حاکی از افزایش معنی‌دار بیان ژن‌های ATG16L1 ($P < 0.01$)، ATG5 ($P < 0.05$) و VMP-1 ($P < 0.05$) بود (شکل ۲ الف-ج).



شکل ۲. مقایسه بیان نسبی mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفاژی در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک قبل و بعد از درمان با بودسوناید و فکسوفنادین. بیان ژن‌ها قبل از درمان با روش Real-time PCR سنجش شد. ns=از نظر آماری معنی‌دار نیست، * $P < 0.05$ ، ** $P < 0.01$.

ژن‌های مورد مطالعه پیش از درمان در دو گروه بررسی و هیچ تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۳ الف-ج).

این افزایش بیان در سایر ژن‌های مورد بررسی نیز مشاهده شد اما به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. به علاوه مقایسه بیان

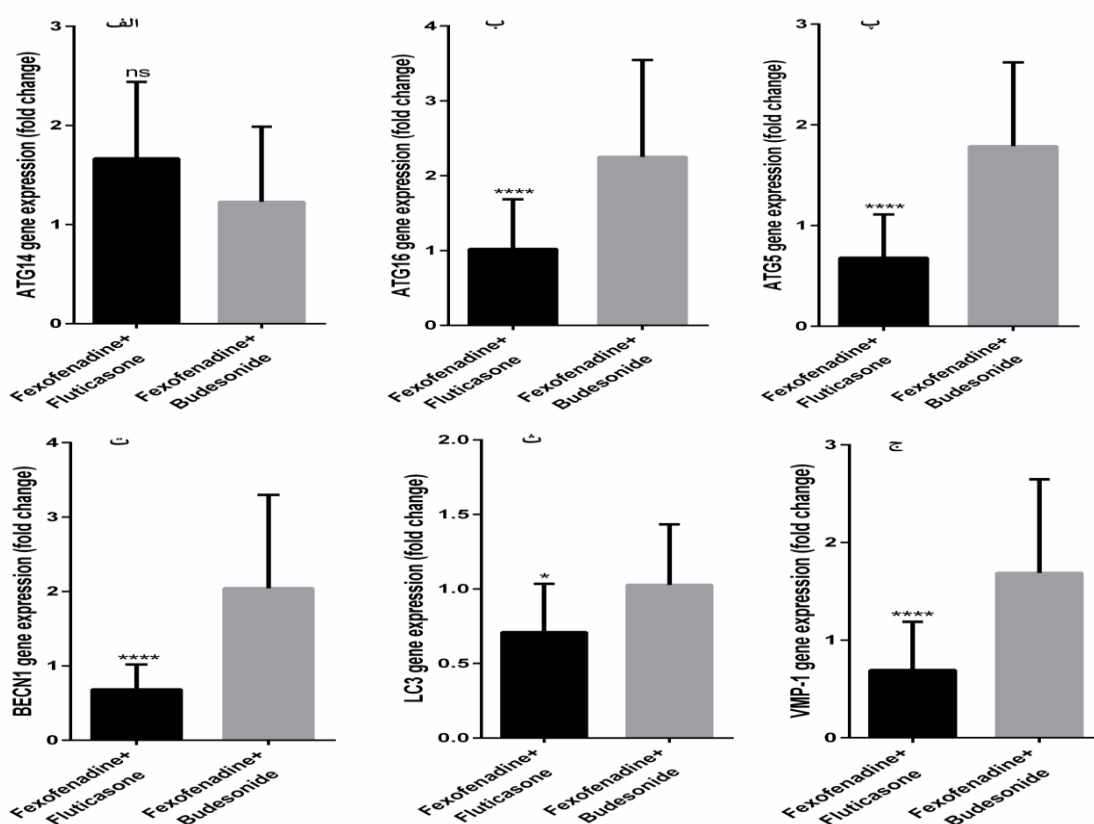


شکل ۳. مقایسه بیان نسبی mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفازی در بیماران مبتلا به رینیت آلرژیک قبل از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین یا بودسوناید و فکسوفنادین. (الف-ج) بیان ژن‌های ATG14، ATG16، ATG5، BECN1، LC3II و VMP-1 قبل از درمان با روش Real-time PCR سنجش شد. ns=از نظر آماری معنی دار نیست.

شدند. آنالیز داده‌ها نشان داد که به جز ATG14، بیان ژن‌های ATG16L1 ($P < 0.0001$)، ATG5 ($P < 0.0001$)، LC3-II ($P < 0.0001$)، Beclin-1 ($P < 0.05$) و VMP-1 ($P < 0.0001$) به طور

با توجه به عدم اختلاف معنی دار بین دو گروه پیش از آغاز درمان، بیان ژن‌های اتوفازی پس از درمان با دو رژیم درمانی (فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین در مقابل بودسوناید و فکسوفنادین) نیز با یکدیگر مقایسه

معنی داری در دریافت کنندگان فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین در مقایسه با بودسوناید و فکسوفنادین کاهش یافته بود (شکل ۴ الف-ج).



شکل ۴. مقایسه بیان نسبی mRNA ژن‌های مرتبط با اتوفاجی در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک بعد از درمان با فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین یا بودسوناید و فکسوفنادین. (الف-ج) بیان ژن‌های ATG14, ATG16, ATG5, BECN1, LC3II و VMP-1 بعد از درمان با روش Real-time PCR سنجش شد. ns=از نظر آماری معنی دار نیست، * $P < 0.05$ ، **** $P < 0.0001$

پروپیونات و فکسوفنادین، شاهد افزایش سطح سرمی IgE تام بودیم. بهبود علائم بالینی و بهبود کیفیت زندگی در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک که تحت درمان با کورتون قرار داشتند؛ با وجود افزایش یا بدون تأثیر بر سطح IgE قبلاً نیز گزارش شده است (۲۶). در مطالعه Chalubinski و همکاران در سال ۲۰۱۱، اثر بودسوناید بر تولید IgE مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها حاکی از افزایش IgE در افراد آلرژیک و غیر آلرژیک دریافت کننده بودسوناید بود (۲۷). در مطالعه دیگری توسط Egger و همکاران مشخص شد که فلوتیکازون پروپیونات بر تولید IgE اختصاصی آلرژن تأثیر نمی‌گذارد (۲۸). گروه تحقیقاتی

بحث

رینیت آلرژیک (AR) یک بیماری التهابی مخاط بینی است که عمدتاً به واسطه آنتی‌بادی‌های IgE و تجمع ائوزینوفیل ایجاد می‌شود (۲۵). در مطالعه حاضر، اثر دو رژیم درمانی فلوتیکازون پروپیونات و فکسوفنادین با بودسوناید و فکسوفنادین بر بیان ژن‌های مربوط به اتوفاجی (ATGs)، سطح IgE و تعداد ائوزینوفیل در بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک بررسی و مقایسه شده است.

بهبود علائم بالینی با کاهش تعداد ائوزینوفیل خون محیطی در هر دو گروه دریافت کننده درمان مشاهده شد. با وجود بهبود علائم در دریافت کنندگان رژیم درمانی فلوتیکازون

است. بعلاوه سطوح بیان بالاتر Beclin-1 با شدت علائم بینی و رسوب کلاژن در راه‌های هوایی در ارتباط بوده که نشان می‌دهد فعالیت اتوفازیک ممکن است در بدتر شدن علائم AR نقش داشته باشد (۱۹).

بودسونايد يك كورتیکواستروئيد است که به‌طور معمول برای آسم و شرایط آلرژیک استفاده می‌شود و اثرات پیچیده‌ای بر اتوفازی دارد. تحقیقات نشان می‌دهد که بودسونايد استنشاقی می‌تواند اتوفازی را در ماکروفاژهای مجاری هوایی مهار کند. به‌طور خاص، یک مطالعه بر بیماران مبتلابه آسم نشان داد که بودسونايد بیان نشانگرهای اتوفازی مانند Beclin-1 و LC3 را در این سلول‌ها کاهش داد. این مهار با افزایش سطوح اینترلوکین-۱۰ (IL-10)، یک سیتوکین ضدالتهابی، همبستگی داشت و نشان می‌دهد که درحالی‌که بودسونايد اتوفازی را سرکوب می‌کند، ممکن است به‌طور هم‌زمان تولید IL-10 را افزایش دهد تا به کنترل التهاب در آسم کمک کند (۳۴). بعلاوه در بررسی رت‌های مبتلابه آسم مشخص شده است که بودسونايد با کاهش اتوفازی از طریق تنظیم کاهشی بیان mRNA ی Beclin-1 و نسبت پروتئین LC3-Beclin-1/II و افزایش آپوپتوز باعث تضعیف بازسازی راه‌های هوایی می‌شود (۳۵). برعکس در مطالعه دیگری Trybus و همکاران در سال ۲۰۱۷ مکانیسم‌های تحت تأثیر بودسونايد را در بیماران مبتلابه رینیت مطالعه کردند. نتایج *in vitro* نشان داد که بودسونايد، اتوفازی را در سلول‌های شبه اپی تلیالی (CHO-K1) در معرض بودسونايد افزایش می‌دهد (۳۶). فلوئیکازون پروپیونات که یک گلوکوکورتیکوئید است نیز عمدتاً برای درمان آسم و شرایط آلرژیک استفاده می‌شود و اثرات پیچیده‌ای بر اتوفازی دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که فلوئیکازون پروپیونات می‌تواند اتوفازی را در سلول‌های ایمنی، به‌ویژه ماکروفاژها، سرکوب کند. این سرکوب به فعال‌سازی مسیر سیگنال‌دهی Akt/mTOR مرتبط است که به‌طور شناخته‌شده‌ای اتوفازی را مهار می‌کند. مطالعات نشان

Liu و همکارانش با مطالعه اثر آنتاگونیست‌های گیرنده آنتی‌هیستامین و لکوترین بر Ige اختصاصی در سرم و تعداد ائوزینوفیل خون محیطی بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک، دریافتند که سطح Ige و تعداد ائوزینوفیل در خون محیطی بیماران تحت هر دو درمان به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد (۲۹). در مطالعه حاضر نیز در بیماران دریافت‌کننده رژیم‌درمانی بودسونايد و فکسوفنادین، سطح سرمی Ige تام کاهش داشت، اگرچه این کاهش به لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

اتوفازی یک مکانیسم حیاتی است که نه تنها به حفظ هموستاز و سلامت سلول‌ها کمک می‌کند، بلکه نقش مهمی در کنترل التهاب دارد. اختلال در این فرآیند می‌تواند منجر به بروز بیماری‌های مختلف شود (۳۰). مطالعه‌ای توسط Xia و همکاران نشان داده است که اتوفازی در سلول‌های B ریوی مدل حیوانی آسم افزایش می‌یابد و اینترلوکین-۴ (IL-4) باعث القای اتوفازی در سلول‌های B و افزایش عرضه آنتی‌ژن توسط سلول‌های B می‌شود (۳۱). اتوفازی همچنین به روش‌های مختلف بر پاسخ‌های سلول‌های T تأثیر می‌گذارد (۳۰). همچنین نقص در اتوفازی باعث افزایش عملکرد ائوزینوفیل‌ها می‌شود؛ ازاین‌رو، مهار اتوفازی در بیماری‌های ائوزینوفیلیک التهابی مزمن برای این شرایط مضر است (۳۲). اتوفازی همچنین در تنظیم بیان پروتئین‌های دخیل در اتصال محکم در سلول‌های اپیتلیال و عبور آلرژن‌ها از سد اپیتلیال نقش دارد (۳۳). در مطالعه‌ای، McAlinden و همکاران نشان دادند که بیان Beclin-1 و ATG5 در اپیتلیوم آسمی و سلول‌های مژک‌دار افزایش یافته است. آن‌ها همچنین در مدل حیوانی آسم متوجه شدند که مهار اتوفازی علائم آسم از جمله التهاب راه‌های هوایی، پاسخ‌دهی بیش‌ازحد راه‌های هوایی و بازسازی راه‌های هوایی را بهبود می‌بخشد (۲۳). همچنین اپیتلیوم بینی بیماران مبتلابه رینیت آلرژیک، بیان سطوح بالایی از پروتئین‌های اتوفازی مانند Beclin-1 و LC3-II و همچنین افزایش تعداد اتوفازوزوم سلولی مشاهده شده

معنی‌دار علائم رینیت آلرژیک شده است و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. متأسفانه در مطالعه حاضر هیچ یافته‌ای از سرعت شروع اثر هر کدام از رژیم‌های درمانی در بهبود علائم جمع‌آوری نشده است. با این تفاسیر، با توجه به افزایش اتوفازی در رینیت و تأثیر اتوفازی بر سلول‌های دخیل در رینیت، از جمله ائوزینوفیل‌ها، سلول‌های B و بازسازی راه‌های هوایی، می‌توان نتیجه گرفت که درمان‌هایی با کاهش اتوفازی ممکن است در کنترل بیماری مؤثرتر باشند.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، مطالعه حاضر نشان داد که ترکیب دارویی فلوتیکازون پروپیونات و فکسونادین در مقایسه با بودسوناید و فکسونادین به‌طور معنی‌داری در کاهش بیان ژن‌های مربوط به اتوفازی مؤثر است. بعلاوه نتایج ما نشان داد که هر دو رژیم‌درمانی در کاهش علائم رینیت آلرژیک موفق بودند. باین‌وجود، در ارتباط با اتوفازی و آلرژی تحقیقات بیشتری برای روشن کردن نقش دقیق اتوفازی در رینیت آلرژیک و بررسی استراتژی‌های درمانی بالقوه مؤثر در تنظیم و تعدیل آن ضروری است.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در قالب طرح تحقیقاتی و با مساعدت‌های مالی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در دانشکده پزشکی با کد اخلاق (IR.KUMS.REC.1399.353) و شماره طرح ۹۹۰۳۱۲ انجام شده است که بدین‌وسیله از آن‌ها قدردانی می‌شود. هیچ‌کدام از نویسندگان این مطالعه، تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

داده‌اند که گلوکوکورتیکوئیدهایی مانند فلوتیکازون بیان ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با اتوفازی، مانند LC3-II که برای تشکیل اتوفازگوزوم‌ها ضروری است را کاهش می‌دهند (۳۷). یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن‌های اتوفازی شامل LC3, Beclin-1, ATG5, ATG16 و VMP1 در بیماران درمان شده با فلوتیکازون پروپیونات و فکسونادین در مقایسه با بیماران درمان شده با بودسوناید و فکسونادین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است.

مقایسه بین فلوتیکازون پروپیونات و بودسوناید برای درمان رینیت آلرژیک خفیف تا متوسط نشان داده است که فلوتیکازون پروپیونات به‌طور قابل‌توجهی در کاهش علائمی مانند عطسه و خارش بینی مؤثرتر از بودسوناید است. همچنین این دارو توانایی بالاتری در کاهش شمار ائوزینوفیل‌ها- که نشان‌دهنده التهاب مرتبط با واکنش‌های آلرژیک است- نشان داده است. فلوتیکازون شروع اثر سریع‌تری نسبت به بودسوناید داشته و برای بیمارانی که علائم حاد را تجربه می‌کنند، تسکین زودتری فراهم می‌کند (۳۸). برخی نیز نشان داده‌اند که بودسوناید ممکن است به‌ویژه در تسکین انسداد بینی نسبت به فلوتیکازون مؤثرتر باشد. مطالعه دیگری نیز پیشنهاد کرده است که بودسوناید می‌تواند کنترل بهتری بر علائم رینیت آلرژیک دائمی نسبت به فلوتیکازون ارائه دهد، به‌ویژه از نظر انسداد بینی، با بهبودهای قابل‌توجهی که در عرض ۳۶ ساعت پس از تجویز مشاهده شد (۳۹). در مطالعه دیگری هیچ تفاوت معنی‌داری در اثربخشی بودسوناید و فلوتیکازون وجود نداشت. باین‌حال، در مقایسه با فلوتیکازون، بهبود کیفیت زندگی در دریافت‌کنندگان بودسوناید بیشتر بود (۴۰). در مطالعه حاضر، یافته‌ها نشان داد که هر دو رژیم‌درمانی باعث کاهش

منابع

- 1.Meltzer EO. Allergic Rhinitis: Burden of Illness, Quality of Life, Comorbidities, and Control. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36(2):235-48.
- 2.Falahi S, Salari F, Rezaeiemanesh A, Mortazavi SH, Koohyanizadeh F, Lotfi R, et al. Association of interleukin-12B rs6887695 with susceptibility to allergic rhinitis. *Immunol Res.* 2021;69(2):189-95.

3. Bernstein DI, Schwartz G, Bernstein JA. Allergic Rhinitis: Mechanisms and Treatment. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2016;36(2):261-78.
4. Chen ZY, Zhou SH, Zhou QF, Tang HB. Inflammation and airway remodeling of the lung in guinea pigs with allergic rhinitis. *Exp Ther Med.* 2017;14(4):3485-90.
5. Bousquet J, Khailaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy.* 2008;63 Suppl 86(8-160).
6. Brożek JL, Bousquet J, Agache I, Agarwal A, Bachert C, Bosnic-Anticevich S, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines-2016 revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(4):950-8.
7. Brozek JL, Bousquet J, Baena-Cagnani CE, Bonini S, Canonica GW, Casale TB, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(3):466-76.
8. Meltzer EO, LaForce C, Ratner P, Price D, Ginsberg D, Carr W. MP29-02 (a novel intranasal formulation of azelastine hydrochloride and fluticasone propionate) in the treatment of seasonal allergic rhinitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of efficacy and safety. *Allergy Asthma Proc.* 2012;33(4):324-32.
9. Boya P, Reggiori F, Codogno P. Emerging regulation and functions of autophagy. *Nat Cell Biol.* 2013;15(7):713-20.
10. Xie W, Zhou J. Aberrant regulation of autophagy in mammalian diseases. *Biol Lett.* 2018;14(1)
11. Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease. *N Engl J Med.* 2013;368(7):651-62.
12. Dikic I, Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2018;19(6):349-64.
13. Khan S, Bhat ZR, Jena G. Role of autophagy and histone deacetylases in diabetic nephropathy: Current status and future perspectives. *Genes Dis.* 2016;3(3):211-9.
14. Molejon MI, Ropolo A, Re AL, Boggio V, Vaccaro MI. The VMP1-Beclin 1 interaction regulates autophagy induction. *Sci Rep.* 2013;3(1055).
15. Shibutani ST, Saitoh T, Nowag H, Münz C, Yoshimori T. Autophagy and autophagy-related proteins in the immune system. *Nat Immunol.* 2015;16(10):1014-24.
16. Wu DJ, Adamopoulos IE. Autophagy and autoimmunity. *Clin Immunol.* 2017;176(55-62).
17. Martin LJ, Gupta J, Jyothula SS, Butsch Kovacic M, Biagini Myers JM, Patterson TL, et al. Functional variant in the autophagy-related 5 gene promoter is associated with childhood asthma. *PLoS One.* 2012;7(4):e33454.
18. Poon AH, Chouiali F, Tse SM, Litonjua AA, Hussain SNA, Baglolle CJ, et al. Genetic and histologic evidence for autophagy in asthma pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(2):569-71.
19. Li J, Li Y. Autophagy is involved in allergic rhinitis by inducing airway remodeling. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2019;9(11):1346-51.
20. Racanelli AC, Kikkers SA, Choi AM, Cloonan SM. Autophagy and inflammation in chronic respiratory disease. *Autophagy.* 2018;14(2):221-32.
21. Bousquet J, Vignola AM, Demoly P. Links between rhinitis and asthma. *Allergy.* 2003;58(8):691-706.
22. Watelet J-B, Van Zele T, Gjomarkaj M, Canonica GW, Dahlen S-E, Fokkens W, et al. Tissue remodelling in upper airways: where is the link with lower airway remodelling? *Allergy.* 2006;61(11):1249-58.

23. McAlinden KD, Deshpande DA, Ghavami S, Xenaki D, Sohal SS, Oliver BG, et al. Autophagy Activation in Asthma Airways Remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2019;60(5):541-53.
24. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(9):e45.
25. Jahangiri S, Lotfi R, Mortazavi SH, Gorgin karaji A, Rezaïemanesh A, Rashidpour H, et al. Decreased Gene Expression of Lipoxin A4 Receptor May Contribute to Nonallergic Rhinitis Pathogenesis. *Res Mol Med (RMM)*. 2021;9(3):155-62.
26. Liu Y, Ye XJ, Zhao CL, Ji Q. [The effect of combined therapy on seasonal allergic rhinitis]. *Lin Chung Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi*. 2016;30(13):1049-52.
27. Chalubinski M, Grzegorzczak J, Kowalski ML. Glucocorticoid-induced immunoglobulin E synthesis by peripheral blood mononuclear cells from allergic and nonallergic subjects. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;107(3):251-7.
28. Egger C, Lupinek C, Ristl R, Lemell P, Horak F, Ziegelmayer P, et al. Effects of nasal corticosteroids on boosts of systemic allergen-specific IgE production induced by nasal allergen exposure. *PLoS One*. 2015;10(2):e0114991.
29. Liu X, Xing Z, Gao Z. [The effect of antianaphylaxis drugs on specific IgE and eosinophil in serum of patients with allergic rhinitis]. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 2005;19(8):337-9.
30. Botbol Y, Guerrero-Ros I, Macian F. Key roles of autophagy in regulating T-cell function. *European Journal of Immunology*. 2016;46(6):1326-34.
31. Xia F, Deng C, Jiang Y, Qu Y, Deng J, Cai Z, et al. IL4 (interleukin 4) induces autophagy in B cells leading to exacerbated asthma. *Autophagy*. 2018;14(3):450-64.
32. Germic N, Hosseini A, Yousefi S, Karaulov A, Simon HU. Regulation of eosinophil functions by autophagy. *Semin Immunopathol*. 2021
33. Nighot P, Ma T. Role of autophagy in the regulation of epithelial cell junctions. *Tissue Barriers*. 2016;4(3):e1171284.
34. Maneechotesuwan K, Kasetsinsombat K, Wongkajornsilp A, Barnes PJ. Role of autophagy in regulating interleukin-10 and the responses to corticosteroids and statins in asthma. *Clin Exp Allergy*. 2021;51(12):1553-65.
35. Ma Z, Tang X, Gao Y, Wang H, Yu P, Liu R. Combined Extracts of *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* with Budesonide Attenuate Airway Remodeling in the Asthmatic Rats by Regulating Apoptosis and Autophagy. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2020;2020(2319409).
36. Trybus E, Krol G, Obarzanowski T, Trybus W, Kopacz-Bednarska A, Obarzanowski M, et al. In vivo and in vitro studies on multidirectional mechanism of anti-allergic activity of budesonide. *J Physiol Pharmacol*. 2017;68(6):907-19.
37. Wang J, Wang R, Wang H, Yang X, Yang J, Xiong W, et al. Glucocorticoids Suppress Antimicrobial Autophagy and Nitric Oxide Production and Facilitate Mycobacterial Survival in Macrophages. *Sci Rep*. 2017;7(1):982.
38. Shankari PK, Suresh S, Begum RF. Efficacy of intranasal fluticasone propionate and budesonide in management of allergic rhinitis—a prospective comparative study. *Egypt J Otolaryngol*. 2021;37(1):123.
39. Day J, Carrillo T. Comparison of the efficacy of budesonide and fluticasone propionate aqueous nasal spray for once daily treatment of perennial allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102(6 Pt 1):902-8.

40. Ciprandi G, Canonica WG, Grosclaude M, Ostinelli J, Brazzola GG, Bousquet J. Effects of budesonide and fluticasone propionate in a placebo-controlled study on symptoms and quality of life in seasonal allergic rhinitis. *Allergy*. 2002;57(7):586-91.