T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DENEYSEL ALLERJİK KONJONKTİVİT MODELİNDE BCG'NİN ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİ

DR. İDİL GÖKSEL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ.DR. UFUK ADIGÜZEL

Mersin–2013

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DENEYSEL ALLERJİK KONJONKTİVİT MODELİNDE BCG'NİN ÖNLEYİCİ VE TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİ

DR. İDİL GÖKSEL

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ.DR. UFUK ADIGÜZEL

Bu tez, BAP –TF CTB (İG) 2012-5 TU kodlu proje olarak Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir

Mersin–2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimin her aşamasında yanımda olan, tüm bilgi birikimini iyi yetişmem için paylaşan, tez çalışmam sırasında elinden gelen destek ve katkıları esirgemeyen, tez danışmanım, Sayın Hocam **Doç.Dr.Ufuk ADIGÜZEL**'e ;

Uzmanlık eğitimim boyunca, mesleki ve akademik alanda yetişmemde emeği geçen, benden sonsuz hoşgörü ve desteğini esirgemeyen, cerrahi bilgi, akademik birikimlerini hiç çekinmeden paylaşan, gerek meslek hayatımda, gerekse sosyal yaşantımda hep yanımda olan Sayın Hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız **Prof.Dr. Özlem YILDIRIM, Doç.Dr. Ayça YILMAZ, Doç.Dr. Ayça SARI** ve **Doç.Dr. Atila ARGIN**'a sonsuz teşekkür ve şükran borçluyum.

Sürekli yanımda olan, beni anlayan, anlamaya çalışan, birlikte çalışmaktan hep keyif aldığım, iyi ve kötü günlerimi paylaşan, çalışma arkadaşlarım Dr. Sevda Ertekin, Dr. Cem Sundu, Dr. Nurgül Kuş, Dr. Mustafa Vatansever, Dr. Tamer Metin, Dr. Hüseyin Coşar, Dr. Gökhan İçme, Dr. Gökhan Özkan, Dr. Görkem Markirt ve Dr. Merve Bozkurt'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimime başladığımda yanımda olup, bana yol gösteren, tez çalışmamda bilgi, beceri ve tecrübelerini benden esirgemeyen, abilerim Uzm.Dr. Erdem Dinç ve Uzm.Dr. Umutcan Kurtuluş'a, yine beraber yaklaşık üç yıl geçirdikten sonra kendileri uzman olan, ancak her daim yanımda hissettiğim, sevgilerini, hoşgörülerini, desteklerini üzerimden çekmeyen ablalarım Uzm.Dr.Tülin Kervancı İsmi ve Uzm.Dr. Gülsüm Erkayhan'a teşekkür ederim.

Tezimin histolojik değerlendirmesini yapan Prof.Dr.Banu COŞKUN YILMAZ, Arş.Gör.Dr. Derya YETKİN, tezimin biyokimyasal analizini yapan Uz.Dr. Lokman AYAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Büyük emekler ve fedakarlıklarla beni bugünlere getiren, üzerimden elini, desteğini hiç çekmeyen, iyi ve kötü günlerimde hep yanımda olan, motivasyon kaynağım annem **Aysel GÖKSEL**'e ve gizli kahramanım rahmetli babam **M. Orhan GÖKSEL**'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aranızda olmaktan dolayı ilk başladığım günden beri aşırı mutlu ve gururlu olan ben, şimdi aranızdan ayrılıyor olmaktan dolayı bir o kadar üzgünüm. Tekrar emeği geçen herkese sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	**5**
İNGİLİZCE ÖZET	**7**
GİRİŞ ve AMAÇ	**8**
GENEL BİLGİLER	**10**
Genel İmmünoloji	**10**
İmmünitenin Tipleri	**11**
Lenfoid Organlar	**11**
Lenfoid Hücreler	**12**
T Lenfositler	**12**
CD4 T Hücreleri (T hepler)	**13**
CD8 T Hücreleri (T sitotoksik)	**14**
Süpresör ve Regülatör T Hücreleri	**14**
Bellek T Hücreleri	**14**
B Lenfositler	**14**
Plazma Hücresi	**15**
Bellek Hücresi	**15**
Doğal Öldürücü Hücre(Natural Killer)	**16**
Mononükleer Fagositer Sistem	16
Makrofaj ve Monositler	**16**
Polimorfonükleer Granulositler	**17**
Nötrofiller	**17**
Bazofiller ve Mast Hücreleri	**18**
Eozinofiller	**18**
Sitokinler	18
İmmün Tolerans	20
Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları	21
Tip 1 Aşırı Duyarlılık	21
Tip 2 Aşırı Duyarlılık	22
Tip 3 Aşırı Duyarlılık	22
Tip 4 Aşırı Duyarlılık	22

Okuler İmmünoloji 23
Göze Özgül Bağışıklığın Özellikleri 23
Konjonktiva İmmünolojisi 25
Allerjinin Patofizyolojisi 26
Allerjik Rinokonjonktivit (SAC/PAC) 26
Vernal Keratokonjonktivit 27
Atopik Keratokonjonktivit 28
Dev Papiller Konjonktivit 28
Kontakt Oküler Allerji 29
Allerji Konjonktivitlerde Tanı 29
Tedavi 30
Hijyen Hipotezi 33
Th-1/ Th-2 Dengesi 34
Mikobakteriler ve Allerjik Hastalıklar 34
GEREÇ ve YÖNTEMLER 36
BULGULAR **41**
TARTIŞMA **52**
SONUÇ ve ÖNERİLER **58**
KAYNAKLAR **59**
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ **68**
ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ **70**
TABLOLAR DİZİNİ **71**

ÖZET

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde allerjik hastalıkların sıklığında artış izlenmektedir. Allerjik hastalıkların bu şekildeki artışı yalnızca çevresel faktörler, genetik faktörler ya da tanısal gelişmelerle açıklanamamaktadır. Bu çalışmanın amacı deneysel allerjik konjonktivit modelinde BCG'nin koruyucu ve tedavi edici etkinliğini değerlendirmektir.

32 adet, 8 haftalık, dişi, Balb/c fare, 4 gruba ayrıldı. Duyarlılaştırma icin, sıfırıncı, yedinci ve ondördüncü günlerde grup 2,3 ve 4'deki farelere, 200 µg /ml ovalbumin (OVA) ve 20 mg/ml aliminyum hidroksit ($Al(OH)_3$) karışımının 0.2 ml'lik solusyonu, grup 1'deki farelere ise sadece 0.1 ml $Al(OH)_3$ intraperitoneal olarak enjekte edildi. Grup III'de yer alan hayvanlara, ilk IP $Al(OH)_3$+OVA enjeksiyonundan 1 hafta önce BCG SC, grup IV'de yer alan hayvanlara ise, deney protokolünün bitiminden 1 hafta sonra BCG SC olarak enjekte edildi. Antijenik uyarım için grup 2,3,4'deki farelerin gözlerine topikal OVA solusyonu (5mg/ml) 17-21. günlerde uygulandı. Grup 1'deki farelerin gözlerine ise 17-21. günlerde topikal fosfatla tamponlanmış salin (PBS) damlatıldı. Çalışma sırasında ortaya çıkan klinik bulgular skorlanarak kaydedildi. Deney protokolünün bitiminde intrakardiak 1 ml kan alındı ve OVA spesifik IgE ölçümü yapıldı. Histopatolojik inceleme icin eksize edilen göz kureleri, göz kapakları ve konjonktivaları, doku laboratuvarının olağan akışına uygun olarak hazırlandı. İnflamatuar hücre sayımları ve immünhistokimyasal sitokin boyamaları yapıldı.

Grup 2'de klinik bulgular kontrol grubuna göre anlamlıydı ($p<0.05$). OVA spesifik IgE grup 2,3 ve 4'de pozitif iken kontrol grubunda negatif idi. İnterlökin (IL) 4, 5, 6 ve 10 boyanma skoru grup 2 ve 4'de kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0.05$). Grup 3'de IL-2, IL-12 ve interferon gama boyanma skoru kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0.05$). Eozinofil ve mast hücre sayısı grup 3'de grup 2'ye göre anlamlı olarak düşüktü ($p<0.05$). Çalışmamızın sonucunda allerjik sensitizasyondan önce uygulanan BCG'nin duyarlılanmayı engelleyebileceğini ancak sensitizasyon sonrası uygulamanın tedavi edici bir etkinliğinin olmadığını gördük.

Anahtar kelimeler: BCG, Deneysel allerjik konjonktivit, Hijyen hipotezi, Ovalbumin.

ABSTRACT

The Therapeutic And Preventative Efficacy Of BCG On Allergic Sensitization İn An Experimental Allergic Conjunctivitis Model

An increase in incidence of allergic diseases among developed countries is seen in the last years. This increase of allergic diseases can not be explained by only genetical factors or advance in diagnostic tools. The aim of this study is to evaluate the therapeutic and preventative efficacy of BCG on allergic sensitization in an experimental allergic conjunctivitis model.

Totally 32, 8 week old, female, Balb/c Mice are seperated to 4 groups. For sensitization, on days zero, seven and fourteen 0,2 ml solution of 200µg ovalbumin(OVA) and 20 mg/ml aliminum hydroxide (Al(OH)3) mixture was administered intraperitoneally to mice in group 2, 3 and 4 and to the mice in group 1 (control group), only Al(OH)3 is injected. To the animals in group III one week before first IP Al(OH)3+OVA injection, BCG is injected subcutaneously. To the animals in group IV, 1 week after the end of experiment protocol, BCG is injected subcutaneously. For antigenic stimulation topical OVA solution(5 mg/ml) is applied to eyes of mice in group 2,3 and topical Phosphate Balanced Salt Solution (PBS) is put in eyes of mice in group 1 on days 17 to 21. Clinical findings were evaluated and scored datas. After the ending of experimental protocol; intracardiac 1ml blood sample is taken from each animal and OVA specific IgE measurement was undertaken. For the histological examination eye globs, eyelids, conjunctivas were removed and prepared suitable for tissue laboratory. Inflammatory cells were counted and cytokines were evaluated by immunohistochemical staning.

Especially in the allergy group (grup 2) cilinical findings were statistically more than control group (group 1). OVA specific IgE levels were measured. The results were positive in group 2,3 and 4; negative in group 1. In the immunohistochemical analysis; both group 2 and group 4; IL-4, IL-5, IL-6 and IL 10 levels were significantly increased when compared to control group. In the group 3; IL-2, IL-12 and IFN-gamma levels were significantly higher than control group. Eosinophil and mast cell counts were also significantly lower in group 3

than the allergy group. Our results showed that previous application of BCG before induction of allergy, suppresses allergic sensitization clinically, biochemically and immunohistochemically. But the application of BCG after the end of experiment protocol does not have a therapeutic efficacy.

Key words: BCG, Experimental allergic conjunctivitis, Hygiene hypothesis, Ovalbumin.

GİRİŞ VE AMAÇ

Allerjik hastalıkların sık görüldüğü organlardan birisi göz olup gözdeki allerjik reaksiyonlar tek başına olabileceği gibi sistemik bir hastalığa da eşlik edebilmektedir. Allerjik konjonktivit ile ilgili değişik sınıflamalar mevcut olsa da genel olarak altı alt grubu olduğu kabul edilmektedir: mevsimsel allerjik konjonktivit, perennial alerjik konjonktivit, vernal keratokonjonktivit, atopik keratokonjonktivit, kontakt konjonktivit, dev papiller konjonktivit[1]. Oküler allerjilerin ortaya çıkışındaki en önemli rolü mast hücreleri, eozinofiller, immunglobulin E (IgE) aracılı hipersensitivite reaksiyonu ve Th-2 hücreleri oynamaktadır. Bununla birlikte Tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonu da olaya katılmakta ve fizyopatoloji daha kompleks bir hal almaktadır.

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde allerjik hastalıkların sıklığında artış izlenmektedir[2]. Yapılan bir çalışmada allerjik rinit ve/veya allerjik konjonktivit sıklığı %18 olarak bildirilmiştir[3]. Allerjik hastalıkların bu şekildeki artışı yalnızca genetik faktörler ya da tanısal gelişmelerle açıklanamamaktadır. Çevresel faktörlerin ve özellikle de batılılaşmış yaşam biçiminin bu artış da önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir[4]. Strachan'a göre son yüzyıl sürecindeki aile yapısının küçülmesi, ev içi konforun artışı, kişisel temizlik standartlarının yükselmesi aile içi genç bireyler arasındaki çapraz enfeksiyon riskini azaltmıştır[5]. Hijyen hipotezi olarak adlandırılan bu durum ilgileri Th-1 ve Th-2 hücreleri ile bu hücreler arasındaki dengeye çekmiştir. Bilindiği üzere Th-1 hücreleri mikrobiyal yanıtta rol oynamakta bununla birlikte Th-2 hücreleri allerjik reaksiyonlarda etkinlik göstermektedir. İki hücre grubu arasında bir denge mevcut olup bu hipoteze göre yaşamın erken döneminde mikrobik uyarılara maruz kalınması baskın olarak Th-1 yanıtı oluşturmakta bu durum ise gelecek yıllarda bireyi atopik hastalıkların gelişimine karşı korumaktadır. Ancak yeterli mikrobik uyarana maruz kalınmazsa ilerleyen yıllarda bireyde allerjik/atopik hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda allerjik konjonktivit fizyopatolojisinde de Th-1 ve Th-2 arasındaki denge önem taşımaktadır. Özellikle kronik allerjik göz hastalıklarında interlökin-4 ile 5 düzeyi yüksek bulunmuş ve Th-2 hücre yanıtının predominant olduğu öne sürülmüştür[6].

Yapılan çeşitli çalışmalarda mikobakterilerin Th-1 yanıtını uyardığı ancak bazı sitokinler aracılığıyla Th-2 yanıtını baskıladığı gösterilmiştir[7]. Özellikle deneysel astım modellerinde mikobakteri antijenleri ile yapılan uyarıların histopatolojik değişikliklerde gerilemeye neden olduğu saptanmıştır[8]. Literatür incelendiğinde tüm bu çalışmaların yanında mikobakteriyel antijenlerin allerjik konjonktivit gelişimindeki etkinliği değerlendirilmemiştir.

Bu çalışmanın amacı deneysel allerjiik konjonktivit modelinde BCG'nin sensitizasyon üzerindeki etkinliğinin değerlendirilmesidir. Bu çalışma sonucunda mikobakterilerin allerjik konjonktivit gelişimindeki etkinliği ortaya konacak, olumlu sonuçlar alınması halinde çalışmalar klinik uygulamaya yansıtılabilecektir. Böylelikle özellikle tedavisinde çok güçlükler çekilen, başta vernal konjonktivit olmak üzere alerjik göz hastalıklarında immünoterapi uygulanması gündeme gelecektir.

GENEL BİLGİLER

Genel İmmünoloji:

"İmmün" Latince kökenli bir deyim olup, eski Roma'da vergiden ve askerlikten muaf (bağışlanmış) olanlar için kullanılan "immunis" kelimesinden türemiştir. Benzer biçimde, kişilerde bazı hastalıklara karşı bir bağışıklık kazanılabileceği ve bu suretle hasta olmaksızın bu hastalıklardan hatta belki yaşam boyu artık bağışlanmış kalınabileceği eskiden beri bilinmektedir. Bu bağışıklık haline immünite denmektedir. İmmünoloji, bu bağışıklığın nasıl oluştuğunu biyolojik ve klinik sonuçları ile birlikte inceleyen bilim dalıdır[9].

İmmünite kavramının tarihçesi yüzyıllar öncesine dayanır. İnsanların bu alandaki ilkel gözlemleri hayli eski olmakla birlikte, immünolojinin yazılı tarihçesinin 1796'da Jenner'in çiçek aşısını uygulamaya koyması ile başladığı söylenebilir. Çiçek ve diğer enfeksiyonlara karşı önleyici immünizasyonun günümüz metodları ise, büyük oranda Louis Pasteur'ün hastalıkların mikrobiyal olduğu teorisi ve aşı üretimindeki gayretleri ile ortaya çıkmıştır. Robert Koch ise enfeksiyöz hastalıkların bakteriyel etiyolojilerini araştırırken tüberkül basilini keşfetmiş ve 1880 senesine tüberküloz aşısı üzerinde çalışırken hipersensitivite fenomenini gözlemlemiştir. 20. yüzyılın başlarında ise iki ayrı immünolojik teori geliştirilmiştir. Paul Ehrlich tarafından öne sürülen "Hümoral Teori" biyokimyasal ürünlerin veya belirli hücreler tarafından üretilen antikorların önemini vurgularken; Metchnikoff "Selüler İmmünite" teorisinde yabancı maddelere karşı konağın hücresel cevabı üzerinde durmuş, dolaşan fagositlerin vücudun primer savunma mekanizması olduğunu ileri sürmüştür. Günümüzde kabul gören düşünceler biraz farklılık gösterse de temel olarak her iki teori de doğrudur ve her iki mekanizma da birbirleri ile etkileşerek vücudun iki ana savunma mekanizmasını oluştururlar[10,11].

İmmünitenin Tipleri:

İmmün sistem, doğal (innate) ve kazanılmış (spesifik-adaptif) olarak ayrılan iki kısımda incelenebilen bir savunma sistemidir.

Doğal immünite, bir patojenle karşılaşınca ilk cevabı doğumdan itibaren oluşturabilen, genetik olarak belirlenmiş immün özellikleri içeren ve konağın

kendisine ait olan ve olmayan antijenik yapıyı tanıma kapasitesine sahip olan savunma sistemi olup belirli bir patojen için selektivite göstermez ve birey bazı mikroorganizmaları tanıma ve yoketme özelliklerine doğuştan itibaren sahiptir. Hücresel elemanlar polimorfonükleer lökositler (PMNL), monosit, makrofaj, eozinofil, mast hücre ve bazofiller, çözünür faktörler ise sitokinler, akut faz reaktanları ve özellikle en önemli faktörlerden biri olan kompleman sisteminden oluşur[12]. Doğal direnç mekanizmaları; anatomik ve fizyolojik bariyerler, kimyasal ve biyolojik faktörler, dalağın fonksiyonu, yaş, beslenme, ateş ve akut faz reaktanları, ırk ve genetik etki, bakteriyel interferens ve interferon, infeksiyonlara doğal duyarsızlık, oral tolerans, fagositler ve doğal öldürücü (NK) hücreler, fagositoz ve enflamasyondur[9] .

Kazanılmış immünite ise, belirli bir antijene özgün olup, antijenle tekrarlayan karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü cevap oluşturma gibi üstünlüklere sahiptir. Bu olaya antikor ve T lenfositleri aracılık eder ve sorumlu hücreler özgül bir antijen için uzun vadeli belleğe sahiptir. Bu savunma, organizmanın patojene primer veya sekonder yanıtına göre humoral veya selüler düzeyde olabilir. Hücre aracılı (selüler) yanıt esas olarak T lenfositlerden kurulu iken antikor aracılı (hümoral) bağışıklık B lenfositlerden ve plazma hücrelerinden kuruludur[13]. Kazanılmış immünite, iki şekilde sağlanır. Aktif immünizasyon**,** hastalık etkeninin doğrudan alınması (doğal infeksiyon) veya bu etkenin zararsız hale getirilmesinden sonra konağa verilmesiyle (aşılama) kazanılır. Pasif immünizasyon ise anneden bebeğe geçen bağışıklık dışında, belirli bir antijene karşı hiperimmün kılınmış başka konaktan (at) alınan immün serumun veya immünoglobülinlerin korunmak istenilen kişiye verilmesiyle kazandırılır[9,10].

Lenfoid Organlar

Lenfoid organlar santral ve periferik olmak üzere ikiye ayrılır. Santral (Primer) organlar, yeni lenfositlerin antijene bağımlı olmaksızın otonom olarak yapıldıkları ve immün tepki oluşturma yeteneği kazandıkları yerlerdir. İnsanda santral lenfoid organlar kemik iliği ve timustur. Periferik (Sekonder) lenfoid dokular ise, lenfositlerin antijenik uyaranlarla reaksiyona girdikleri yerler olup dalak ve lenf nodülleri gibi sistemik lenfoid organlar ile gastrointestinal sistem, repiratuar sistem, genitoüriner sistem, konjonktiva gibi mukozal yüzeylerle ilişkili

hep beraber mukozal immün sistemi yapacak şekilde, mukozal bağlantılı lenfoid dokular (MALT) 'dan oluşur[11,14].

Lenfoid Hücreler

İmmün sistemin fonksiyonları, tüm vücuda dağılmış olmakla birlikte esas olarak timus, lenf nodülleri ve dalakta bulunan hücrelerin oluşturdukları lenforetiküler sistem tarafından yürütülür. Bu sistemin en önemli komponenti olan lenfoid hücreler, lenfositler ve plazma hücrelerinden oluşmaktadır. Plazma hücreleri, antijen veya yabancı cisimlere karşı reaksiyon oluşturan protein yapıdaki antikorların üretiminden sorumlu iken, lenfositlerin antijene özgün tepki gösterme ve sonuçta bazı hücresel ürünler oluşturma yeteneği vardır[10] .

T Lenfositler

T- Hücreleri, doğrudan antikora bağımlı olmayan, hücrelerin yönettiği ve katıldığı kazanılmış immuniteden sorumlu hücrelerdir. Bu hücreler pek çok değişik tipte immunolojik reaksiyon yürütürler. Bunlar arasında pek çok virüs, bakteri ve mantara karşı olan immün reaksiyonlar, kontakt alerji, greft ve tümör reddi ve bazı otoimmün hastalıklar sayılabilir[10].

T-Hücreleri timusta gelişirler ve bir seri reaksiyon sonrası uzman (immünkompetan) T hücrelerine farklılaşırlar. Başlangıçta yüzey antijen reseptörleri ve antijenleri bulunmayan bu kök hücreleri, bu farklılaşma sırasında onları karakterize eden ve "Cluster of Differentiation" sözcüklerinin baş harflerinden oluşan, CD olarak ifade edilen, glikoprotein tabiatında birtakım yüzey antijenleri (yüzey markerleri) kazanırlar[9] .

T hücreleri küçük lenfositlerin tekrar tekrar dolaşan havuzunun %65-80'ini oluşturur. T hücrelerinin yaşam süresi uzun olup aylar veya yıllar sürer. T Hücrelerinde yüzey immunoglobulinleri bulunmaz. Onun yerine ileri derecede özgül etkileşim gösteren T hücre reseptörleri (TCR) taşırlar. Bağışık yanıtın oluşmasında antijenin T-hücrelere sunulması kadar, hücrenin bunu tanıması da önemlidir. Bu aşamada da T lenfositlerin üzerinde yer alan T-hücre reseptörleri (TCR) özel bir önem kazanmaktadır. Her T hücresinin kendi yüzeyinde bir antijene özgün T hücre reseptörü bulunmakta olup, antijen-TCR ilişkisinin kurulabilmesi için kabaca antijen sunan hücre (APC), bunun yüzeyinde yer alan büyük doku uyumu kompleksi (MHC), bir peptid yapıda antijen, CD4 veya CD8 molekülü ve TCR olmalıdır[13,15] .

T hücreleri düzenleyici ve efektör olarak adlandırılmış iki ana gruba ayrılabilen birçok önemli işleve sahiptir. Bunların düzenleyici işlevleri esas olarak, interlökinleri üreten CD4 (T-helper) hücreler aracılığı ile sağlanırken efektör işlevleri esas olarak virüsle enfekte hücreleri, tümör hücrelerini ve allogreftleri öldüren CD8 (sitotoksik) T hücreleri tarafından gerçekleştirilir[13].

CD4 hücreleri (T-Helper)

T Hücre grubunun %65'ini oluştururlar ve timus medullası, tonsiller ve kanda baskındırlar. Bu hücreler, özellikle IL2 (T hücre büyüme faktörü) olmak üzere ürettikleri çeşitli sitokinler vasıtası ile CD8 T hücrelerinin, etkinleşmiş sitotoksik T ve süpresör T hücrelerine dönüşmesine yardım eder. Yine makrofajların gecikmiş aşırı duyarlılık etkilerine yardım ederek diğer T-Hücrelerinin, monosit, makrofaj ve diğer bazı hücrelerin proliferasyon ve diferansiyasyonunu sağlayan ve sitokin denen çözünür maddeler oluştururlar.

CD4(+) T-helper hücreler, işlevsel özelliklerine göre iki temel gruba ayrılır. Th1 hücreler IL-2, IL-12 ve IFN-γ gibi sitokinler sentezlemekte, sitolitik aktivite göstebilmekte, B hücrelerini Ig G, Ig M, Ig A sentezlemesi yönünde uyarmakta ve daha çok hücre aracılı gecikmiş tip immün reaksiyonlarda görev almaktadır. Öte yandan Th2 lenfositler daha çok IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 salgılama yolu ile hücresel aracılı reaksiyonun baskılanmasında rol oynarlar fakat antikor aracılı immün cevapta ve alerjik reaksiyonlarda yer alırlar, sitolitik değildir, diğer Ig'lerin yanı sıra Ig E sentezini de aktive eder. Th1 lenfositlerinin daha çok pro-enflamatuar, Th2 lenfositlerinin ise daha çok anti-enflamatuar olduklarına dair görüş, her iki grubun da her iki çeşit sitokini üretebilmesi ve bir sitokinin duruma göre farklı roller oynayabilmesinden dolayı bugün terkedilmiştir. Ek olarak tanımlanmış olan bir diğer grup Th3 lenfositler ise antienflamatuar TGF-β sentezleyerek regulasyonda görev alırlar[16,17].

CD8 hücreleri (T-Sitotoksik)

Sitotoksik T lenfositleri, insan kemik iliği ve barsak lenfoid dokusunda baskın olup periferdeki T hücrelerinin yaklaşık %35'inin oluşturur. Bu hücreler, virus, bakteri ve parazit ile enfekte hücreler, tümör hücreleri, doku ve organ transplant hücreleri gibi organizmaya zararlı veya yabancı hücrelere doğrudan saldırıp öldürerek sitotoksik işlev görür. Allogreft reaksiyonlarında yer alır[9].

Süpresör / Regülatör T-Hücreleri

Süpresör veya regülatör (düzenleyici) T hücreleri, sitotoksik ve T-Helper hücre etkinliğini baskılayarak immün reaksiyonların aşırıya kaçmasına izin vermezler, geç duyarlılık reaksiyonlarını ve antikor yapımını inhibe ederler. Bu hücreler, immün toleransın sürdürülmesinde ve böylece aşırı immün tepkinin ve belki de otoimmünitenin önlenmesinde önemli rol oynarlar[10]. Eldeki kanıtlar bazı hallerde CD8 hücrelerin baskılama yapabildiğini fakat CD4 hücreler tarafından üretilen inhibitör lenfokinlerin de bu rolü oynayabildiğini göstermektedir[13].

Bellek T-Hücreleri

Bellek T hücreleri adlarının da işaret ettiği, gibi ile özgül bir antijen ile ilk karşılaşmadan yıllar sonra tekrar karşılaşıldığında buna ani ve şiddetli yanıt verilmesini sağlayarak konak savunmasına katkıda bulunur. Bellek hücreleri yıllarca yaşar veya kendi kendine üreme yeteneğine sahiptir. Etkinleştirilmiş bellek hücreleri ilk kez etkinleşen T hücrelerine göre daha küçük miktarda antijen ile etkinleşip çok daha büyük miktarda interlökin üretirler ve çok sayıda bellek hücresi üretildiğinden ikincil yanıt primer yanıta göre çok daha büyük olur[13]. İmmün denge için CD4/CD8 (endüktör-helper/sitotoksik-supresor) oranı büyük önem taşır. Çünkü bu hücreler birbirlerinin fonksiyonlarını negatif feed-back lerle kontrol ederek immün cevabın optimal düzeyde sürdürülmesini sağlarlar. CD4/CD8 = 1.7-2 olmalıdır[9].

B Lenfositler

B hücre öncülleri embriyogenez sırasında ilk kez fötal karaciğerde görülürken erişkin yaşam sırasında ana yerleşimleri olan kemik iliğine göç ederler[13]. B hücreleri dolaşıma tekrar tekrar giren küçük lenfosit havuzunun %30'unu oluşturur ve bunların yaşam süresi kısa, yani günler veya haftalardır. Lenf düğümleri içinde bunlar germinal merkezlere yerleşiktir, dalakta ise beyaz pulpada bulunurlar. Olgunlaşmış B hücreleri daha sonra mukozal immün sisteme (MALT) ait, peyer plakları gibi barsağa eşlenik lenfoid dokud (GALT), nazal lenfoid doku (NLT) , göze ait lenfoid doku (EALT), mezenterik lenf nodları, adenoid ve tonsiller bölgelere göç ederler[13,17].

B-Hücrelerinin yüzeylerinde antijen reseptörü gibi çalışan immunglobulinlerden başka, IgG'nin Fc parçası, kompleman, bazı viruslar, bazı hormonlar ve mitojenler için spesifik reseptörler ile T-Hücresi ve makrofaj faktörleri ve sitokinler için reseptörler ve MHC klas I ve klas II molekülleri ve B-

Hücrelerinin diğer özel antijenleri yer alır. CD19, CD 20 ve CD22 insan B hücrelerinde bulunan temel belirteçlerdir[9,14].

B-Hücreleri iki ana işleve sahiptir. Antijenik bir uyarı aldıkları zaman, aktive T hücreleri ve makrofajlardan salınan çoğalma ve farklılaşma faktörlerinin (interlökinler ve interferon) etkisi ile antikor üreten plazma hücrelerine dönerler. Ayrıca antijen sunan hücre (APC) olarak da fonksiyon gösterebilirler[10].

B hücrelerinin antikor üretmek üzere etkinleştirilmesi için, önce antijenin B hücrenin kendisi veya başka bir antijen sunan hücre tarafından sınıf II MHC ile eşlenik halde T hücresine sunulması, T hücre antijen reseptörü tarafından tanınması ve daha sonra T helper lenfositler tarafından B hücresinin üreme ve farklılaşmasını uyaracak IL-4 ve IL-5 üretilmesi gerekir. Dahası T ve B hücrelerinin yüzey proteinleri arasında iki etkileşim daha gereklidir. T hücresi üzerindeki CD28'in B hücresi üzerindeki B7 ile etkileşmesi zorunludur. T hücresi üstündeki CD40L'nin ise B hücresi üstündeki CD40 ile etkileşmesi zorunludur. Burada, T hücresinin IL-2 üretmesi için CD28-B7 etkileşmesi gerekirken Ig M'den diğer IG sınıflarına anahtar çevriminin görülmesi için CD40L-CD40 etkileşimi gereklidir. Sonuçta, belirli bir antijen için özgül büyük miktarda immunoglobulin üretecek çok sayıda plazma hücresi oluşur[13].

Plazma Hücresi

Bu hücreler uyaran antijene özgün immunoglobulin (antikor) sentezleyen hücrelerdir. Antijen bağlandıktan sonra, B hücresi üreme yönünden uyarılır ve bir hücre obası oluşur. Bu seçilmiş B hücreleri kısa süre sonra plazma hücreleri halini alarak antijen için özgül olan antikor salgılamaya başlarlar. Plazma hücreleri, seçilmiş B hücresinin taşıdığı ile tıpatıp aynı, aynı antijenik özgüllük gösteren immünoglobulinler üretir[13].

Bellek Hücresi

Plazma hücresine farklılaşmayan etkinleşmiş bir grup B-Hücresi özgün antijenik uyarıyı tanıyıp saklayan bellek hücresine dönüşürler. Bunlar istirahat halinde kalırlar ve aynı antijen ile yeniden karşılaştıklarında hızla etkinleşme eteneğine sahip olup süratle çoğalarak immün cevabın daha çabuk oluşmasını sağlar. Bu hücreler Ig M ve Ig D'den başka yüzeylerinde IgG ve IgA da taşırlar[9,13].

Doğal Öldürücü Hücreler (Naturel Killer)

NK hücreleri, bazı T hücre belirteçleri taşıyan lenfositler olmakla birlikte bunların olgunlaşma için timustan geçme zorunlulukları yoktur. İmmünolojik bellekleri yoktur ve T hücre reseptörleri taşımazlar. Mononükleer hücrelerin %5-10'unu oluştururlar. NK hücrelerde bulunan temel CD molekülleri CD 16 ve CD 56'dır[14]. Bu hücreler, doğal immünitenin bir komponenti olarak yabancı hücreleri önceden tanıyıp sensitize olmalarına veya MHC proteinleri ile birlikte sunumuna gerek bulunmaksızın çeşitli tümör veya enfekte hücrelere, sitotoksinler (perforinler ve granzimler) vasıtası ile doğrudan saldırıp yok ederler. Ayrıca Fas-Fas ligand aracılı apoptoza katılmak üzere de uzmanlaşmışlardır[10,13] .

Mononükleer Fagositoz Sistemi

Eski adı **"Retiküloendotelyal Sistem"** olan bu sistem, immün sistemin ikinci büyük hücre popülasyonu olup kemik iliğinden köken alırlar. Bu hücreler dolaşıma ilk girdiklerinde monosit olarak adlandırılırlar. Dokulara yerleştiklerinde ise makrofaj veya hisitiosit olarak bilinirler. Dendritik şekle sahip olanlar dalak ve lenf nodlarında bulunur. Bu hücreler hedef organa yerleştikten sonra yapısal değişikliğe uğrar, boyutları değişir ve doku içinde dendritik tarzda uzantıları olan nöron benzeri bir yapıya kavuşurlar. Dendritik hücrelerin bir alt grubu olan Epidermal Langerhans hücreleri ise deri, konjoktiva ve muköz zarlarda bulunurlar. Bu hücreler özellikle doku reddi ve kontakt alerjide önemli rol oynayan antijen sunan hücrelerdir[10,15].

Makrofajlar ve Monositler

Makrofaj ve monositler kemik iliğinden köken alan fagositik tabiattaki hücrelerdir[13] . Monositler lenfositlere göre daha büyük olup 10-18 mikrometre boyutundadır. Doku makrofajları kısmen büyük hücreler olup iyi gelişmiş endoplazmik retikuluma, ayrıca lizozomal granüllere ve iyi gelişmiş golgi aparatına sahiptir. Hücre içlerinde esteraz ve peroksidaz gibi enzim sistemleri içerirler[11,15]. Makrofajların immun sistem içinde üç önemli görevi vardır;

1. Fagositoz: Bakteri, virüs ve vücuda giren diğer yabancı tanecikleri yutup, hidrojen peroksit (H2O2) kullanarak öldürür. Yüzeylerinde immünoglobulinlerin Fc parçası ile etkileşen ve bu yolla opsonize edilmiş organizmaların yakalanmasını şiddetlendiren (ADCC) yüzey Fc reseptörlerinin yanı sıra kompleman C3b ile IL4, IFNγ, ve MİF gibi bazı sitokinler için de reseptörler bulunur[13,14].

2. Antijen sunumu: İmmün regulasyonda antijenik uyarıyı, antijen sunan hücre (APC) olarak T hücrelerine arzederek immun cevabın oluşmasına katkıda bulunur. Özellikle deride bulunan Langerhans hücreleri ile lenf nodları ve dalaktaki sekonder foliküller içinde yer alan foliküler dendritik hücreler bu görevi üstlenirler[14]. Bu görev sırasında, yabancı malzeme yutulup yıkıma uğratıldıktan sonra antijenik özellikler gösteren parçaları TCR ile etkileşmek üzere makrofajın hücre yüzeyindeki sınıf II MHC proteinleri ile birlikte sunulur[13,15]. Gözde antijen sunumundan sorumlu hücreler; Langerhans hücreleri, periferal korneada bulunan makrofajlar ile uvea ve retinada bulunan kemik iliği kökenli hücrelerdir[18,19].

3. Sitokin üretimi: Potansiyal sekretuar hücredir. Çeşitli sitokinler (makrokinler, monokinler) üretmekte olup bunların en önemlileri TNF ile T helper hücrelerinin etkinleştirilmesinde vazgeçilmez olan IL-1'dir. Proteaz salınımıyla damar yüzeyi ve perivasküler alanı harabiyete uğratırken yıkım ürünleri de daha ileri immun yanıt oluşturmak için kemotaktik etki gösterirler[13].

Polimorfonükleer Granülositler

Polimorfonükleer granülositler ya da lökositler (PMNL), kemik iliğinde dakikada yaklaşık 80 milyon hızda üretilmekte olup 2-3 günlük ömürleri vardır.Toplam kan lökositlerinin %60-70'inin oluşturdukları gibi ekstravasküler alanlarda da bulunabilirler. Monositlere benzer olarak endotel hücrelerine tutunma ve diapedez olarak da bilinen ekstravaze olma yeteneğine sahiptir. Adından da anlaşılacağı gibi olgun polimorflarda multilobüle çekirdek ve pek çok granüller bulunur. Bu granüllerin histolojik boyalarla boyanma karakteristiğine göre nötrofil, bazofil ve eozinofil olarak 3 ana grupta incelenir. Polimorflar mikroorganizmalara karşı yürütülen akut enflamasyonda rol oynamakta olup temel fonksiyonları fagositozdur[15].

Nötrofiller

Nötrofiller, kandaki lökositlerin %55-65'ini, dolaşımdaki polimorfların ise %90'ını oluştururlar. Dolaşım kanında veya damar duvarı endotelinde asılı halde bulunurlar. Güçlü fagositik aktivasyonları vardır. Bunlar immün ve non-immün mekanizmalar ile akive olabilir, salgıladıkları sitokin ve granül materyalleri ile etki gösterebilirler. Ayrıca akut faz cevabın oluşmasına katkısı vardır. Bu hücreler gözde daha çok konjoktiva, kornea, sklera ve vitreusun

bakteriyel enfeksiyonlarında, ayrıca kornea ve retinanın viral enfeksiyonlarına etkin rol oynarlar[15].

Bazofiller ve Mast Hücreleri

Bazofiller dolaşımda çok küçük miktarlarda bulunmakta olup büyük granüllerle dolu ve zayıf fagositik aktiviteye sahip hücrelerdir. Mast hücreleri ise dolaşımda bulunmayıp sadece dokularda yer alan hücreler olup mukozal mast hücresi ve bağ dokusu mast hücresi olmak üzere iki farklı türü vardır[14]. Bu hücrelerin fagositik aktiviteleri yoktur. Sinirler ile ilişkilidirler, uyarılabilirler. Bu yol ile histamin, prostoglandin ve lökotrien gibi mediatörleri ortama verebilirler. Yüzey reseptörleri aracılığı ile IgE bağlayabilirler.Başlıca salgıladıkları sitokinler: TNF-alfa, IL-1,3,4,6,9,10,13, GM-CSF'dir. Bu özelliklerinden dolayı anaflaktik allerjiden sorumludurlar[9].

Eozinofiller

Eozinofiller, dolaşımdaki lökositlerin %2-5'inin oluştururlar. Çift lobule çekirdekleri pek çok sitoplazmik granülleri mevcuttur. Bu hücreler, mast hücreleri ve bazofillerden salınan kemotaktik faktörler ile enflamasyon alanına yönelirler. Zayıf fagositik aktiviteleri vardır. Primer, sekonder ve küçük yoğun granüller olmak üzere üç çeşit granül içerirler. Sekonder granüller eozinofil içindeki tüm matur granüllerin % 95'inin oluşturmakta olup çekirdek ve matriks bölümlerinden luşur. Çekirdek bölmünde, eozinofil tarafından aktive olduğunda salınan eozinofil major bazik protein, eozinofil katyonik protein, eozinofil peroksidaz ve eozinofil nörotoksin gibi proteinler mevcuttur. Küçük granüller ise arilsülfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içerir[20]. Eozinofiller, oluşturdukları etkin oksijen metabolitler ve hedef hücre membranlarında oluşturdukları, ozmotik sitolize neden olan hasarlayıcı etkiler ile parazitlere karşı mücadelede de yer alırlar. Ig E ve Ig G2 bağlayabilirler.Ayrıca sikotin üretimi ve salınımı ile immün düzenleyici fonksiyonları vardır, başlıca TNF, IL-1,3,4,5,8 ve 13 yapar. Allerjik ve paraziter hastalıklarda lokal ve sistemik sayıları artar[9].

Sitokinler

Sitokinler, immünolojik, lokal veya sistemik enflamatuar ve onarıcı konak cevabını düzenleyen ve hücreler arasında sinyal görevi gören biyolojik mediatörlerdir. Bunlar, lenfositler tarafından salgılandıkları zaman Lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise Monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise İnterlökin olarak adlandırılmaktadır.

Kemokin deyimi ise kemotaktik ve sitokin parçalarının birleştirilmesiyle üretilmiş olup bunlar, makrofaj ve monositleri enfeksiyon noktasına çekebilen bir grup sitokindir. Tek bir çeşit sitokinin aynı anda pek çok hücre tipi üzerinde büyüme ve farklılaşma gibi multipl etkileri olabilir[10,13,22].

İnterlökin 1: Esas olarak makrofajlar tarafından üretilen ve pek çok hedef hücrenin farklılaşmasını ve özgül ürünler sentezlemesini sağlaması yanında özellikle T Hücrelerini farklılaşma ve IL-2 üretme yönünden etkinleştiren bir proteindir. Endojen pirojen olup SSS üzerine interlökin 1'in etkisiyle ateş ortaya çıkar. Prostoglandin sentezi gibi enflamatuar cevapları indükler, lökositlerin endotel hücrelerinde adezyonunu sağlar ve vasküler geçirgenlikte artış sağlayarak PNM ve makrofajların bölgeye göçüne neden olur[5,7,9,12].

İnterlökin 2 : Esas olarak T helper 1 hücreler tarafından üretilen bir protein olup T lenfositlerini üreme yönünden uyarır. NK ve B lenfositleri uyarır.

İnterlökin 4 ve 5 : T helper 2 lenfositler tarafından üretilirler. IL-4 allerji yolağının ana belirleyicisidir. IL-4 esasen,Th-2 hücreleri otokrin olarak aktive eder, ayrıca B lenfositlerden Ig E üretimini uyarır. IL-5 ise eozinofillerin büyüme ve farklılaşmasında etki eder.

İnterlökin 6 : Makrofajlar ve T helper lenfositler tarafından üretilirler ve B hücrelerinin farklılaşmasını uyarır, hipotalamusu etkileyerek ateş yapar ve karaciğer tarafından akut faz proteinlerin üretilmesini tetikler[5,7,9].

İnterlökin 8 : Monosit, makrofaj, lenfosit, vasküler endotel, dermal fibroblast, keratinosit, hepatosit, retina ve korneanın epitelinden salgınabilir ve PMNL için kuvvetli bir uyarandır[9,12].

İnterlökin 10 ve 12 : IL-12 makrofajdan yapılır, gecikmiş aşırı duyarlılık reaksiyonlarına aracılık eden hücreler olan Th1 hücrelerin üremesini düzenler[6,8]. IL-12 Th-1 yolağının ana sitokinidir. IL-10 Th-2 den yapılır, sitokin sentezi üzerine inhibitör etkisi mevcuttur[5,9].

Tümör nekroz faktörü (TNF) : Esas olarak makrofajlar (TNF-α) ve T lenfositler (TNF-β) tarafından sentezlenerek nötrofillerin fagositoz ve öldürme etkinliklerini aktifleştirir. Gözdeki etkisi vasküler geçirgenlikte artış ve mononükleer hücre göçü şeklindedir.

İnterferonlar : Virüs replikasyonunu bloke eden ve birçok immünomodulatör işlev gösteren glikoproteinlerdir. IFN-α lökositlerden, IFN-β fibroblastlardan, IFN-γ ise; Th1 lenfositler ve NK hücreler tarafından salgılanır. IFN-α ile IFN-β

güçlü antiviral etkiye sahip iken IFN-γ makrofaj, NK hücresi ve nötrofillerin fagositik etkinliğinin en güçlü etkinleştiricilerinden bir tanesidir. IFN- γ, enflamasyon sırasında ilk üretilen sitokinlerden biri olup deneysel modellerde, T lenfositlerinin retina gibi oküler dokular içine girişi için gereklidir[7,9].

TGF- β (Transforme büyüme faktörü) : Lökositler, T lenfositleri, fibroblast, RPE hücreleri ve silier cisim tarafından üretilmekte olup gözde ön kamara bağışık sapma düzenleyicisidir. Hem normal hem enflame oküler sıvılarda bulunur. Yara fibrozisine neden olur. Ayrıca T hücre ve makrofajların enflamatuar işlevlerini inhibe eder[5,9].

PDGF (Platelet kaynaklı büyüme faktörü) : Trombositler, makrofajlar ve RPE hücreleri tarafından üretilmektedir. Gözde subretinal fibrozis ve enflamatuar membranlarda etkin fibroblast proliferasyonuna yol açar.

Sitokinlerin başlıca etkileri yerel ve sistemik olarak şöyle özetlenebilir; yerel etkileri: endotel hücresi aktivasyonu ile adezyon molekülü ekspresyonu, lökosit endotel yapışması ve etkileşimi, lökositlerin endoteli geçip enflamasyon bölgesine kemotaksisi, lökosit aktivasyonu (hücrede solunumsal patlama, serbest oksijen radikalleri salınımı, degranülasyon, fagositoz ve sitotoksisite aktivasyonu), prokoagülan aktivite, sitokin sentezini yeniden aktive etme, endojen mediatör salınımı; sistemik etkiler: ateş, akut faz reaksiyonu, spesifik olmayan konakçı reaksiyonu ile ilişkili koloni stimülan faktör artışı, NK aktivasyonu, T hücre çoğalması, B hücre aktivasyonu, sitotoksik T hücre artışı[23].

İmmün tolerans

Bağışıklık sisteminin diğer her yönden normal olmasına karşın belli antijene immün yanıt verilmemesi, yani özgül olarak yanıtsızlık haline immün tolerans denir. Burada vücudun kendi moleküllerini tanıyıp, onlara karşı immün reaksiyona girmemesi hali söz konusudur. Genelde embriyonik yaşam sırasında karşılaşılan antijenler kişinin özüne ait kabul edilir ve bir bağışık yanıtı uyarmaz. Bu yanıtın bulunmaması, timusta özüne tepki veren T hücre öncüllerinin eksi seçim ile ortadan kaldırılması sonucu görülür ve bu durum merkezi tolerans olarak bilinir[24,25]. Öte yandan olgunlaşma süreci sırasında bulunmayan antijenler, yani vücut immunolojik olarak olgunlaştıktan sonra ilk kez görülen antijenler özüne ait olmayan olarak kabul edilir ve genelde immün cevap oluşturur[15]. Bazı durumlarda konağın kendi özüne ait olarak tanıdığı doku

antijenlerine karşı geliştirdiği tolerans kaybolabilir ve otoimmün bir hastalığa yol açmak üzere konak antijenlerine karşı immün cevap geliştirebilir[9,13].

Aşırı Duyarlılık Reaksiyonları

Hipersensitivite: İmmün sistem, antijen ile ilk karşılaşması sonrası, antijene özgün ve onu tekrarlayan karşılaşmalarda tanıyacak T lenfosit populasyonu ve antikor oluşumunu başlatır. Enflamasyon, immün cevabın başlama şekline göre dört çeşit mekanizma sonucu gelişir. Bu mekanizmalar antijeni ortadan kaldırarak yararlı etki sağladıkları gibi konak için zararlı, abartılı ve uygunsuz tepkimelere de neden olabilirler ki bu durum aşırı duyarlılık, allerji veya hipersensitivite olarak tanımlanır. Bu tepkimelerin klinik belirtileri belli bir kişi için tipik olup o kişinin aşırı duyarlı olduğu özgül antijen ile teması halinde ortaya çıkar. Özetle allerji veya hipersensitivite, antijene karşı organizmanın oluşturduğu hasarlayıcı düzeyde, yani değişmiş reaktif immun cevap olarak tanımlanabilir[10,13].

Eğer hipersensitivite, normal kişilerden farklı olmak üzere genetik olarak belirlenen anormal bir durum ya da ailevi yatkınlık sonucu oluşuyorsa da bu durumda atopi'den bahsedilir[9]. Bu durumda artmış serum Ig E düzeyleri mevcutur[13]. Aşırı duyarlılık tepkimeleri dört ana tipe ayrılabilir.

TİP I : Ani (Anafilaktik) Aşırı Duyarlılık

Spesifik allerganlar organizmaya girip mast hücre yüzeyindeki Ig E ile köprülenince, hücre granüllerinden başta histamin olmak üzere bir çok medyatör molekül ortama dökülmesiyle anafilaktik hipersensitivite reaksiyonu görülür. Bu süreç, antijenin bazofil ve mast hücrelerine Fc bölümü ile sıkıca bağlanan Ig E üretimini tetiklemesi ile başlar. Bu antikorlar koruyucu değil duyarlandırıcıdır. Aynı antijenle daha sonraki karşılaşmalar ile dakikalar içinde etkin medyatörler salınmasına neden olur. Kompleman katılmaz[9,12,13].

Anaflakside rol oynayan mediatörler içinde mast hücrelerinden salınan histamin en önemli vazoaktif amindir ve olayın akut fazına katılır. Histamin, vazodilatasyon, kapiller permeabilite artışı, bronkospazm ve mukus artışı yapar.

SRS-A veya anafilaksinin yavaş tepki veren maddeleri, anafilaktik tepkime sırasında araşidonik asitten üretilen çok sayıda lökotrienlerden oluşur ve bunlardan prostoglandinler kapiller dilatasyon, geçirgenlik artışı, bronkospazm yaratıken tromboksanlar trombosit agregasyonu yaptırır[13].

Eozinofillerden ve makrofajlardan salınan trombosit aktive edici faktör (PAF) ve mast hücrelerinden salınan eosinofilik kemotaktik faktör (ECF-A) selektif olarak eozinofillerin anafilaktik enflamasyon alanına toplanmasına neden olur[9]. Mast hücreleri ve trombositlerden salınan serotonin ise kapiller dilatasyon, vasküler permeabilite artışı ve bronkospazm yapar[13]. Bu tip aşırı duyarlılığın görüldüğü klinik durumlar, kutanöz-sistemik anafilaksi, ürtiker, egzama, herediter anjioödem, alerjik rinokonjoktivit, atopik alerji ve bazı ilaç alerjileridir[10].

TİP II: Sitotoksik (Antikora bağımlı) Aşırı Duyarlılık

Antikorun bağlandığı organ veya hücrelerde etkili olan ve hücre zarı antijenlerine yönelik antikorun kompleman sistemini etkinleştirdiği bir hipersensitivite reaksiyonudur. Ig G ve Ig M sorumludur. Bunun sonucunda, hemolitik anemiler, ABO transfüzyon tepkimeleri veya Rh hemolitik hastalığında olduğu gibi kompleman aracılı bir lizis görülür. Lizis neden olmasına ek olarak, kompleman etkinleşmesi, fagositleri bu noktaya çeker ve sonuç olarak hücre zarlarının tahrip edecek enzimler salınır[9,12,13].

TİP III: İmmün kompleksler ile oluşan Aşırı Duyarlılık

Organizma yabancı bir proteine maruz kaldığında 7-10 gün sonra bu antijenik maddeye karşı antikorlar oluşmaktadır. Sonuçta Ag-Ab kompleksi gelişir ve normalde RES hücreleri tarafından bu kompleksler fagosite edilerek ortamdan kaldırılır[9,13].

Tip III aşırı duyarlılık reaksiyonunun görüldüğü durumlar serum hastalığı, Arthus tepkimesi ve bazı glomerülonefritler, sistemik lupus eritematozus ile romatoid artrit gibi immün kompleks hastalıklarıdır[24].

TİP IV: Gecikmiş (Hücresel) Aşırı Duyarlılık

Belli bir antijene karşı duyarlanmış CD4 T lenfositler, ag ile karşılaştıklarında, lenfokinleri aracılığı ile bu bölgeye mononükleer hücre infiltrasyonuna neden olurlar. Bu olayda antikorların doğrudan etkinliği yoktur. Yanıt ag ile temastan saatler veya günler sonra başlaması ve günlerce devam etmesi nedeniyle gecikmiştir. Aktive lenfositler hedef hücre yıkımında direk etkili olabilir ya da lenfositler tarafından üretilen medyatörler sitotoksisiteyi yürütebilir[13].

Bu durum, temas aşırı duyarlılığı veya tüberkülin tipi aşırı duyarlılık şeklinde görülebilir. Gecikmiş tip aşırı duyarlılık özellikle transplant reddi, bazı

otoimmün hastalıklar ve tümör immünitesi olmak üzere bazı mikrobial enfeksiyonlar ve kontakt alerjide görülen reaksiyon tipidir[10].

Oküler İmmünoloji

Göze Özgül Bağışıklığın Özellikleri

Göz, hem oküler yüzey vasıtasıyla dış çevre ile direk teması olduğu için, hem de internal bölümleri kan kaynaklı patojenlere açık olduğu için sürekli mikroorganizma istilasına maruz kalır, fakat bunların bir çoğunu yapısında veya fonksiyonunda değişime gerek kalmaksızın savuşturma kabiliyetine sahiptir. Doğal savunmasının çoğu eksternal yapıların (kapaklar, gözyaşı, konjonktiva, kornea) anatomik ve fizyolojik özelliklerine bağlı iken yabancı madde bir kez göz içerisine girdiğinde savunma mekanizmaları gözün dış yüzeyinden daha az etkilidir ve yıkıcı etkiler ön plana geçer[10].

Van Dooremaal 1870 li yıllarda, genetik olarak vücut ile bağdaşmayan tümör hücrelerinin ön kamaraya transplantı sonucu büyümeye devam ettiklerini fakat aynı durumun subkutan veya vücudun diğer bölgelerine ile implantasyon ile izlenmediğini ilk kez deneysel olarak gözlemledikten yaklaşık 60 yıl sonra, 1948 yılında sir Peter Medawar **"immünolojik imtiyaz kavramı"** nı ilk kez ortaya koymuştur. Ön kamara ile ilgili immün sapma **(ACAID)** terimi ise ilk defa 1980'li yıllarda Niederkorn, Streilein ve Shadduck tarafından kullanılmıştır[26,27].

İmmünojenik bir dokunun immün cevabı yeterli bir konakta uzun bir süre canlılığını koruyabildiği anatomik bölgelere **immünolojik olarak imtiyazlı bölgeler** denir. Bu koruyucu mekanizma, normal fonksiyonunun devamının konağın yaşamı için gerekli olduğu bazı özelleşmiş organlara mahsustur ki göz de bunlardan biridir çünkü intraoküler enflamasyon iyi bir görme ile bağdaşmaz. Ayrıca kornea ve nörosensöryel retina gibi dokular yıkıcı bir enflamasyondan sonra kendilerini yenileyemezler. Bu nedenle oküler immün imtiyaz mekanizması patojenlere karşı, görme aksına ve görme için gerekli hücrelere zarar vemeyecek şiddette bir immün koruma sağlanması için gereklidir. Doğanın kendine has yolu ile özellikle ön kamara, vitreus kavitesi ve subretinal boşluk gibi bölgelerde ve kornea, lens, pigment epiteli ve retina gibi dokularda varlığı açıkça ortaya çıkan immünolojik imtiyaz mekanizması, gözün ve immün sistemin, anatomik, hücresel ve moleküler düzeyde özelleşmesi ile ortaya çıkmaktadır[28]. Aslında immünolojik imtiyaz iki ucu keskin bıçak gibidir. Bir tarafta dokuyu işgal eden organizmaya karşı yeterli immün koruma sağlanmaya

çalışılırken öteki taraftan bu cevabın konak dokuya hasar verilmemesine çalışılmaktadır[29].

Ön kamara, immünolojik olarak korunmuş imtiyazlı bir bölge (immün privilege site) olup, sistemik immün değişimin bir çeşidi olacak şekilde aktif ve kazanılmış bir immünite hali mevcuttur[10]. Ön kamara ile ilgili bağışık sapma ya da **"anterior chamber-associated immun deviation" (ACAİD)** olarak adlandırılan bu durum ön kamaranın kendi özgül anatomik özelliklerinden kaynaklanmakta ve göz içinde oluşan bağışık yanıtın gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Ön kamarada oluşan bir enflamatuar yanıt, vücudun diğer bölgelerinde oluştuğu gibi meydana gelseydi belki enflamatuar etkenin hızla ve çok etkin bir şekilde gözden uzaklaştırılması olası olacaktı, fakat bu durumda oluşan şiddetli enflamatuar yanıt yerel dokulara çok fazla hasar vereceği için gözde önemli ölçüde işlev kaybına yol açabilecekti. Bunu önlemek için vücutta, sadece ön kamaraya özgü ve normal bağışık yanıtın by-pass edilerek daha sessiz ama etkin olmasını sağlayan bir yol gelişmiştir. Ön kamaradaki bir antijen, bağışıklık sistemine lenfatik akım yollarını kullanarak değil, Schlemm kanalından geçilerek sunulmaktadır. Bu durumda ise hümoral immünitenin baskın olduğu ve hücresel immünitenin zayıf kaldığı bir immünolojik sapkın yanıt oluşmaktadır[15]. Sonuç olarak ACAID, yani kompleman fikse edici antikor sentezleyen B hücrelerinin ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonuna aracılık eden T hücrelerinin inhibe edildiği; non kompleman fikse etmeyen antikor sentezleyen B hücrelerinin ve sitotoksik T hücrelerinin ise desteklendiği ve ek olarak dalak kaynaklı T regulatuar lenfositler ile karakterize bir immünite hali ortaya çıkar[29]. Aşırı duyarlılık reaksiyonunu ve kompleman fiksasyonunun, özgül olmayan enflamasyon ve masum doku hasarına neden olduğu düşünülürse, ön kamaraya özgü bu sistem (ACAID) görme aksının hasarının engellenmesi için gelişmiş fizyolojik bir adaptasyondur. Böylece seçici immün yanıt oluşurken görme korunur[10].

Ön kamara ile ilgili bağışık sapmanın 4 temel unsuru sayılabilir. Burada 1) gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtı baskılanmıştır 2) hümoral yanıt korunmuştur 3) sitotoksik T-hücre yanıtı normal olarak izlenmektedir 4) kompleman bağlayan antikorların üretimi azalmıştır. Öte yandan normal şartlar altında iris, siliyer cisim ve gözün diğer internal yapılarında T veya B hücresi ile granülosit bulunmaz[30].

Oküler immün imtiyazın sağlanmasında üç tane farklı fakat birbiri ile ilişkili mekanizma etkilidir: immünolojik yadsıma mekanizması, göz kaynaklı antijenlere karşı periferik tolerans ve intraoküler immünsupresif mikroçevre[27,28,29] .

Göz, immünolojik reaksiyonlar açısından 4 bölümden oluşmuştur: (1) Gözyaşı tabakası ve konjonktivayı içeren ön segment; gözün enfeksiyöz, kimyasal ve allerjen çevresel faktörlere karşı ilk bariyerini oluşturur. Ayrıca konjoktiva ve lakrimal bez ortak mukozal sistemin (mucosa associated lenfoid tissue-MALT) bir parçası olacak şekilde göz ile ilgili lenfoid dokuyu (eye associated lenfoid tissue-EALT) oluştururlar; (2) kollajenöz sklera; genellikle romatolojik hastalıklarda etkilenir; (3) aköz hümorun üretim yerini de kapsayan vaskülaritesi yüksek uvea; dolaşan immün kompleks ve hücre aracılı enflamatuar reaksiyonlarda genellikle yer alır ve (4) fonksiyonel olarak santral sinir sisteminin bir uzantısı olan retina[25,31].

Konjonktiva İmmünolojisi

Normal konjonktiva, gözün immünolojik olarak en aktif dış tabakası olup ekzojen maddelerin istilasına karşı doğal bir bariyer oluşturur ve stimülasyon sonrası lenfoid hiperplazi geliştirir[31]. Konjoktival cevap genellikle baskın olarak mononükleer hücreler içermekle birlikte normal insan konjonktivası ayrıca çok sayıda infiltratif ve enflamatuar hücre de içerir ki bunlar arasında lenfositler, plazma hücreleri, eozinofiller, nötrofiller ve büyük oranda bulunan doku bağımlı mast hücreleri mevcuttur. Bu hücreler normalde epitelyal yüzeyin altında substansia propria tabakasında yerleşmiş olup çeşitli uyarılar sonucu yüzeye göç ederlerken mononükleer hücreler normal olarak epitel tabakasında mevcutturlar. Antijen sunan hücrelerden ise langerhans hücreleri konjonktival epitel tabakasında yer alırken, dendritik hücreler stromada bulunur ve bunlar sınıf II MHC eksprese etme kabiliyetine sahiptir[30,31]. Oküler provakasyon testlerinde konjoktival epitel hücrelerinin HLA DR, ICAM-1 gibi moleküller ve RANTES, TNF-α, IL-6, IL-8 ve GM-CSF gibi sitokinler de salgılayabildikleri gösterilmiştir[31].

Konjoktiva, lakrimal bez ile birlikte mukozal sistemin (mucosa associated lenfoid tissue-MALT) bir parçası olacak şekilde göz ile ilgili lenfoid dokuyu (eye associated lenfoid tissue-EALT) oluşturur. EALT, konjonktival (CALT) ve lakrimal drenaj sistemine (LDALT) ait olmak üzere iki bölümde incelenir.

Konjoktival lenfoid doku, lakrimal dokudan daha fazla folikül içeriyor gibi görünmektedir. Difüz lenfoid dokunun yanı sıra orbital konjonktivada ve tarsal kriptalarda lenfoid foliküller de izlenmektedir[17,30]. B lenfositlerin sayısı daha fazla olup genellikle santral foliküller içinde yoğunlaşmışlardır. İntraepitelyal periferal foliküllerde genellikle CD8(+) T hücreleri mevcut olup ayrıca dokuda dağınık olarak hem CD4(+) hem de CD8(+) T lenfositleri eşit oranlarda bulunurlar. Antijenik uyarı sonrası konjoktival T lenfositlerinin bellek T hücresine dönüşebildiği gösterilmiştir[30,31]. Lakrimal bezde (LDALT) ise sekretuar asiniler arasındaki bağ dokusu içinde plazma hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar ve pek çok T hücresi karışık olarak bulunur. Plazma hücrelerinin çoğu, gözyaşındaki temel immunoglobulin olan Ig A için pozitif olarak boyanır. Bu sistemlerin, lokalizasyonları da göz önünde bulunulduğunda, özellikle lenfoid dokudan yoksun korneanın korunmasında önemli olduğu düşünülmektedir[17,25].

Rutin olarak konjonktivada tüm immünoglobulin sınıfları bulunur ve çoğu subepitelyal dokuda mevcut olup epitel içinde hemen hiçbiri bulunmaz. Diğer göz dokularının aksine lenfatik drenajı mevcut olup, lateral konjonktiva preauriküler lenf nodlarına drene olurken nazal konjoktival lenfatikler submandibular lenf nodların drene olur[31].

Allerjinin Patofizyolojisi

Allerjik hastalıklar, oküler mukozal yüzeyin direk olarak dış çevre temasının olmasına bağlı ortaya çıkmakta olup gözün en sık rastlanan hipersensitivite reaksiyonlarıdır. Alerjik göz hastalıkları;

1-Mevsimsel allerjik konjoktivit (SAC)
2-Perenial allerjik konjoktivit (PAC)
3-Vernal keratokonjoktivit (VKC)
4-Atopik keratokonjokntivit (AKC)
5-Dev papiller konjonktivit (GPC)
6-Kontakt alerji olmak üzere 6 grupta incelenir[31,32,33] .

Allerjik Rinokonjonktivit:

Mevsimsel olan (SAC) ve tüm sene boyunca devam eden perenial (PAC) olmak üzere, mevsimsel rinokonjoktivit (saman nezlesi) en sık görülen alerji formudur. Her iki tip de hava ile taşınan allerjenlerin yol açtığı Tip I hipersensitivite reaksiyonu olup antijenik özellik taşıyan allerjenler mast hücre

ve bazofillerde bulunan Ig E antikorlarına bağlanarak bu hücrelerdeki özellikle histamin olmak üzere, serotonin, lökotrien C_4, prostoglandin D_2, platelet aktive edici faktör ve triptaz gibi enflamatuar mediatörlerin salınımına neden olur. Bu mediatörler lokal olarak düz kaslar, sekretuar bezler ve damarlar üzerine etki ederek klinik semptomlara yol açarlar. Allerjen ile karşılaşılmasından saniyeler ve dakikalar içerisinde ortaya çıkan bu erken faz reaksiyonunundan 4-6 saat sonra ise eozinofil, bazofil ve T_h2 lenfositlerinin aracılık ettiği geç faz ortaya çıkar[32,34,35]. Bu faz esnasında ise ikinci bir histamin piki yanında genellikle IL-4, IL-5, IL-6, IL-8 ve IL-13 gibi T_h2 profilinde sitokinler salınır. Yapılan çalışmalarda kronik oküler alerji patogenezinde T_h2 lenfositlerinin anahtar rol oynadığı gösterilmiştir[33]. Bu hastalarda, konjonktival sitolojide eozinofil infiltrasyonu (%25), artmış serum Ig E düzeyleri (%78) ve hemen tüm hastalarda (%96) artmış gözyaşı Ig E seviyesi izlenir. Ayrıca gözyaşında eozinofil majör bazik protein(MBP), eozinofil katyonik protein (ECP), ICAM-1, IL-1, TNF-α, IFN-γ seviyeleri artmıştır[31,33,34].

Vernal Keratokonjonktivit:

Vernal keratokonjonktivit, mevsimsel faktörler ile ilişkili, genellikle çocuklarda ve bilateral görülen bir tablo olup tip I aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Aynı zamanda tip IV aşırı duyarlılık da patogenezde önemli olup konjonktivadaki yoğun Th lenfosit infiltrasyonu bunu göstergesidir. Hastaların büyük bir kısmının (2/3) anamnezlerinde veya aile hikayalerinde atopik bir hastalık mevcuttur. Hastalık çoğunlukla 10 yaşından önce başlar ve pubertede gerileme gösterir. Genellikle üst kapak tutulumunun eşlik ettiği kronik enflamatuar reaksiyon mevcut olup eğer papiller oluşumlar sadece kapakta ise buna palpebral veya kapak tipi vernal konjonktivit, limbus çevresinde ve kısmen korneaya taşan, yarı saydam jelatin görünümünde papiller oluşumların görüldüğü tipine ise limbal tip vernal konjonktivit denilmektedir. Olguların %50'sine kornea etkilenir[33-39].

Konjonktivanın tüm katmanlarında eozinofil, degranüle mast hücreleri, bazofil, plazma hücreleri, lenfositler ve makrofajlardan oluşmuş yoğun bir hücre infiltrasyonu izlenir. SAC ve PAC ile karşılaştırıldığında daha yoğun izlenen makrofaj ve fibroblast konsantrasyonu korneal komplikasyonların ortaya çıkmasında etkili olabilir. Gözyaşında histamin, ECP ve MBP nin yanı sıra IL-8 ve TNF-α seviyeleri artmıştır. Ayrıca ekstraselüler nötrofil elastaz depozitlerinin gösterilmesi patogenezde nötrofillerin de rolü olduğunu düşündürtmektedir[33-39].

Atopik Keratokonjonktivit:

Atopik dermatit tip I ve tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonu sonucu ortaya çıkan kronik bir cilt hastalığı olup bu olgularda dermatite ilave olarak astım, ürtiker, rinit gibi başka atopik şikayetler ve yaklaşık %25 ile %42'sinde ise oküler tutulum bulunabilir. Tersinden bakıldığında ise, AKC bulunan olguların yaklaşık %95'inde astım veya egzama gibi atopi hikayesi bulunur. Atopik keratokonjonktivit genellikle alt tarsal konjonktivayı tutan, kornea tutulumu gösterdiğinde körlüğe kadar varabilen komplikasyonlara yol açabilen kronik enflamatuar bir hastaslıktır. Konjonktivada karışık mast hücresi, eozinofil ve lenfosit infiltrasyonu ve dolaşımda artmış IL-4 ve IL-5 seviyeleri mevcuttur. VKC gibi AKC'de de T hücreleri önemli rol oynamakta olup VKC'de genellikle T_h2 lenfositler önemli iken AKC'de T_h1 lenfositlerin önem kazandığı izlenir. Göz bulguları vernal keratokonjonktivite benzer fakat daha ileri yaşta görülmesi, ciddi kornea tutulumu ve mevsimsel farklılık gözlenmemesi gibi özellikleri ile farklılık gösterir. Oküler herpes simpleks enfeksiyonu ciddi bir problem olup olguların %42'sinde görülür. En sık rastlanan oküler problemler, gözkapağı ekzeması, yüzeyel punktat keratopati ve azalmış gözyaşı sekresyonu olup katarakt gelişimi sıkça rastlanan bir komplikasyondur[33-39].

Dev Papiller Konjonktivit:

Bu alerjik konjonktivit tipi ilk kez kontakt lens kullananlarda tanımlanmış olup hastalığın kontakt lens, sütür, protez, konjonktivadan dışarı yabancı cisimlerin yüzeyinde biriken yabancı maddelerin antijenik etkisi ve bu yabancı cisimlerin oluşturduğu mekanik travma nedeni ile ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Aslında tam bir alerjik reaksiyon olmayıp alerjik yatkınlık temelinde mekanik travmaya bağlı ortaya çıkan bir tablodur. Jeneralize veya lokalize olabilir. Dev papillalar (>0.3 mm) mevcut olup klinik tablo tip I ve tip IV aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Bazofil, eozinofil, plazma hücresi ve lenfosit infiltrasyonu mevcuttur[31-34]. Kontakt lensin kimyasal yapısı GPC gelişiminde önemli olup ayrıca kenar dizaynı, yüyey özellikleir, oturma karakteristiği de önemli değişkenlerdir[34].

Bu hastalık kontakt lenslere, kontakt lens temizlik ve bakım ürünlerine veya prezervanlara allerji ve/veya intolerans nedeniyle oluşur. Dev papiller konjonktivit, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki 30 milyon kontakt lens kullanıcısından yaklaşık %1-5'ini etkiler[41]. Dev papiller konjonktivit, sert, yarı-

sert ve yumuşak hidrojel lens kullanıcılarında ortaya cıkmakla beraber; en sık yumuşak lens kullanıcıları bu durumdan etkilenir. Üst kapakta papillar reaksiyon vardır ve hasta kontakt lens taktıktan sonra rahatsız olduğundan yakınmaktadır. Bu tablo göz protezleri veya korneal sütürler ile birlikte olabilir. En erken semptomlar, lens çıkarırken kaşıntı ve hafif mukus formasyonudur. Daha sonra, hasta lens taktığı zamanlarda, iritasyon, kaşıntı, kızarıklık, sulanma, mukoid akıntı ve bulanık görme gibi kontakt lens intoleransını işaret eden şikayetlerle başvurur. Semptomlar genellikle bulgulardan once görülür. Daha sonra klinik tablo kötüleşebilir ve bir miktar görme bulanıklığı ve keratopati gelişebilir. Bununla birlikte vernal konjunktivitten daha hafif bir tablodur[42,43].

Kontakt Oküler Allerji:

Gözün kontakt alerjisi göz kapaklarını, konjonktivayı veya korneayı etkileyebilir. Alerjik veya non-alerjik mekanizmalara (iritan / toksik) katılabilir. Kontakt alerjik reaksiyonlar, deriden emilen sensitize edici maddelere maruziyet varsa gercekleşir. Bu maddeler, genellikle dermal proteinlere bağlanan, düşük molekül ağırlıklı haptenlerden (kısmi antijenler) oluşur. Hücresel immun sistem duyarlılaşmasıyla sonuclanır. Antijenle tekrar karşılaşıldığında, tip 4 hipersensitivite reaksiyonu oluşur. Humoral mekanizmalar tipik olarak olaya karışmaz. İlaçlara (anestezikler, atropin, gentamisin, neomisin, tobramisin, antiviraller,epinefrin, pilokarpin, timolol), prezervan maddelere (benzalkonyum klorid, klorbutanol, klorheksidin, EDT, thiomersal) veya kozmetik maddelere karşı oluşan alerjik tablodur[44-46].

Allerjik Konjonktivitlerde Tanı

Alerjik konjonktivit tanısı genellikle semptom ve bulgular temel alınarak konur. Bunun ötesinde en önemli klinik ipucu “kaşıntı” olmasıdır. Coğu olguda, laboratuar yeterince yardımcı değildir. Yine de, tedaviye cevap vermeyen ve şikayetlerin kronik olarak devam ettiği hastalarda laboratuar calışmaları yapılmalıdır.

Prick deri testi, sensitiviteyi belirleyerek alerjen gostermede yararlı olabilir. Deri testinden 15-20 dakika sonra kızarıklık sensitiviteyi gosterir. Havadaki alerjenlere karşı zayıf deri testi reaksiyonu, lokalize goz alerjisi icin karakteristiktir; guclu bir deri testi reaksiyonu ise sıklıkla okuler alerjinin yanı sıra nazal, respiratuar ve kutanoz alerjilerin de varlığını işaret eder[47]. Negatif veya şupheli deri testlerinde, intradermal enjeksiyon, daha dilue edilerek

hazırlanmış alerjen ile yapılabilir[48].

Sitoloji icin konjonktival smear, kronik olgularda eozinofilleri gosterebilir; akut olgularda ise eozinofil görülmesi oldukca nadirdir. Normal insan konjonktivasında eozinofiller görülmez; bir tane bile eozinofil veya eozinofilik granül görülmesi alerjik bir sürecin varolduğunu işaret eder. Bununla birlikte, eozinofillerin konjonktivanın derin bolgelerinde lokalize olmaları nedeniyle, konjonktival sürüntü örneği yanlış negatif sonuç verebilir. Dolayısıyla konjonktival sürüntü örneğinde eozinofillerin görülmemesi, alerjik bir sürecin varlığını ekarte ettirmez[49].

Konjonktival provakasyon (ocular challenge) testleri, spesifik antijenin az miktarda uygulanmasıyla yapılabilir. Pozitif oküler provakasyon testleri (kaşıntı ve kızarıklık oluşturmuş olan) ile hastanın oküler alerjisine neden olan spesifik alerjen belirlenebilir. Ayrıca, deri testleri negatif iken bile oküler provakasyon testleri pozitif olabilir[50]. Önemli olabilecek bir ayrıntı ise, deri testleri yapılırken, antianaflaksi kiti bulunması gerektiğidir.

Serum ve göz yaşı Ig E seviyeleri, alerjik konjonktivitte yükselir; ancak cok belirgin bir artış göstermemiş olabilir. Ig E'ye spesifik alerjenler (toz, polenler) radioallergosorbent testi (RAST) ile belirlenebilir. Ancak, özellikle göz pratiğinde Ig E seviyelerini belirlemek icin yapılan testler klinik olarak cok sık uygulana testler değildir.

Triptaz seviyeleri, mast hücre ürünü ve aktivite belirteci olarak, mevsimsel alerjik 23 konjonktivitte, gözyaşında yüksek bulunur ve oküler allerjik hastalığı göstermek icin yararlı olabilir[51]. Bakteriyel kültürler, kronik blefariti veya konjonktiviti ekarte etmek icin kullanılabilir. Schirmer testi de hastanın kuru göz problemi olup olmadığı konusunda yardımcı olur.

Tedavi

Allerjen maruziyeti mümkün olduğu kadar azaltılmalıdır. Bunu icin, mevsimsel allerjik konjonktivitte, polenlerin fazla olduğu dönem boyunca dış ortama çıkmayı azaltmak gerekir. Yine mevsimsel ve perenial allerjik konjonktiviti olanlar, hava filtreleri veya klimalar kullanırlarsa alerjen maruziyeti azaltılmış olur. Özellikle perenial semptomları olanlar icin, temiz, polenlerden arındırılmış bir ev ortamı gereklidir. Evcil hayvanlardan ve sigaradan, özellikle uzak durulmalıdır. Kuru gözu olan hastalar, suni göz yaşlarından fayda görürler,

özellikle prezervatif içermeyenler göz yaşı film tabakasının devamlılığını sağlar ve allerjenleri göz dışına atmada yardımcı olur. Eş zamanlı oluşmuş olan, hafif kronik blefarit icin, bebek şampuanları ile veya ticari olarak elde edilebilen hazır preparatlarla, yatmadan önce kirpik dibi temizliği yapılması hastaları rahatlatacaktır. Allerjik konjonktivitin akut alevlenmeleri icin **soğuk kompres ve prezervansız suni göz yaşları** kullanılabilir. **Oral antihistaminikler (H1-reseptör blokörleri)**, akut donemlerde, daha az semptomu olan hastalarda kullanılabilir; ancak bunların, sedasyon yapıcı ve sistemik antikolinerjik yan etkilerinden dolayı hastaları uyarmak gerekir.

Topikal antihistaminikler genellikle H1 reseptör blokajı yaparlar. Reseptör reversible olarak bloke edilir[52]. Topikal antihistaminikler uzun süreli tedavinin gerekmediği hafif olguların tedavisinde tercih edilir. Emedastin difumarat, benzimidazol türevi olup, güçlü selektif ve topikal etkili bir H1 reseptör antagonistidir[53,54]. Topikal antihistaminik olarak, etkisi kanıtlanmış bir H1-reseptor blokoru olan levokabastin kullanılabilir[55-57]. Topikal olarak kullanılan selektif H2-reseptor blokoru yoktur; ancak bu ajanlar, ozellikle H1-reseptor blokorleri ile kombine kullanıldığında teorik olarak etkilidir[58].

Antazolin ise topikal antihistaminiklerle kombine kullanılan bir **dekonjestandır,** hiperemi üzerine hızla etki eder, ancak alerji ve kaşıntı üzerine bir etkisi yoktur.

Topikal kromolin sodyum 2% veya 4% , bir **mast hücre stabilizanı**dır. Allerjik konjonktivit tedavisinde, mast hücre degranulasyonunu inhibe ederek, önleyici ve uzun dönem idame tedavisinde tercih edilebilir bir seçenek olarak karşımıza cıkmaktadır. Ancak, sodyum kromoglikatın klinik olarak etki etmesi icin en az 2 hafta gerekmektedir. Topikal kromolin alerjik belirtiler başladığında mümkün olduğunca kısa surede başlanabilir; fakat kromolinin etkisi başlayıncaya kadar, topikal dekonjestanlar, suni göz yaşları veya nonsteroid anti-inflamatuar (NSAİ) ajanlar kullanılmalıdır[59].

Mevsimsel alerjik konjoktivit hastaları, alerji sezonları başladığında, semptom ve bulgular henüz başlamadan günde 4 kez topikal kromolin başlayabilirler; ve sezon sonuna kadar alevlenmeleri önlemek icin, kullanabilirler. Perenial allerjik konjonktivit hastalarının ise yıl boyunca, günde 2 ile 4 kez kullanmaları gerekir. Neyse ki uzun dönem kullanımında da yan etkileri (hafif batma, damlattıktan hemen sonra hafif yanma) cok fazla değildir. Daha yeni bir mast hücre stabilizatörü, lodoksamid %0.1, kromolin sodyuma bir alternatif olarak

sunulmuştur[59,60]. Nedokromil sodyum, kimyasal olarak kromolinden farklıdır; daha yeni bir mast hucre inhibitorüdür ve mevsimsel alerjik konjonktivitte faydalı etkileri gosterilmiştir[61,62].

Olopatadin hidroklorid, hem mast hücre stabilizatörü, hem de H1 reseptör blokörüdür. Erken dönemde histamin reseptör blokajı yaparken,, geç dönemde ise mast hücre degranülasyonunu bloke ederek inflamatuar mediatörlerin salınımını bloke yapar. Bu yolla erken ve uzun süreli etkinlik sağlar. 3 yaş üzerinde ve kronik kullanımda uygundur[52,63].

Ketotifen 3'lü etki profili ile oldukça etkili bir ajandır. H1 reseprör blokajı, mast hücre stabilizatörü, eozinofil fonksiyonlarını inhibe eden 3 görevli bir ajandır. Ketotifen de olopatadin gibi TNF salınımını inhibe eder, ayrıca lökotrienleri ve trombosit aktive edici faktörü inhibe ederek, geç anaflaktik reaksiyonları baskılar[64].

Epinastin hidroklorid nonsedatizan bir H1 reseptör antagonistidir, ayrıca mast hücre stabilizatörüdür[65].Sodyum nedokromil yine H1 reseptör blokajı ve mast hücre stabilizasyonu yapar. Ayrıca inflamatuar medyatörler üzerine, özellikle TNF alfa 'yı inhibe edici etkisi vardır. Ancak Türkiye'de preparat bulunmamaktadır[61,62]. Kombine tekili bu preparatların tümünün günde 2 kez kullanılmaları önerilmektedir.

Topikal siklooksijenaz inhibitorleri diğer bir tedavi seceneği olarak karşımıza cıkmaktadır. Bunlar nonsteroid antiinflamatuar **(NSAİİ)** ilaçlardır. Siklooksijenazı inhibe ederek, esas olarak prostoglandinlerin, indirekt olarak ise lökotrienlerin yapımını engellerler. Kaşıntı ve diğer semptomlar üzerine etkilidir, ancak bu etkileri antihistaminik ve mast hücre stabilizatörlerine göre oldukça sınırlıdır[66].Topikal flurbiprofen, topikal olarak antijen provakasyonuna uğratılmış alerjik gözlerde etkili olduğu gösterilmiştir[67]. Yine topikal ketorolak tedavisinin 24 mevsimsel alerjik konjonktivitte etkili olduğu gosterilmiştir. Topikal ketorolak ve diklofenak, alerjik konjonktivit tedavisinde kullanılmak uzere onay almıştır[68,69].

Topikal steroidler semptomları hızlı ve etkili şekilde yatıştırır. İnflamasyon aşamsına etki ederler, inflamasyonu kapiller geçirgenlik ve hücresel eksudasyonu azaltarak önlerler. Topikal steroidli damlalar, glokom, katarakt, sekonder fırsatçı enfeksiyonlar gibi yan etki profillerinden dolayı, düşük potensli olanlar, düşük konsantrasyonda, düşük dozlarda ve kısa süreli olarak kullanılmalıdır. Genellikle kısa süreli, efemoline, loteprednol, rimeksolon, gibi

düşük potensli steroidler, diğer antialerjik ajanlarla kombine kullanımda tercih edilmektedir[70,71]. Ciddi vernal keratokonjonktivitlerde intratarsal steroid enjeksiyonu ile hızlı bir düzelme sağlanabilmektedir[72].

Topikal siklosporin A ise, selektif olarak CD4 T lenfositlerin proliferasyonunu ve IL-2 salımını bloke eden bir immunmodülatördür -15- Eozinofil ve mast hücre fonksiyonları üzerine direkt etkilid,r. Yapılan çalışmalarda % 2 lik topikal kullanımın özellikle vernal konjonktivitli olgularda etkinliği gösterilmiştir[73,74].

Desensitizasyon icin immunoterapi, bazı hastalarda etkili olabilir. Ancak; alerjik konjonktivitte desensitizasyon, alerjik rinitte olduğu kadar etkili değildir. Etki mekanizmalarının, Ig G sınıfı blokör antikorların üretiminin ve Ig E üretimini inhibe eden supresor T hücrelerinin üretiminin stimüle edilmesi olduğu öne sürülmektedir[75]. Desensitizasyon, semptomlarda başarılı bir bicimde azalmanın sağlandığı periyotlarda uygulanan devam dozları elde edilinceye kadar, ardışık dozlarda alerjenin 25 enjeksiyonunu içermektedir. Birkac hafta icinde gelişim gözlenir. Devam dozları 1-6 haftada bir, gerekirse 3-5 yıl boyunca devam edebilir. Bazı hastalarda, enjeksiyonlar kesildikten sonra relaps görülebilir. Anaflaksi riski göz önünde bulundurulmalıdır [76].

Hijyen Hipotezi

Son yıllarda sanayileşmiş batı toplumlarında alerji ve astım prevalansında rahatsız edici boyutta bir artış olmuştur. Ve bu durum sadece genetik faktörler, yatkınlık ya da tanı yöntemlerindeki ilerlemeler ile açıklanamamaktadır[77]. Allerjik hastalıklardaki bu artış ile ilgili en çarpıcı açıklama ilk olarak 1989 yılında David Strachan tarafından yapılmıştır. Strachan'a göre; '' Son yüzyıl içerisinde aile yapısının küçülmesi, aynı evde yaşayan birey sayısının azalması, ev içi konforun iyileşmesi, kişisel temizlik standartlarındaki yükselme, aile içindeki bireyler arasında çapraz enfeksiyonları azaltmıştır. Ve bur durum atopik hastalıkların yaygınlaşmasında önemli olabilir''[78].

Başlangıçta hijyen hipotezinin en önemli dayanağı, alerjik hastalıkların artmış prevalansı ile artmış enfeksiyon yükünün dolaylı belirleyicileri arasındaki negatif korelasyonun gösterildiği epidemiyolojik çalışmalar olmuştur[79]. 17 414 İngiliz çocuk ile yapılan bir çalışmada saman nezlesi ile evdeki çocuk sayısı arasında negatif korelasyon saptanmıştır[78].

Th-1 / Th-2 Dengesi

Hijyen hipotezinin immünolojik temelinde Th-1 ve Th-2 T Helper hücrelerinin rol oynadığından söz edilmektedir. Bu 2 hücre grubu karşılıklı inhibitör ve regulatör özelliklere sahiptir. Çevresel faktörlerin, özellikle çocukluk döneminde geçirilecek sistemik enfeksiyonların varlığı ya da yokluğunun genetik yatkınlığı olan çocuklarda dominant Th hücre fenotipinin belirlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir[80].

Gebelik süresince ve yaşamın ilk aylarında Th-2 bağışıklık yanıtı baskındır[81]. Yaşamın erken dözeminde karşılaşılan mikrobiyal ajanlar, özellikle intraselüler patojenler, doğuştan bağışıklığın ana hücrelerinden olan makrofajlardan IL-12 üretimine sebep olur. IL-12, Th-1 hücrelerinin aktivasyonunda en önemli sitokindir. Hijyen hipotezine göre, çocukluk çağında sistemik bir ajan ile karşılaşılmaz ise, IL-12 üretimi olmayacak ve Th-2 yanıtı baskın hale geçecektir. Bu da genetik olarak yatkın olan çocuklarda atopi gelişimine neden olacaktır. Yani, Th-1 yolunu güçlendirecek olan enfeksiyonlara maruziyetin engellenmesi, alerjik hastalık riskini artıracaktır[82].

Mikobakteriler ve Allerjik Hastalıklar

Mikobakteriler normalde insan florasında bulunmamakla beraber, toprakta ve suda 80'i aşkın türü mevcuttur. Mikobakteriler güçlü bir Th-1 tipi immün yanıt uyaranıdır[83].

Mikobakterilerin lipoproteinleri makrofajlardaki TLR'e bağlanarak, IL-12 yapımına neden olur. Salınan IL-12, Th-1 ve NK hücrelerini uyararak INF-□ yapımına sebep olur. INF-□ da makrofajları uyarıp daha fazla IL-12 üretimine sebep olur. Başta Avrupa olmak üzere ABD,Kanada,Avustralya ve Yeni Zelanda'yı içeren 23 ülkeden,235 477 çocuğu kapsayan epidemiyolojik bir analizde, bu ülkelerin Dünya Sağlık Örgütüne bildirdiği Tüberküloz hastalığı bildirim hızı ile astım, alerjik rinokonjonktivit ve atopik egzema prevalansı karşılaştırılmıştır.Ve bu bildirim hızları arasında negatif korelasyon saptanmıştır[84]. Tip-1 bağışıklık yanıtını uyaran Mycobacterium Tuberculosis'in atopi ile ilişkisi bu yüzden dikkat çeken bir konudur. PPD ya da Dermatofagoides pII ile IgE sentezi uyarılmış PPD(-) atopik çocuklarda, BCG aşısından sonra IgE sentezinin azaldığı gösterilmiş ve aşının Th-2 yanıtını baskıladığı yönünde yorumlanmıştır[85].

Erken yaşta BCG ile aşılanmanın alerjik hastalıklara karşı koruyucu olabileceği görüşü, ilk olarak Shirakawa ve arkadaşları tarafından yapılan bir epidemiyolojik çalışma ile öne sürülmüştür. 867 okul çağındaki Japon çocukta, PPD(+) olanların alerjik hastalığa yakalanma olasılığının, PPD(-) olanlara göre daha az olduğu, ayrıca serum total ve spesifik IgE düzeylerinin ve Th-2 tipi sitokinlerin daha düşük olduğu tespit edilmiştir[86]. Yapılan çeşitli çalışmalarda mikobakterilerin Th-1 yanıtını uyardığı ancak bazı sitokinler aracılığıyla Th-2 yanıtını baskıladığı gösterilmiştir[7]. Özellikle deneysel astım modellerinde mikobakteri antijenleri ile yapılan uyarıların histopatolojik değişikliklerde gerilemeye neden olduğu saptanmıştır[8].

Literatür incelendiğinde tüm bu çalışmaların yanında mikobakteriyel antijenlerin allerjik konjonktivit gelişimindeki etkinliği değerlendirilmemiştir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızın planlama aşamasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmaları Değerlendirme Komisyonu'ndan 28.03.2008 tarih ve 03/44 no ile Yerel Hayvan Etik Kurul onayı alınmıştır

Toplam 32 adet genç erişkin,6-8 haftalık, dişi BALB/C faresi 4 gruba ayrılarak çalışmaya başlanmıştır. Çalışma protokolü tabloda belirtildiği şekilde uygulanmıştır. (Tablo-1).

Tablo-1 Deney protokolünün uygulanışı.

	0. Gün	7. Gün	14. Gün	17 – 21. Gün
Grup I	**IP Al(OH)**	**IP $Al(OH)_3$**	**IP $Al(OH)_3$**	**Topikal PBS**
Grup II	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**Topikal OVA**
***Grup III**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**Topikal OVA**
****Grup IV**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**IP $Al(OH)_3$+OVA**	**Topikal OVA**

IP: İntraperitoneal
SC: Subkütan
$Al(OH)_3$: Alüminyum hidroksit, 20 mg/ml (Serum Fizyolojik İçerisinde) } Her birinden 0.1 ml
OVA: Ovalbümin, 200 µg/ml (Serum Fizyolojik İçerisinde) } Toplam 0.2 ml IP Enj
Topikal Ova Dozu: 5 mg/ml (PBS içerisinde), 1x1 / Gün
PBS: Fosfatla tamponlanmış tuz solüsyonu
BCG: Bacillus Calmette Guerin, (0.1 ml, $1x10^6$ CFU, Subkütan)

Duyarlılaştırma

Tablo 1'de anlatıldığı gibi; duyarlılaştırma icin, Grup 2,3 ve 4'deki farelere, sıfırıncı, yedinci ve ondördüncü günlerde 200 µg /ml ovalbumin (OVA) ve 20 mg/ml aliminyum hidroksit ($Al(OH)_3$) karışımının 0.2 ml'lik solusyonu intraperitoneal olarak enjekte edildi. Grup 1'deki farelere ise sıfırıncı, yedinci ve ondördüncü günlerde sadece $Al(OH)_3$ intraperitoneal olarak enjekte edildi.

*Grup III'de yer alan hayvanlara,BCG'nin önleyici etkinliğini değerlendirmek adına, ilk IP $Al(OH)_3$+OVA enjeksiyonundan 1 hafta önce BCG SC olarak enjekte edildi. (Tablo 1)

** Grup IV'de yer alan hayvanlara ise, BCG'nin tedavi edici etkinliğini değerlendirmek için, deney protokolünün bitiminden 1 hafta sonra BCG SC olarak enjekte edildi. (Tablo 1)

Antijenik uyarım ve deneysel alerjik konjonktiviti indüklemek icin, Grup 2,3,4'deki farelerin gözlerine PBS ile hazırlanmış Topikal OVA solusyonu (5mg/ml) 17-21. günlerde uygulandı. Grup 1'deki farelerin gözlerine ise 17-21. günlerde topikal PBS damlatıldı.(Tablo 1)

Çalışma sırasında ortaya çıkan klinik bulgular, antijenik uyarımın 20 dakika sonrasında, farelerin gruplarını bilmeyen aynı gözlemci tarafından değerlendirildi. Gözlerde ortaya çıkan yaşarma, kemozis, kapak ödemi ve konjonktival hiperemi 1 ile 3 arasında skorlandı ve elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Deney protokolünün bitiminde servikal dislokasyon yöntemi ile deney hayvanlarının yaşamına son verildi. İntrakardiak olarak her hayvandan insülin enjektörü yardımıyla 1 ml kan alındı ve alınan kan örneklerinde OVA spesifik IgE ölçümü yapıldı.

Biyokimyasal Parametrelerin Analizi : İçeriksiz biyokimya tüplerine alınan çalışma gruplarına ait periferik venöz kan örnekleri, 10 dakika bekletildikten sonra 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve daha sonra çalışılmak üzere - 80 ºC'de saklandı. Çalışma gününde serum örnekleri, oda ısısına gelene kadar bekletildikten sonra analiz edildi.

Bu çalışmada ovalbumin spesifik IgE (OVA sIgE) düzeyleri Mouse ovalbumin specific IgE(OVA sIgE) Elisa kit (Cusabio Biotech Co. Ltd., China ,Katalog No: CSB-E08914m) kullanılarak DSX™ Four-Plate Automated ELISA Processing System mikroELISA (Dynex technologies inc. Virginia, USA) cihazında ölçüldü. Fare ovalbumin spesifik IgE (OVA sIgE) hesaplama için, kontrol grubuna ait sonuçlar ile örneklere ait sonuçlar karşılaştırıldı. ODörnek＜2.1x OD negatif kontrol: Negatif

ODörnek ≥2.1x OD negatif kontrol: Pozitif

Yukardaki hesaplamaya göre çıkan sonuçlar pozitif veya negatif olarak değerlendirildi.

Göz kapakları ve konjonktiva sağlam kalacak şekilde, glob çıkarıldı. Çıkarılan doku örnekleri %10'luk formaldehit içerisinde fikse edildi ve rutin ışık mikroskobik doku takip yöntemi uygulanarak parafin bloklar içerisine gömüldü. Gömülen bu örneklerden 5 µm'lik kesitler alınarak, hematoksilen&eozin boyama ve toluidin blue boyama yapıldı ve bu kesitlerde eozinofil, mast hücre sayımı yapıldı. Ayrıca doku kesitlerinde immünohistokimyasal olarak interlökin-2 (IL-2), IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13,tümör nekrotizan faktör α (TNF-α), interferon □ (IFN-□) ve eotaksin boyaması yapıldı. İmmünohistokimyasal olarak elde edilen boyanma verileri 1 pozitiflik ile 4 pozitiflik arasında skorlanarak, elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi.

Işık Mikroskobik Doku Takibi ve İmmunohistokimyasal İşaretleme

1. Işık mikroskubu için dokular fikse edildikten sonra akarsuda yıkandı.
2. Artan derecelerde alkollerden geçirildi (%70, 80, 90, 96).
3. Ksilol ile şeffaflandırma işlemi yapıldı.
4. Ksilol + sıvı parafin karışımında bekletildi.
5. Dokular sıvı parafine gömüldü.
6. Mikrotomla adeziv lamlara 5µm kalınlığında kesitler alındı.
7. Kesitler deparafinizasyon işlemi için 60 ^{0}C etüvde 1 saat bekletildikten sonra oda ısısında 3X10 dakika ksilolden geçirildi.
8. Rehidratasyon işlemi için derecesi giderek azalan alkol serilerinden geçirilerek distile suya alındı.
9. Fiksasyon ve parafine gömülmekten kaynaklanan antijen maskelenmesini ortadan kaldırmak için tripsin (pH:7,6) içinde 37^{0}C'de (Bio-Optica Milano Spa®) 30 dakika muamele edildi.
10. Bu işlemden sonra taze hazırlanmış fosfatlı tuz tamponu (PBS) ile 3X5 dakika yıkandı.
11. Endojen peroksidaz aktivitesinin yok edilmesi için distile suda %12,5'luk olarak hazırlanmış hidrojen peroksit (H_2O_2) ile 10 dakika inkübe edildi.
12. PBS ile 3X5 dakika yıkandı.
13. Nonspesifik antikor bağlanmasını ve bundan dolayı oluşabilecek zemin boyamasını engellemek için Novocastra TM Protein Block ile 8 dakika inkübe edildi.

14. Dokuların üzerindeki protein blok uzaklaştırıldı ve yıkama yapılmadan PBS içinde %0,5'lik sığır serum albumin (BSA) ile sulandırılmış anti-INF-gamma antikoru (pbI İnterferon source 22500-1) 1/50, TNF- alpha (Abcam ab6671) 1/200, IL-2 (Santa Cruz sc-7896) 1/50,IL-5 (Santa Cruz sc-7887) 1/250, IL-6 (Abcam ab6672) 1/500, IL-10 (İnvitrogen ARC0102) 1/50, IL-12 (Abcam ab106270) 1/250, IL-13 (Abcam ab106732) 1/1000, Eotaksin-2 (Santa cruz sc-12253) 1/50 dilüsyonda damlatıldı. Kesitler nemlendirilmiş kapalı bir kap içinde gece boyunca inkübe edildi.
15. PBS ile 3X5 dakika yıkandı.
16. Eotaksin antikoru için sekonder antikor (Sigma aldrich E 8403) 1/2000 dilüsyonda damlatıldı. Diğer antikorlar için Biotin ile bağlanmış polivalan sekonder antikor (Scytek®) damlatılarak oda ısısında 10 dakika bekletildi.
17. PBS ile 3X5 dakika yıkandı.
18. Streptavidin peroksidaz enzim solüsyonu ile 10 dakika inkübe edildi.
19. PBS ile 3x5 dakika yıkandı.
20. Peroksidaz substratı olan diaminobenzidin (DAB) damlatıldı ve boyanma yoğunluğu mikroskop altında kontrol edilerek 3-5 dakika inkube edildi.
21. Distile suda 5 dakika yıkandı.
22. Hematoksilen ile 5-10 saniye zıt boyama yapıldı.
23. Akarsuda berraklaşana kadar yıkandı.
24. Kesitler derecesi artan alkollerden geçirilerek dehidrate edildi.
25. Ksilolden 3x5 dakika geçirildi.
26. Entellan ile kapatıldı.

Negatif kontrol amacıyla ayrılan kesitlere primer antikor içermeyen %0,5 PBS-BSA damlatıldı. Daha sonra protokole aynı şekilde devam edildi.

Dokular, ışık mikroskobu (Olympus®BX50 Olympus GmbH, Almanya) ile incelendi, aynı mikroskoba eklenmiş dijital kamera (Nikon®CoolpiX5000, Nikon Corp. Tokyo, Japonya) ile fotoğrafları çekildi.

Hematoksilen Eozin boyama altında, eozinofil hücre sayımı, Toluidin mavisi ile boyanan kesitlerde ise mast hücre sayımı yapıldı.

Literatürde daha önce yapılan benzer çalışma olmadığından ve sonuçlara ilişkin bir beklenti / hedef belirlenemediğinden (etki büyüklüğü) çalışma bir pilot çalışma olarak planlanmıştır. Bu nedenle Power analizi yapılamamaktadır.

Çalışmada gerekli olacak fare sayısının saptanabilmesi amacıyla en az 32 fare (her grupta 8 fare) olmak üzere ön çalışmaya başlanılması uygun görüldü. Çalışmadan elde edilecek verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde kategorik veriler frekans ve yüzde cinsinden, sürekli veriler ise verinin dağılım şekline bağlı olarak ortalama ± standart sapma ya da ortanca değer (yüzdelikler) cinsinden özetlenmiştir. İki grubun karşılaştırılmasında verinin dağılım şekline bağlı olarak parametrik (Student's t test, Paired Sample t test, Chi-Square test, Z test) yöntemler ya da non-parametrik (Mann-Whitney U test, Wilcoxon Rank test ve Mc-Nemar test, t test) yöntemler kullanıldı.

BULGULAR

Duyarlılaştırma ve antijen uyarımı sonrasında, yapılan klinik değerlendirmede topikal ovalbumin ile duyarlaştırılan farelerin gözlerini kıstıkları gözlemlendi. Klinik skorlama bulguların şiddetine göre 1 ile 3 arsında skorlandı. Ayrıca, Grup1 ile karşılaştırıldığında, Grup 2,3 ve 4'deki bazı farelerde belirgin olarak palpebral hiperemi, yaşarma ve kapak ödemi oluştuğu gözlemlendi. Tüm gruplarda saptanan klinik bulgular +1şiddetinde idi. Skorlama fare sayısına göre yapıldı.

Tablo 2: Duyarlanma sonrası klinik değerlendirme. Gruplarda klinik bulguların geliştiği denek sayıları (%) ve ki-kare testine göre istatistiksel anlamlılık($p<0.05$)

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	
GRUPLAR	n(%)	n(%)	n(%)	n(%)	P
Yaşarma	0	**37.5**	12.5	37.5	
Kemozis	0	**12.5**	12.5	12.5	
Hiperemi	12.5	**67.5**	25	37.5	0.039**
Kapak ödemi	0	**50**	12.5	25	0.021**

Klinik bulgular topikal antijenik uyarımdan 20 dakika sonra yapıldı ve kontrol grubuna göre, alerji grubu (Grup 2), önce BCG yaptığımız proflaksi grubu (Grup 3) ve sonra BCG uyguladığımız tedavi grubu (grup 4)' nda klinik bulgulara rastlandı. ** Özellikle alerji grubunda hiperemi ve kapak ödemi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti.(Tablo 2) Proflaksi ve tedavi grubunda da klinik oluştu, ancak anlamlı değildi.

Tablo 3: Biyokimyasal değerlendirmede ovalbumin spesifik IgE sonuçları.

Gruplar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
Ovalbumin spesifik IgE	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	< 0.05

Anestezi altında alınan intrakardiak kan örneğinin, biyokimyasal incelenmesinde Ova spesifik IgE düzeyleri bakıldı.(Tablo 3) Sonuçlar Grup 2-3 ve 4' te pozitif, kontrol grubunda ise negatif idi. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı idi($p<0.05$) ve başarılı bir sensitizasyon yapıldığını göstermekte idi.

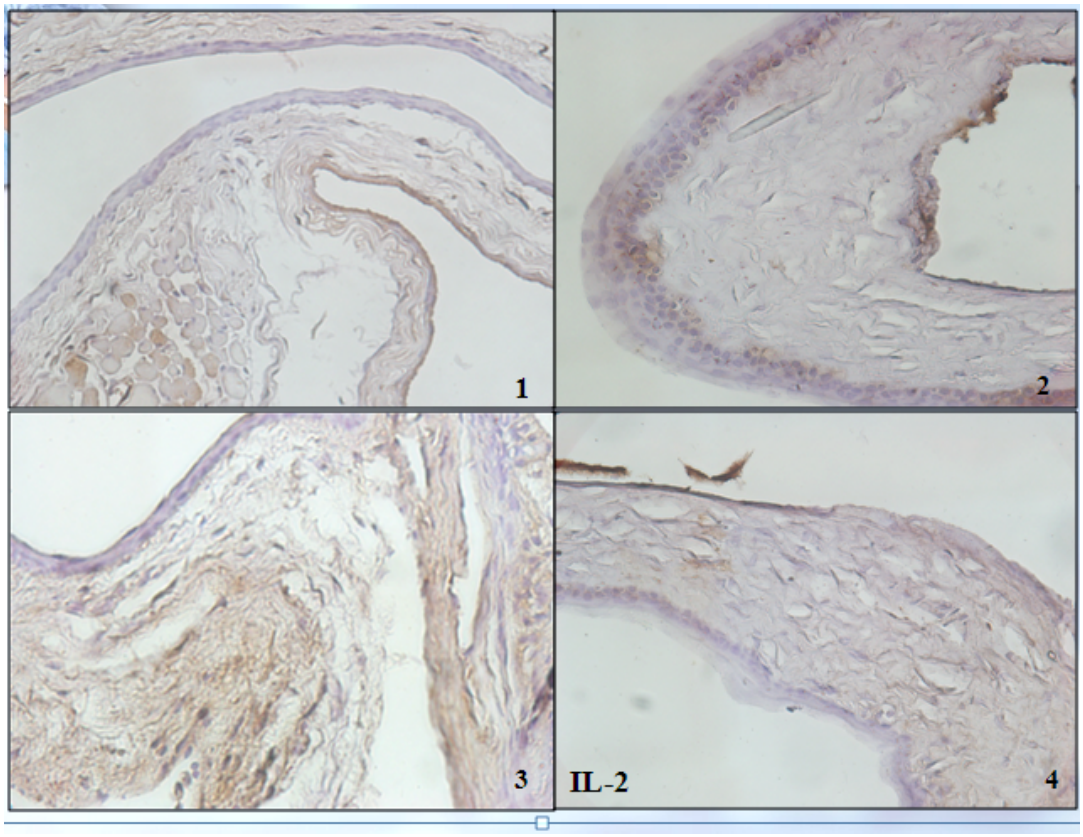
Tablo 4: IL-2'ninİmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri ($p<0.05$).

	IL-2				
Gruplar	+(%)	++(%)	+++(%)	++++(%)	P
Kontrol	12.5	75	12.5		0.031*
Allerji	62.5	25			0.017**
Profilaksi		37.5	50	12.5	0.019***
Tedavi	62.5	37.5			

*Kontrol grubu ile tedavi grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, tedavi grubunda IL-2 daha düşüktü.

**Allerji grubu ile proflaksi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu ve IL-2 düzeyi,proflaksi grubunda yüksek saptandı.

***Proflaksi grubu ile tedavi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. IL-2 düzeyiproflaksi grubunda yüksekti.(Tablo 4)



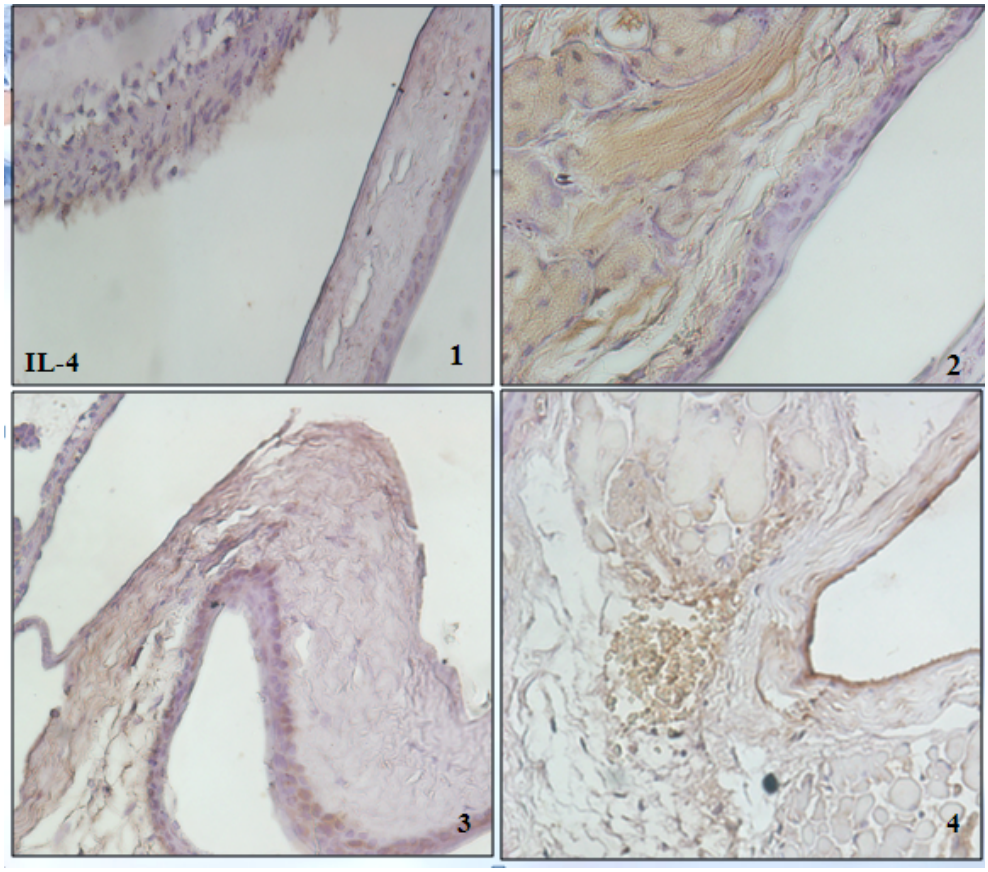
Resim 1: IL-2'nin immünhistokimyasal boyaması. Grup 3'te en belirgin boyanma izlenmekte.

Tablo 5: IL-4'ün İmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri($p<0.05$).

	IL-4				
Gruplar	**+(%)**	**++(%)**	**+++(%)**	**++++(%)**	**P**
Kontrol	**87.5**	**12.5**			**0.002***
Allerji		**50**	**50**		**0.002****
Profilaksi	**87.5**	**12.5**			
Tedavi	**50**	**37.5**	**12.5**		

*Kontrol grubu ile alerji grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, alerji grubunda IL-4 daha yüksekti.

**Allerji grubu ile proflaksi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu ve IL-4 düzeyi,proflaksi grubunda düşük saptandı.(Tablo 5)



Resim 2: IL-4'ün immünhistokimyasal boyaması. Grup 2 ve 4'te en belirgin boyanma izlenmekte.

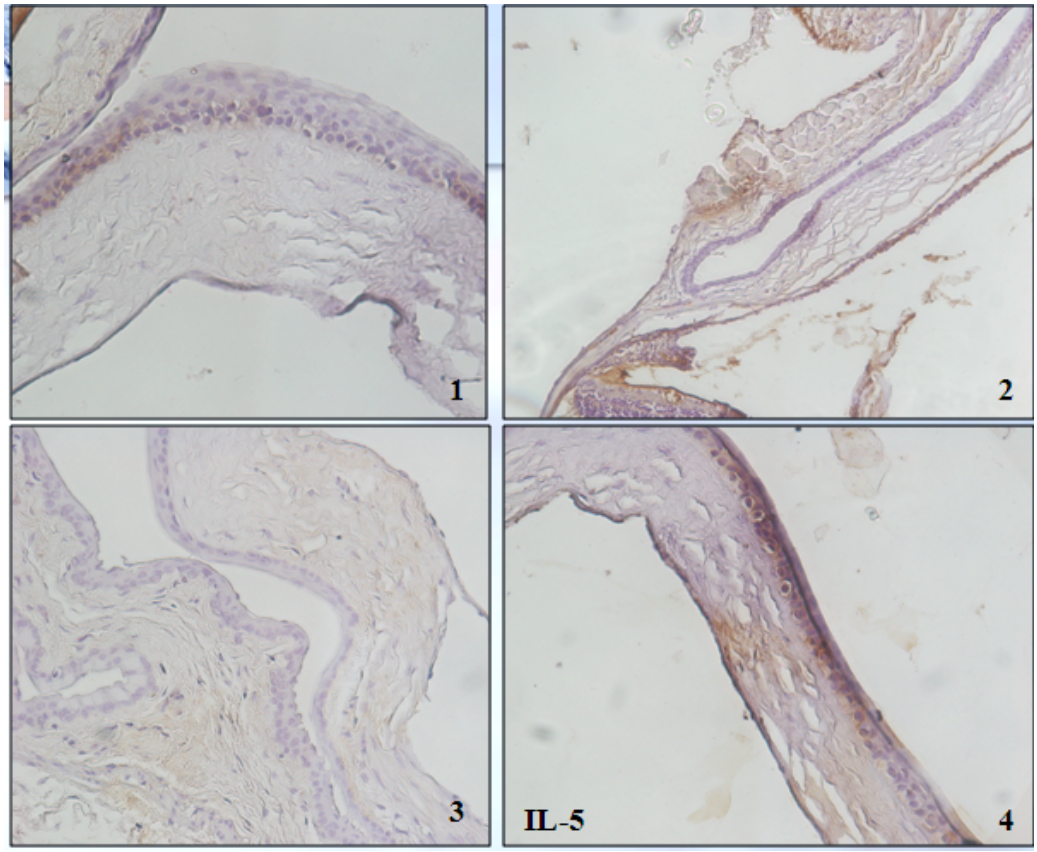
Tablo 6: IL-5'in İmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri ($p<0.05$).

	IL-5				
Gruplar	**+(%)**	**++(%)**	**+++(%)**	**++++(%)**	**P**
Kontrol	**100**				**0.000***
Allerji	**12.5**	**87.5**			**0.000****
Profilaksi	**100**				**0.000*****
Tedavi	**100**				

*Kontrol grubu ile alerji grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, allerji grubunda IL-5 daha yüksekti.

**Allerji grubu ile proflaksi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu ve IL-5 düzeyi,proflaksi grubunda düşük saptandı.

***Allerji grubu ile tedavi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. IL-5 düzeyi allerji grubunda yüksek, tedavi grubunda düşüktü.(Tablo 6)



Resim 3: IL-5'in immünhistokimyasal boyaması. Grup 2 ve 4'te en belirgin boyanma izlenmekte.

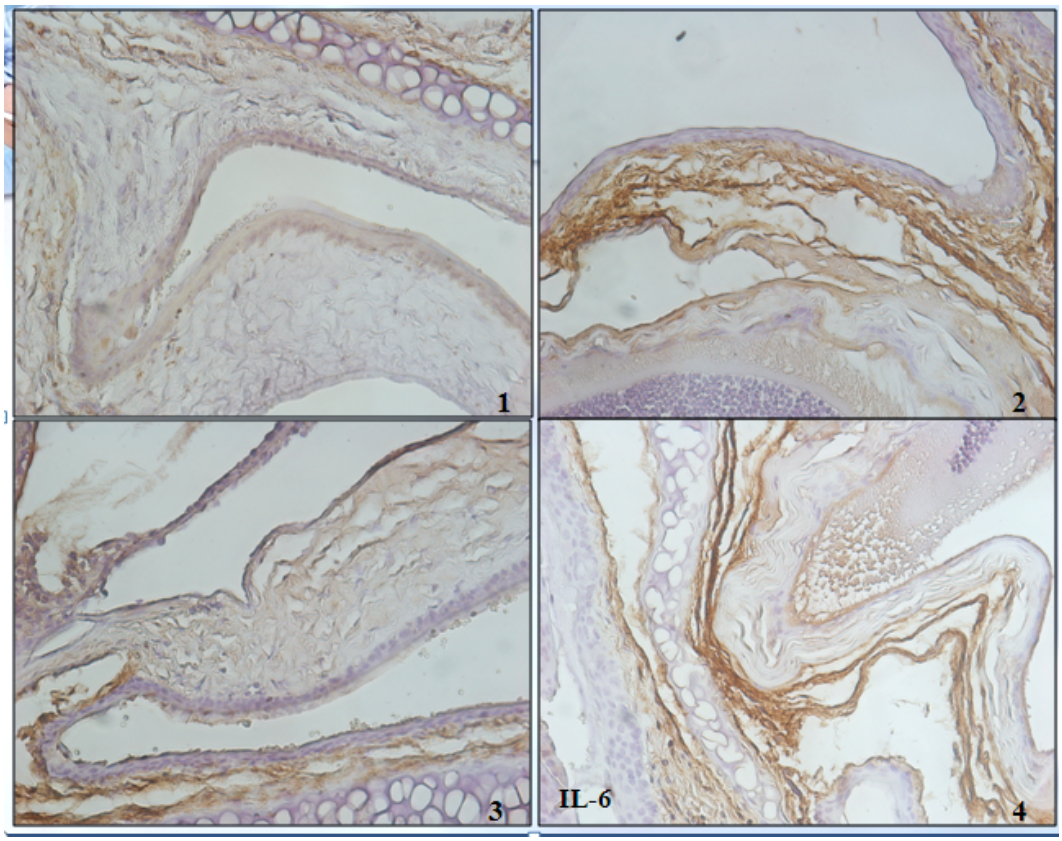
Tablo 7: IL-6'nın İmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri ($p<0.05$).

	IL-6				
Gruplar	**+(%)**	**++(%)**	**+++(%)**	**++++(%)**	**P**
Kontrol	**12.5**		**87.5**		**0.030***
Allerji		**12.5**	**87.5**		**0.012****
Profilaksi		**75**	**25**		**0.006*****
Tedavi			**67.5**	**37.5**	

*Kontrol grubu ile proflaksi grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, proflaksi grubunda IL-6 daha düşüktü.

**Allerji grubu ile proflaksi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu ve IL-6 düzeyi,proflaksi grubunda düşük saptandı.

***Proflaksi grubu ile tedavi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. IL-6 düzeyi tedavi grubunda yüksek, proflaksi grubunda düşüktü.(Tablo 7)



Resim 4: IL-6'nın immünhistokimyasal boyaması, Grup 2 ve 4'te en belirgin boyanma izlenmekte.

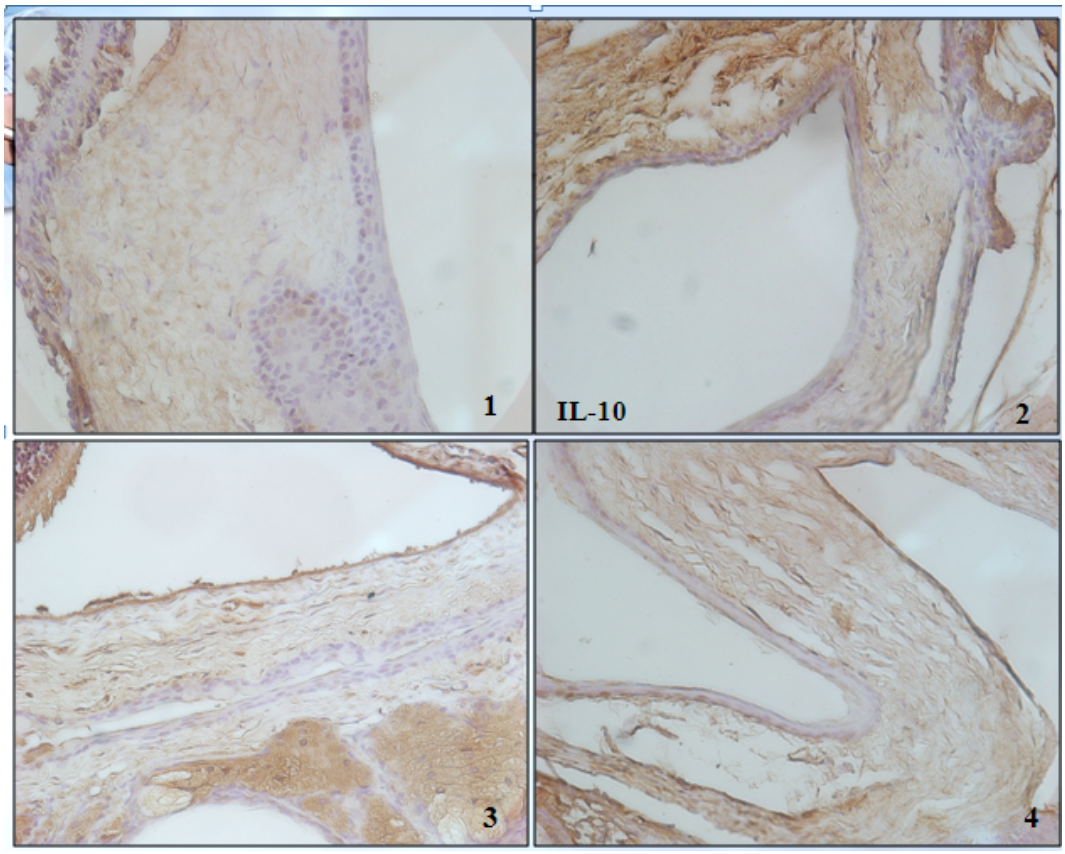
Tablo 8: IL-10'un İmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri($p<0.05$)

	IL-10				
Gruplar	**+(%)**	**++(%)**	**+++(%)**	**++++(%)**	**P**
Kontrol	**12.5**		**62.5**	**25**	**0.031***
Allerji	**12.5**		**50**	**37.5**	**0.005****
Profilaksi	**12.5**		**12.5**	**75**	**0.018*****
Tedavi	**12.5**			**87.5**	

*Kontrol grubu ile proflaksi grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, proflaksi grubunda IL-10 daha yüksekti.

**Kontrol grubu ile tedavi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu ve IL-10 düzeyi, tedavi grubunda yüksek saptandı.

***Allerji grubu ile tedavi grubu arasında anlamlı fark mevcuttu. IL-10 düzeyi tedavi grubunda yüksekti.(Tablo 8)

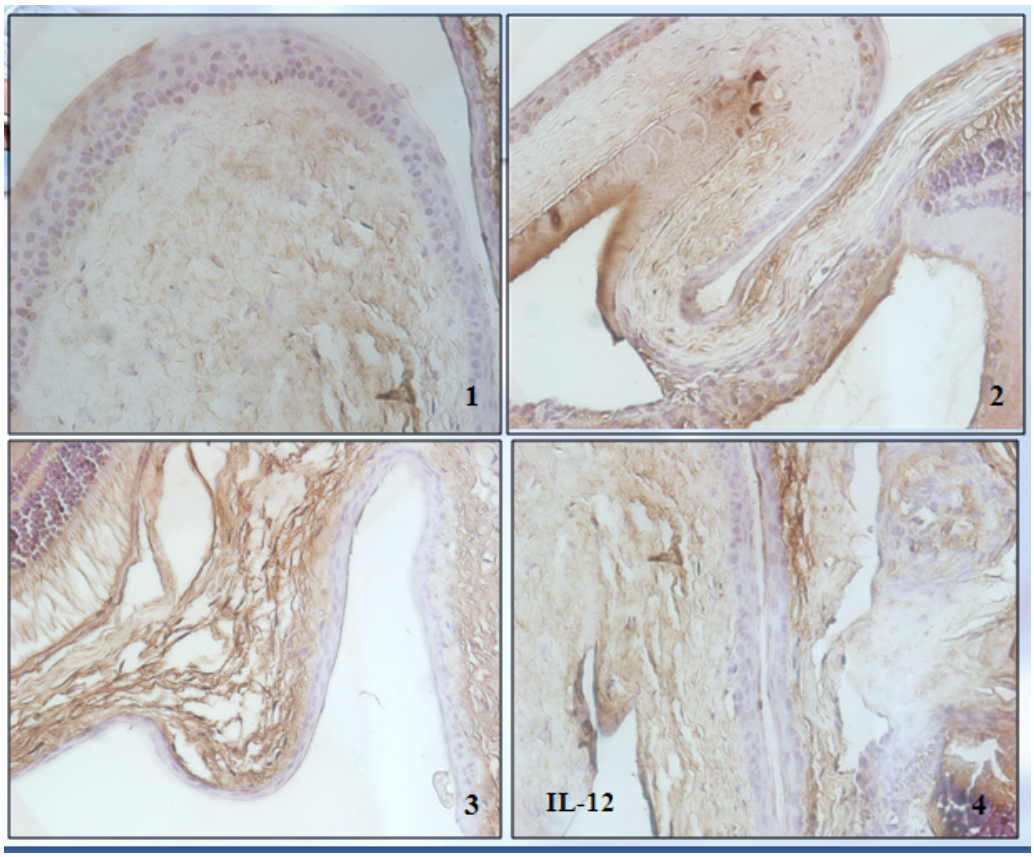


Resim 5: IL-10'un immünhistokimyasal boyaması.

Tablo 9: IL-12'nin İmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri ($p<0.05$).

	IL-12				
Gruplar	**+(%)**	**++(%)**	**+++(%)**	**++++(%)**	**P**
Kontrol			**75**	**25**	**0.046***
Allerji			**50**	**50**	
Profilaksi			**25**	**75**	
Tedavi			**62.5**	**37.5**	

*Kontrol grubu ile proflaksi grubu arasında istatistiksel anlamlı fark mevcuttu, proflaksi grubunda IL-12 daha yüksekti.(Tablo 9)



Resim 6: IL-12'nin immünhistokimyasal boyaması. Grup 3'te en belirgin boyanma izlenmekte.

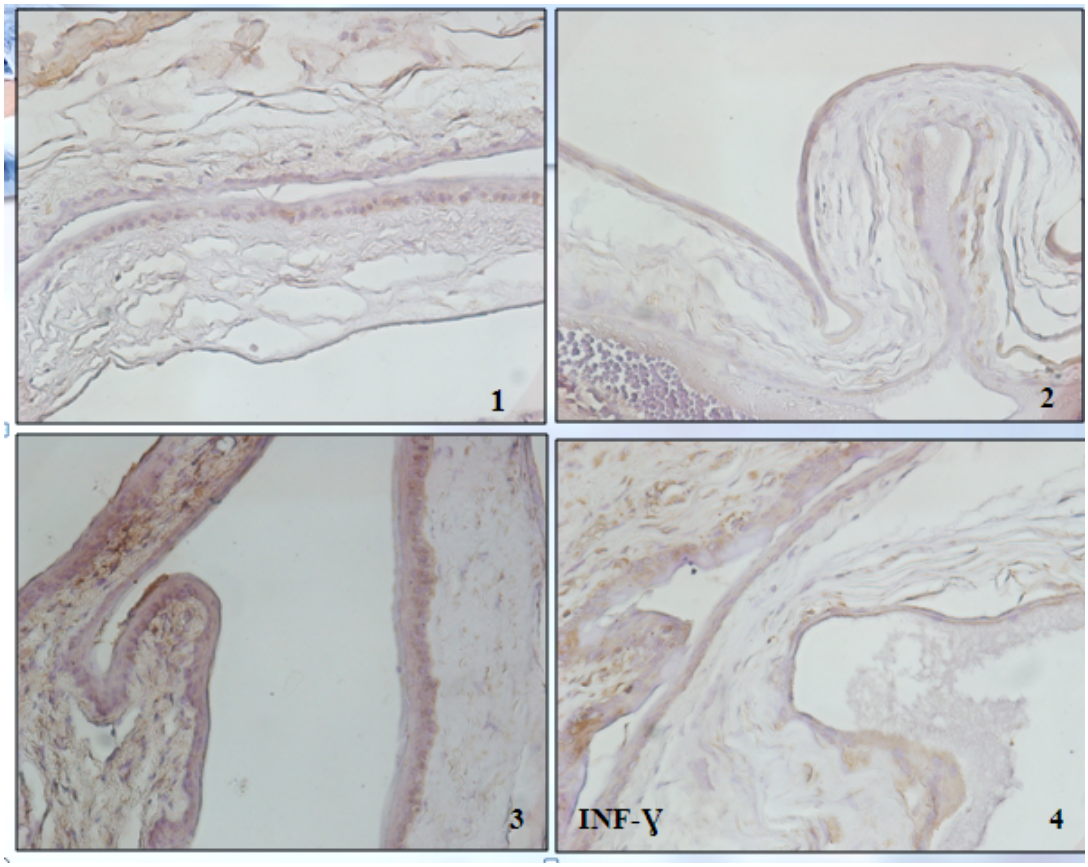
Tablo 10: INF-gamma'nın İmmünhistokimyasal boyama sonuçları. +1 ile +4 arası boyanma yüzdeleri ve ki-kare testi ile anlamlılık değerleri (p<0.05).

	INF-gamma				
Gruplar	**+(%)**	**++(%)**	**+++(%)**	**++++(%)**	**P**
Kontrol	**50**	**50**			**0.187***
Allerji	**50**	**50**			**0.187****
Profilaksi	**12.5**	**50**	**25**	**12.5**	**0.124*****
Tedavi	**62.5**	**12.5**	**12.5**		

*Kontrol grubu ile proflaksi grubu arasında, INF-gamma düzeyi proflaksi grubunda daha yüksekti, ancak anlamlı değildi.

**Allerji grubu ile proflaksi grubu arasında, INF-gamma düzeyi proflaksi grubunda daha yüksekti, ancak anlamlı değildi.

***Proflaksi grubu ile tedavi grubu arasında, INF-gamma düzeyi proflaksi grubunda daha yüksekti, ancak anlamlı değildi.(Tablo 10)



Resim 7: INF-gamma'nın immünhistokimyasal boyama sonuçları.

İmmünhistokimyasal boyamalar dışında, hematoksilen eozin ile eozinofil hücre sayımı, Toluidin mavisi ile boyamada mast hücre sayımı yapıldı.

Tablo 11: Alan başına düşen ortalama eozinofil sayıları ve istatistiksel anlamlılık ($p<0.05$).

	EOZİNOFİL	
GRUPLAR	**N(Ort.±SD)**	**P**
Kontrol	**0.0 ± 0.0**	**0.000***
Allerji	**2.38 ± 1.51**	**0.000***
Profilaksi	**0.13 ± 0.35**	**0.000***
Tedavi	**0.81 ± 1.23**	

*Allerji grubunda, kotrol grubu, proflaksi grubu ve tedavi grubuna göre anlamlı fark mevcuttu.(Tablo 11)

Tablo 12: Alan başına düşen ortalama mast hücre sayıları ve istatistiksel anlamlılık ($p<0.05$).

	MAST HÜCRE	
GRUPLAR	**N(Ort.±SD)**	**P**
Kontrol	**0.0 ± 0.0**	**0.000***
Allerji	**5.38 ± 1.92**	**0.000****
Profilaksi	**0.25 ± 0.46**	**0.658*****
Tedavi	**2.75 ± 1.04**	

*Allerji grubu ile hem kontrol, hem proflaksi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.

**Tedavi grubu ile hem kontrol, hem proflaksi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.

***Kontrol grubu ile proflaksi grubu arasında, mast hücre sayıları arasında fark yoktu.(Tablo 12)

TARTIŞMA

Son yıllarda gelişmiş ülkelerde alerjik hastalıkların prevalansında giderek artış olduğu görülmektedir. Bu artışın nedeni sadece genetik faktörler, yatkınlık ya da tanı yöntemlerindeki ilerlemeler ile açıklanamamaktadır ve kesin olmamakla birlikte, batı tipi yaşam tarzı, küçülen çekirdek aile yapısı, yaşam standartlarında iyileşme, çocukluk çağı enfeksiyonlarının azalması, alerjenlere maruziyetin artması, sigara dumanına, hava kirliliğine maruziyetin artması ve immünizasyon programlarındaki değişimlerin sorumlu tutulmaktadır[87]. Bu durum hijyen hipotezine dikkati çekmektedir ve bununla ilgili en çarpıcı açıklama ilk olarak 1989 yılında David Strachan tarafından yapılmıştır. Strachan'a göre; '' Son yüzyıl içerisinde aile yapısının küçülmesi, aynı evde yaşayan birey sayısının azalması, ev içi konforun iyileşmesi, kişisel temizlik standartlarındaki yükselme, aile içindeki bireyler arasında çapraz enfeksiyonları azaltmıştır. Ve bur durum atopik hastalıkların yaygınlaşmasında önemli olabilir''[78]. Başlangıçta hijyen hipotezinin en önemli dayanağı, alerjik hastalıkların artmış prevalansı ile artmış enfeksiyon yükünün dolaylı belirleyicileri arasındaki negatif korelasyonun gösterildiği epidemiyolojik çalışmalar olmuştur[79]. 17 414 İngiliz çocuk ile yapılan bir çalışmada saman nezlesi ile evdeki çocuk sayısı arasında negatif korelasyon saptanmıştır ve aile içindeki çocuk sayısının fazla olmasının koruyucu etkisi olacağı ileri sürülmüştür[78].

Hijyen hipotezinin immünolojik temelinde Th-1 ve Th-2 T Helper hücrelerinin rol oynadığından söz edilmektedir. Bu 2 hücre grubu karşılıklı inhibitör ve regulatör özelliklere sahiptir. Çevresel faktörlerin, özellikle çocukluk döneminde geçirilecek sistemik enfeksiyonların varlığı ya da yokluğunun genetik yatkınlığı olan çocuklarda dominant Th hücre fenotipinin belirlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir[80].

Gebelik süresince ve yaşamın ilk aylarında Th-2 bağışıklık yanıtı baskındır[81]. Yaşamın erken dözeminde karşılaşılan mikrobiyal ajanlar, özellikle intraselüler patojenler, doğuştan bağışıklığın ana hücrelerinden olan makrofajlardan IL-12 üretimine sebep olur. IL-12, Th-1 hücrelerinin aktivasyonunda en önemli sitokindir. Hijyen hipotezine göre, çocukluk çağında

sistemik bir ajan ile karşılaşılmaz ise, IL-12 üretimi olmayacak ve Th-2 yanıtı baskın hale geçecektir. Bu da genetik olarak yatkın olan çocuklarda atopi gelişimine neden olacaktır. Yani, Th-1 yolunu güçlendirecek olan enfeksiyonlara maruziyetin engellenmesi, alerjik hastalık riskini artıracaktır[82].

Yapılan bir epidemiyolojik çalışmada, kreş, yuva, gündüz bakım evleri gibi kalabalık ortamda büyüyen çocuklarda, atopi ve alerjik hastalık prevalansı araştırılmış, yaşamın birinci yılında kreşe verilen çocuklarda, 1 yaşından sonra (5-14 yaş) verilenlere göre saman nezlesi ve astım prevalansı belirgin düşük saptanmış[88]. Yine çiftçilikle uğraşan ailelerde, alerjik hastalıkların daha az görüldüğü çeşitli çalışmalarla doğrulanmıştır. Kırsal yaşamda hayvanlar ve onların atıklarına günlük maruziyet, orofekal patojenlerin sürekli teması atopiden korurken, yüksek sosyoekonomik düzey ise alerjik hastalık prevalansında artışa neden olmaktadır[89,90]. İntestinal mikrofloranın alerjik hastalık gelişimi üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, 2 yaş allerjik olguların intestinal florasında Lactobasillus ve bifidobakterilerin, alerjik olmayanlara göre daha az olduğu saptanmıştır. Bazı Lactobasillus türlerinin IL-12 üretimini stimüle edip, INF sentezini artırabildiği ve IgE sentezini inhibe edebildiği gösterilmiştir[91,92]. Yine plasebo kontrollü, randomize, çift kör bir çalışmada perinatal probiyotik(Lactobasillus içeren mama) kullanımının, yaşamın ilk 2 yılında atopik egzema gelişimini yarı yarıya azalttığı gösterilmiştir[93].

Herpes simpleks virus, Toksoplazma gondi, Helicobacter pylori ve Hepatit A gibi zayıf hijyen göstergesi olan enfeksiyonlara maruziyetin, daha düşük alerjik rinit, astım ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, Mycobacterium tuberculosis infeksiyonu, çevresel atipik mikobakteri maruziyeti ve BCG aşısının Th1 hücrelerinden INF-□ üretimini artırarak, Th2 cevabının inhibisyonu ile alerjik hsatalıklardan koruduğu bildirilmiştir[94-96].

Mikobakteriler normalde insan florasında bulunmamakla beraber, toprakta ve suda 80'i aşkın türü mevcuttur. Mikobakteriler güçlü bir Th-1 tipi immün yanıt uyaranıdır[83]. Mikobakterilerin lipoproteinleri makrofajlardaki TLR'e bağlanarak, IL-12 yapımına neden olur. Salınan IL-12, Th-1 ve NK hücrelerini uyararak INF-□ yapımına sebep olur. INF-□ da makrofajları uyarıp daha fazla IL-12 üretimine sebep olur. Başta Avrupa olmak üzere ABD, Kanada,Avustralya ve Yeni Zelanda'yı içeren 23 ülkeden,235 477 çocuğu kapsayan epidemiyolojik bir analizde, bu ülkelerin Dünya Sağlık Örgütüne bildirdiği Tüberküloz hastalığı

bildirim hızı ile astım, alerjik rinokonjonktivit ve atopik egzema prevalansı karşılaştırılmıştır. Ve bu bildirim hızları arasında negatif korelasyon saptanmıştır[84]. Tip-1 bağışıklık yanıtını uyaran Mycobacterium Tuberculosis'in atopi ile ilişkisi bu yüzden dikkat çeken bir konudur.PPD ya da Dermatofagoides pII ile IgE sentezi uyarılmış PPD(-) atopik çocuklarda, BCG aşısından sonra IgE sentezinin azaldığı gösterilmiş ve aşının Th-2 yanıtını baskıladığı yönünde yorumlanmıştır[85].

Erken yaşta BCG ile aşılanmanın alerjik hastalıklara karşı koruyucu olabileceği görüşü, ilk olarak Shirakawa ve arkadaşları tarafından yapılan bir epidemiyolojik çalışma ile öne sürülmüştür. 867 okul çağındaki Japon çocukta, PPD(+) olanların alerjik hastalığa yakalanma olasılığının, PPD(-) olanlara göre daha az olduğu, ayrıca serum total ve spesifik IgE düzeylerinin ve Th-2 tipi sitokinlerin daha düşük olduğu tespit edilmiştir[86]. Başka bir çalışmada 400 çocuk, doğumda BCG yapılmış olanlar ve yapılmayanlar olarak 2 gruba ayrılmış ve alerji deri testleri yapılmış. BCG yapılmış olan grupta deri testi pozitifliği% 21 iken, BCG olmayan grupta % 40 olarak saptanmıştır[97]. Başka bir çalışmada ise BCG hayatın ne kadar erken döneminde uygulanırsa, allerjik hsatalıkları o kadar çok engellediği saptanmıştır[98]. Ancak negatif sonuç bildiren çalışmalarda olmuştur. İskandinav ülkelerinden yapılan bir çalışmada, hayatın ilk yılında yapılan BCG ile atopi gelişimi arasında bir korelasyon saptanmamıştır[99].

Çocuklarda yapılan bir aşılama çalışmasında, Arkwright ve arkadaşları, atopik dermatitli çocuklara tek doz intradermal Micobakterium vaccae uygulamışlar ve atopik dermatit bulgularını anlamlı olarak azalttığını saptamışlar[100].

Özellikle deneysel astım modellerinde mikobakteri antijenleri ile yapılan uyarıların histopatolojik değişikliklerde gerilemeye neden olduğu saptanmıştır[8]. BCG veya M.vaccae'nın uygulandığı hayvan deneylerinin ilkinde, ısı ile öldürülmüş M.vaccae SC yolla uygulanmış ve IgE yapımını baskıladığı ve IL-5 yapımını engellediği gösterilmiş[101]. Başka bir fare deneyinde Erb ve arkadaşları, deneysel astım modelinde BCG'yi intranazal uygulamışlar ve pulmoner eozinofiliyi, ovalbumine karşı IL-5 yapımını anlamlı şekilde azalttığını göstermişlerdir[102]. Herz ve arkadaşları ise fare deneylerinde, BCG'yi intravenöz uygulamışlar, INF-□'yı arttırdığını, IL4-5 ve IgE'yi ise azaltıp, hava yolu eozinofilik infiltrasyonunu belirgin azalttığını göstermişlerdir[103]. Ülkemizde

yapılan Barlan ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada, balb/c farelere erken dönemde ölü M.bovis ya da M.bovis+M.vaccae ile aşılama yapılmış, ardından IP ovalbumin ile duyarlandırılmış ve her iki aşılamanın da serum IgE düzeyini azalttığı gösterilmiş[104]. Yine aynı grubun yaptığı başka bir çalışmada Balb/c farelere M.vaccae aşısı yenidoğan döneminde yapılmış, ardından kronik astım modeli geliştirilmiş ve aşının astıma bağlı kronik hava yolu değişikliklerini engelleyebildiği gösterilmiş[105]. Başka bir çalışmada ise önce deneysel astım modeli oluşturulmuş, ardından M.vaccae hem SC, hem de intratrakeal yoldan uygulanmış ve her iki uygulama yolununda akciğerlerdeki histopatolojik değişiklikleri azalttığı gösterilmiştir[106].

Bizim çalışmamızda bulgular değerlendirildiğinde klinik bulgular, tüm gruplarda kontrol grubuna göre, hiperemi, yaşarma, kemozis ve kapak ödemi fazla idi. Allerji grubunda en fazla olup, özellikle hiperemi ve kapak ödemi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı idi. Önce BCG uygulayıp sonra alerji oluşturduğumuz 3. grupta klinik bulgular en az artış göstermişti. Sonradan BCG yaptığımız grupta (4.grup) ise klinik bulgular oluşmakla birlikte anlamlı değildi.

Alınan kan örneğinin biyokimyasal incelemesinde, alerji grubu, proflaksi grubu ve tedavi grubunun her üçünde de Ovalbumin spesifik IgE düzeyleri pozitif saptandı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi.Bu ise bize başarılı bir şekilde duyarlılaştırma yapabildiğimizi göstermektedir.

İmmünhistokimyasal değerlendirme sonuçlarına bakıldığında, IL-12 Th-1 yolağının ana belirleyicisi olup, makrofajlardan salınmaktadır. Gelen antijenin tipine bağlı olarak, ki bizim çalışmamızda bu Mikobakterium Bovis proteini idi, Th-1 yolağı devreye girer. Çalışmamızda IL-12 diğer gruplara göre önce BCG uyguladığımız 3. Grupta en yüksekti. Ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı idi.

IL-2, Th-1 yolağı aktive olduğunda Th-1 tarafından salınan ana sitokindir ve önce otokrin etki ile kendini daha çok aktive eder. INF-gamma ile sinerjist etki yapar. IL-2 düzeyi 3. Grupta en yüksek idi ve allrji grubu ve sonradan BCG yaptığımız 4. Grup ile aralarında anlamlı fark mevcuttu.

IL-4, antijenin tipine bağlı olarak, ortamda mevcut ise, Th-2 yolağını aktive eden ve alerji kaskadını başlatan ana sitokindir. Ortamdaki IL-4 önce otokrin etki ile Th-2'leri daha çok aktive eder. Ayrıca hem B hücreleri aktive eder

IgE yaptırır, hem de INF-gamma aktivitesini baskılamaya çalışır. IL-4 düzeyi çalışmamızda, alerji grubu ve sonradan BCG yaptığımız grupta belirgin yüksekti. Özellikle alerji grubu, kontrol grubu ve proflaksi grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu.

IL-5, yine alerji yolağının ana sitokinlerinden olup, Th-2 hürelerinden salgılanmakta, eozinofillerin üreme ve farklılaşmasında, ayrıca eozinofil kemotaksisinde rol oynamaktadır. IL-5 çalışmamızda, alerji grubunda en yüksek olup, diğer 3 grupla da karşılaştırıldığında anlamlı idi.

IL-6 düzeyleri tüm gruplarda yüksek idi. Bunda IL-6 nın sadece Th-2 den değil, ayrıca konjonktiva epitelinden, mast hücrelerden, eozinofillerden, antijen sunan hücrelerden, yani pek çok yerden salgılanmasının etkili olduğu düşünüldü. Ancak önemli olan nokta, IL-6 düzeyinin, önce BCG yapılan 3. Grupta en düşük seviyede olduğu ve bunun diğer tüm gruplara göre anlamlı olması idi.

IL-10, Th-2 hücrelerden, mast hücre ve eozinofillerden salınabilmekte. Ana görevi Th-1 yolağını, INF-gamma yı baskılamak olsa da, aslında tüm sitokinler ve tüm yanıtlar üzerinde inhibitör etkisi mevcuttur. Amaç immün yanıtı dengede tutmak ve aşırıya kaçmasını önlemektir. Çalışmamızda da bunları destekler nitelikte IL-10 düzeyi tüm gruplarda yüksek saptandı.

INF-gamma, IL-12 ile aktive Th-1 hücrelerinde salınıp, makrofajları aktive eden esas sitokindir. Böylece makrofajlar daha çok Il-12 yapar, daha çok Th-1 aktive olur, tekrar INF-gamma yapar. Bu kısır döngü bu şekilde sürer ve inhibitör, dengeleyici sitokinler sayesinde dengede tutulur. Çalışmamızda INF-gamma düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, BCG yapılan her iki grupta da artmıştı. Allerji grubunda kontrol grubunda fark yoktu. Önce BCG yapılan grupta, en yüksek olmakla beraber bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bunun sebebi olarak, INF-gamma nın fonksiyonu henüz net değildir.Yapılan bir çalışmada INF-gamma kapatılmış farelerde, bekelenenin aksine alerji oluşmadığı gösterilmiş, yine başka bir çalışmada deneysel alerji modelinde, INF-gamma nın alerji grubunda da artış gösterdiği saptanmış. Yani, beklenenden daha karmaşık ve iç içe geçmiş bir kaskad söz konusu olabilir.

Özetle, yapılan immünhistokimyasal değerlendirmede, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, alerji grubunda ve sonradan BCG yapılan grupta IL-4,

IL-5, IL-6 ve IL-10 düzeyleri anlamlı yüksek, önce BCG yaptığımız grupta ise IL-2, IL-12 ve INF-gamma düzeyleri anlamlı yüksekti. Eozinofil ve mast hücre sayımları, alerji grubu ve sonra BCG yaptığımız grupta belirgin yüksek iken, önce BCG yaptığımız grupta anlamlı düşüktü, neredeyse kontrol grubu ile aynıydı. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlar, BCG'nin alerji oluşumundan önce uygulandığında, immün yolağı Th-2 allerji yanıtından, TH-1 yoluna kaydırdığını, alerjik sensitizasyonu klinik, biyokimyasal ve immünhistokimyasal olarak baskıladığını göstermekte.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Allerjik hastalıkların gelişiminde başta genetik ve çevresel faktörler olmak üzere, yaşam tarzı, aile biçim, hayatın erken dönemlerinde geçirilen enfeksiyonlar gibi pek çok faktör etkilidir. İmmün yolağın Th-1 yönüne çevrilmesi ile alerjik hastalıkların klinik ve laboratuar bulgularının gerilediğini gösteren pek çok çalışma mevcuttur. BCG aşısının erken dönemde uygulanmasının koruyucu etki yapıp yapmadığı tartışmalıdır. Yapılan çalışmalardaki BCG dozunun, uygulama şemasının standardize olmaması, çoğunun retrospektif olması sonuçları tartışmalı kılmaktadır.

Literatür incelendiğinde tüm bu çalışmaların yanında mikobakteriyel antijenlerin allerjik konjonktivit gelişimindeki etkinliği değerlendirilmemiştir.Biz çalışmamızda, BCG aşısının allerji gelişiminden önce uygulanması ile, allerjinin Th-2 yolağı ile ilgili hücre ve sitokinlerde azalma yaptığını, yolağı Th-1 yönüne çevirdiğini, alerjinin klinik, biyokimyasal ve immünhistokimyasal olarak gerilediğini saptadık.Yapılacak çok merkezli, randomize ve standardize edilmiş aşı ile yapılacak yeni çalışmalar sonucunda mikobakterilerin allerjik konjonktivit gelişimindeki etkinliği ortaya konacak, olumlu sonuçlar alınması halinde çalışmalar klinik uygulamaya yansıtılabilecektir. Böylelikle özellikle tedavisinde çok güçlükler çekilen, başta vernal konjonktivit olmak üzere alerjik göz hastalıklarında immünoterapi uygulanması gündeme gelecektir.

KAYNAKLAR

1. Tomaç N. Allerjik konjonktivitler. T Klin J Med Sci 2004;24:396-410.
2. Woolcock AJ, Peat JK. Evidence fort he increase in asthma worldwide. In: Ciba Foundation Editor. The Rising Trends in Asthma. John Wiley & Sons, Chiester 1997;122-39.
3. Dart JKG, Buckley RJ, Monnickenda M, Prasad J. Perennial allergic conjunctivitis: definition, clinical characteristics, and prevalence. Trans Ophthalmol Soc UK 1986;105:513-20.
4. Von Hertzen LC. The hygiene hypothesis in the development of atophy and asthma stil a matter of controversy? Q J Med 1998;91:767-71.
5. Strachan DP. Hay fever, hygiene and household size. BMJ 1989;299:1259-60.
6. Uchio E, Ono SY, Ikezawa Z, Ohno S. Tear levels of interferon-gamma, interleukin (IL)-2, IL-4 and IL-5 in patients with vernal keratoconjunctivitis, atopic keratoconjunctivitis and allergic conjunctivitis. Clin Exp Allergy 2000;30:103-9.
7. Barlan I. Mikobakteriler ve allerji. T Klin Allerji Astım Derg 2003;5:105-9.
8. Ozdemir C, Akkoc T, Bahceciler NN, Kucukercan D, Barlan IB, Basaran MM. Impact of mycobacterium vaccae immunization on lung histopathology in a murine model of chronic asthma. Clin Exp Allergy 2003;33:266-70.
9. Kılıçturgay K. İmmünolojiye giriş, 2. ed. Bursa: Güneş Kitabevi, 1991; 1-150.
10. Friedlaender MH. Allergy and immunology of the eye, 2. ed. New York: Raven Press. 1993;1-325.
11. Çetin ET. İmmünoloji, 1. ed. İstanbul: Bayda Yayınevi, 1981; 1-235.
12. Armstrong RA. The immune system and the eye. Ophtalmic Physiol Opt 1998 Sep; 18(2): 40-8.
13. Lewinson W, Jawetz E. İmmünoloji. In: Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji, 5. ed. Çeviri Editörü: İsmail H Dündar. İstanbul: Barış Kitabevi/Appleton ve Lange, 1998; 327-400.

14. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology, 3. ed. London: Mosby, 1993; 1.1-25.16.
15. Akbatur HH, Şengün A. Behçet Hastalığı, Endoftalmiler ve Üveitler, 1. ed. Ankara: Atlas Kitabevi, 2002; 1-481.
16. Akpek EK, Gottsch JD. Immune defense at the ocular surface. Eye 2003;17(8):949-56.
17. Meek B, Speijer D. The ocular humoral immune response in health and disease. Prog Retin Eye Res 2003 May; 22(3): 391-415.
18. Rao NA. Uveitis and other intraocular inflamations. In: Yanoff M, Duker JS, eds. Ophtalmology, 2. ed: Philadelphia: Mosby, 2004; 1105-238.
19. Ishimoto S, Zhang J. Antigen-presenting cells in experimental autoimmune uveoretinitis. Exp Eye Res 1998; 67: 539-48.
20. Srivastava A, Sur S. The Role of Eosinophils in Ocular Allergy. Int Ophthalmol Clin 2003 Winter; 43(1): 9-25.
21. Yabuki K, Inoko H, Ohno S. HLA testing in patients with uveitis. Int Ophtalmol Clin 2000 Spring; 40(2): 19-35.
22. Abbas AK, Lichtman AH. Cellular and molecular immunology, 5. ed. Saunders, 2003: 243-75.
23. Kültürsay N. Fetal ve neonatal proenflamatuar sitokin yanıtı - perinatal beyin ve akciğer zedelenmesi ile ilişkisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2003; 46(4): 299-307.
24. Turul T, Ersoy F. Dostu düşmanı ayıran bir doğal immünite bileşeni:TLR. Hacettepe Tıp Dergisi, 2004; 35:114-8.
25. Knop E, Knop N. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. J Anat 2005; 206(3): 271-85.
26. Streilein JS, Streilein JW. Anterior chamber associated immune deviation (ACAID): regulation, biological relevance and implications for the therapy. Intern Rev Immunol 2002;21: 123-52.
27. Streilein JW. Ocular immune privilege and the impact of intraocular inflamation. DNA Cell Biol. 2002; 21(5-6): 453-9.
28. Streilein JW. Ocular immune privilege: therapeutic opportinities from an experiment of nature. Nat Rev Immunol. 2003; 3(11): 879-89.
29. Streilein JW. Immunoregulatory mechanisms of the eye. Prog Retin Eye Res 1999; 18(3): 357 -70.

30. McClellan KA. Mucosal defense of the outer eye. Surv Ophtalmol 1997 Nov-Dec; 42(3): 233-46.
31. Bielory E. Allergic and immunologic disorders of the eye. Part I: immunology of the eye. J Allergy Clin Immunol 2000 Nov; 106(5):805-16.
32. Stahl JL. Ocular allergic disease. Curr Opin Allergy and Clin Immunol 2004, 4:455–459.
33. Solomon A. Advances in ocular allergy: basic mechanisms, clinical patterns and new therapies. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2001, 1:477-82.
34. Stefan D. Spectrum of ocular allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2002;2:423-7.
35. Bloch-Michel E: Chronic allergic conjunctivitis. Int Ophthalmol Clin 1988; 28: 321-3.
36. Caldwell DR,Verin P, Hartwich-Young R et al: Efficacy and safety of lodoxamide 0.1% vs.cromolyn sodium 4% in patients with vernal keratoconjunctivitis. Am J Ophthalmol. 1992;113:632-637.
37. Cetinkaya A, AkovaYA, Dursun D, Pelit A. Topical cyclosporine in the management of shield ulcers. Cornea. 2004;23:194-200.
38. Buckley RJ: Vernal keratoconjunctivitis. Int Ophthalmol Clin 1988; 28: 303-308.
39. Syrbopoulos S, Gilbert D, Easty DL: Double-blind comparison of a steroid (prednisolone) and a nonsteroid (tolmetin) in vernal keratoconjunctivitis. Cornea 1986;5: 35-9.
40. Tuft SJ, Kemeny DM, Dart JKG et al: Clinical features of atopic keratoconjunctivitis. Ophthalmology 1991;98:150-158.
41. Allansmith MR, Korb DR, Greiner JV et al: Giant papillary conjunctivitis in contact lens wearers. Am J Ophthalmol 1977; 83: 697-708.
42. Allansmith MR, Ross RN: Giant papillary conjunctivitis. Int Ophthalmol Clin 1988; 28:309-16.
43. Ehlers WH, Donshik PC, Gillies C et al: The induction of an inflammatory reaction (similar to giant papillary conjunctivitis) by chemotactic factors derived from conjunctival cells (abstr). Invest Ophthalmol Vis Sci 1990; 31(suppl): 241.

44. Wilson FM: Toxic and allergic reactions to topical ophthalmic medications. In ArffaRC: Grayson's Diseases of the Cornea, Boston, Mosby Year Book, 1991: 632.
45. Wilson FM II: Adverse external ocular effects of topical ophthalmic therapy: An epidemiologic, laboratory, and clinical study. Trans Am Ophthalmol Soc 1983; 81: 854-965.
46. Friedlaender MH: Contact allergy and toxicity in the eye. Int Ophthalmol Clin 1988; 28: 317-20.
47. Bloch-Michel E: Chronic allergic conjunctivitis. Int Ophthalmol Clin 1988; 28: 321-3.
48. Friedlaender MH: Allergic and multisystem diseases. In: Allergy and Immunology of the Eye, New York, Raven Press 1993: 260.
49. Abelson MB, Udell IJ, Weston JH: Conjunctival eosinophils in compound 48/80 rabbit model. Arch Ophthalmol 1983; 101: 631-3.
50. Friedlaender MH, Sweet J: Conjunctival provocation tests and naturally occurring allergic conjunctivitis in clinical trials. Int Ophthalmol Clin 1988; 28: 338-9.
51. Butrus SI, Ochsner KI, Abelson MB et al: The level of tryptase in human tears: An indicator of activation of conjunctival mast cells. Ophthalmology 1990; 97: 1678-83.
52. Yanni JM, Weimer LK, Sharif NA, Xu SX, Gamache DA, Spellman JM. Inhibition of histamine-induced human conjunctival epithelial cell responses by ocular allergy drugs. Arch Ophthalmol.1999;117(5):643-7.
53. Verin P, Easty DL, Secchi A, Ciprandi G, Partouche P, Nemeth-Wasmer G and et all. Clinical evaluation of twice-daily emedastine 0.05% eye drops (Emadine eye drops) versus levocabastine 0.05% eye drops in patients with allergic conjunctivitis. Am J Ophthalmol. 2001;131(6):691-8.
54. Secchi A, Ciprandi G, Leonardi A, Deschenes J, Abelson MB. Safety and efficacy comparison of emedastine 0.05% ophthalmic solution compared to levocabastine 0.05% ophthalmic suspension in pediatric subjects with allergic conjunctivitis. Emadine Study Group. Acta Ophthalmol Scand Suppl. 2000;(230):42-7.

55. Abelson MB, Smith LM: Levocabastine: Evaluation in the histamine and compound 48/80 models of ocular allergy in humans. Ophthalmology. 1988; 95: 1494-7.
56. Odelram H, Bjorksten B, Af Klercker T et al: Topical levocabastine versus sodium cromoglycate in allergic conjunctivitis. Allergy 1989; 44: 432-6.
57. Pipkorn U, Bende M, Hender J et al: A double-blind evaluation of topical levocabastine, a new specific H1 antagonist in patients with allergic conjunctivitis. Allergy 1985; 40:491-6.
58. Abelson MB, Schaefer K: Conjunctivitis of allergic origin: Immunologic mechanisms and current approaches to therapy. Surv Ophthalmol 1993; 38 (suppl): 115-27.
59. Caldwell DR, Verin P, Hartwich-Young R et al: Efficacy and safety of lodoxamide 0.1% vs. cromolyn sodium 4% in patients with vernal keratoconjunctivitis. Am J Ophthalmol. 1992; 113: 632-7.
60. Collum LMT: A three-month clinical evaluation of topical lodoxamide tromethamine for control of allergic conjunctivitis. 26th International Congress of Ophthalmology Abstracts. 1990; SP: 177
61. Blumenthal M, Casale T, Dockhorn R et al: Efficacy and safety of nedocromil sodium ophthalmic solution in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. Am J Ophthalmol 1992; 113: 56-63.
62. Leino M, Carlson C, Jaanio E et al: Double-blind group comparative study of 2% nedocromil sodium eye drops with placebo eye drops in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. Ann Allergy. 1990; 64: 398-402.
63. Olopatadine inhibits TNFalpha release from human conjunctival mast cells. Cook EB, Stahl JL, Barney NP, Graziano FM. Ann Allergy Asthma Immunol. 2000;84(5):504-8.
64. Effect of ketotifen fumarate, olopatadine, and levocabastine on ocular active anaphylaxis in the guinea pig and ocular immediate hypersensitivity in the albino rat. Schoch **C**. Ocul Immunol Inflamm. 2005 Feb;13(1):39-44.
65. Abelson MB, Gomes P, Crampton HJ, Schiffman RM, Bradford RR, Whitcup SM. Efficacy and tolerability of ophthalmic epinastine assessed

using the conjunctival antigen challenge model in patients with a history of allergic conjunctivitis. Clin Ther. 2004;26(1):35-47.

66. Leonardi A, Busato F, Fregona I, Plebani M, Secchi AG. Anti-inflammatory and antiallergic effects of ketorolac tromethamine in the conjunctival provocation model. Br J Ophthalmol. 2000;84(11):1228-32.
67. Bishop K, Abelson M, Cheetham J et al: Evaluation of flurbiprofen in the treatment of antigen-induced allergic conjunctivitis (abstr). Invest Ophthalmol Vis Sci 1990; 31(suppl): 487.
68. Tinkelman DG, Rupp G, Kaufman H et al: Double-masked, paired-comparison clinical study of ketorolactromethamine 0.5% ophthalmic solution compared with placebo eyedrops in the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. Surv Ophthalmol 1993; 38 (suppl): 133-40.
69. Ballas Z, Blumenthal M, Tinkelman DG et al: Clinical evaluation of ketorolac tromethamine 0.5% ophthalmic solution for the treatment of seasonal allergic conjunctivitis. Surv Ophthalmol 1993; 38 (suppl): 141-8.
70. Meyer E, Kraus E, Zonis S. Br J Ophthalmol.Efficacy of antiprostaglandin therapy in vernal conjunctivitis. 1987;71(7):497-9.
71. Syrbopoulos S, Gilbert D, Easty DL: Double-blind comparison of a steroid (prednisolone) and a nonsteroid (tolmetin) in vernal keratoconjunctivitis. Cornea 1986;5: 35-9.
72. Şimşek T, Dürük K, Atmaca L. Tedaviye dirençli ağır vernal konjonktivitlerde konjonktiva altı kortikosteroid enjeksiyonu. T.Oft.Gaz. 2002(32);4-8
73. BenEzra D, Matamoros N, Cohen E: Treatment of severe vernal keratoconjunctivitis with cyclosporin A eyedrops. Transplant Proc 1988; 20(suppl) 2: 644-9.
74. Gupta V, Sahu PK. Topical cyclosporin A in the management of vernal keratoconjunctivitis. Eye (Lond). 2001 Feb;15(Pt 1):39-41.
75. Rocklin RE, Sheffer AL, Greineder DK et al: Generation of antigen-specific suppressor cells during allergy desensitization. N Engl J Med. 1980; 302: 1213-9.
76. Christiansen SC: Evaluation and treatment of the allergic patient. Int Ophthalmol Clin. 1988; 28: 282-93.

77. Woolcock AJ,Peat JK. Evidence fort he increase in asthma worlwide. In:Ciba Foundation Editor. The rising trends in asthma. John Wiley and sons, Chiester. 1997;122-39
78. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. BMJ. 1989; 299(6710):1259-60.
79. Martinez FD. The coming-of-age of the hygiene hypothesis. Respir Res. 2001;2(3):129-32. Epub 2001 Apr 2.
80. Arshad SH. Development of allergic disease in children. Clin Exp Allergy. 1997;27(11):1231-3.
81. Kalliomaki M, Isolauri E. Pandemic of atopic diseases--a lack of microbial exposure in early infancy? Curr Drug Targets Infect Disord. 2002;2(3):193-9.
82. Von Hertzen LC. The hygiene hypothesis in the development of atopy and asthma stil a matter of controversy? Q J Med. 1998;91:767-71
83. Schluger NW, Rom WN. The host immune response to tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157:679-91.
84. Von Mutius E, Pearce N, Beasley R, Cheng S and et all. International patterns of tuberculosis and the prevalence of symptoms of asthma, rhinitis, and eczema. 2000;55(6):449-53.
85. Barlan I, Tükenmez F, Bakır M. Atopik çocuklarda BCG aşısının T yardımcı hücre sitokin profili üzerine etkisi. TÜBİTAK proje no: SBAG-1432.
86. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. Science. 1997;275(5296):77-9.
87. Burney PG, Chinn S, Rona RJ. Has the prevalence of asthma increased in children? Evidence from the national study of health and growth 1973-86. BMJ. 1990;300(6735):1306-10
88. Krämer U, Heinrich J, Wjst M, Wichmann HE.Age of entry to day nursery and allergy in later childhood. Lancet. 1999 Feb 6;353(9151):450-4
89. Matricardi PM, Bonini S.Mimicking microbial 'education' of the immune system: a strategy to revert the epidemic trend of atopy and allergic asthma? Respir Res. 2000;1(3):129-32.

90. Strachan D. Socioeconomic factors and the development of allergy. Toxicol Lett. 1996;86(2-3):199-203.
91. Björksten B, Naaber P, Sepp E, Mikelsaar M. The intestinal microflora in allergic Estonian and Swedish 2-year-old children. Clin Exp Allergy. 1999;29(3):342-6.
92. Murosaki S, Yamamoto Y, Ito K, Inokuchi T, Kusaka H, Ikeda H, Yoshikai Y. Heat-killed Lactobacillus plantarum L-137 suppresses naturally fed antigen-specific IgE production by stimulation of IL-12 production in mice. J Allergy Clin Immunol. 1998 Jul;102(1):57-64.
93. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2001 Apr 7;357(9262):1076-9.
94. Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. Science. 1997 Jan 3;275(5296):77-9.
95. Matricardi PM, Rosmini F, Riondino S, Fortini M, Ferrigno L, Rapicetta M, Bonini S. Exposure to foodborne and orofecal microbes versus airborne viruses in relation to atopy and allergic asthma: epidemiological study. BMJ. 2000 Feb 12;320(7232):412-7.
96. Herz U, Gerhold K, Grüber C, Braun A, Wahn U, Renz H, Paul K. BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. J Allergy Clin Immunol. 1998 Nov;102(5):867-74.
97. Shaheen SO, Aaby P, Hall AJ, Barker DJ, Heyes CB, Shiell AW, Goudiaby A. Measles and atopy in Guinea-Bissau. Lancet. 1996 Jun 29;347(9018):1792-6.
98. Aaby P, Shaheen SO, Heyes CB, Goudiaby A, Hall AJ, Shiell and et all. Early BCG vaccination and reduction in atopy in Guinea-Bissau. Clin Exp Allergy. 2000 May;30(5):644-50.
99. Strannegård IL, Larsson LO, Wennergren G, Strannegård O. Prevalence of allergy in children in relation to prior BCG vaccination and infection with atypical mycobacteria. Allergy. 1998 Mar;53(3):249-54.
100. Arkwright PD, David TJ. Intradermal administration of a killed Mycobacterium vaccae suspension (SRL 172) is associated with

improvement in atopic dermatitis in children with moderate-to-severe disease. J Allergy Clin Immunol. 2001 Mar;107(3):531-4.

101. Wang EC, Rook GAW. Inhibition of established allergic response to ovalbumin in Balb/c mice by killed Mycobacterium vaccae. Immunology. 1998;93:307-13

102. Erb KJ, Holloway JW, Sobeck A, Moll H, Le Gros G.Infection of mice with Mycobacterium bovis-Bacillus Calmette-Guérin (BCG) suppresses allergen-induced airway eosinophilia. J Exp Med. 1998 Feb 16;187(4):561-9.

103. Herz U, Gerhold K, Grüber C, Braun A, Wahn U, Renz H, Paul K. BCG infection suppresses allergic sensitization and development of increased airway reactivity in an animal model. J Allergy Clin Immunol. 1998 Nov;102(5):867-74.

104. Tükenmez F, Bahçeciler NN, Barlan IB, Başaran MM. Effect of pre-immunization by killed Mycobacterium bovis and vaccae on immunoglobulin E response in ovalbumin-sensitized newborn mice. Pediatr Allergy Immunol. 1999 May;10(2):107-11.

105. Özdemir C, Akkoc T, Bahceciler NN, Kucukercan D, Barlan IB, Basaran MM. Impact of Mycobacterium vaccae immunization on lung histopathology in a murine model of chronic asthma. Clin Exp Allergy. 2003 Feb;33(2):266-70.

106. Yazi D, Akkoc T, Ozdemir C, Yesil O, Aydogan M, Sancak R, Bahceciler NN, Barlan IB. Long-term modulatory effect of Mycobacterium vaccae treatment on histopathologic changes in a murine model of asthma. Ann Allergy Asthma Immunol. 2007 Jun;98(6):573-9.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APC: Antijen Sunan Hücre

ACAİD: Ön kamara ile ilgili immün sapma

AKC: Atopik keratikonjonktivit

Al(OH)3: Aliminyum hidroksit

BCG: Bacillus calmette guerin

CD: Cluster of differentiation
(Farklılaşma Küme Antijeni)

CALT: Konjonktiva ile ilişkili lenfoid doku

EALT: Göz ile ilgil lenfoid doku

ECP: Eosinophilic cationic protein
(Eozinofilik katyonik protein)

EDN: Eosinophil-derived neurotoxin
(Eozinofil kökenli nörotoksin)

ELİSA: Enzyme linked immunosorbent assay
(Enzim bağlı immün assay)

GM-CSF: Granulocyte-monocyte colony stimulating factor
(Granülosit monosit koloni stimüle edici faktör)

GPC: Dev papiller konjonktivit

IP: İntraperitoneal

IgE: İmmünoglobulin E

IL: İnterlökin

IFN: İnterferon

ICAM: İntercellular adhesion molecule
(İntersellüler adezyon molekülü)

LT: Lökotrien

LDALT: Lakrimal sistem ile ilişkili lenfoid doku

MBP: Major Basic Protein
(Majör temel protein)

MHC: Major Histocompatibility Complex
(Majör Histokompatibilite Kompleksi)

MALT: Mukoza ile ilişkil lenfoid doku

NSAİİ: Steroid olmayan antiinflamatuar ilaç

NO: Nitrik oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentaz

NK: Doğal öldürücü hücre

Ova: Ovalbumin

PDGF: Platelet-derived Growth Factor
(Trombosit kökenli büyüme faktörü)

PBS: Fosfatla tamponlanmış tuz solusyonu

PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü

PG: Prostoglandin

PAF: Platelet aktive edici faktör

PECAM: Platelet endotelyal hücre adezyon molekülü

PAC: Perennial alerjik konjonktivit

PPD: Purifiye protein derivesi

PMNL: Polimorfonükleer lökositler

RAST: Radio allergo sorbent test

RES: Retiküloendotelyal sistem

SAC: Mevsimsel alerjik konjonktivit

SC: Subkutan

Trk: Tirozin kinaz

TGF: Tranforme büyüme faktörü

Th0: Farklılaşmamış yardımcı T hücresi

Th1: Tip 1 yardımcı T hücresi

Th2: Tip 2 yardımcı T hücresi

TNF: Tümör Nekroz Faktör

Th0: Farklılaşmamış yardımcı T hücresi

Th1: Tip 1 yardımcı T hücresi

Th2: Tip 2 yardımcı T hücresi

VCAM: Vascular cell adhesion molecule
(Vasküler hücre adezyon molekülü)

VK: Vernal konjonktivit

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Resimler **Sayfa No**

Resim 1 (IL-2'nin immünhistokimyasal boyaması) 43
Resim 2 (IL-4'ün immünhistokimyasal boyaması) 44
Resim 3 (IL-5'in immünhistokimyasal boyaması) 45
Resim 4 (IL-6'nın immünhistokimyasal boyaması) 46
Resim 5 (IL-10'un immünhistokimyasal boyaması) 47
Resim 6 (IL-12'nin immünhistokimyasal boyaması) 48
Resim 7(INF-gamma'nın immünhistokimyasal boyaması) 49

TABLOLAR DİZİNİ

Tablolar **Sayfa No**

Tablo 1(Deney protokolünün uygulanışı)…….**36**
Tablo 2(Duyarlanma sonrası klinik değerlendirme.)…….....**41**
Tablo 3(Biyokimyasal değerlendirmede ovalbumin spesifik IgE sonuçları.....**42**
Tablo 4(IL-2'nin immünhistokimyasal boyama sonuçları)……..**42**
Tablo 5(IL-4'ün immünhistokimyasal boyama sonuçları)……...**43**
Tablo 6(IL-5'in immünhistokimyasal boyama sonuçları)…….....**44**
Tablo 7(IL-6'nın immünhistokimyasal boyama sonuçları)……..**45**
Tablo 8(IL-10'un immünhistokimyasal boyama sonuçları)…….....**47**
Tablo 9(IL-12'nin immünhistokimyasal boyama sonuçları)……..…....**48**
Tablo 10(INF-gamma'nın immünhistokimyasal boyama sonuçları)……..**49**
Tablo 11(Alan başına düşen ortalama eozinofil sayıları)……**50**
Tablo 12(Alan başına düşen ortalama mast hücre sayıları)……...**50**