

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PROTEZE BAĞLI DEV PAPİLLER KONJONKTİVİTİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

**Dr. Serkan POYRAZ
UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA
2009**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PROTEZE BAĞLI DEV PAPİLLER KONJONKTİVİTİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ**

**Dr. Serkan POYRAZ
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Uğur ERDENER**

**ANKARA
2009**

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı'na,

Dr.Serkan Poyraz , 30 Nisan 2009 tarihinde jürimiz önünde savunmasını yaptığı "Dev papiller Konjonktivitin İmmünohistokimyasal özelliklerinin değerlendirilmesi" başlıklı çalışma, jürimiz tarafından Göz Hastalıkları uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı Prof.Dr.Uğur Erdener
Hacettepe Üniversitesi

Danışman Prof.Dr.Uğur Erdener
Hacettepe Üniversitesi

Üye Prof.Dr.Sevgül Bilgiç
Hacettepe Üniversitesi

Üye Prof.Dr.Murat İrkeç
Hacettepe Üniversitesi

Üye Prof.Dr.E.Cumhur Şener
Hacettepe Üniversitesi

Üye Prof.Dr.Sibel Kadayıfçılar
Hacettepe Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Tababet/Tıp'ta Uzmanlık Tüzüğü'nün ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı tarafında kabul edilmiştir.


Prof.Dr.Serhat ÜNAL

TEŞEKKÜR

Göz Hastalıkları Uzmanlığı Programı eğitimim süresince, her konuda desteğini ve yol göstericiliğini esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Uğur Erdener'e, çalışmanın her aşamasında yolumu aydınlatan Prof. Dr. Murat İrkeç'e, çalışmanın immünohistokimyasal açıdan değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Diclehan Orhan'a, impresyon sitolojilerinin değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Pınar Fırat'a ve Göz Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına içtenlikle teşekkür eder, her zaman destekleri ile yanımda olan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 09 D 01 103 001 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Dr. Serkan Poyraz

ÖZET

Serkan Poyraz, Dev Papiller Konjonktivitin İmmünohistokimyasal Özellikleri, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Ankara, 2009. Çalışmada dev papiller konjonktivitin immünohistokimyasal özellikleri belirlenerek bu hastalığın etiyojisinin ve patolojisinin anlaşılmasına katkıda bulunmak amaçlanmıştır. Çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Oküloplasti biriminde yapılmıştır. Oküler proteze bağlı dev papiller konjonktiviti olan 15 hastanın üst tarsal konjonktiva biyopsileri, impresyon sitoloji örnekleri, konjonktiva kültürleri ve gözyaşları değerlendirmeye alındı. Üst tars konjonktivası immünohistokimyasal boyalar kullanılarak incelendi. Gözyaşı örnekleri sitokin varlığı açısından ELISA yöntemiyle değerlendirildi. İmpresyon sitolojisi PAS boyaması ile boyanarak direk mikroskopi altında incelendi. Olguların sağlıklı gözleri kontrol grubu olarak değerlendirmeye alındı. Çalışmaya ortalama yaşları 46,4 (22–74) yıl olan 7 erkek, 8 kadın hasta dâhil edilmiştir. Ortalama protez kullanma süresi 5,3 yıldır. Üç hastaya eversion, 12 hastaya enükleasyon yapılmıştır. Hastaların 4'ü sağ gözüne 11'i sol gözüne oküler protez kullanmakta idi. Protez intoleransı 7 hastada (%46,7) mevcuttu, 3 hastada (%20) hafif derecede vardı, 5 hastada (%33,3) ise yoktu. Çalışma grubunda epitelde ve lamina propria da nötrofilik ($p=0,015/ 0,001$) ve mononükleer hücre infiltrasyonu ($p=0,05/ <0,0001$) kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Çalışma grubunda lamina propria da Langerhans hücrelerin yoğunluğu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,0001$). Hiçbir örnekte eozinofil ve bazofil infiltrasyonuna rastlanmadı. İmmünohistokimyasal boyamalarda hücresel ifade düzeyi açısından IL-6 ($p=0,0001$), TGF- β ($p=0,0001$), VIP ($p=0,0001$), Substans P ($p=0,0001$), CD8 ($p=<0,0001$), CD4 ($p=0,002$) ve CD20 ($p=0,041$) düzeyleri çalışma grubunda anlamlı olarak yüksek bulunurken, IL-1 ($p=0,061$), IL-2 ($p=0,137$), IL-17 ($p=0,389$), TNF α ($p=0,089$) düzeyleri bakımından her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Konjonktiva kültüründe her iki grup arasında patolojik üreme varlığının oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,7$). Nelson evrelemesine göre kontrol grubuna ait tüm gözlerde evre 0 infiltrasyon, çalışma grubundaki 2 hastada evre 0, 7 hastada evre 1, 2 hastada evre 3 infiltrasyon görüldü. Gözyaşında IL-6 (çalışma: 552,34; kontrol: 7,1pg/dl), ($p=0,009$) ve TGF- β (çalışma: 9294,86; kontrol: 5336,41pg/dl), ($p=<0,0001$) konsantrasyonları çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Dev papiller konjonktiviti olguların konjonktivalarında yoğun nötrofil, lenfosit, plazma hücresi ve histiyosit infiltrasyonu ile birlikte IL-6, TGF- β , VIP, Substans P yüksekliğinin görüldüğü süregen travmaya bağlı enflamatuvar komponentinde eşlik ettiği allerjik bir göz hastalığıdır. Bu hastalığın patogeneğinde Th2 aracılı bağışıklık sistemi düzenlemeleri rol oynamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Dev papiller konjonktiviti, immünohistokimya, konjonktiva kültürü, impresyon sitolojisi

ABSTRACT

Poyraz, S., The Immunohistochemical properties of Giant Papillary Conjunctivitis. Hacettepe University, The Institute of Health Sciences, Department of Ophthalmology, Thesis in ophthalmology. Ankara, 2009.

This study aims to identify the immunohistochemical properties of the giant papillary conjunctivitis and to contribute to the understanding of the etiology and pathology of the disease. The study was undertaken at the Occuloplastics unit of the Department of Ophthalmology of the Medical School of Hacettepe University. The biopsies of the upper tarsal conjunctivas, the impression cytology samples, conjunctiva cultures and ocular tears of 15 patients who had giant papillary conjunctivitis caused by ocular prosthesis were analyzed. The upper tarsal conjunctiva biopsies were examined by using immunohistochemical stains. The tear samples were evaluated by ELISA method for the existence of cytokines. The impression cytology was examined using PAS stains. The healthy eyes of the subjects were included as the control group. Seven male and 8 female patients with an average age of 46.4 years (22-74 years) were included in the study. The average duration for prosthesis use was 5.3 years. Evisceration was performed on three patients and enucleation was performed on 12 patients. Overt prosthesis intolerance was present in 7 patients (46.7 %). In the study group, in epithelia and lamina propria neutrophilic ($p=0,015/ 0,001$) and mononuclear cell infiltration ($p=0.05/<0.0001$) were found to be significantly higher than the control group. In the study group, Langerhans cell density was found in lamina propria to a significantly higher extent when compared to the control group ($p=0,0001$). Eosinophil and basophile infiltration was not present in any of the samples studied. In immunohistochemical stains, regarding the cellular expression levels, the levels of IL-6 ($p=0.0001$), TGF- β ($p=0.0001$), VIP ($p=0.0001$), Substance P ($p=0.0001$), CD8 ($p=<0.0001$), CD4 ($p=0.002$) and CD20 ($p=0.041$) were found to be meaningfully higher in the study group, while regarding the levels of IL-1 ($p=0.061$), IL-2 ($p=0.137$), IL-17 ($p=0.389$), TNF α ($p=0.089$), there were no meaningful difference between the two groups. Regarding the ratio of the existence of bacterial growth in conjunctival cultures, there was no statistically difference between the two groups ($p=0.7$). According to the Nelson classification scheme, there were no infiltrations in the eyes belonging to the control group, but there were 2 patients with grade 0, 7 patients with grade 1 and 2 patients with grade 3 infiltration in the study group. In the tear samples, the concentrations of IL-6 ($p=0.009$) and TGF- β ($p=<0.0001$) were found to be significantly higher in the study group when compared to the control group. Giant papillary conjunctivitis is an allergic eye disease where neutrophil, lymphocyte, plasma cell and histiocyte infiltration together with high levels of IL-6, TGF- β , VIP, Substance P are found in the conjunctivae. Our findings support the role of Th2 dependant immune mechanisms in the pathogenesis of this disorder.

Key Words: Giant papillary conjunctivitis, immunohistochemistry, conjunctiva culture, impression cytology.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Tanım.....	3
2.2 Bulgu ve Semptomlar.....	4
2.3 Evreleme.....	5
2.4 Epidemiyoloji.....	8
3. BİREYLER VE METOD	9
3.1 Çalışmaya Alınma Kriterleri.....	9
3.2 Çalışmadan Dışlanma Kriterleri	9
3.3 Konjonktiva Kültürü	10
3.4 IL-6 Elisa Metodu	10
3.4.1 Reaktiflerin hazırlanması.....	10
3.4.2 Örneklerin Hazırlanması	11
3.4.3 Test Protokolü.....	11
3.4.4 Sonuçların değerlendirilmesi.....	12
3.5 TGFβ-2 ELİSA Metodu	12
3.5.1 Reaktiflerin hazırlanması.....	12
3.5.2 Örneklerin Hazırlanması	13

3.5.3 Test Protokolü.....	13
3.5.4 Sonuçların değerlendirilmesi.....	14
3.6 Konjonktiva İmpresyon Sitolojisi.....	14
3.6.1 PAS boyama tekniği.....	14
3.6.2 Nelson evrelemesi	15
3.7 İmmünohistokimyasal İnceleme	16
3.7.1 İmmünohistokimya boyama tekniği	16
3.8 İstatistiksel Analiz.....	19
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR.....	64
KAYNAKLAR	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

DPK	Dev papiller konjonktivit
MAK	Mevsimsel allerjik konjonktivit
PAK	Perenial allerjik konjonktivit
KDK	Kontakt dermatokonjonktivit
VKK	Vernal keratokonjonktivit
ELİSA	Enzim bağlayan immünosorbent yöntemi, ' <i>Enzyme linked immunosorbent assay elisa</i> '
MALT	Mukoza ile ilişkili lenfoid doku, ' <i>Mucosa associated lymphoid tissue</i> '
CALT	Konjonktiva ile ilişkili lenfoid doku, ' <i>Conjunctiva associated lymphoid tissue</i> '
PAS	Periyodik Asit Schiff
MHC	Majör histokompatibilite kompleksi
Th	Yardımcı T hücresi
Treg	Regülatuar T hücresi
TNF	Tümör nekrotize edici faktör
IL	İnterlökin
IFN	İnterferon
IL-6Sr	İnterlökin altı çözünebilir reseptörü
IL-2R	İnterlökin iki reseptörü
TGF	Transforme edici büyüme faktörü
SubsP	Substance P
VIP	Vazoaktif intestinal peptid
Ig	İmmüoglobulin
MMP	Matriksmetalloproteinaz
MIP	Makrofaj enflamatuar peptid
TRAIL	Tümör nekrotizan faktör-apoptozis ile ilgili-ligand indükleyici
VICAM	Vasküler hücre adezyon molekülü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER

Sayfa

2.1.	Evre 1 dev papiller konjonktivit. A) Üst tarsal konjonktivada hafif hiperemi mevcut. B) Aynı hastadaki hafif papiller reaksiyon	6
2.2.	Evre 2 dev papiller konjonktivit. A) Konjonktivada enjeksiyon ve kalınlaşma. B) Papiller reaksiyonda ilerleme	7
2.3.	Evre 3 dev papiller konjonktivit. A) Konjonktivada belirgin kalınlaşma ve normal damar yapısının kaybolduğu görülüyor. B) 0.5mm ve 1mm arasında papül varlığı	7
2.4.	Evre 4 dev papiller konjonktivit. A) Belirgin kalınlaşma ve enjeksiyon, normal damar yapısının total obstrüksiyonu. B) Dev papillalar ve apikal boyanma paternleri	7
3.5.	Dijital olarak kesit alanının hesaplanması görülmektedir	18
3.6.	Kesitteki boya tutan tüm hücrelerin işaretlenmesi görülmektedir .	18
4.7.	Nelson evre 0, çalışma grubu	22
4.8.	Nelson evre 0, kontrol grubu	23
4.9.	Nelson evre 1	23
4.10.	Nelson evre 2	24
4.11.	Çalışma grubundan bir hastanın impresyon sitolojisinde yaygın nötrofilik infiltrasyon görülmektedir (okla işaretlenmiş olan nötrofiller görülmektedir)	24
4.12.	Epitel düzeyindeki lenfosit infiltrasyonu görülmektedir	26
4.13.	Epitel düzeyindeki nötrofil infiltrasyonu ve goblet hücre hiperplazisi görülmektedir (kare içine alınmış bölgede gruplar halinde nötrofiller görülmektedir)	26
4.14.	Küçük büyütmede yoğun iltihabi reaksiyon görülmektedir	27
4.15.	Lamina propriada iltihabi hücre infiltrasyonu	28
4.16.	Lamina propriada infiltrasyon gösteren mononükleer hücre çeşitleri görülmektedir. Okların ucunda sırasıyla lenfosit, histiyosit ve plazma hücreleri görülmektedir	28
4.17.	Dev papiller konjonktiviti olan hastanın çalışma(A) ve kontrol(B) gözlerinden alınan örnekler görülmektedir. Çalışma gözünden	

	alınan örnekte kontrol gözüne göre belirgin olarak artmış iltihabi hücre infiltrasyonu ve goblet hiperplazisi görülmektedir.....	29
4.18.	Lamina propriada ve epitel düzeyinde nötrofil infiltrasyonu görülmektedir.....	30
4.19.	Aynı hastanın çalışma(A) ve kontrol(B) gözleri görülmektedir. Çalışma gözünde kontrol gözüne göre belirgin goblet hücre hiperplazisi görülmektedir.	31
4.20.	Dev papiller konjonktivit grubundaki IL-6 boyanması görülmektedir.....	35
4.21.	Dev papiller konjonktivit grubunda IL-6 boyanması. Büyük büyütmede IL-6 ile pozitif boyanan hücreler işaretlenmiş olarak görülmektedir.	36
4.22.	Dev papiller konjonktivit grubundaki CD1a pozitif boyanan hücreler işaretlenmiş olarak görülmektedir.	36
4.23.	Dev papiller konjonktivit grubundaki Subs P pozitif boyanan hücreler görülmektedir. Subs P pozitif boyanan hücrelerin yoğunluğu dikkat çekmektedir.....	37
4.24.	Dev papiller konjonktivit grubundaki TGF- β pozitif boyanan hücreler görülmektedir.	37
4.25.	Dev papiller konjonktivit grubundaki VIP ile pozitif boyanan hücreler görülmektedir. Küçük büyütmede(A) görülen yoğun boyanma, büyük büyütme(B) ile pozitif boyanan hücrelerin işaretlendiği görülmektedir.	38
4.26.	A: Dev papiller konjonktivit grubundaki CD8 pozitif boyanan hücreler görülmektedir. B: Kontrol grubundaki CD8 boyanma paterni görülmektedir. Her iki örnek karşılaştırıldığında çalışma grubunda CD8 ile boyanan hücrelerin kontrol grubuna göre daha sık olduğu dikkat çekmektedir.....	39
4.27.	A: Kontrol grubundaki SubsP boyanma paterni görülmektedir. B: Dev papiller konjonktivit grubundaki SubsP pozitif boyanan hücreler görülmektedir. Her iki örnek karşılaştırıldığında çalışma grubunda CD8 ile boyanan hücrelerin kontrol grubuna göre daha sık olduğu dikkat çekmektedir.....	40
5.28.	Dev papiller konjonktivit patofizyolojisi.....	61

TABLOLAR

		Sayfa
2.1.	Küler allerjinin klinik ve immünopatolojik sınıflaması.....	3
4.2.	Yaş ve protez kullanma süresi	20
4.3.	Protez intoleransı	20
4.4.	Konjonktiva kültüründe patolojik üreme varlığı.....	21
4.5.	Gözyaşındaki sitokin değerleri	21
4.6.	İmpresyon sitolojisi Nelson evreleme sonuçları	22
4.7.	Epitelyal mononükleer hücre infiltrasyonu.....	25
4.8.	Epitelyal nötrofil infiltrasyonu	25
4.9.	Lamina propriada mono nükleer hücre infiltrasyonu	27
4.10.	Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu	30
4.11.	Goblet hücre hiperplazisi	31
4.12.	Biyopsi alanları	32
4.13.	Hücre belirteçleri.....	33
4.14.	İltihabi belirteçler 1	33
4.15.	İltihabi belirteçler 2.....	34
4.16.	DPK evrelerine göre VIP, SubsP, TGF- β ve IL-6 ifade düzeyleri	35

1. GİRİŞ

Enükleasyon ve eviserasyon çeşitli tıbbi endikasyonlara bağlı olarak gözün tamamen veya göz içi dokularının çıkarılması için uygulanan cerrahi işlemlerdir. Enükleasyon göz küresinin ekstra oküler kaslar korunarak tümüyle alınması işlemidir. Eviserasyonda ise; sklera korunarak; kornea ve tüm üvea dokusu dâhil olmak üzere göz küresinin içi boşaltılmaktadır. Enükleasyon ya da eviserasyon uygulanan hastalara normal ya da normale en yakın estetik görünümünü sağlamak amacıyla cerrahi işlemlerden 2 ay sonra protez göz takılır. Ancak protez göz yerleştirilmesinden sonra hastalarda geniş soket alanının gözyaşı tarafından yeterli temizlenememesi ve yabancı cisim etkisi oluşturan protez varlığı nedeni ile çeşitli soket ve oküler yüzey sorunları ortaya çıkabilmektedir. Bu sorunlardan biri de dev papiller konjonktivittir.

Dev papiller konjonktivit ilk kez 1974'te Spring tarafından hidrofilik kontakt lens kullanan hastaların üst tarsal konjunktivasında tanımlanmıştır (1). Dev papiller konjonktivit uzun süreli protez kullanan hastalarda da görülür (2) ve kaşıntı, aşırı mukus salgısı, yabancı cisim hissi ve göz protezi intoleransına yol açar (3). Dev papiller konjunktivitinin etiyojisi karmaşık ve multifaktöriyeldir. Konjunktivanın maruz kaldığı süreğen travma ve protez yüzeyini kaplayan antijenik proteinlerin yol açtığı hipersensitivitenin neden olduğu düşünülmektedir (4, 5). Histopatolojik olarak dev papiller konjonktivit vernal keratokonjunktivite benzer (6). Dev papillanın yüzeyini kaplayan konjunktiva kalınlaşmış ve düzensizdir, stromanın içine invajinasyonlar gösterir. Eksize edilen papillalar konjunktiva epiteli, goblet hücreleri, mukus granülleri, enflamatuar lökositler (mast hücreleri, plazma hücreleri, lenfositler, eozinofiller, bazofiller, nötrofiller), yeni oluşmuş damarlar ve fibrotik doku içerirler (6, 7). Bu değişikliklere neden olan immünolojik cevaptan birçok mekanizma sorumludur.

Bu çalışmada dev papiller konjonktivitinin immünohistokimyasal özellikleri belirlenerek bu hastalığın etiyolojisinin ve patolojisinin anlaşılmasına ve yeni geliştirilecek tedavi modalitelerine yol gösterimine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tanım

Oküler allerji konjonktiva, kornea, kapaklar, lakrimal bez ve gözyaşı film dahil tüm oküler yüzeyi etkileyen bir hastalıktır. Göz yüzeyi kapakların ve bulbar konjonktivanın içerdiği immunoglobulin E (IgE) sentezleme kapasitesi bulunan yüksek mast hücre düzeyinden dolayı allerjik reaksiyonlar için elverişli bir ortamdır (8). Bu hastalık hafif düzeyden çok ağır klinik şekillere kadar farklı seyirler izleyip potansiyel olarak görme kaybı yapabilecek bir hastalıktır. Hastalığın klinik formları klasik sınıflama yöntemleri ile çeşitli şekillerde sınıflandırılır: mevsimsel (MAK) ya da perenial allerjik konjonktivit (PAK), vernal keratokonjonktivit (VKK), atopik keratokonjonktivit (AKK), kontakt dermatokonjonktivit (KDK) ve dev papiller konjonktivit (DPK). Avrupa Allergoloji ve Klinik İmmünoloji Akademisi 2001 yılında hastalığı daha sistematik bir yaklaşıma ulaşabilmek amacıyla IgE bağımlı ve IgE bağımsız olarak yeniden sınıflamıştır. Ancak bu sınıflamanın da eksik tarafları mevcuttur, örneğin IgE bağımsız olarak tanımlanan DPK immünopatolojik olarak VKK ile birçok ortak nokta barındırır. Bunun üzerine Uluslararası Oküler Enflamasyon Topluluğu daha kapsamlı bir sınıflama yapmıştır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Oküler allerjinin klinik ve immünopatolojik sınıflaması

	IgE Bağımlı	IgE Bağımlı ve Bağımsız	IgE Bağımsız
İntermittan	MAK		
Persistan	PAK	VKK	DPK
Kronik		AKK	KDK

Dev papiller konjonktivit ilk kez 1974'te Spring tarafından yumuşak hidrofilik kontakt lens kullanan hastaların üst tarsal konjonktivasında allerji

benzeri bir reaksiyon olarak tanımlanmıştır. Ancak hastalığın detaylı tanımlaması Allansmith ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (9).

Dev papiller konjonktivit ağırlıklı olarak yumuşak kontakt lens kullanıcılarında görülmekle beraber farklı durumlarla da birlikteliği bildirilmiştir. Bunların başlıcaları şunlardır (10–17):

- Yumuşak kontakt lens kullanılması
- Sert kontakt lens kullanılması
- Oküler Protez kullanılması
- Cerrahi sonrası ekspozite olan sütürler
- Ekstrude olmuş sklera tamponları
- Filtran blebler
- Band keratopati
- Korneal yabancı cisimler
- Limbal dermoid
- Siyanoakrilat doku yapıştırıcıları

Bu durum kontakt lense bağlı konjonktivit olarak da bilinir

2.2 Bulgu ve Semptomlar

Tarsal konjonktiva normalde pembe, hafif nemli, içinde kapağa dik uzanan, hem yüzeysel hem derin katlarının seçilebildiği vasküler yapılar barındıran bir görünümdedir. Bu görünüm saten görünüm olarak adlandırılır. Bazı insanlarda normal tarsal konjonktivada uniform küçük papillalar bulunabilir. Bu durum uniform papiller görünüm olarak tanımlanır. Kimi zaman da papillalar aynı büyüklükte olmayabilir, ancak bu papillaların büyüklükleri 0,3mm'yi aşmaz ve bu durumda uniform olmayan papiller görünüm olarak adlandırılır. Kontakt lens yada protez kullanmayan popülasyonda saten görünüm %24, uniform papiller görünüm %69, uniform olmayan papiller görünüm ise %7 olarak; 0,3mm'den büyük papül içerenlerin oranı ise %0,6 olarak bildirilmiştir (18). Bu nedenle 0,3mm üstündeki papilla varlığı patolojik olarak sınıflandırılır.

Dev papiller konjonktiviti olan hastalar çeşitli semptomlar gösterirler. Bunlar başlıca kızarıklık, yanma hissi, kaşıntı, çapaklanma, lens ya da protezin toleransında azalma, lens ya da protezin hissedilirliğinde artış olarak sayılabilir. Ayrıca birçok hasta uyandığında ya da hastalığı daha ağır seyrettiği durumlarda gün içinde, protez ya da lenslerinin üzerinde mukus ile kaplanma ve gözlerinde özellikle iç kantusta mukus birikiminden şikayetçidirler. Hastalık yaygın ya da lokalize olabilir. Yaygın şekilde semptom ve bulgular daha şiddetlidir.

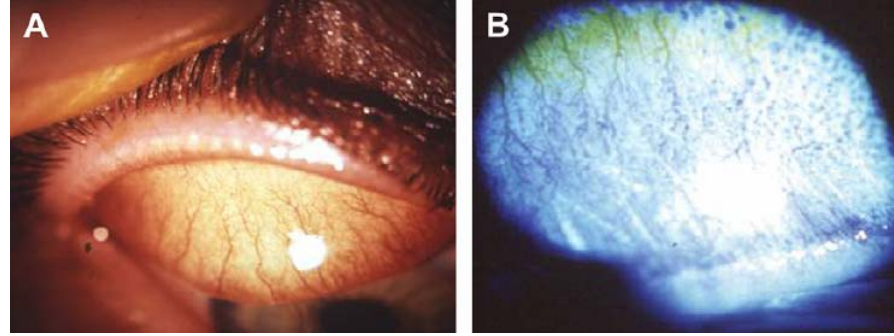
Muayenede üst tarsal konjonktivada enflamasyon, normal vasküler görünümde bozulma, bulbar konjonktivada enjeksiyon, artmış mukoid salgı ve 0,3mm'den büyük papül varlığı dikkati çeker. Burada dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta da; özellikle erken evrelerde henüz bulgular tarsal konjonktivadaki hiperemi düzeyinde iken dahi semptomların bununla ilişkisiz görülecek kadar artmış olabileceği gerçeğidir. Bu durum hastalığın kimi zaman yanlış olarak basit bir protez irritasyonu gibi algılanmasına yol açabilir. Papillaların daha doğru değerlendirilmesi için konjonktiva yüzeyinde %2 floressein içeren boya kullanılabilir. Papillaların lokalizasyonu da önemlidir, bu lokalizasyonun sistematik olarak sınıflandırılabilmesi amacıyla tarsal konjonktiva yüzeyi 3 bölgeye ayrılmıştır. Bunlar zone 1, zone 2, zone 3 olarak adlandırılır. Zone 1 tarsal sınırdaki konjonktiva, zone 3 kapak marjinine yakın olan bölge ve ikisi arasındaki bölge ise zone 2 olarak nitelendirilir. Tarsal yüzeyin medyal ve lateral sınırları ise transizyonel bölgedir ki bu bölgede normal insanlarda da papillalar görülebilir. Muayene yapılırken papillalar için diğer önemli bir nokta ise evreleme için son derece önemli olan skatrizasyon varlığının rapor edilmesidir.

2.3 Evreleme

Dev papiller konjonktivit klinik olarak 4 evrede incelenir (9).

Evre 1, prelinik dev papiller konjonktivit olarak isimlendirilir. Klinik olarak üst tarsal konjonktivada minimal hiperemi mevcuttur, normal damar

yapısı gerek yüzeysel gerek derin katlarda korunmuş olarak izlenir ve mukus salgısında hafif bir artış mevcuttur; genelde hafif bir kaşıntı dışında sorun yoktur.



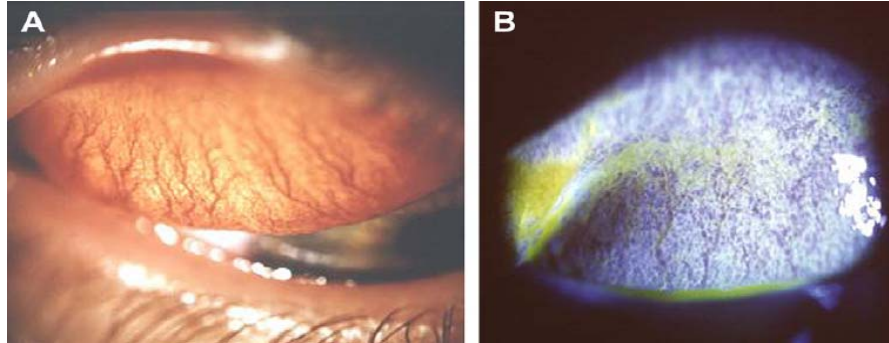
Şekil 2.1. Evre 1 dev papiller konjonktivit. A) Üst tarsal konjonktivada hafif hiperemi mevcut. B) Aynı hastadaki hafif papiller reaksiyon (18).

Evre 2, hafif dev papiller konjonktivit olarak isimlendirilir. Klinik olarak üst tarsal konjonktivada orta derecede hiperemi ve kalınlaşma mevcuttur, yüzeysel damar yapısı bozulmuştur, 0.3mm'den büyük papüller mevcuttur. Mukus salgısı ve kaşıntı artmış olarak izlenir.

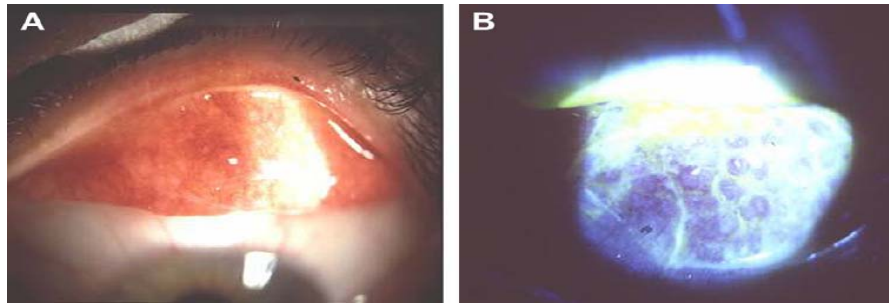
Evre 3, orta dev papiller konjonktivit olarak isimlendirilir. Klinik olarak üst tarsal konjonktivada belirgin kalınlaşma ve enjeksiyon vardır. Normal damar yapısı bozulmuştur, dikkatli bakıldığında derin kalın damarlar zorlukla da olsa seçilebilirler. Papül sayı ve büyüklüğü artmış olup papül yüzeyinde skarlaşmaya bağlı beyazlaşma görülür. Bu evrede kaşıntı ve mukus salgısı belirgin olarak artmış olup lens yada protez intoleransı başlamıştır.

Evre 4, ağır dev papiller konjonktivit olarak isimlendirilir. Klinik olarak üst tarsal konjonktivada belirgin kalınlaşma ve enjeksiyon devam eder. Normal damar yapısı tamamen kaybolmuştur. 1mm'den büyük papüller vardır ve papül yüzeyleri skarlaşmaya bağlı olarak düzleşmiş olarak izlenir. Aşırı mukus salgısı ve kaşıntı mevcut olup, hastalar sabah uyandıklarında göz

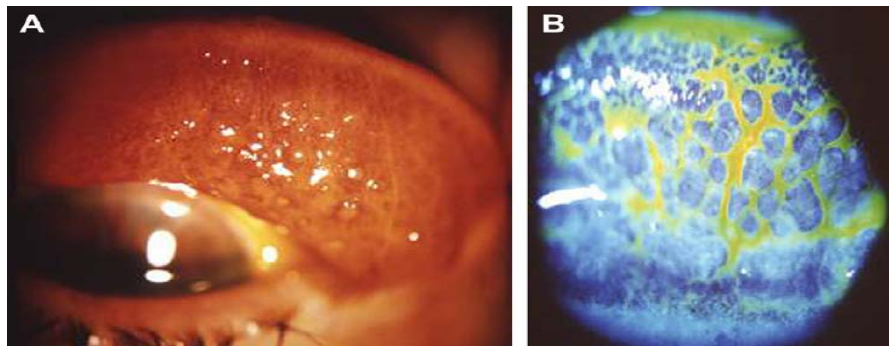
kapaklarının yapıştığında şikâyetçidirler. Ağır protez yada lens intoleransı görülür.



Şekil 2.2. Evre 2 dev papiller konjonktivit. A) Konjonktivada enjeksiyon ve kalınlaşma. B) Papiller reaksiyonda ilerleme (18).



Şekil 2.3. Evre 3 dev papiller konjonktivit. A) Konjonktivada belirgin kalınlaşma ve normal damar yapısının kaybolduğu görülüyor. B) 0.5mm ve 1mm arasında papül varlığı (18).



Şekil 2.4. Evre 4 dev papiller konjonktivit. A) Belirgin kalınlaşma ve enjeksiyon, normal damar yapısının total obstrüksiyonu. B) Dev papillalar ve apikal boyanma paternleri (18).

Dev papiller konjonktivitte evreleme her ne kadar hastalığın ilerlemesiyle bağlantılı da olsa daha önce de belirtildiği gibi semptomların ve bulguların şiddeti hastalar arasında hastalığın evresinden bağımsız bir şekilde farklılık gösterir. Başlangıç evresinde olan bir hasta çok ciddi yakınmalarla başvururken, daha ileri evre hastalığı olan bir hasta şikâyetlerinin çok hafif olduğunu söyleyebilir.

2.4 Epidemiyoloji

Dev papiller konjonktivit üzerine literatürde yapılmış epidemiyolojik çalışmalar sıklıkla kontakt lens kullanıcıları üzerinedir. Yapılan bir çalışma da 221 hastanın %85'i yumuşak kontakt lens kullanıcısı iken hastaların sadece %15'i sert kontakt lens kullanıcısı olarak bulunmuştur. Dev papiller konjonktivit yumuşak kontakt lens kullanıcılarında ayrıca daha erken başlamaktadır; Allansmith ve arkadaşları yumuşak lens kullanıcılarında hastalığın ortalama 10 ay içinde başladığını ancak bu sürenin sert lens kullanıcılarında 8,5 yıla kadar uzayabileceğini söylemişlerdir (9). Donshik ve arkadaşları 221 dev papiller konjonktiviti olan hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada yumuşak lens kullanan hastaların ortalama 87,4 ay, sert lens kullananların ortalama 129,8 ay ve polimetilmetakrilat kullanıcılarının ortalama 205,5 ay süreyle bu lensleri kullandığını bildirmiştir (19). Yine bu çalışmada allerjisi olan hastalarda hastalığın daha ağır seyrettiği belirtilmiştir.

3. BİREYLER VE METOD

Çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Oküloplasti biriminde yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce “H.Ü. Tıbbi, Cerrahi ve İlaç Araştırmaları Etik Kurulu’ndan” HEK 08/18 numaralı ilgili onay alınmıştır. Tüm hastalara aydınlatılmış onam formu çalışma öncesinde imzalatılmıştır. Çalışmaya dahil edilecek hastaların tespiti amacıyla Ocak 2009-Nisan 2009 arasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Oküloplasti birimine başvuran ve protez kullanmakta olan tüm hastalar taranmıştır. Çalışmaya alınacak ve dışlanacak hastalar için aşağıda belirtilen kriterler yol gösterici olmuştur.

3.1 Çalışmaya Alınma Kriterleri

1. Herhangi bir nedenle enükleasyon ya da eviserasyon yapılmış olup oküler protez kullanmakta olmak.
2. Dev papiller konjonktivit gelişmiş olması.
3. Diğer gözün oküler yüzeyinin normal olması.

3.2 Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

1. Diğer gözde oküler yüzey sorunlarının bulunması.
2. Hastanın çalışmaya dahil olmak istememesi.

Çalışmaya 15 hasta dâhil edilmiştir. 15 hastanın oküler protez kullanmakta olduğu 15 gözü çalışma grubu, normal olan taraftaki 15 gözü ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Hastaların 7’si erkek 8’i kadın idi. Yaş aralığı 22–74 yıl arasında olup ortalama yaşları 46,4 yıldır. 4 hastanın sağ gözü, 11 hastanın sol gözü çalışma grubundaydı. Hastaların 3’üne eviserasyon, 12’sine enükleasyon yapılmıştı.

Tüm hastalardan detaylı sistemik ve oftalmolojik öykü alındıktan sonra, hastalara tam oftalmolojik muayene (görme düzeyleri, biyomikroskopik muayene, göz tansiyonu, dilatasyonlu fundus muayenesi) yapılmıştır.

3.3 Konjonktiva Kültürü

Hastalardan hem çalışma hem kontrol gözlerinden olmak üzere konjonktiva kültürü alındı. Örnekler standart besi eküvyonları kullanılarak taşıdıktan hemen sonra koyun kanlı agara, çikolata agara ve Mc Conkey agara ekildi ve üreme olup olmaması yönünden değerlendirildi.

3.4 IL-6 Elisa Metodu

Tüm hastaların çalışma ve kontrol gözlerinin alt forniksindeki gözyaşı menüsküsünden konjonktivaya dokunmadan künt uçlu cam mikro pipetler kullanılarak 120µl gözyaşı örneği toplandı. Toplanan örnekler vakit kaybetmeden örneklerin çalışılacağı zamana kadar -80°C'de saklandı. Tüm örnekler toplandıktan sonra hepsi birlikte İnterlökin-6 (IL-6) ve Transforme edici büyüme faktörü beta-2 (TGF-β2) açısından ELİSA (*Enzyme Linked Immünoabsorbant Assay*) yöntemiyle çalışıldı. TGF-β2 için Bendermed Human TGF-β2 BMS254 kiti, IL-6 için Bendermed Human IL-6 BMS213 kiti kullanıldı. Yöntem aşağıda belirtildiği şekildedir.

3.4.1 Reaktiflerin hazırlanması

Test protokolüne başlamadan önce solüsyonların oda ısısına gelmeleri beklendi.

Yıkama solüsyonu: 1000ml distile su ile 50ml yıkama solüsyonu karıştırılarak hazırlandı (X20).

Assay solüsyonu: 100ml distile su ile 5ml assay solüsyonu karıştırılarak hazırlandı (X20).

Biotin konjugat: 1/100 oranında assay solüsyonu ile hazırlandı.

Streptavidin-HRP: 1/200 oranında assay solüsyonu ile hazırlandı.

İnsan IL-6 standardı: Liyofilize standart distile su ile çözüldü. Hazırlanan standart konsantrasyonu 200pg/ml'dir. Seri dilüsyonla diğer standartlar hazırlandı (100pg/ml, 50 pg/ml, 25pg/ml, 12,5pg/ml, 6,25pg/ml, 3,13pg/ml, 1,56pg/ml).

Kontroller: Liyofilize kontroller 300µl distile su ile çözüldü.

3.4.2 Örneklerin Hazırlanması

Tüm örnekler oda ısısına getirildi. 10 dakika 4000rpm de santrifüj edildi. Yapılan literatür taramaları sonunda dilüsyon oranlarına karar verildi.

Çalışma örnekler için: 1/2 dilüsyon (55µl örnek+ 55µl assay)
 1/20 dilüsyon (10µl örnek+ 190µl assay)
 1/40 dilüsyon (75µl 1/20'lik dilüsyon örnek+ 75µl assay)

Kontrol örnekler için: 1/2 dilüsyon (50µl örnek+ 50µl assay)
 1/10 dilüsyon (10µl örnek+ 90µl assay)

3.4.3 Test Protokolü

Yeterli sayıda kuyucuk (*microwell*) hazırlanır. 400µl yıkama solüsyonu ile 2 kere yıkanır. İlk kuyucuğa 100µl assay solüsyonu kör (*blank*) olarak pipetlenir. Sırasıyla kuyucuklara hazırlanan dilüsyonlar dan 100µl pipetlenir. Hazırlanan örneklerden 100µl pipetlenir. Biotin-konjugat hazırlanarak tüm kuyucuklara 50µl pipetlenir. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18–25°C) mikropate karıştırıcıda 100rpm'de 2 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır (otomatik

yıkayıcıda). Tüm kuyucuklara hazırlanan 100µl Streptavidin-HRP pipetlenir. Plate'nin üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18–25°C) mikropate karıştırıcıda 100rpm'de 1 saat inkübe edilir. Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır. Tüm kuyucuklara hazırlanan 100µl TMB Substrate solüsyonu pipetlenir. 10 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edilir. 100µl durdurma (stop) solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır. Spektrofotometrede 450–620nm (referans dalga boyu) uygun grafik özellikleri ile okutulur.

3.4.4 Sonuçların değerlendirilmesi

Standart konsantrasyonları ve bu konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile standart eğri oluşturulur. Bu eğri kullanılarak örnek absorbans değerlerinden konsantrasyon değerleri alınır. Alınan değerler dilüsyon oranları ile çarpılarak gerçek konsantrasyonlara ulaşılır.

3.5 TGFβ-2 ELİSA Metodu

3.5.1 Reaktiflerin hazırlanması

Test protokolüne başlamadan önce solüsyonların oda ısısına gelmeleri beklendi.

Yıkama solüsyonu: 1200ml distile su ile 30ml yıkama solüsyonu karıştırılarak hazırlandı (X40).

Assay solüsyonu: 100ml distile su ile 5ml assay solüsyonu karıştırılarak hazırlandı (X10).

İnsan TGFβ-2 standardı: 1000pg/ml olan (S1) stok standarttan seri dilüsyonla diğer standartlar hazırlandı (1000pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62,5pg/ml, 31,3pg/ml, 15,6pg/ml, 7,8pg/ml).

3.5.2 Örneklerin Hazırlanması

Tüm örnekler oda ısısına getirildi. 10 dakika 4000rpm'de santrifüj edildi. Yapılan literatür taramaları sonunda dilüsyon oranlarına karar verildi.

Çalışma örnekler için: 1/10 dilüsyon (20µl örnek+ 180µl assay)

1/100 dilüsyon (5µl örnek+ 495µl assay)

Kontrol örnekler için: 1/5 dilüsyon (40µl örnek+ 160µl assay)

1/20 dilüsyon (15µl örnek+ 285µl assay)

1/40 dilüsyon (100µl 1/20 dilüsyon+ 285µl assay)

3.5.3 Test Protokolü

Dilüsyon yapılan örnekler 200µl olarak tüplere hazırlanır. Üzerlerine 20µl HCL eklenir. Karıştırıldıktan sonra 15 dakika inkübe edilir. Nötralize etmek için üzerlerine 20µl 1N NaOH eklenir ve pH ölçülür (pH: 7–8). Yeterli sayıda kuyucuk (*microwell*) hazırlanır. İlk kuyucuğa 100µl assay solüsyonu kör (*blank*) olarak pipetlenir. Sırasıyla kuyucuklara hazırlanan standart dilüsyonlar dan 100µl pipetlenir. Plate'in üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18–25°C) mikroplate karıştırıcıda 100rpm'de 3 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonunda Plate açılarak 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır (otomatik yıkayıcıda). Tüm kuyucuklara hazırlanan 100µl Streptavidin-HRP pipetlenir. Plate'nin üzeri kapatılarak oda sıcaklığında (18–25°C) 20 dakika inkübe edilir. Plate açılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır. Tüm kuyucuklara hazırlanan 100µl TMB Substrate solüsyonu pipetlenir. 15 dakika karanlıkta ve oda sıcaklığında inkübe edilir. 50µl durdurma (stop) solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılır. Spektrofotometrede 450–620nm (referans dalga boyu) uygun grafik özellikleri ile okutulur.

3.5.4 Sonuçların değerlendirilmesi

Standart konsantrasyonları ve bu konsantrasyonlara ait absorban değerleri ile standart eğri oluşturulur. Bu eğri kullanılarak örnek absorban değerlerinden konsantrasyon değerleri alınır. Alınan değerler dilüsyon oranları ile çarpılarak gerçek konsantrasyonlara ulaşılır.

3.6 Konjonktiva İmpresyon Sitolojisi

Çalışmaya katılan tüm hastalardan oküler yüzeydeki yüzeysel hücre değişikliklerini ve enflamasyonu gösterebilmek amacıyla konjonktiva impresyon sitolojisi alındı. Konjonktiva impresyon sitolojisi 0.22µm, 47mm selüloz ester karışımı membran filtreleri kullanılarak topikal anestezi altında alındı. Alınan örnekler Patoloji Anabilim Dalı Sitopatoloji Ünitesi'nde Periyodik Asit Schiff (PAS) boyaması yapılarak epitelyal metaplazi ve milimetrekarede enflamatuar hücrelerin epitel hücrelerine oranına bakılarak değerlendirildi. PAS boyama tekniği aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

3.6.1 PAS boyama tekniği

1. Filtre kâğıdı %95'lik etanol ile 10 dakika fiske edilir.
2. Filtre kâğıdı distile su ile 5 dakika yıkanır.
3. Filtre %0,5 Periyodik asit içinde 7 dakika bekletilir.
4. Filtre kâğıdı distile su ile yıkanır.
5. Filtre Schiff solüsyonunda 15 dakika bekletilir.
6. Filtre kâğıdı distile su ile yıkanır.
7. Filtre kâğıdı modifiye Mayer's Hematoksilenin içinde 2 dakika bekletilir.
8. Filtre kâğıdı musluk suyu altında 3 dakika yıkanır.

9. Absolü alkolden 3 kez geçirilerek filtre kâğıdı dehidrate edilir.

10. Xylen'den 3 kez geçirilerek filtre kâğıdı temizlenir.

11. Filtre kâğıdı slâyt üzerine slâyt yapıştırıcısı kullanılarak yapıştırılır.

Enflamatuar hücrelerin varlığı hücrelerin yoğunluğuna göre subjektif olarak 0, 1+, 2+ olarak sınıflandırıldı. Epitel metaplazisi Nelson evreleme prensiplerine göre 4 evrede incelendi. Nelson evreleme sistemi aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır (20).

3.6.2 Nelson evrelemesi

Nelson Evre 0: Epitel hücreleri küçük ve yuvarlaktır, sitoplâzmaları eozinofilik boyanır, nükleusları bazofilik boyanır ve nükleus sitoplâzma oranı 12'dir. Goblet hücreleri sayıca yoğun olup oval şekillidirler ayrıca yoğun PAS pozitif sitoplâzmaları vardır.

Nelson Evre 1: Epitel hücreleri hafif büyümüş ve daha poligonal izlenirler, sitoplâzmaları eozinofilik boyanır, nükleusları daha büyümüş olarak izlenir. Nükleus sitoplâzma oranı 1/3 olarak izlenir. Goblet hücreleri sayıca azalmış olmakla birlikte evre 0'da olduğu gibi oval şekilli ve yoğun PAS pozitif sitoplâzma içerirler.

Nelson Evre 2: Epitel hücreleri daha büyüktür ve tamamen poligonal olarak izlenirler, sitoplâzmalarının boyanma paterni değişkendir, nükleusları iyice küçülmüş olup nükleus sitoplâzma oranı 1/4–1/15 arasında değişir. Goblet hücre yoğunluğu iyice azalmış olup hacimce küçülmüş izlenirler; sitoplâzmaları daha hafif PAS pozitif boyanırlar.

Nelson Evre 3: Epitel hücreleri iyice büyümüş olup poligonaldirler; sitoplâzmaları bazofilik boyanır; nükleusları piknotik izlenir birçok hücrede ise hiç nükleus izlenmez. Goblet hücreleri neredeyse hiç izlenmez.

3.7 İmmünohistokimyasal İnceleme

Tüm hastaların hem çalışma hem kontrol gözlerinden histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için üst tarsal konjonktivalarından topikal anestezi altında, 1 damla proparakain HCL %0,5 ile konjonktivanın uyuşturulması sonrasında, 11 numaralı bisturi ile 1X1mm boyutunda biyopsi materyali alındı. Alınan örnekler Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Patoloji Birimi'nde incelendi. Örnekler direk mikroskopi için Hematoksilen Eosin boyasıyla; immünohistokimyasal inceleme için streptavidin biotin peroksidaz metodu kullanılarak enflamasyonda etkin olduğu düşünülen sitokinler [Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF β), Tümör nekrotize edici faktör alfa (TNF α), İnterlökin 6 (IL-6), İnterlökin 1 (IL-1), İnterlökin 2 (IL-2), İnterlökin 17 (IL-17), Substans P (Subs P), Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP)]; lenfosit alt tiplendirilmesi için CD4, CD8, CD20; dentritik hücrelerin varlığı ve yoğunluğunun tespiti açısından CD1a spesifik monoklonal antikorlarla boyandı. İmmünohistokimya boyama tekniği aşağıda belirtildiği gibidir.

3.7.1 İmmünohistokimya boyama tekniği

İmmünohistokimyasal boyamalar için tüm biyopsi materyallerinden poly-L-Lysin kaplı lamlara 5 mikrometre kalınlıkta parafin kesitler alınacaktır. İmmünohistokimyasal boyama basamakları aşağıda verildiği şekilde gerçekleştirilecektir:

1. Parafin kesitlerin deparafinizasyonu
2. Antijen retrieval: 0.01mol/L sitrat, pH6.0 solüsyonu içinde mikrodalga fırında bekletme (4x5 dakika)
3. Oda sıcaklığında soğutma (20 dakika)
4. PBS ile yıkama (5 dakika)
5. %3'lük hidrojen peroksit ile endojen peroksidaz aktivitesinin ortadan kaldırılması (5 dakika)
6. PBS ile yıkama (5 dakika)

7. Primer antikor ile oda sıcaklığında 2 saat inkübasyon
8. PBS ile yıkama (5 dakika)
9. Biotin konjuge sekonder antikor ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon
10. PBS ile yıkama (5 dakika)
11. Streptavidin-peroksidaz kompleksi ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyon
12. PBS ile yıkama (5 dakika)
13. DAB kromojen uygulanması (5 dakika)
14. Musluk suyu ile yıkama (5 dakika)
15. Balsam ile kapama.

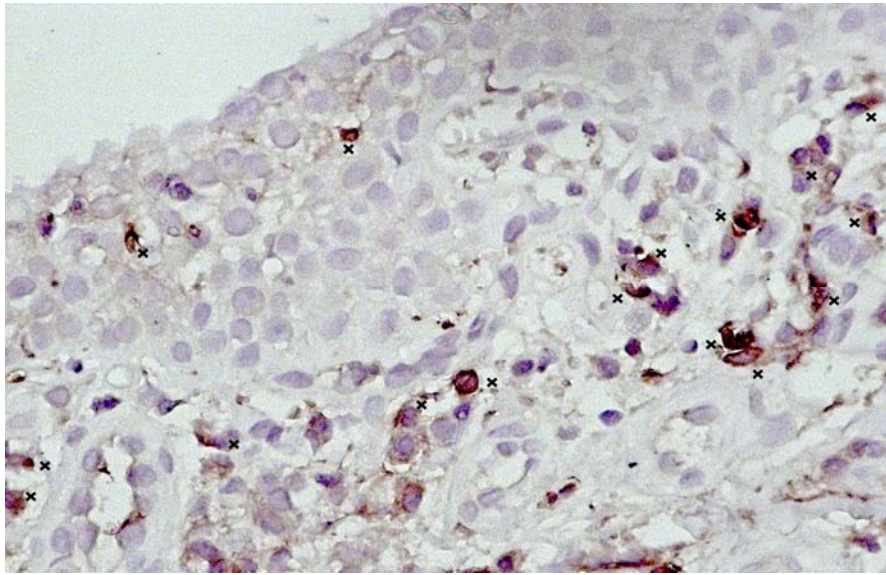
Negatif kontrol olarak her biyopsiden bir kesit primer antikor yerine goat serum kullanılarak uygulanmıştır.

Boyamalar yapıldıktan sonra her kesitin biyopsi alanı '*digital image analyzer*' kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.5). Bu programda kesitin sınırları belirlendikten sonra kesitin yüzey alanı otomatik olarak hesaplanmaktadır. Daha sonra kesitteki immünohistokimyasal boyayı tutan tüm hücreler işaretlendi (Şekil 3.6) ve sayıldı. Hücre sayısının hesaplanan biyopsi alanına bölünmesi sonucunda milimetrekaredeki boyanan hücre sayısı kesin olarak hesaplandı. Örneklerdeki boyanma paternleri dikkate alınırken pozitif boyanma olarak hücrelerdeki boyanma dikkate alınmıştır. Hücreler arası boşluklardaki boyanma nonspesifik olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol ve çalışma grupları için elde edilen değerler istatistiksel yöntemler kullanılarak karşılaştırıldılar.



Şekil 3.5. Dijital olarak kesit alanının hesaplanması görülmektedir.



Şekil 3.6. Kesitteki boya tutan tüm hücrelerin işaretlenmesi görülmektedir.

Direk mikroskopide mononükleer hücre infiltrasyonu ve nötrofil infiltrasyonu, epitel ve substia propria için ayrı ayrı değerlendirilerek derecelendirildi. Ayrıca infiltrasyon varlığında infiltre eden hücre çeşitleri de belirlendi. Her kesit için goblet hücre hiperplazisinin varlığı sübjektif olarak var ya da yok şeklinde belirlendi.

Epitel ya da substatia propriada mononükleer/ nötrofil infiltrasyonu evrelemesi:

Evre 0: Yok.

Evre 1: Hafif (Lamina propriada veya epitel içinde tek tek hücreler halinde, zorla seçilebiliyor).

Evre 2: Orta (Lamina propriada veya epitel içinde hücreler yer yer küme halinde görülüyor ama kalabalık değil).

Evre 3: Şiddetli (Lamina propriada veya epitel içinde küçük büyütme ile de rahatlıkla fark edilebilen yoğun hücresel infiltrasyon).

3.8 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS sürüm 15 programına veri girişi yapılarak parametrik olmayan bir test olan Mann Whitney U testi ve Ki-kare testi kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya ortalama yaşları 46,4 (22–74) yıl olan 7 erkek, 8 kadın dâhil edilmiştir. Ortalama protez kullanma süresi 5,33 yıldır (Tablo 4.2). Üç hastaya eviserasyon 12 hastaya enükleasyon yapılmıştı. 4 hastanın sağ, 11 hastanın sol gözü protezdi. Operasyon nedeni olarak travma (10 göz) en sık sebepti, bunu 3 tümör cerrahisi (koroid melanomu) ve 2 absölu glokom nedeniyle yapılan cerrahi izliyordu. Tüm hastalar aşırı mukus salgısından, kaşıntıdan ve çapaklanmadan şikâyetçiydi. Protez intoleransı 7 hastada (%46,7) mevcuttu, 3 hastada (%20) hafif derecede vardı, 5 hastada (%33,3) ise yoktu (Tablo 4.3).

Tablo 4.2. Yaş ve protez kullanma süresi

	Yaş	Süre(yıl)
Ortalama	46,4	5,33
Minimum	22	1
Maksimum	74	10
Standart Sapma	16,115	3,28
Medyan	50	5

Tablo 4.3. Protez intoleransı

	Protez İntoleransı
Yok	5 (%46,7)
Hafif	3 (%20)
Belirgin	7 (%33,3)

Konjonktiva kültüründe patolojik üreme çalışma grubunda 6 hastada, kontrol grubunda 4 hastada görüldü (Tablo 4.4). Çalışma grubunda 2 hastada Stafilokokus Epidermidis, 2 hastada Koagülaz (-) Stafilokokus, 1 hastada Koagülaz (-) Stafilokokus ve Difteroidler, 1 hastada Streptokokus

Pnömonia üredi. Kontrol grubunda 1 hastada Koagülaz (-) Stafilokokus, 2 hastada differoidler, 1 hastada Stafilokokus Hominis üredi. Her iki grup arasında patolojik üreme varlığının oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,7$).

Tablo 4.4. Konjonktiva kültüründe patolojik üreme varlığı

Ki-Kare	Patolojik Üreme Var	Patolojik Üreme Yok	p
Çalışma	6 (%40)	9 (%60)	0.7
Kontrol	4 (%26,7)	11 (%73,3)	

Çalışma grubunda hem IL-6'nın hem de TGF- β 2'nin gözyaşındaki seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (Tablo 4.5).

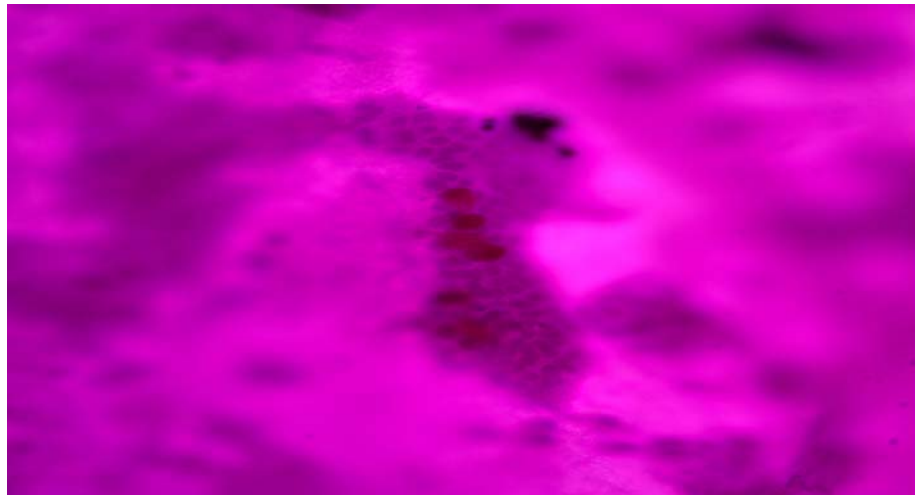
Tablo 4.5. Gözyaşındaki sitokin değerleri

		TGF- β 2(pg/ml)	IL-6(pg/ml)
Çalışma	Ortalama	9294,86	552,34
	Medyan	7451,4	160,8
	Maksimum	17638	3561,48
	Minimum	3834,3	44,62
	Standart Sapma	5038,14	925,38
Kontrol	Ortalama	5336,41	17,08
	Medyan	4225,2	7,1
	Maksimum	10735,6	150,71
	Minimum	1515	4,3
	Standart Sapma	2690,5	37,07
Mann Whitney U P		<0.0001	0.009

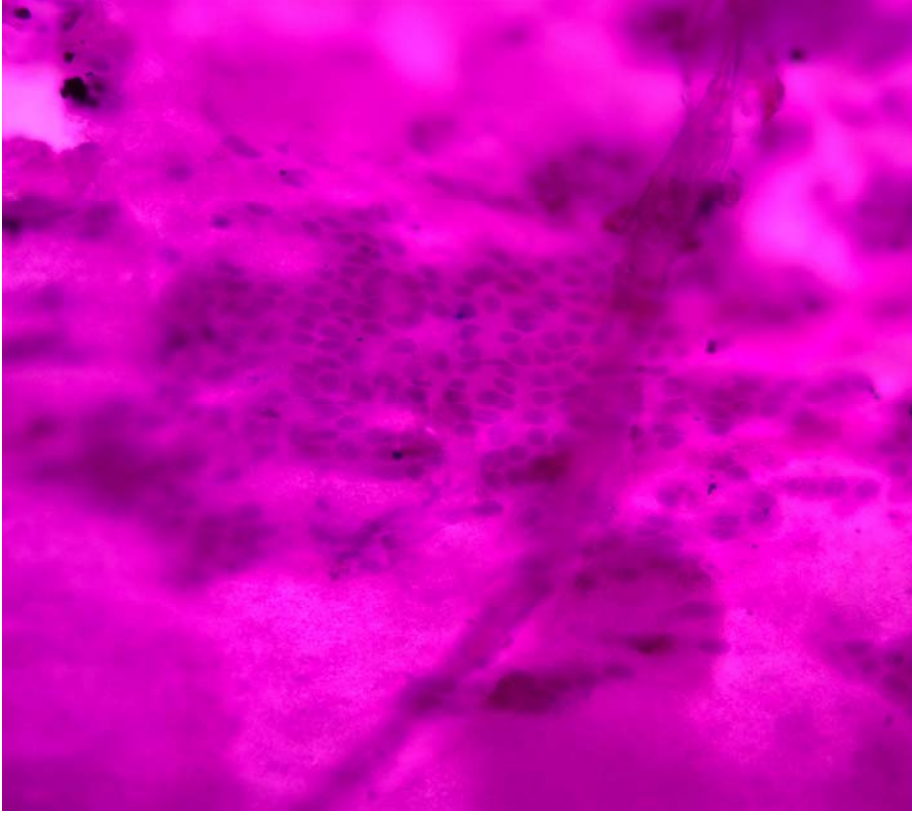
Konjonktival impresyon sitolojisinde kontrol grubunda 9, çalışma grubunda 4 hastadan alınan örnekler inceleme için yeterli düzeyde değildi. Yetersiz örneklemenin üst tarsal konjonktivadan impresyon sitoloji örnekleri alınırken yaşanan teknik zorluklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu teknik zorlukların başında üst tarsal konjonktivanın pürüzsüz bir yüzeye sahip olmaması gelir. Ayrıca bu bölgede konjonktivanın altta tarsi sıkı yapışık olması, hastaların gözlerini ya da göz kapaklarını hareket ettirdiklerinde sitoloji alınacak yüzeyin kuru kalmasını sağlamadaki güçlük ve ıslanan filtre kâğıdının hücre toplama özelliğini kaybetmesi de bu teknik zorluklar arasında sayılabilir. Çalışma grubunda 5 hastada iltihabi hücre görüldü, kontrol grubunda hiçbir örnekte iltihabi hücre görülmedi. Nelson evrelemesine göre kontrol grubuna ait tüm gözlerde evre 0 infiltrasyon, çalışma grubundaki 2 hastada evre 0, 7 hastada evre 1, 2 hastada evre 3 infiltrasyon görüldü. (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. İmpresyon sitolojisi Nelson evreleme sonuçları

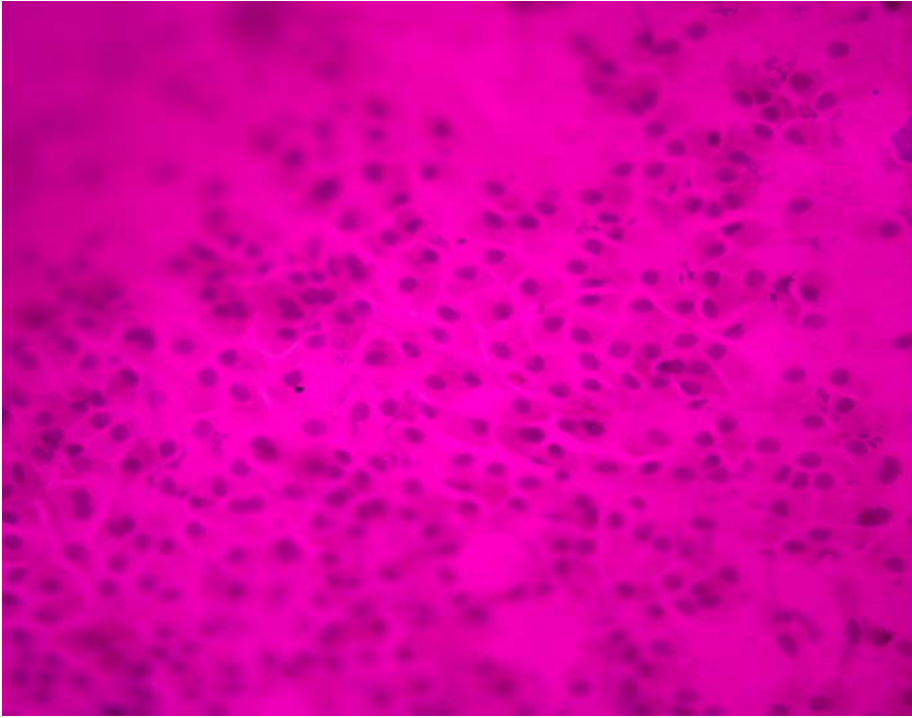
Nelson Evre	Evre 0	Evre1	Evre 2	Evre 3	Yetersiz
Çalışma	2	7	2	0	4
Kontrol	6	0	0	0	9



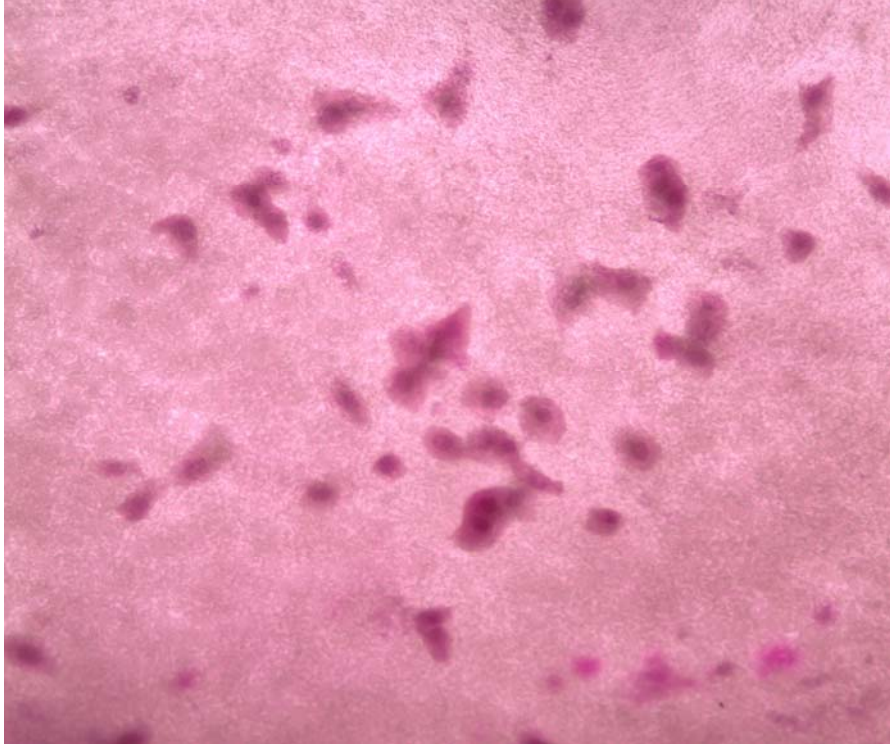
Şekil 4.7. Nelson evre 0, çalışma grubu.



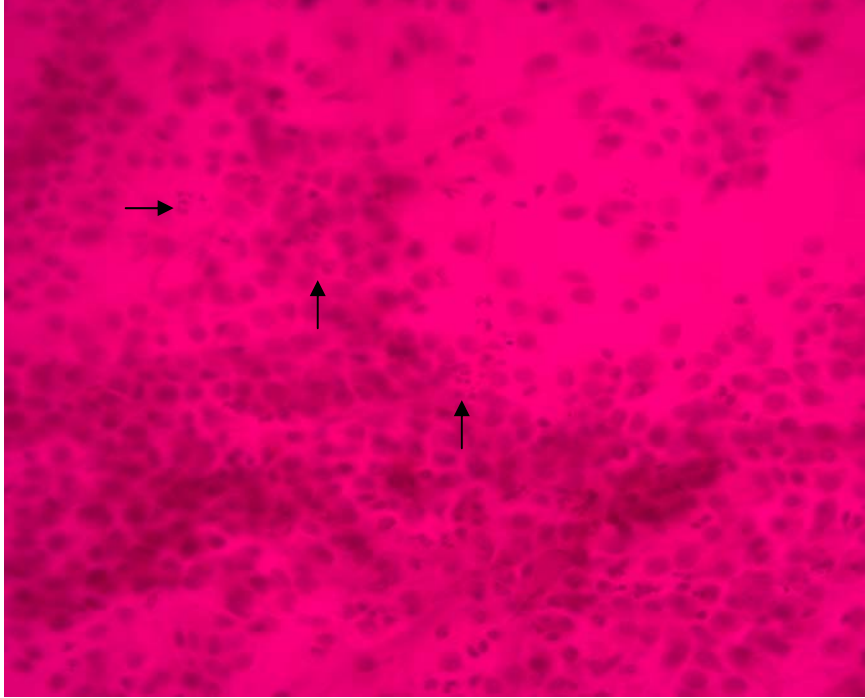
Şekil 4.8. Nelson evre 0, kontrol grubu.



Şekil 4.9. Nelson evre 1.



Şekil 4.10. Nelson evre 2.



Şekil 4.11. Çalışma grubundan bir hastanın impresyon sitolojisinde yaygın nötrofilik infiltrasyon görülmektedir (okla işaretlenmiş olan nötrofiller görülmektedir).

Konjonktiva biyopsilerinin hematoxilen eosin ile yapılan boyamaları sonucunda yapılan direk mikroskopilerinde epitel tabakası ve substantia propria da mononükleer hücre infiltrasyonu, mononükleer hücrelerin çeşitleri, nötrofil infiltrasyonu ve goblet hücre hiperplazisinin varlığı incelendi.

Epitel düzeyindeki mononükleer hücre infiltrasyonuna bakıldığında hiçbir hastada orta dereceli infiltrasyon görülmedi. Kontrol grubunda sadece 2 hastada hafif dereceli infiltrasyon varken çalışma grubunda 8 hastada hafif dereceli infiltrasyon vardı. Bu fark istatistiksel olarak sınırda anlamlıydı (Tablo 4.7). Epitel düzeyindeki infiltrasyon gösteren hücre çeşitlerine bakıldığında mononükleer hücrelerden yalnızca lenfosit tespit edildi (Şekil 4.12).

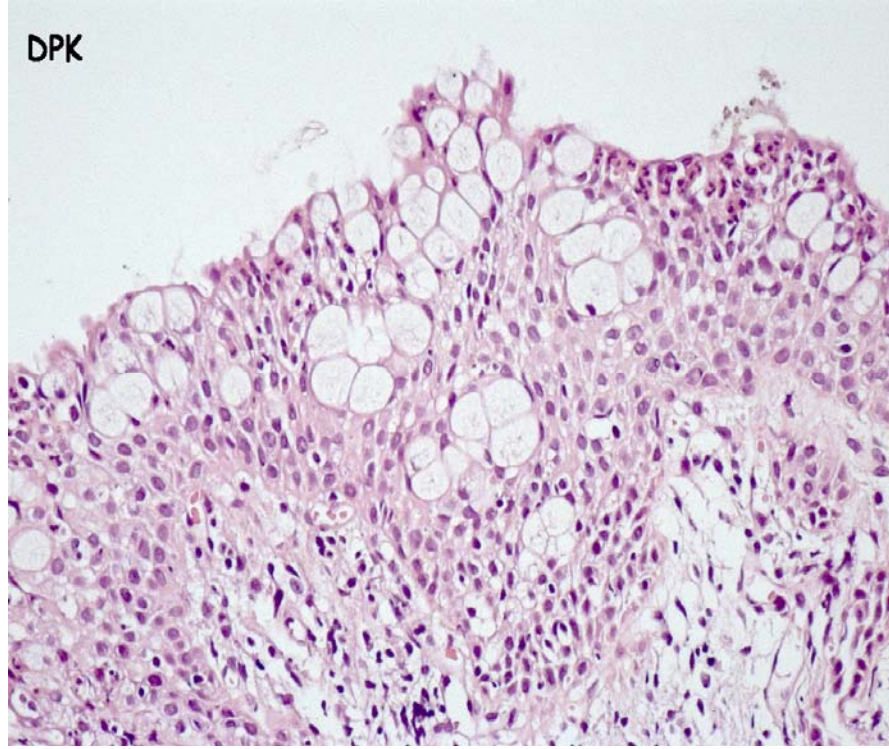
Tablo 4.7. Epitelyal mononükleer hücre infiltrasyonu

Ki-Kare P: 0,05	Epitelyal Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu		Total
	Yok	Hafif	
Çalışma	7	8	15
Kontrol	13	2	15
Total	20	10	30

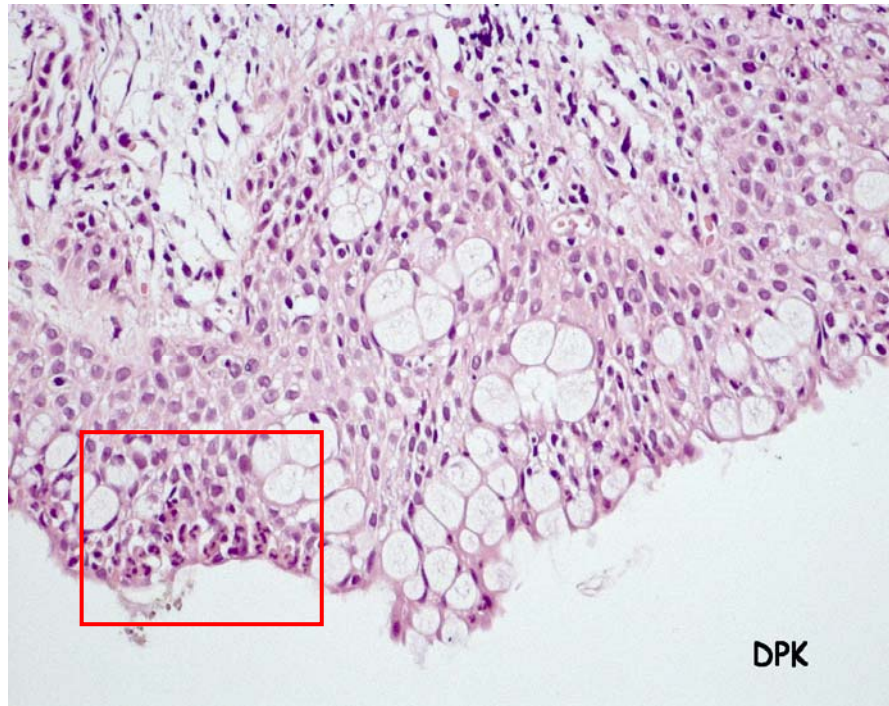
Epitel düzeyindeki nötrofil infiltrasyonuna (Şekil 4.13, Şekil 4.18) bakıldığında, infiltrasyon düzeyi çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Epitelyal nötrofil infiltrasyonu

Ki-Kare P: 0,015	Epitelyal Nötrofil İnfiltrasyonu			Total
	Yok	Hafif	Orta	
Çalışma	1	10	4	15
Kontrol	5	10	0	15
Total	6	20	4	30



Şekil 4.12. Epitel düzeyindeki lenfosit infiltrasyonu görülmektedir.



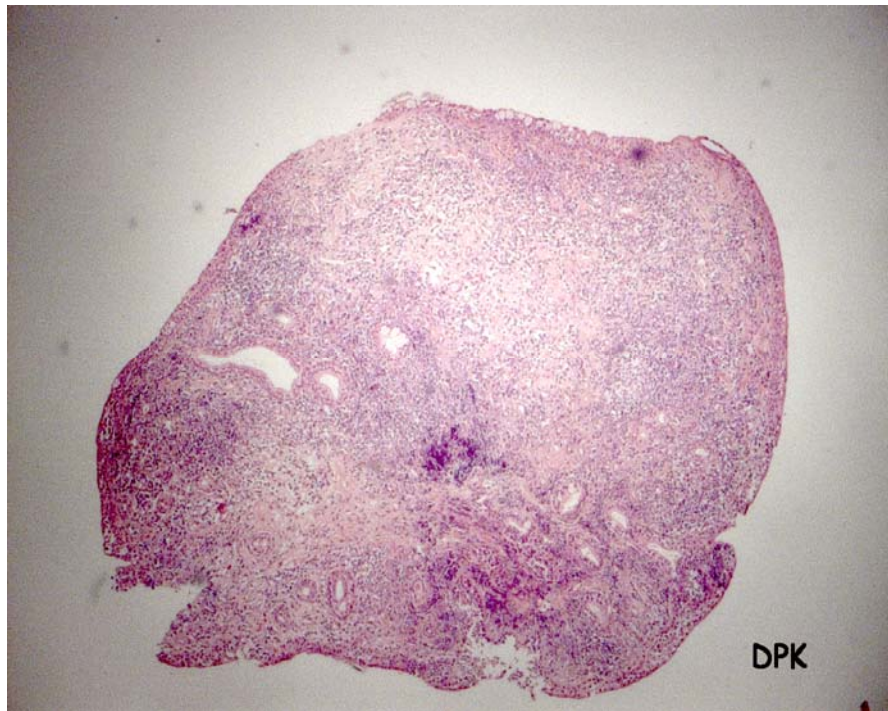
Şekil 4.13. Epitel düzeyindeki nötrofil infiltrasyonu ve goblet hücre hiperplazisi görülmektedir (kare içine alınmış bölgede gruplar halinde nötrofiller görülmektedir).

Lamina propriadaki mononükleer hücre (Tablo 4.9) (Şekil 4.14–4.17) ve nötrofil (Tablo 4.10) (Şekil 4.18) infiltrasyonuna bakıldığında infiltrasyon düzeyi çalışma grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu ($p < 0,0001$). Mononükleer hücrelerin çeşitleri incelendiğinde lenfosit, histiyosit ve plazma hücreleri görüldü.

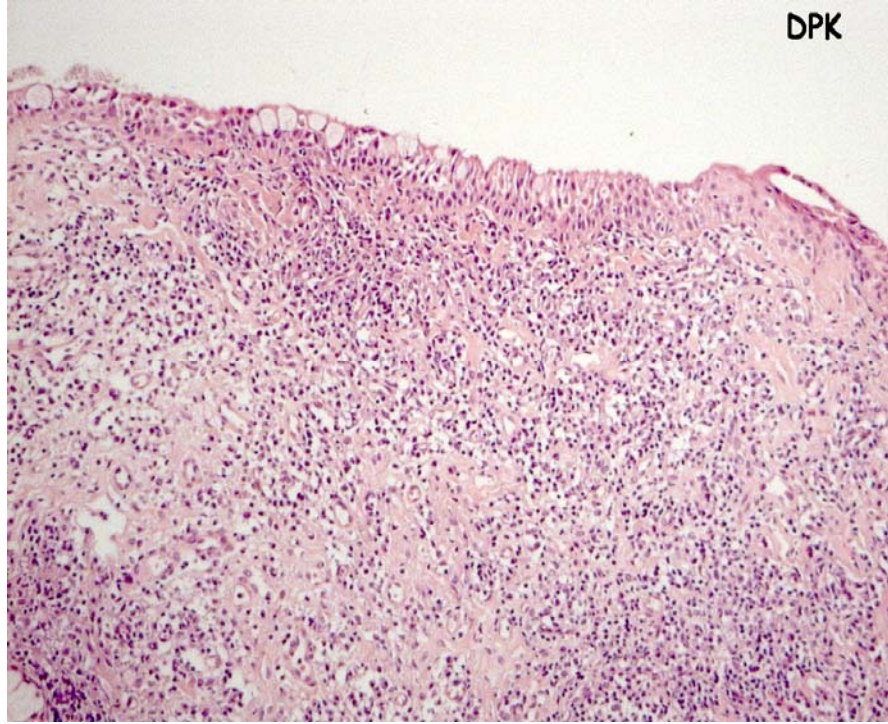
İncelenen örneklerin hiçbirinde ne epitel düzeyinde ne de lamina propriada bazofil ya da eosinofile rastlanmadı.

Tablo 4.9. Lamina propriada mononükleer hücre infiltrasyonu

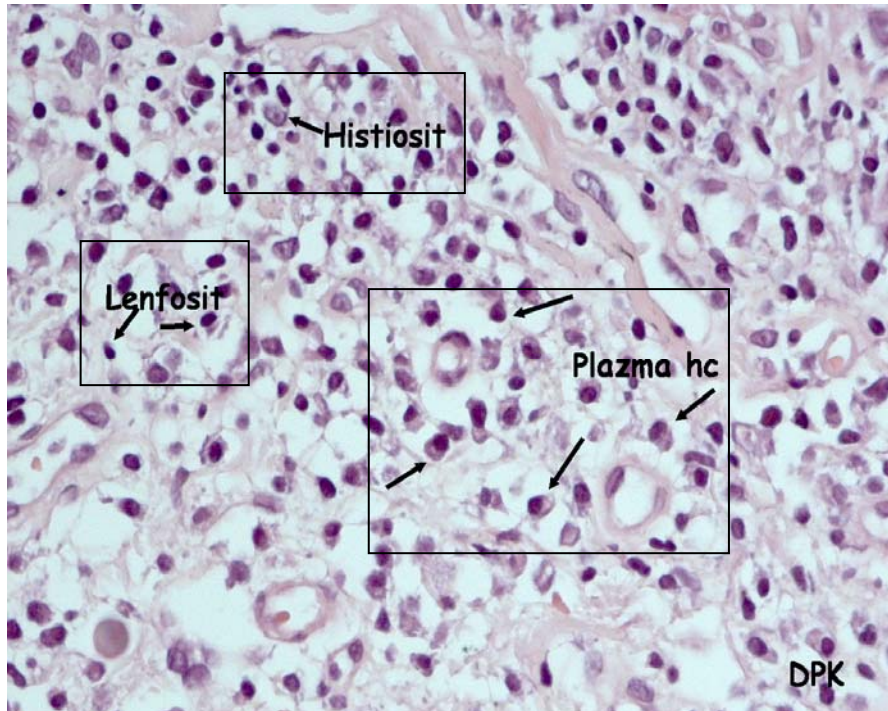
Ki-Kare p: <0,0001	Lamina Propriada Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu				Total
	Yok	Hafif	Orta	Şiddetli	
Çalışma	0	4	8	3	15
Kontrol	2	13	0	0	15
Total		17	8	3	30



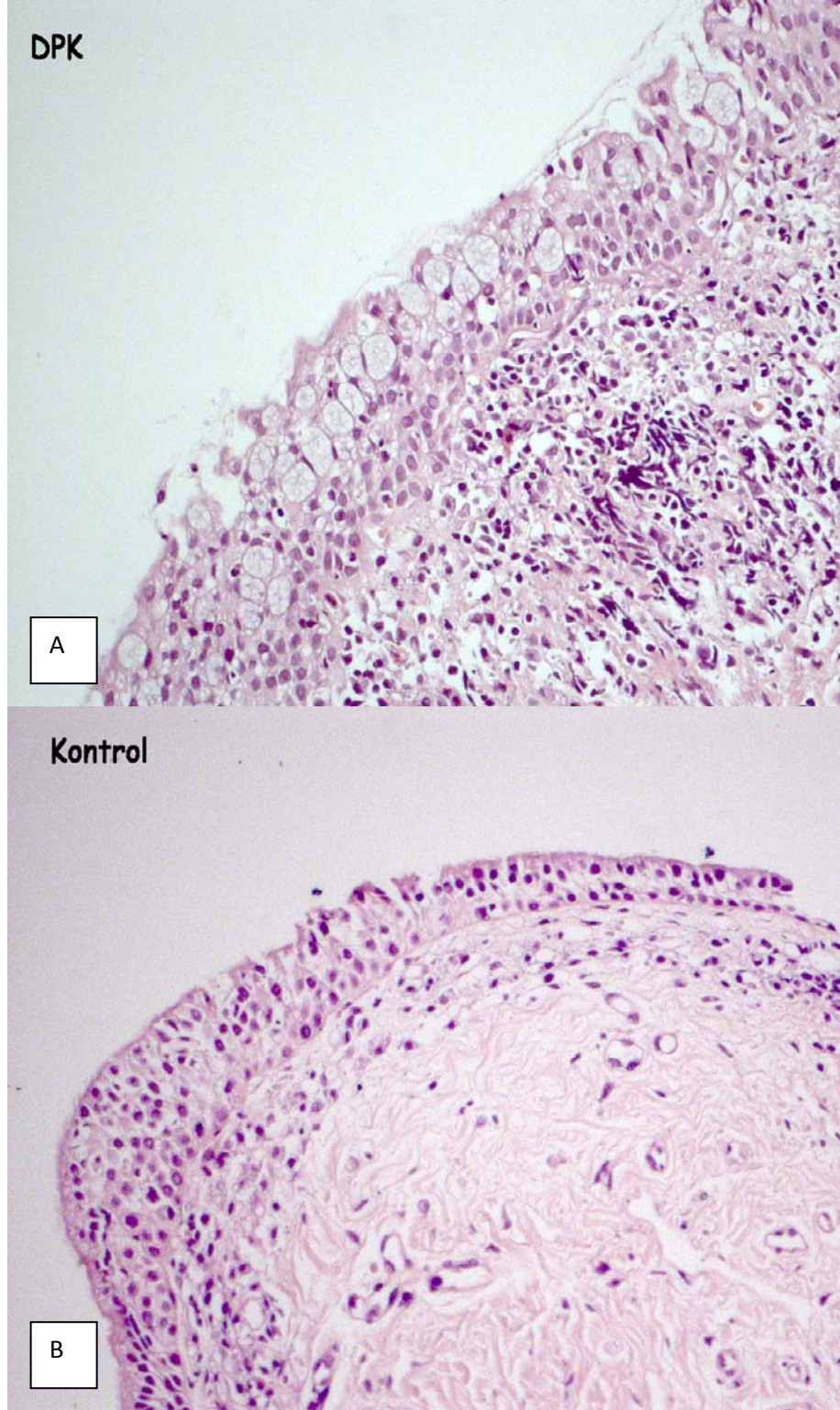
Şekil 4.14. Küçük büyütmede yoğun iltihabi reaksiyon görülmektedir.



Şekil 4.15. Lamina propriada iltihabi hücre infiltrasyonu.



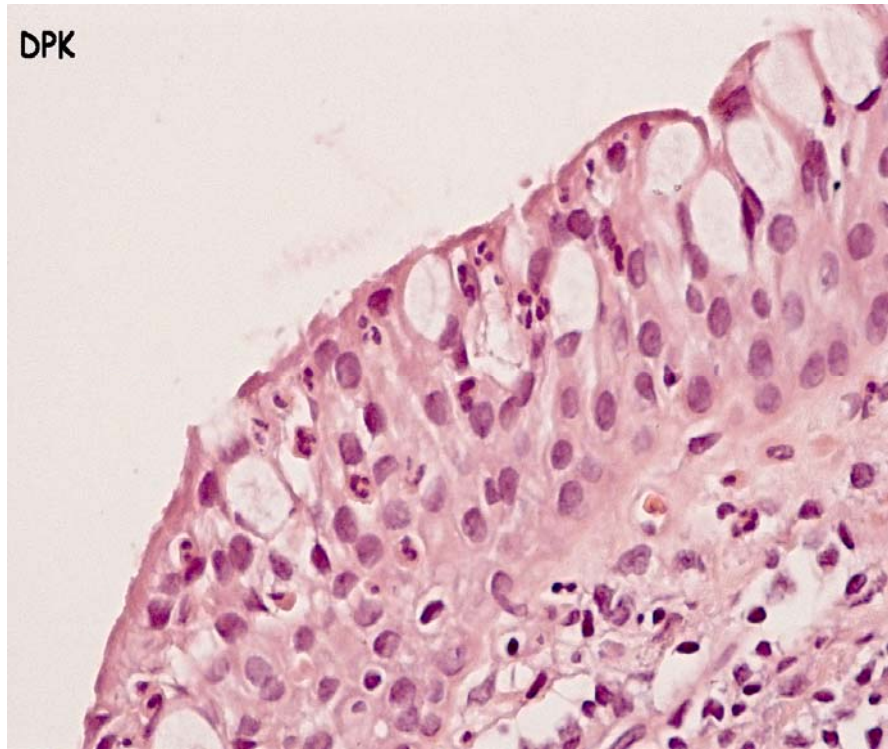
Şekil 4.16. Lamina propriada infiltrasyon gösteren mono nükleer hücre çeşitleri görülmektedir. Okların ucunda sırasıyla lenfosit, histiyosit ve plazma hücreleri görülmektedir.



Şekil 4.17. Dev papiller konjonktiviti olan hastanın çalışma(A) ve kontrol(B) gözlerinden alınan örnekler görülmektedir. Çalışma gözünden alınan örnekte kontrol gözüne göre belirgin olarak artmış iltihabi hücre infiltrasyonu ve goblet hiperplazisi görülmektedir.

Tablo 4.10. Lamina propriada nötrofil infiltrasyonu

Ki-Kare P: 0,001	Lamina Propriada Nötrofil İnfiltrasyonu			Total
	Yok	Hafif	Orta	
Çalışma	0	10	5	15
Kontrol	5	10	0	15
Total	5	20	5	30

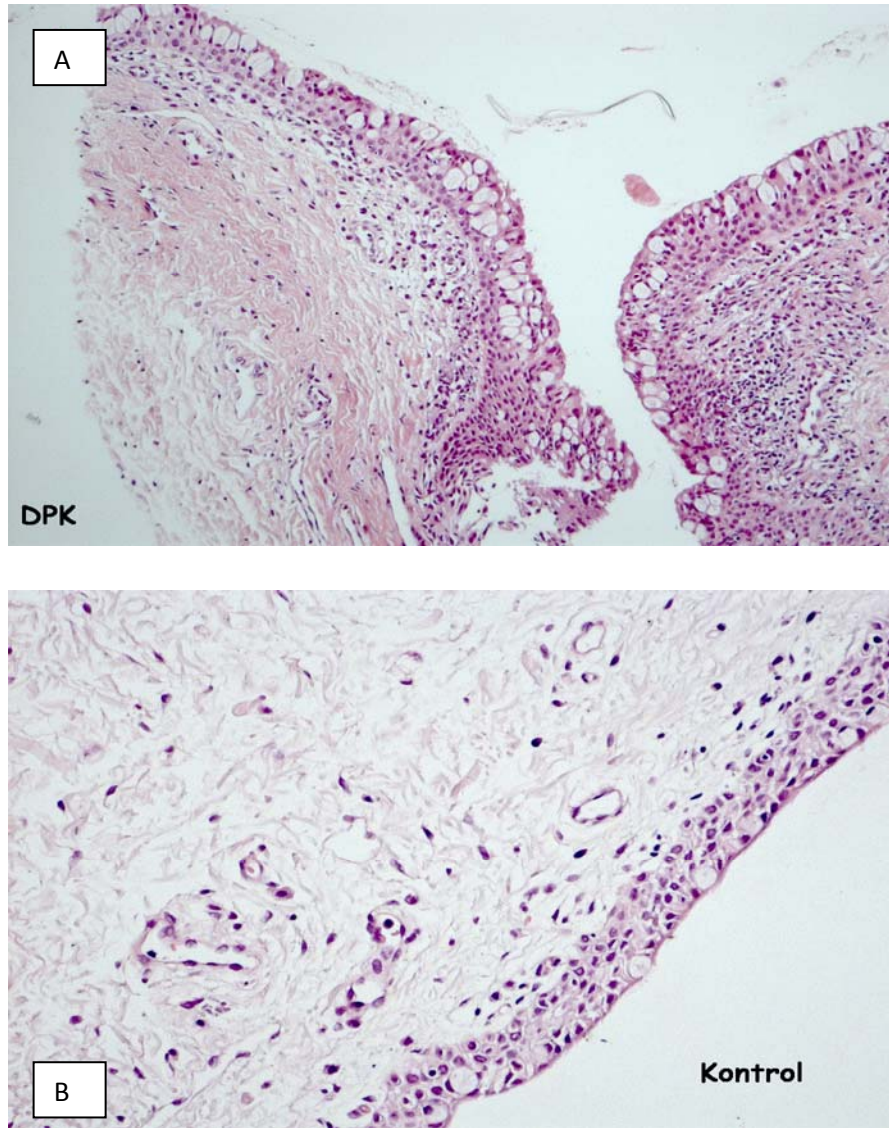


Şekil 4.18. Lamina propriada ve epitel düzeyinde nötrofil infiltrasyonu görülmektedir.

Goblet hücre hiperplazisi çalışma grubunda 8 hastada tespit edilirken kontrol grubunda hiçbir hastada goblet hiperplazisi görülmedi (Şekil 4.13, Şekil 4.17, Şekil 4.19). İstatistiksel olarak goblet hücre hiperplazisinin varlığı açısından her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Goblet hücre hiperplazisi

Ki-Kare P: 0,002	Goblet Hücre Hiperplazisi		Total
	Var	Yok	
Çalışma	8	7	15
Kontrol	0	15	15
Total	8	22	30



Şekil 4.19. Aynı hastanın çalışma (A) ve kontrol (B) gözleri görülmektedir. Çalışma gözünde kontrol gözüne göre belirgin goblet hücre hiperplazisi görülmektedir.

Histopatolojik kesitler İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-2 (IL-2), İnterlökin-6 (IL-6), İnterlökin-17 (IL-17), Tümör Nekrotize Edici Faktör Alfa (TNF- α), Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF- β), Substans P (Subs P), Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP), CD4, CD8, CD20 ve CD1a için immünohistokimyasal olarak boyandı. Boyanan histopatolojik kesitlerin yüzey alanı çalışma ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında, iki grup arasında fark yoktu (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Biyopsi alanları

Mann-Whitney U P:0,174		Biyopsi Alanı(mm ²)
Çalışma	Ortalama	1,30
	Medyan	1,08
	Minimum	0,59
	Maksimum	2,30
	Standart Sapma	0,55
Kontrol	Ortalama	1,02
	Medyan	1,02
	Minimum	0,59
	Maksimum	1,57
	Standart Sapma	0,31

İmmünohistokimyasal boyamalar sonucunda milimetrekaredeki boyanan hücre sayıları her iki grup için karşılaştırıldı. Her iki grup arasında hücre belirteçleri olan CD4, CD8, CD20 ve CD1a için istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (Tablo 4.13). İltihabi belirteçler için IL-6, Subs P, TGF- β ve VIP için anlamlı bir fark bulunurken (Tablo 4.14); IL-1, IL-2, IL-17 ve TNF- α için anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4.15).

Tablo 4.13. Hücre belirteçleri

Gruplar		CD4	CD8	CD20	CD1a
Çalışma	Ortalama	18,83	103,84	23,01	17,46
	Medyan	14,81	98,94	22,22	16,04
	Minimum	4,78	54,17	15,28	6,32
	Maksimum	45,31	193,75	34,09	29,69
	Standart Sapma	11,01	41,72	5,56	7,20
Kontrol	Ortalama	8,42	21,43	17,85	4,61
	Medyan	6,86	18,45	18,52	3,87
	Minimum	2,26	9,02	6,8	0,0
	Maksimum	15,25	42,37	28,42	7,92
	Standart Sapma	3,96	9,63	6,12	2,46
Mann-Whitney U p		0,002	<0,0001	0,041	0,0001

Tablo 4.14. İltihabi belirteçler 1

Gruplar		IL-6	VIP	TGF- β	Subs P
Çalışma	Ortalama	14,70	110,72	4,07	91,63
	Medyan	13,01	111,86	2,08	80,56
	Minimum	6,25	42,61	0,93	31,30
	Maksimum	29,91	204,26	11,86	172,34
	Standart Sapma	5,89	46,77	3,89	39,31
Kontrol	Ortalama	1,96	21,09	0,38	17,98
	Medyan	1,94	19,80	0,0	16,67
	Minimum	0,0	12,26	0,0	10,68
	Maksimum	4,51	30,88	3,39	30,10
	Standart Sapma	1,08	6,24	0,89	5,49
Mann-Whitney U p		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Tablo 4.15. İltihabi belirteçler 2

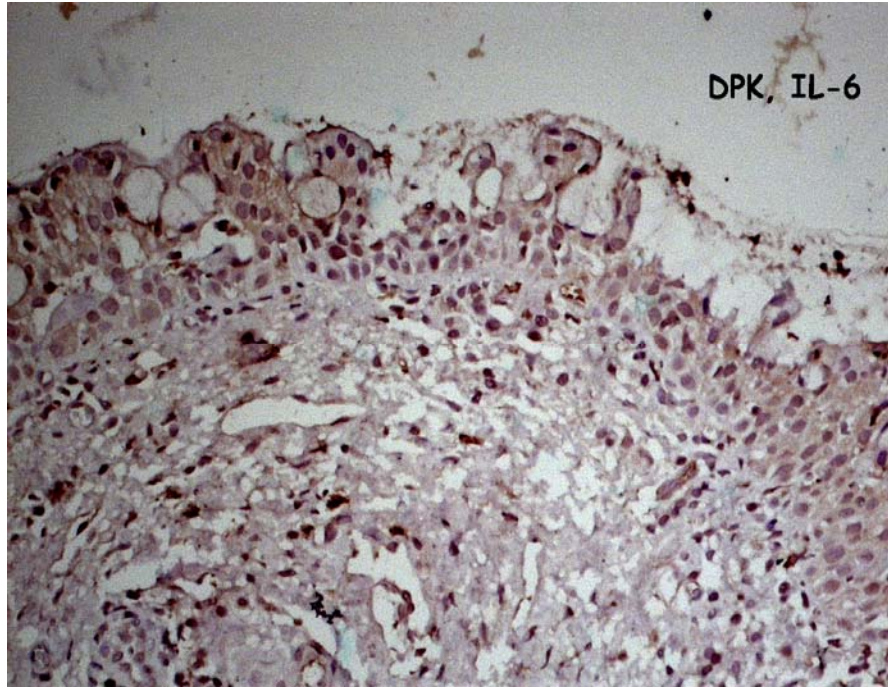
Gruplar		IL-1	IL-2	TNF- α	IL-17
Çalışma	Ortalama	0,61	9,53	1,66	1,28
	Medyan	0,0	8,70	1,85	1,06
	Minimum	0,0	5,56	0,0	0,0
	Maksimum	3,39	14,02	3,25	3,41
	Standart Sapma	0,99	2,61	0,98	0,75
Kontrol	Ortalama	0,0	7,55	1,06	1,05
	Medyan	0,0	8,33	0,97	0,98
	Minimum	0,0	1,29	0,0	0,0
	Maksimum	0,0	12,62	3,39	3,39
	Standart Sapma	0,0	2,91	1,06	1,03
Mann-Whitney U p		0,061	0,137	0,089	0,389

Dev papiller konjonktivitin farklı evreleri için bu evreleri oluşturan gruplar arasında hasta sayısının azlığı nedeniyle istatistiksel çalışma yapılamamıştır. TGF- β için sonuçlar incelendiğinde; evre 2 hastalığı olanlarda TGF- β 'nin hücrel ifade düzeyi ortalama 1,35/mm² olarak tespit edilmiştir. Hücrel ifade düzeyi; Evre 3 hastalığı olanlarda ortalama 5.81/mm², evre 4 olan hastalığı olanlarda ise ortalama 3.28/mm² olarak bulunmuştur. SubsP için sonuçlar incelendiğinde; SubsP hücrel ifade düzeyleri evre 2 hastalıkta ortalama 58,09/mm², evre 3 hastalıkta 94,9/mm² ve evre 4 hastalıkta ortalama 107,38/mm² olarak bulunmuştur. VIP için ifade düzeyleri evre 2 hastalıkta 67,22/mm², evre 3 hastalıkta 114,03/mm² ve evre 4 hastalıkta 142,91/mm² olarak bulunmuştur. IL-6 için ifade düzeyleri evre 2 hastalıkta 12,45/mm², evre 3 hastalıkta 13,62/mm² ve evre 4 hastalıkta 15,5/mm² olarak bulunmuştur (Tablo 4.16).

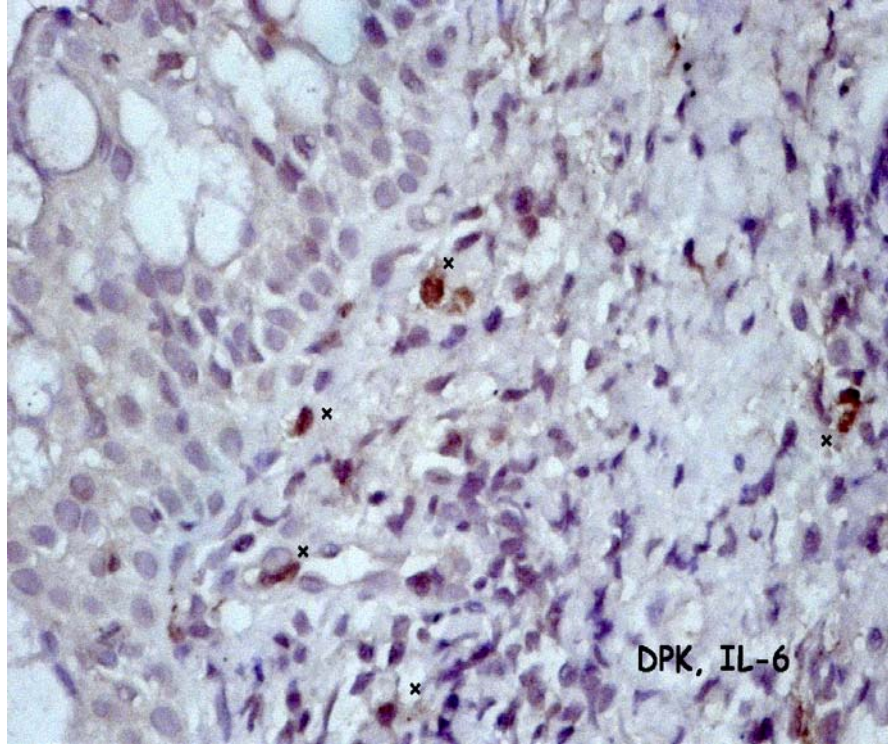
Tablo 4.16. DPK evrelerine göre VIP, SubsP, TGF- β ve IL-6 ifade düzeyleri

	SubsP	VIP	IL-6	TGF- β
Evre 2	58,09	67.22	12,45	1,35
Evre 3	94.9	114.03	13,62	5,81
Evre 4	107,38	142,91	15,5	3,28

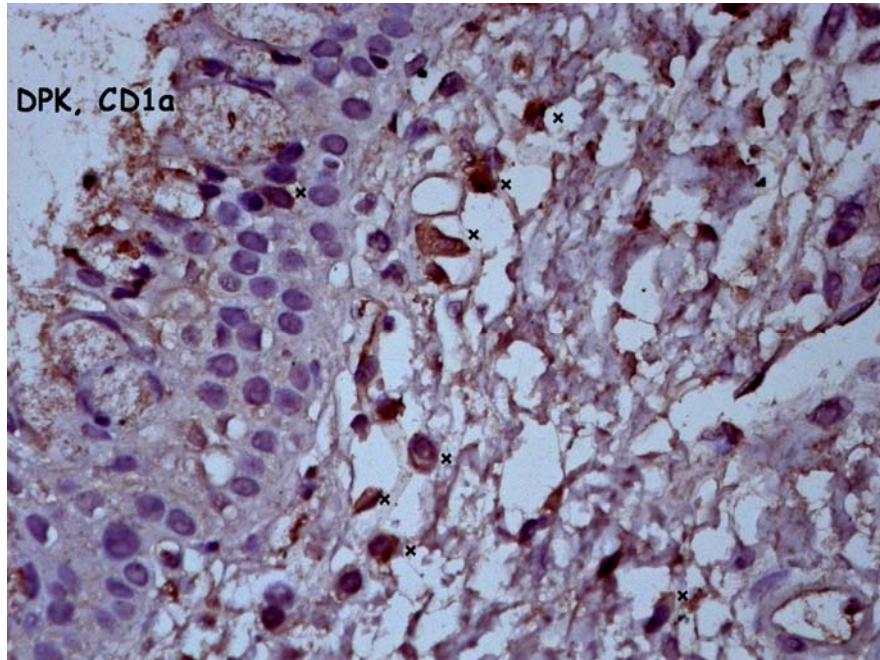
Aşağıda bazı sitokinler için boyanma şekilleri görülmektedir.



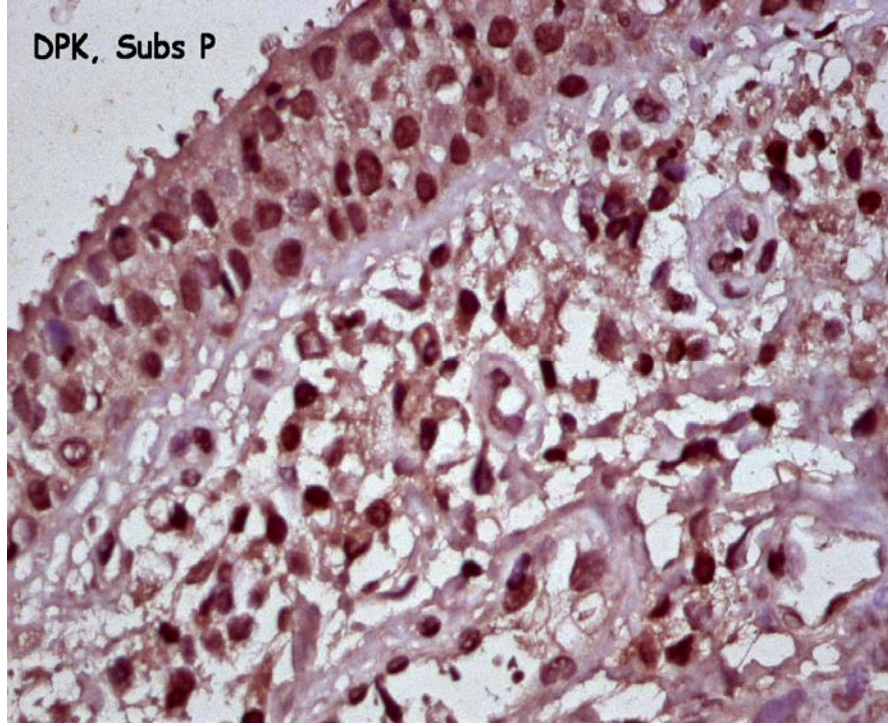
Şekil 4.20. Dev papiller konjonktivit grubunda ki IL-6 boyanması görülmektedir.



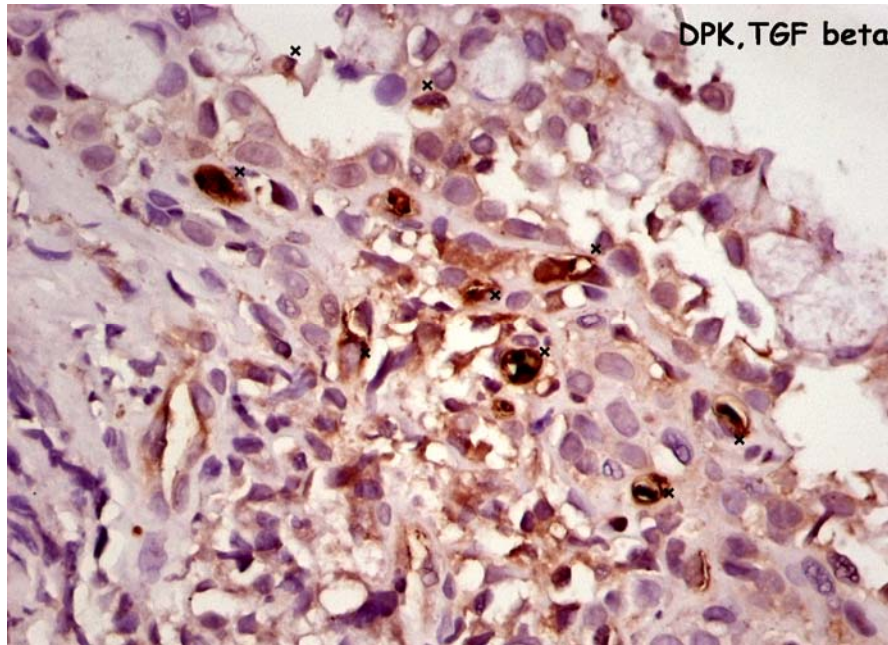
Şekil 4.21. Dev papiller konjonktivit grubunda IL-6 boyanması. Büyük büyütmede IL-6 ile pozitif boyanan hücreler işaretlenmiş olarak görülmekte.



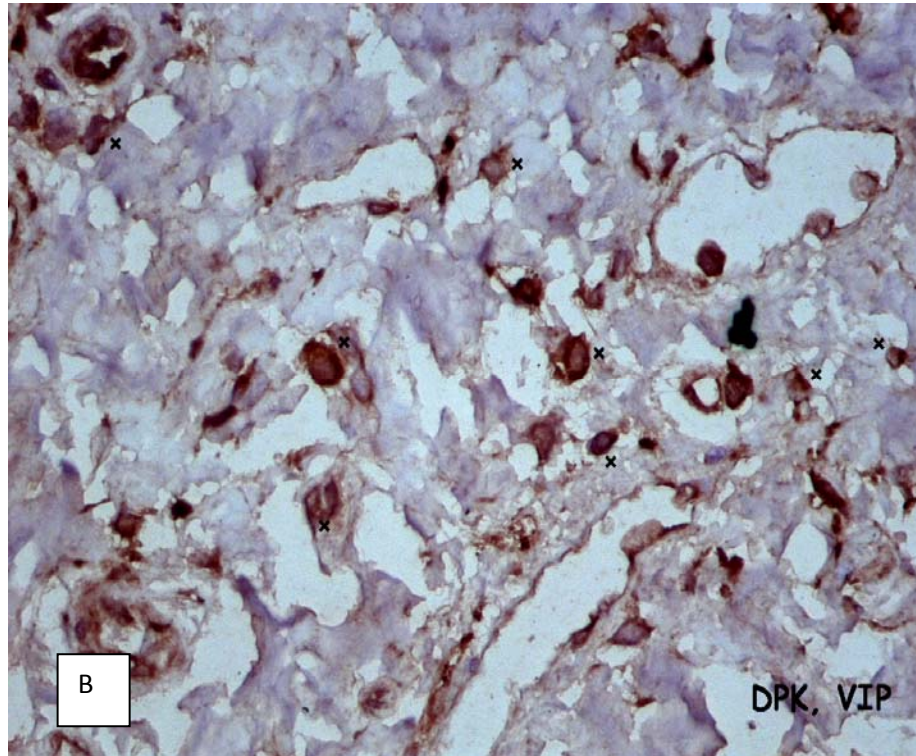
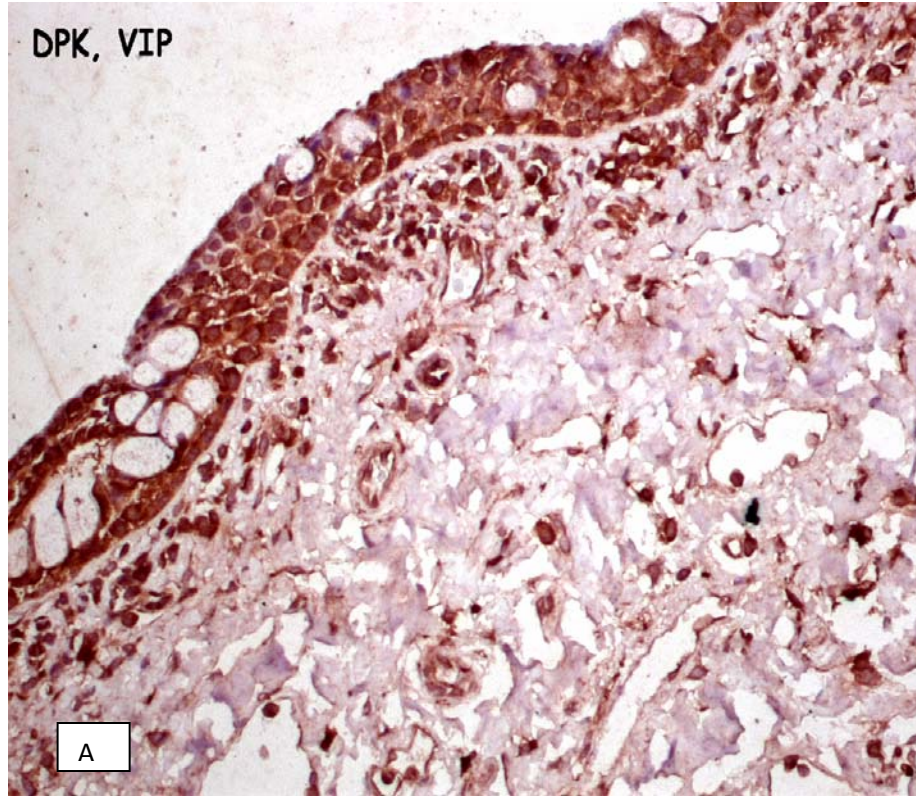
Şekil 4.22. Dev papiller konjonktivit grubundaki CD1a pozitif boyanan hücreler işaretlenmiş olarak görülmektedir.



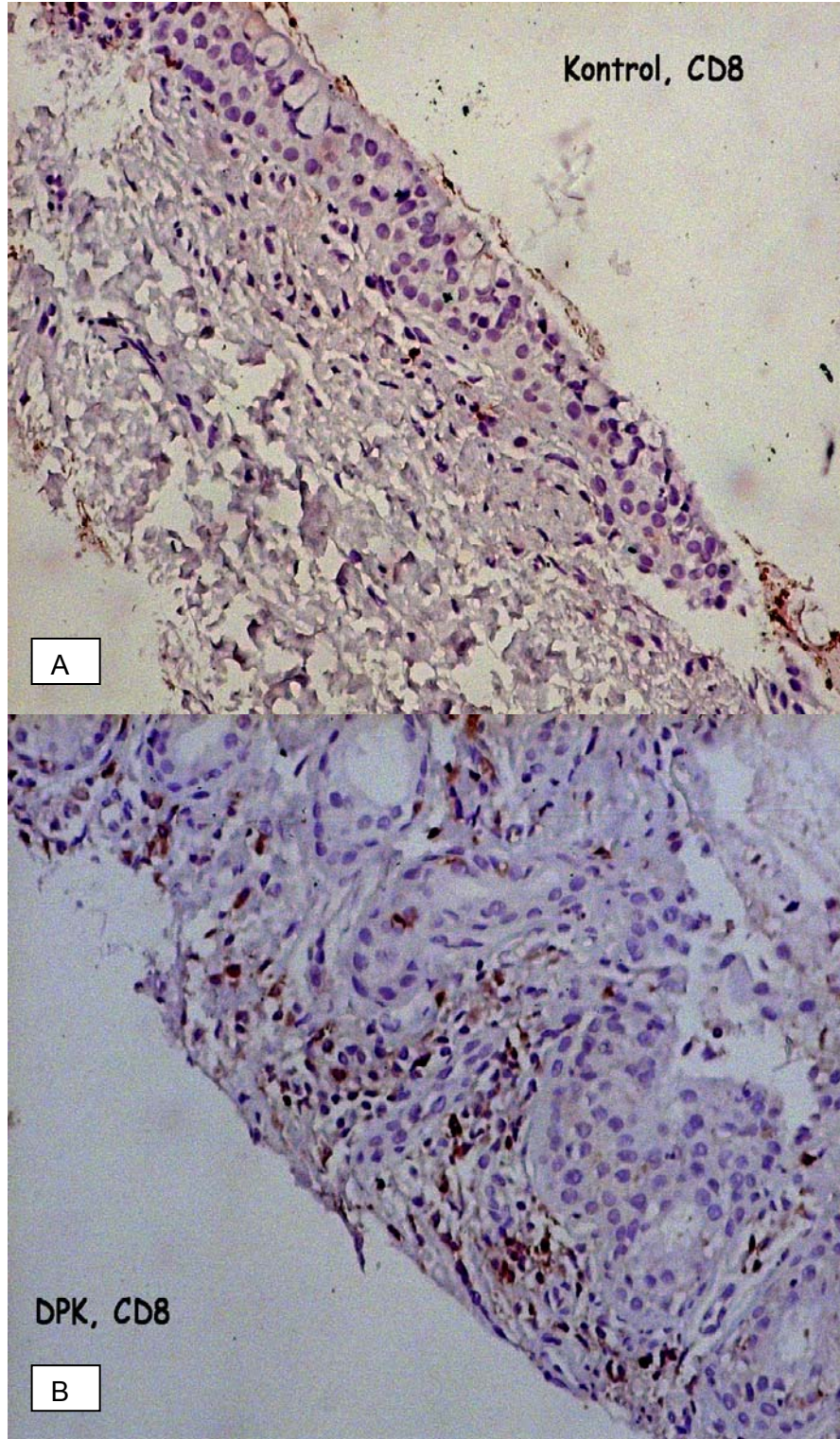
Şekil 4.23. Dev papiller konjonktivit grubundaki Subs P pozitif boyanan hücreler görülmektedir. Subs P pozitif boyanan hücrelerin yoğunluğu dikkat çekmektedir.



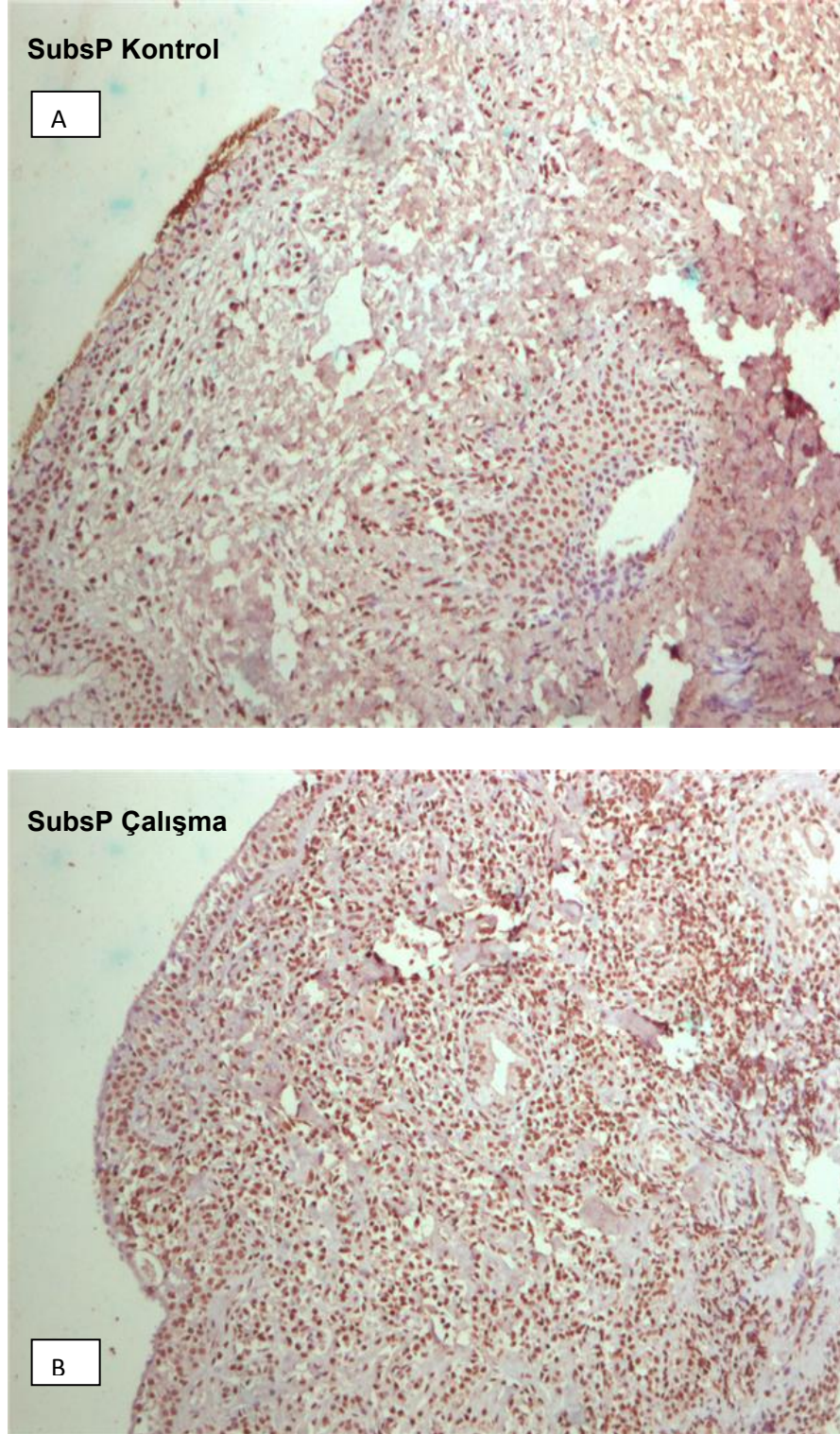
Şekil 4.24. Dev papiller konjonktivit grubundaki TGF- β pozitif boyanan hücreler görülmektedir.



Şekil 4.25. Dev papiller konjonktivit grubundaki VIP ile pozitif boyanan hücreler görülmektedir. Küçük büyütmede (A) görülen yoğun boyanma, büyük büyütme (B) ile pozitif boyanan hücrelerin işaretlendiği görülmektedir.



Şekil 4.26. A: Dev papiller konjonktivit grubundaki CD8 pozitif boyanan hücreler görülmektedir. B: Kontrol grubundaki CD8 boyanma paterni görülmektedir. Her iki örnek karşılaştırıldığında çalışma grubunda CD8 ile boyanan hücrelerin kontrol grubuna göre daha sık olduğu dikkat çekmektedir.



Şekil 4.27. A: Kontrol grubundaki SubsP boyanma paterni görülmektedir. B: Dev papiller konjonktivit grubundaki SubsP pozitif boyanan hücreler görülmektedir. Her iki örnek karşılaştırıldığında çalışma grubunda CD8 ile boyanan hücrelerin kontrol grubuna göre daha sık olduğu dikkat çekmektedir.

5. TARTIŞMA

Dev papiller konjonktivit geniş anlamda allerjik bir hastalıktan ziyade, kornea tutulumu olmaksızın üst tarsal konjonktivayı tutan ve tipik olarak papilla oluşumu ile seyreden iltihabi bir hastalıktır. Tekrarlayan mekanik uyarı ve eşlik eden anormal konjonktival immünolojik cevaba bağlı olduğu düşünülmektedir. Konjonktiva üzerindeki kronik uyarı yerel iltihabi araçları etkileyerek ortama dentritik hücre göçüne, bu da antijenlerin T hücrelerine sunumunda artışa ve immün cevaba yol açar (20). İmmün cevap öncelikli olarak lens ya da protezin yapıldığı materyalden ziyade protez ya da lens yüzeyindeki protein kalıntılarına karşıdır (21). Dev papiller konjonktivitin immünolojik cevabı üzerine yapılmış immünolojik ve histopatolojik çalışmalar bu hastalığın birçok yönüyle vernal konjonktivite benzediğini ancak yine birçok yönüyle bu hastalıktan ayrıldığını göstermiştir.

Dev papiller konjonktivitteki hücrese cevabın T hücreleri, B hücreleri, eozinofiller, mast hücreleri, makrofajlar ve nötrofilleri içeren karmaşık bir doğaya sahip olduğu bilinmektedir (22, 23). Eozinofiller oküler alerji için patognomonik hücrelerdir (24). Önceki çalışmalarda eozinofillerin kontakt lense bağlı dev papiller konjonktivitte (6, 25, 26) ve proteze bağlı dev papiller konjonktivitte (7, 27) yer aldığı gösterilmiştir. Hingorani ve arkadaşları bu hastalarda normalden daha yoğun bir eozinofilik infiltrasyon tespit etmişlerdir (26). Trocme ve arkadaşları kontakt lense bağlı dev papiller konjonktivitte eozinofil kaynaklı majör bazik protein ve diğer toksik proteinleri içeren eozinofilik degranülasyon tespit etmişlerdir. Eozinofilik degranülasyon sürecinin ve bunu takiben gelişen mast hücre degranülasyonunun hastalık aktivitesinde önemli bir yere sahip olduğu düşünülmüştür (28). Ancak daha sonra Saraç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada eozinofiller için güçlü bir kemoatraktan olan eotaksin (29) ve eozinofilik katyonik proteinin bu hastalarda yüksek bulunmaması hastalıkta gelişen mast hücre degranülasyonunun eotaksine bağlı eozinofil çağırılması ve eozinofil aktivasyonundan bağımsız olduğunu düşündürmekle (21) birlikte eozinofilik katyonik proteinin allerjik hastaların gözyaşlarında yüksek oranda bulunduğu

da bilinmektedir (30). Bozkurt ve arkadaşlarına ait bir çalışmada ise konjonktiva epitelinde ve lamina propriadaki iltihabi hücrelerde eotaksin ifadesi yüksek olarak bulunmuştur (31); yine bu çalışmada eozinofiller dev papiller konjonktivit grubunda kontrol grubuna göre lamina propriada anlamlı bir şekilde yüksek olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise hiçbir örnekte eozinofil görülmemiştir. Literatürde eozinofillerin varlığı dev papiller konjonktivitte bazı çalışmalarda tespit edilirken (6, 7, 25, 26, 27, 31), bir kısım çalışmalarda ise tespit edilememiştir (16, 29). Eozinofillerin tespit edildiği Allansmith (6, 25) ve Hingorani'ye (26) ait olan çalışmalardaki hasta profili incelendiğinde, bunların kontakt lense bağlı dev papiller konjonktivit gelişen hastalar olduklarını görmekteyiz. Bizim çalışmamız proteze bağlı dev papiller konjonktivit gelişen hastalar üzerinde yapılmıştır ve bu hastalarla kontakt lense bağlı dev papiller konjonktivit gelişen hastalar arasındaki en önemli fark kornea dokularının olmamasıdır. Ağır allerjik olgularda gelişen keratopati ve bu hastalardaki eozinofil infiltrasyonu ve degranülasyon ürünlerinin rolü bilinmektedir (32, 33). Çalışmalar arasındaki eozinofil infiltrasyonu açısından görülen fark kornea dokusunun eozinofil infiltrasyon sürecine aktif olarak katılması olabilir. Meisler ve arkadaşlarının çalışması (27) ise bir tek hasta üzerinde yapılmış bir araştırma olduğu için bu çalışmanın istatistiksel bir sonucu yoktur. Bozkurt ve arkadaşlarının (31) proteze bağlı dev papiller konjonktiviteli hastalar üzerinde yaptıkları çalışmanın bulguları ise histolojik kesitlerde eozinofil varlığı açısından bizim bulgularımızla örtüşmemektedir. Bu çalışmada araştırmacılar eozinofilleri anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Bunun birkaç nedeni olabilir. Öncelikle eozinofiller konjonktivada derin katlarda yerleşmişlerdir; Bozkurt ve arkadaşları örnekleri alırken 3mm Eliot trephan kullanmışlardır. Bizim çalışmamızda ise örnekler 11 numara bisturi kullanılarak alınmıştır. Örneklerin toplanması aşamasında bisturi ile yeterli derinlikte örnek alınamamış olabilir. İkinci önemli nokta boyama teknikleri arasındaki farklılıklar olabilir. Bozkurt ve arkadaşları eozinofiller için özellikli boyalar kullanırken bizim çalışmamızda örnekler standart hematoksilen eosin boyaları kullanılarak boyanmıştır. Standart hematoksilen eosin boyası konjonktivada eozinofilleri göstermede yetersiz kalmış olabilir. Üçüncü olarak

allerji patogenezinde son derece önemli olan eozinofillerin konuyla ilgili yapılan tüm çalışmalarda gösterilememesi, proteze ikincil gelişen dev papiller konjonktivitin atopik bir allerjik hastalıktan ziyade süreğen travmaya sekonder gelişen enflamatuar bir durum olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Hücre çeşitliliğine bakarsak; Sirinivasan ve arkadaşları (16) dev papiller konjonktiviti hastaların konjonktivalarında iltihabi hücre olarak polimorfonükleer lökositler, plazma hücreleri, lenfositler, dağınık bir şekilde bazofiller ve mast hücreleri tespit etmişlerdir, ancak eozinofiller bu çalışmada saptanamamıştır. Saraç ve arkadaşları (29) mast hücreleri tespit ederken bazofil ya da eozinofille rastlamamışlardır. Meisler ve arkadaşları (27) ise baskın iltihabi reaksiyonun eozinofil, bazofil, polimorfonükleer lökositler, plazma hücreleri ve mast hücrelerince oluştuğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda epitel düzeyinde mononükleer hücre ve nötrofil infiltrasyonu dev papiller konjonktivit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazlaydı. Epitel düzeyinde mononükleer hücre olarak sadece lenfositler görüldü. Lamina propriada da gerek mononükleer hücre gerek nötrofil infiltrasyonu dev papiller konjonktivit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazlaydı. Xingwu ve arkadaşları çalışmalarında membranöz epitelyal hücrelerin (M hücreleri) hastalığın patogenezinde önemli bir yer tuttuğunu ve B hücrelerinin immün cevapta kilit öneme sahip olduklarını vurgulamışlardır (34). M hücreleri antijenleri alıp işleyerek makrofajlara, lenfositlere ve dentritik hücrelere sunar ve böylece mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) zincirinin en üstüne otururlar; yine konjonktivada makromateryalleri, bakterileri ve lektini alarak alttaki lenfositlere sunan membranöz epitelyal hücre benzeri bir hücre çeşidi belirlenmiştir (35, 36). Bunun üzerine Xingwu ve arkadaşları kontakt lensi çevreleyen antijenik materyalin M hücre benzeri bir hücre tarafından B hücrelerine sunulduğunu ve B hücrelerinin uyarılarak konjonktiva ile ilişkili lenfoid dokuda (CALT) çoğalıp buradan lenf düğümlerine geçerek immün cevabı başlattıklarını öne sürmüşlerdir. Dev papiller konjonktivitteki papillaların CALT içerdiğini, bunun anatomik ve histolojik olarak MALT'a

benzediğini göstermişlerdir. Bu nedenle Xingwu ve arkadaşları dev papiller konjonktivitteki papillaların ve kalınlaşmış konjonktivanın M hücrelerinin aşırı üretimi ve o bölgeye toplanmış lenfositlerden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Donshik ve arkadaşları da bu bulguları destekler şekilde çalışmalarında dev papiller konjonktivitli olguların gözyaşlarındaki immünglobulinlerden IgE, IgG ve ağır olgularda IgM'yi normalden daha yüksek bulunmuşlardır (37). Bizim çalışmamızda lenfosit ve histiyositler her iki grupta da mononükleer hücre olarak görülürken, antikor yapımından sorumlu plazma hücreleri baskın olarak dev papiller konjonktivit grubunda tespit edilmiştir. Plazma hücreleri dev papiller konjonktivit grubunda 6 örnekte görülürken kontrol grubunda sadece 1 örnekte tespit edildi ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu bulgular B hücrelerinin dev papiller konjonktivit patogeneğinde önemli bir yere sahip olduklarını düşündürmektedirler. Dev papiller konjonktivit sürecinde naif B hücreleri protezi kaplayan mukus mantosunun içerisinde bulunan antijenlerle karşılaşmaları sonucu aktive olurlar. B hücreleri üzerlerinde taşıdıkları antijen-peptid-MHC class II molekülleri sayesinde CD4+ T hücreleriyle etkileşime girerler. Bu etkileşim CD4+ T hücrelerinden ilgili sitokinlerin salınması ile sonuçlanır. Bu sitokinlerin çeşidine göre B hücrelerinden farklı immünglobulinler salgılanır. IL-4 varlığında IgE; IL-4 ve IL-5 varlığında IgM; IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 varlığında ise IgG salgılanır (38). Bu immünglobulinlerden özellikle IgE mast hücreleriyle iletişime girerek hipersensitivite reaksiyonunu başlatır. Sonuç olarak yapılan birçok çalışmada dev papiller konjonktivitli hastalarda mast hücre aktivasyonunun varlığı (27, 31), dev papiller konjonktivitli hastaların gözyaşlarında artmış olarak bulunan immünglobulin (IgE, IgG, IgM) seviyeleri (37), çalışmamızda da gösterilen IL-6 yüksekliği, mukoza ile ilişkili lenfoid doku benzeri bir dokunun varlığı ve burada var olan B hücre topluluğu sorunun kökeninde yatan B hücre aktivasyonunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalar dev papiller konjonktivitin gelişmesinde T hücrelerinin de önemli bir yere sahip olduğunu göstermişlerdir (23, 26). Metz ve arkadaşları dev papiller konjonktivitte CD4+ T hücrelerinin gerek epitelde

gerekse lamina propriada artmış olduğunu, ayrıca bu CD4+ hafıza T hücrelerinin %50'sinin aynı zamanda CD45RO ve CD45RA'da ekspres ettiklerini göstermişlerdir (23). Hingorani ve arkadaşları çalışmalarında CD4+ hücreleri dev papiller konjonktivit grubunda 16,8/mm², kontrol grubunda 3,3/mm² olarak, CD8+ hücreleri ise sırasıyla 25,5/mm² ve 5,5/mm² olarak bulmuşlardır (26). Diğer bir çalışmada Bozkurt ve arkadaşları dev papiller konjonktivit grubunda gerek CD4+ gerek CD8+ hücreleri epitel düzeyinde ve lamina propriada kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlar, ayrıca yine bu çalışmada CD8+ hücrelerin baskın hücreler olduğu tespit edilmiştir (31). Fukushima A ve arkadaşları ise CD8+ hücrelerin deneysel kobay allerjik konjonktiviti indüksiyon fazında artırırken efektör fazda bunu baskıladığını göstermişlerdir (39). Bizim çalışmamızda ise CD4+ ve CD8+ hücreler dev papiller konjonktivit grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Çalışma grubunda CD4+ hücreler ortalama 18,83/mm², CD8+ hücreler ise ortalama 103,84/mm² olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar bize dev papiller konjonktivitin patogenezinde gerek CD4+ gerek CD8+ hücrelerin önemli bir yere sahip olduklarını ve CD8+ hücrelerin baskın hücreler olduklarını düşündürmektedirler.

Antijen sunan hücreler, çevre ile mevcut ara yüzdeki antijenlere karşı gelişen immün cevabın başlamasında ve kontrolünde rol alan morfolojik olarak heterojen bir hücre grubudur (40). Bu hücreler genel olarak dentritik hücreler (Langerhans hücrelerini içerecek şekilde) ve monosit/makrofaj sistemi olarak iki grupta incelenirler. Dentritik hücreler antijenleri yakalayıp içlerine aldıktan sonra işleyerek onları T hücrelerine sunabilme kapasitelerinden dolayı immün sistemin oldukça kritik bir öneme sahip hücreleridirler (41). Mc William ve arkadaşları deneysel hayvan modellerinde normal koşullarda var olan dentritik hücre döngüsünün akut iltihabi durumlarda hava yollarında arttığını göstermişlerdir (42). Yine aynı şekilde yapılan çalışmalarda iltihabi durumlara periferel dokulara dentritik hücre göçü olduğu nazal mukozaya, akciğer, deri ve karaciğer gibi birçok farklı doku için gösterilmiştir (43–46). Ancak konjonktivadaki dentritik hücre varlığını ya da

bu hücrelerin fenotiplendirilmesini içeren çalışmalar literatürde kısıtlı sayıdadır. Baudouin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada konjonktiva hücrelerinin deri ve mukoza ile benzer immünofenotipik özellikler taşıdığını ve immünofenotiplerin normal ve iltihabi süreçlerde değişmediğini vurgulamışlardır (47). Ohbayashi ve arkadaşları deneysel allerjik konjonktivit modelinde allerjen maruziyeti sonrasında subepitelyal alanda ve substantia propriada plazmasitoid ve myeloid dentritik hücre infiltrasyonunda belirgin artış tespit etmişler; ancak Langerhans hücrelerinde belirgin bir değişiklik bulmamışlardır. Araştırmacılar sonuçlarını dentritik hücrelerin allerjik konjonktivitin iltihabi sürecine dahil oldukları şeklinde yorumlamışlardır (48). Choi ve arkadaşları dev papiller konjonktiviti olan hastalarda Langerhans hücrelerini normale göre artmış olarak bulmuşlardır (49). Bizim çalışmamızda DPK'lı spesmenlerde Langerhans hücreleri kontrole göre anlamlı biçimde artmış olarak bulunmuştur. Bu hücreler antijenleri yakalayıp işledikten sonra bunları CD4+ T hücrelerine sunarak hücre sel immün cevabın başlamasını yani Th1 ve Th2 aracılı reaksiyonların oluşmasını sağlarlar (37). Protez kullanan dev papiller konjonktivitli hastalarda protezi kaplayan protein mantosunda yoğun olarak bulunan antijenler dentritik hücrelerce yakalanarak bu reaksiyonların başlamasına yol açıyor olabilir. Dev papiller konjonktivitte klinik bulguların aylar sonra ortaya çıkması da patolojinin hemen gelişen bir hipersensitiviteden ziyade dentritik hücrelerce başlatılan ve T hücrelerince yönetilen bir hipersensitivite olduğunu düşündürmektedir.

Sitokinler, lökositlerin iltihap bölgesine kemoatraksiyonunu ve aktivasyonunu, adezyon moleküllerinin regülasyonunu sağlayarak allerjik iltihabi sürecin yönetilmesinde kritik öneme sahip moleküllerdir. Bu nedenle çalışmalar daha çok gözyaşındaki ve oküler yüzeydeki sitokinler üzerine yoğunlaşmıştır.

Allerjik hastalıklar üzerine yeni yapılan çalışmalar göstermiştir ki bu hastalıkların patogenezinde son yirmi yılda kabul edilen yardımcı T hücrelerinin (Th1, Th2) dışında etkin başka faktörler ve başka T hücreleri de vardır (50). Bunların başında özellikle allerjik hastalıkların patogenezinde

sorumlu olduğu düşünölen yardımcı T hücreleri 17 (Th17) gelir. Bu hücrelerin, daha önce Th1 aracılı olduğu düşünölen otoimmün ve Th2 aracılı oldukları düşünölen allerjik hastalıklarda rol aldıkları gösterilmiştir. Infante-Duarte ve arkadaşları Th17 hücrelerinin Th1 ve Th2 grubuna ait olmayan farklı bir T hücre popölasyonu olduğunu göstermiştir (51). Th17 hücrelerinin farklılaşmasında birçok sitokin görev alır. Aggarwal ve arkadaşları IL-23'ün in-vitro IL-17 üretimini uyardığını göstermişlerdir (52). Murphy ve arkadaşları IL-23 eksik farelerin oto immün hastalık sürecinde daha az IL-17 üreten T hücreleri ürettiklerini ve hastalığı baskılayabildiklerini göstermişlerdir (53). Harrington ve arkadaşları ayrıca Park ve arkadaşları bu düşünöneyi destekler bir biçimde IL-17 üreten hücrelerin farklılaşmasında Th1 ve Th2 için gerekli IL-12 ve IL-4 dışında farklı sitokinlerin gerekliliğini vurgulamışlardır (54, 55). İnsanda TH17 hücrelerinin farklılaşma süreci fareden farklıdır; sitokinler IL-23 ve IL-1 β ya da IL-6 ve IL-1 β olarak kombinasyonlar halinde bu farklılaşma sürecine dâhil olurlar (56, 57). IL-17 hücreler üzerinde diğere sitokinlerin indüksiyonu yolu ile etki eder ve bu yolla hastalıkların patogenezinde önemli bir yer tutar.

Ancak IL-17'nin Th2 aracılı allerjik reaksiyonların patogenezinde bulunduğu yer halen tartışmalıdır. Schnyder-Candrian ve arkadaşlarına ait bir çalışmada endojen IL-17'nin allerjik astım gelişiminin antijen sensitizasyonu sürecinde gerekli olduğu yani negatif bir regölator olduğu gösterilmiştir (58). Yapılan bir diğere çalışmada IL-17'nin allerjik konjonktivit gelişiminde önemli bir yeri olmadığı tespit edilmiştir (59). Bizim çalışmamızda ise IL-17 ifade eden hücre sayısı çalışma grubunda ortalama 1,28/mm² kontrol grubunda ise ortalama 1,05/mm² olarak bulunmuştur ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bir başka deyişle IL-17 ifade eden hücre sayısı dev papiller konjonktivit ile ilişkili bulunmamıştır. Çalışmamızda IL-1 α ve IL-1 β ifade düzeylerine ayrı ayrı bakılmamıştır. Bunun yerine IL-1'in hücrelerde ifade edilme düzeylerine total olarak bakılmıştır. Kontrol grubunda hiçbir hücrede IL-1 ifade eden hücreye rastlanamamıştır. Çalışma grubunda ise histolojik kesitlerde sadece 6 örnekte IL-1 ifadesine

rastlanmıştır. Bu kesitlerde IL-1 antikorlarıyla pozitif boyanan hücrelerin sayısı 1 ile 6 arasında değişmekte olup bu oldukça düşük olan miktarın klinik anlamı olmadığını düşünmekteyiz. Dev papiller konjonktivitte insanda Th17 hücrelerinin farklılaşma sürecinde IL-6 ile kombinasyon halinde ihtiyaç duyulan IL-1 β 'nin var olmaması bu hücrelerin farklılaşma sürecinde duraklamaya neden olmuş olabilir. Bu da Th17 ürünü olan IL-17'yi ifade eden hücre düzeylerinin anlamlı yüksekliğe ulaşamamış olmasını açıklar. IL-23 düzeylerinin çalışılmamış olması bu çalışmanın bir eksiği gibi görülmekle birlikte bu interlökinin de Th17 farklılaşma sürecinde IL-1 β 'ya ihtiyaç duyduğu unutulmamalıdır. Çalışmamızda yardımcı T hücre alt gruplarından Th17 grubuna direk olarak bakılmamış olması ise konunun daha net anlaşılması adına bu çalışmanın bir eksiği olarak görülmektedir.

IL-6 allerjik ve iltihabi süreçlerde yer alan bir diğer önemli multifonksiyonel sitokindir. Orijinal olarak Yoshizaki ve arkadaşları tarafından aktive B hücrelerini antikor üreten hücrelere farklılaştıran T hücre kaynaklı bir B hücre farklılaşma faktörü olarak tanımlanmıştır (60). Bu sitokin hücreler üzerindeki etkisini hücre zarında ki IL-6 reseptörüne bağlanarak başlatır (61). Multifonksiyonel yapısı nedeniyle birçok farklı isimlerle sınıflandırılmış olup bunlar daha sonra IL-6 adı altında birleştirilmişlerdir (62). Bu multifonksiyonel yapısı nedeniyle regülasyonundaki bozukluk birçok hastalığa eşlik eder (61). IL-6 seviyeleri birçok oküler hastalıkta da incelenmiştir. Leonardi ve arkadaşları IL-6 seviyelerini dev papiller konjonktivitli hastaların gözyaşlarında normal seviyelerde bulmuşlardır (63). Diğer bir çalışmalarında ise IL-6 seviyelerini vernal keratokonjonktivitte yüksek olarak tespit etmişlerdir (64). Aynı araştırmacıları bir diğer çalışmada IL-6 seviyelerini mevsimsel allerjik konjonktivit, vernal keratokonjonktivit ve atopik keratokonjonktivitli hastaların gözyaşlarında normalden yüksek bulmuşlardır. Aynı çalışmada IL-6 konjonktival fibroblast kültürlerinde tespit edilmiş olup seviyesinin TNF- α ile arttığı bulunmuştur (65). Tishler ve arkadaşlarının çalışmasında Sjögren sendromlu hastaların gözyaşlarında IL-6 seviyeleri artmış olarak bulunmuştur (66). Nakamura ve arkadaşları ise IL-6

seviyelerini normal olguların gözyaşlarında bazal olarak diğer sitokinlere göre daha yüksek bulmuş ve bunu IL-6'nın normal hemostazda da önemli bir sitokin olduğu şeklinde yorumlamışlardır (67). Shoji ve arkadaşları IL-6 çözünebilir (*soluble*) reseptör (IL-6sR) ve IL-6 düzeylerini dev papiller konjonktivit ve vernal keratokonjonktivitte normalden yüksek bulmuşlar ve IL-6'nın hücre zarına bağlı reseptörünü içermeyen hücrelerin IL-6/IL-6sR kompleksine yanıt verebileceklerini vurgulamışlardır (68). Shoji ve arkadaşları bu çalışmada ayrıca IL-6'nın dev papiller konjonktivit ve vernal keratokonjonktivitte dev papilla oluşumu sürecine dahil olabileceği yorumunu yapmışlardır. Bizim çalışmamızda gerek gözyaşında IL-6 seviyelerini gerekse histopatolojik kesitlerde IL-6 hücresel ifade düzeylerini dev papiller konjonktivit grubunda kontrol grubuna göre normalden istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulduk. Tüm bu bulgular IL-6'nın dev papiller konjonktivit etyopatogenezinde önemli bir yere sahip olduğunu düşündürmektedirler. IL-6/IL-6sR kompleksi retina pigment hücreleri de dahil olmak üzere farklı hücre türleri üzerinde proliferatif bir etki gösterir (69, 70). Bu nedenle bu sitokin kompleksi konjonktiva hücreleri üzerinde de proliferatif bir etkiye sahip olabilir. Literatürde IL-6/IL-6sR kompleksinin atopik olup olamamasından bağımsız bir şekilde papilla oluşumunun görüldüğü allerjik göz hastalıklarında (VKK, DPK) normalden ve papilla oluşumu görülmeyen allerjik göz hastalıklarına göre yüksek olduğu bulunmuştur (71). IL-6 transkripsiyon faktörlerini aktive ederek fibroblast proliferasyonunu uyarır (72). TGF- β 1 ifade düzeylerini ve kollajen birikimini artırır (73). IL-6 Matriks metalloproteinaz 1 ve 2'yi (MMP-1/MMP-2) inhibe ederek kollajen yıkımı azaltır (74). Bu mekanizmaların net etkisi ise kollajen ve hücre dışı matriks birikimidir. Ayrıca IL-6 VEGF üretimini uyarır ve mikrovasküler endotel hücrelerinde tüp benzeri yapıların oluşumuna yol açar (75, 76). Tüm bu yolları kullanarak IL-6 konjonktivada proliferasyonu uyararak papilla oluşumuna yol açıyor olabilir. Bu sitokinin konjonktiva üzerindeki proliferatif etkisi incelenmelidir. IL-6 reseptörleri astım hastalarında allerjik yangı sürecinde lenfoid değişikliklerin önemli bir klinik endeksidirler (77). Bu nedenle IL-6/IL-6sR kompleksi papillalardaki T hücre infiltrasyonuna da

katkıda bulunuyor olabilir. Th2 hücreleri tarafından üretilen IL-6 ayrıca B hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını sağlayarak yangı sürecindeki lenfosit infiltrasyonuna katkıda bulunmanın yanı sıra antikor üretiminde de rol alır. Antikor üretimi IL-6 varlığında IgG üretimi yönüne kayar (78). IgG'nin dev papiller konjonktivitli hastalarda normalden yüksek bulunmuş olması da patogeneizde IL-6'nın yerini ve etkisini desteklemektedir.

IL-2 T hücrelerinin proliferasyonunu sağlayan bir çeşit T hücre büyüme faktörüdür (79). IL-2 esasen CD4+ ve CD8+ hücreler tarafından üretilir. Dentritik hücreler ve doğal öldürücü hücreler tarafından da üretildiği bilinmekle birlikte bu kaynaklardan gelen kısmının biyolojik önemi bilinmemektedir. T hücrelerinin T hücre reseptörü ya da CD28 gibi moleküllerce aktivasyonu IL-2 üretimine ve IL-2 reseptörünün (IL-2R) ekspresyonuna yol açar, IL-2 T hücrelerinde farklılaşma ve çoğalmaya yol açar. Bu süreç IL-2/IL-2R etkileşmesi ise tam olarak aktive olup klonal genişleme ile sonuçlanır (80). IL-2 CD4+ hücrelerin farklılaşması sürecinde bu hücrelerin efektör ve hafıza hücrelerine dönüşümüne yol açar. Bu süreç ise T hücre aracılı sitotoksikite ve Th1 aracılı gecikmiş hipersensitivite ile sonuçlanır (78). Farklılaşma sürecindeki bu etkinlik IL-2'yi allerjinin sensitizasyon fazında önemli bir noktaya koyar. Bu nedenlerle IL-2 T hücre aracılı immün cevapta çok önemli bir rol oynar. IL-2 özellikle Th1 aracılı immün regülasyonda önemli bir yer tutar. Yapılan çalışmalarda IL-2, IL-2R, IL-2R α , IL-2R β moleküllerinin genetik olarak aktive edildiği farelerde ağır lenfoproliferatif ve otoimmün bozukluklar görülmüştür (81-83). Leonardi ve arkadaşları çalışmalarında IL-2 düzeylerini vernal keratokonjonktivitte, atopik keratokonjonktivitte ve mevsimsel alerjik konjonktivitte normalden daha yüksek bulmuşlardır (65). Bozkurt ve arkadaşları çalışmalarında proteze bağlı dev papiller konjonktivitte IL-2 düzeylerini normalden yüksek bulmamışlardır (31). Bizim çalışmamızda ise dev papiller konjonktivit grubu ve kontrol grubu arasında IL-2'nin hücresel düzeyde ifadesi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. IL-2'nin T hücre aracılı immün cevaptaki (Th1) önemi bilinmesine rağmen daha önce literatürde bu sitokinin dev

papiller konjonktivit gelişiminde etkin bir madde olduğunu gösteren yayın yoktur. Ancak IL-2 ve IL-2 reseptörünün oküler allerjinin patogenezinde tam aktive olmuş CD4+ T hücreleri tarafından salındığını ve bu sürecin IL-6 varlığında daha da fazla olduğunu bilmekteyiz (84). Salınan IL-2 T hücrelerini allerji sürecinde farklılaştırarak ek uyarana ihtiyaç duymadan antijen-MHC kompleksini bağlayabilen efektör formlara dönüştürür (84). Bizim çalışmamızda IL-6 ifade düzeyleri anlamlı bir şekilde yüksek olmasına rağmen üretimini arttırdığı bilinen IL-2'nin ifade düzeyleri yüksek bulunmamıştır. Bozkurt ve arkadaşlarının sonuçları da bizim çalışmamızla örtüşmektedir. Bu sonuçlar dev papiller konjonktivitin klasik oküler allerji modeline tam olarak uymadığını ve hastalığın allerjinin yanında süregelen travmaya bağlı bileşenlerinin de olabileceğini düşündürmektedirler.

IL-1 bağışıklık ve iltihabi süreçlerde yer alan önemli bir sitokindir (85). Septik şok, periodontitis, romatoid artrit gibi birçok iltihabi hastalığın patogenezinde yer aldığı bilinmektedir (86-88). Yine keratokonus, rozasea, büllöz keratopati, steril kornea ülserleri gibi çeşitli oküler yüzey hastalıklarının patogenezinde de yeri olduğu bilinmektedir (89-91). IL-1 epitel ve iltihabi hücrelerden matris metalloproteinaz sentezini uyarır (92). İki formu vardır, IL-1 α ve IL-1 β . IL-1 α 'nın hem öncül hem de matür hali biyolojik olarak aktif iken IL-1 β 'nin sadece matür hali biyolojik olarak aktiftir (93). IL-1 allerjik hastalıklarda gördüğümüz kemokin üretimini, adezyon faktörlerini, makrofaj infiltrasyon ve aktivitesini ayrıca lenfosit proliferasyonunu arttırmaktadır (85). Keane-Myers ve arkadaşları çalışmalarında IL-1Ra uygulanarak IL-1 blokajı yapılan hastalarda allerjik bulgularda ve eozinofil infiltrasyonunda azalma olduğunu, ancak eozinofiliden sorumlu tutulan IL-4 ve IL-5 düzeylerinin değişmediğini, bu bölgeyi drene eden lenf düğümlerinde ise aktive T hücreleri, makrofajlar, eozinofiller ve bazofiller için kemotaktik olan RANTES, eotaksin, Makrofaj enflamatuar peptid 1 α (MIP-1 α), İnterlökin gama uyarılmış protein 10 (IP-10) düzeylerinde ise azalma olduğunu bulmuşlardır (94). Bir başka çalışmada ise IL-1'in invitro olarak epitel ve endotel hücrelerinde eotaksin düzeylerini ayarladığı gösterilmiştir (95). Asano-Kato ve arkadaşları

çalışmalarında vernal keratokonjonktivit ve atopik keratokonjonktivitte IL-1 β tarafından uyarılmış konjonktiva fibroblastlarında Vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) düzeylerinde artma olup bu sitokinin dev papilla oluşumunda etkili olabileceği vurgulamışlardır (96). Acera ve arkadaşları IL-1 β seviyelerini allerjik göz hastalıklarında normal bulurken konjonktiva şalaziste yüksek olarak bulmuşlardır (97). Leonardi ve arkadaşları IL-1 β düzeylerini vernal keratokonjonktivitte, atopik keratokonjonktivitte ve mevsimsel allerjik konjonktivitte normalden yüksek bulmuşlardır (65). Aynı araştırmacılar vernal keratokonjonktivitte IL-1 düzeylerini doku örneklerinde ve gözyaşında yerel olarak, sistemik olarak da serum örneklerinde normalden yüksek oranda bulmuşlardır (64). Elgebaly ve arkadaşları ise dev papiller konjonktivitli hastaların gözyaşlarında IL-1 tespit edememişlerdir (98). Bizim çalışmamızda kontrol grubunda hiçbir örnekte IL-1 boyanmasına rastlanamazken dev papiller konjonktivit grubunda 6 hastada tek tük boyanma görülmüştür. Çalışma grubunun ortalaması 0,61/mm² olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Papilla oluşumunda IL-1'in etkisi tartışmalıdır. VKK ve AKK olgularında papilla oluşumundan IL-1 ve bu sitokince uyarılmış olan VEGF sorumlu tutulmuştur. Ancak gerek IL-1'in hücrel ifade düzeylerinin araştırıldığı bizim çalışmamızda gerekse bu sitokinin gözyaşı düzeylerinin araştırıldığı Elgebaly ve arkadaşlarının çalışmasında, yine papilla oluşumu ile seyreden, dev papiller konjonktivitte IL-1 tespit edilememiştir. Bu nedenle IL-1 düzeylerinin papilla oluşumu ile direk olarak ilişkili olduğu söylenemez. IL-1 düzeylerinin allerjik göz hastalıklarında yüksek bulunması ancak dev papiller konjonktivitte IL-1'in gösterilememesi bu hastalıkların patogenezlerinin farklı olduklarını ve dev papiller konjonktivitin tam anlamıyla allerjik bir göz hastalığı olmadığını ya da ilerleyen allerji süreçlerinin (Th1 ya da Th2 aracılı reaksiyonlar olmak üzere) farklı olduklarını gösterir. Papilla oluşumunun IL-1 ile ilişkisinin olmaması bu sürecin VEGF ile de bağlantısı olmadığını göstermez çünkü bu büyüme faktörleri IL-6'nın da dahil olduğu birçok farklı yoldan aktive olabilirler.

Tümör nekrotizan faktör alfa (TNF α), TNF ligand ailesinin bir üyesidir. Başlıca üretim yeri makrofajlar olmasına rağmen, lenfoid hücreler, mast hücreleri, endotel hücreleri, nöronal doku gibi birçok dokuda üretilebilir (99). Oldukça geniş bir spektrumda biyoaktivitesi olup, asıl olarak iltihabi bir sitokindir. Yapılan çalışmalarda adezyon molekülleri ve kemokinlerin upregülasyonu, iltihabi lökositlerin migrasyon ve aktivasyonu, konjonktiva mast hücrelerindeki IgE reseptörlerinde artış gibi iltihabi süreçleri yakından ilgilendiren birçok süreçte etkili olduğu gösterilmiştir (100-102). Miguel ve arkadaşları oküler skatrisyel pemfigoidli hastaların konjonktivalarında TNF α 'yı yüksek oranda tespit etmişlerdir (103). Tamaki S ve arkadaşları deneysel allerjik konjonktivit ile TRAIL (Tümör nekrotizan faktör-apoptozis ile ilgili-ligand indükleyici) seviyelerini ilişkili bulmaz iken lenfoid organlardaki TRAIL reseptörlerini eksprese eden hücrelerin deneysel allerjik konjonktivitte rol aldıklarını belirtmişlerdir (104). Leonardi A ve arkadaşları TNF α düzeylerini vernal keratokonjonktivitli hastaların gözyaşlarında yüksek bulurken mevsimsel allerjik konjonktivitte normal düzeyde bulmuşlardır (105); yine yaptıkları bir başka çalışmada konjonktiva fibroblastlarından eotaksin-1 salınımının TNF α ve IL-4 ya da IL-13 kombinasyonu ile arttığını göstermişlerdir (106). Leonardi A ve arkadaşları yaptıkları bir diğer çalışmada vernal keratokonjonktivitte TNF α seviyelerini doku kültürlerinde normal düzeyde bulurken, bu hastalıkta sistemik immünolojik değişiklikler olduğunu düşündürecek şekilde serumda TNF α seviyelerini normalden yüksek bulmuşlardır (64). Kumagai ve arkadaşları TNF α 'nın IL-4 ya da IL-13 ile sinerjistik olarak kornea fibroblastlarındaki VICAM-1 (Vasküler hücre adezyon molekülü) ifade düzeyini zaman ve doz bağımlı olarak arttırarak eozinofil infiltrasyonundan sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir (107). Bozkurt B ve arkadaşları 18 hastalık çalışmalarında TNF α ile kontrol grubunda hiç boyanma görmeyip çalışma grubunda ise sadece 2 hastada boyanma görmüşlerdir (31). McGill yaptığı çalışmada TNF α 'nın kornea keratositleri ve konjonktiva fibroblastlarında eotaksin sekresyonu ve ekspresyonunu ilerlettiğini belirtmiştir (108). İki ayrı çalışmada güçlü bir T hücre kemokini olan RANTES'in TNF α ve İnterferon- γ kombinasyonu ile konjonktiva epitel

hücrelerinden salınımının arttığı gösterilmiştir (109, 110). Bizim çalışmamızda dev papiller konjonktivit grubuyla kontrol grubu arasında TNF α ifade eden hücre sayıları açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Antijenler dentritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerce alındıktan sonra T hücre öncüllerine sunulurlar. T hücre öncülleri bu süreç sonucu Th1 ya da Th2 olmak üzere farklılaşırlar. Eğer antijen düzeyleri ve antijenin T hücre reseptörüne afinitesi yüksek ise T hücre öncülleri Th1 yönünde; sunulan antijenin düzeyleri ve bu antijenlerin T hücre reseptörlerine afiniteleri düşükse T hücre öncülleri Th2 yönünde farklılaşırlar (111). TNF α 'nın Th1 aracılı immün cevapta yer aldığı bilinmektedir. Th1 aracılı immün cevapta yer aldıkları bilinen diğer sitokinler IFN γ , IL-1 β ve IL-2'dir. Th2 aracılı immün cevapta yer alan sitokine baktığımızda IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13 ve TGF- β 'yı görmekteyiz (78, 111). Th1 aracılı immün cevaplar makrofaj aktivasyonu ile gelişen hücre aracılı sitotoksikite ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarıdır. Th2 aracılı cevaplar, B hücre aracılı immünoglobulin (IgG, IgE) üretimi, mast hücre aktivasyonu, mukozal immünite ve aşırı mukus üretimidir (111). Çalışmamızda Th1 sitokinlerinden TNF α , IL-2 ve IL-1'in hücrel ifade düzeyleri incelenmiştir. Bu 3 sitokin de hücrel ifade düzeylerinin oldukça düşük olduğu belirlenmiş olup bu sitokinlerin tamamı hücrel ifade düzeyleri açısından dev papiller konjonktivitle ilişkili bulunamamışlardır. Çalışmaya Th2 sitokinlerinden IL-6 ve TGF- β dahil edilmiş olup bu sitokinlerin hücrel ifade düzeylerine ek olarak gözyaşındaki seviyeleri de incelenmiştir. Bu sitokinler gözyaşındaki seviyeleri ve hücrel ifade düzeyleri açısından dev papiller konjonktivitle ilişkili bulunmuşlardır. Ayrıca dev papiller konjonktivitli hastaların gözyaşlarında immünoglobulin düzeylerinin yüksek olduğu da bilinmektedir. Bu bilgiler ışığında dev papiller konjonktivitin allerjik bileşeninin Th2 aracılı bir süreç olduğu söylenebilir.

TGF- β tüm vücutta yara iyileşme sürecine katıldığı bilinen en etkili büyüme faktörlerinden biridir (112–114). TGF- β 'nın insanda görev yapan 3 isoformu vardır. Bunlardan TGF- β 1 ve TGF- β 2 dermal skarlaşma cevabının güçlü birer uyarandır (115–119). TGF- β 3'ün ise yara iyileşmesindeki yeri

tam olarak belirlenmemiş olmakla birlikte (120), kimi çalışmalarda skarlaşma sürecini inhibe ettiği belirtilmiştir (121). Yapılan çalışmalarda TGF- β 'nın proliferatif vitreoretinopati, katarakt ve oküler pemfigoid gibi birçok göz hastalığının patogeneğinde yer aldığı gösterilmiştir (122–124). Cordeiro 3 isoformunda normal konjonktivada bulduklarını ve konjonktiva yara iyileşmesi sürecinde yer aldıklarını belirtmiştir. Aynı araştırmacı yine 3 isoformunda konjonktiva skarlaşma sürecinde benzer görevleri olduğunu göstermiş ve bu görevleri fibroblast proliferasyon ve migrasyonu, fibroblast aracılı kollajen kontraksiyonu olarak tanımlamıştır (125). Khaw ve arkadaşları TGF- β 'yı kollajen üretiminin güçlü bir uyararı olarak tespit etmişlerdir (126). Cordeiro ve arkadaşları başka bir çalışmalarında TGF- β antisens oligonükleotidlerinin gözde *in vivo* skarlaşma sürecini inhibe ederek cerrahi sonuçları iyileştirebileceğini göstermişlerdir (127). Satıcı ve arkadaşları çalışmalarında inaktif trahomlu hastaların gözyaşlarında TGF- β 1 seviyelerinin skatrizasyon düzeyi ile ilişkili olduğunu, orta ve ağır skatrizasyon grubunda değerlerin anlamlı olarak yüksek olduğunu belirtmişlerdir (128). Kato ve arkadaşları atopik keratokonjonktivit ve vernal konjonktivitte TGF- β 1 düzeylerinin dev papilla oluşumu ile ilintili olabilecek şekilde konjonktiva fibroblastlarında VEGF üretimini uyardığını göstermişlerdir (96). Leonardi A ve arkadaşları vernal keratokonjonktivit olgularında TGF- β 1 düzeylerini yüksek bularak bu sonucun kollajen aşırı üretimi ile ilintili olabileceğini vurgulamışlardır (64). Bizim çalışmamızda gözyaşında total TGF- β düzeyleri ve immünohistokimyasal boyamalarda hücresel düzeyde TGF- β ifade düzeyleri çalışma grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde TGF- β düzeylerinin skarlaşma süreci ile korelasyon göstermesi beklenir. Dev papiller konjonktivitin seyrine baktığımızda hastalığın ilk evrelerde baskın olarak enflamasyon ile seyrettiğini görmekteyiz. Hastalığın evresinin ilerlemesiyle birlikte ise, özellikle üçüncü ve dördüncü evrelerde, süreçte enflamasyonun rolünün azalarak skarlaşmanın baskın duruma geçtiği görülür. Bu nedenle ilerleyen evrelerde TGF- β düzeylerinin artması beklenen bir bulgudur. Çalışmamıza dahil olan hastaların evreleri çeşitlilik

göstermektedir. Üç hastada evre 2 hastalık, 7 hastada evre 3 hastalık ve 5 hastada evre 4 hastalık tespit edilmiştir. Evre 2 hastalığı olan 3 hastada TGF- β 'nin hücrel ifade düzeyi ortalama $1,35/\text{mm}^2$ olarak bulunmuştur. Hücrel ifade düzeyi evre 3 hastalığı olanlarda ortalama $5.81/\text{mm}^2$, evre 4 olan hastalığı olanlarda ise ortalama $3.28/\text{mm}^2$ olarak bulunmuştur. Evre 2 dev papiller konjonktivitte TGF- β 'nin en düşük düzeyde ifade edilmesi bu grupta skarlaşmanın henüz başlamamış ya da başlamakta olduğunu düşündürmektedir. En yüksek TGF- β ifade düzeylerinin evre 3 hastalıkta görülmüş olması bu hastalarda skarlaşma sürecinin aktif olduğunu ve evre 4 hastalıkta seviyelerin tekrar azalmaya başlaması hastalığın son evreye ilerlemesiyle birlikte subkonjonktival skarlaşmanın oturmaya başladığını ve sürecin aktivitesini kaybetmeye başladığını düşündürmektedir. Yetersiz hasta sayısı nedeniyle evreler arasında istatistiksel çalışma yapılamamıştır. Dev papiller konjonktivitteki skarlaşma süreci ile TGF- β arasındaki ilişki açıktır. Ancak hastalığın evresi ile arasındaki bağlantının daha kesin gösterilebilmesi için yeterli hasta sayıları içeren daha geniş serilere ihtiyaç vardır.

Konjonktiva stroma ve onu çevreleyen epitel tabakası içerisinde duysal sempatik ve parasempatik inervasyon yolları barındırır. Epitel tabakası gözyaşı hemostazını ve musin üretimini düzenleyen spesifik muskarinik/adrenerjik reseptörler içerir (129, 130). Özellikle parasempatik nöronlar ve epitel hücreleri kaynaklı asetilkolin gözyaşı ve aköz hümör üretiminden sorumludur (131). Kornea ya da konjonktiva uyarılarının efferent sempatik ve parasempatik yollardan santral sinir sistemine iletilmesi, koruma amaçlı refleks hareketlerin oluşmasına ve lakrimal bezden nöromediatörleri de içeren salgıların salınması ile sonuçlanır. Nöral sinyal sistemindeki herhangi bir hasar nörotrofik keratit ya da kuru göz gibi hastalıklar ile sonuçlanır (132). Nöral disfonksiyona yol açan hastalıkların başında herpetik keratit, diyabet, ileri yaş ve uzun süreli kontakt lens kullanımı gelir (132). Nörojenik ağ fizyolojik koşullar altında minimal aktivite gösterirken patolojik durumlarda nöromediatörler hızla salınırlar (133). Bu nöromediatörlerden önemli iki tanesi Substans P (SubsP) ve Vazoaktif İntestinal Peptid'dir (VIP).

SubsP ağrı iletiminin de önemli araçlarından biridir (134, 135). SubsP nötrofil, monosit/makrofaj, T lenfositleri ve eozinofillerin çağırılmaları ve fonksiyonel aktivitelerinin regülasyonunda ayrıca mast hücrelerinden histamin salınımının düzenlenmesinde rol alır (136, 137), yine yapılan çalışmalarda bu nöromediatörün Th1/Th2 fenotip seçiminde ve B hücrelerinde immünoglobulin isotip kaymasında rolü olduğu bulunmuştur (138, 139). Scott ve arkadaşları Substans P'nin yara iyileşme sürecinde önemli bir rolü olduğunu düşündürecek şekilde deneysel duyuşal modellerde yara kapanmasının daha uzun sürdüğünü bulmuşlar ve nöropeptid ve nörotrofinlerin fibrozis sürecinde etkin olabilecekleri yorumunu yapmışlardır (140). Lambiase ve arkadaşları vernal keratokonjonktivitli olguların plazma ve konjonktivalarında SubsP düzeylerini normalden yüksek olarak bulmuşlardır (141). Fujishima ve arkadaşları vernal keratokonjonktivit ve allerjik konjonktivitli olguların gerek gözyaşlarında gerekse doku örneklerinde SubsP düzeylerini normalden yüksek bulmuş ve bu maddenin allerjik göz hastalıklarının patogeneğinde rol alabileceğini vurgulamışlardır (142). VIP parasempatik sinirlerden ve asıl olarak Th2 hücreleri olmak üzere bağışıklık hücrelerinden iltihabi ve allerjik süreçlerde salınan bir nöromediatördür (143). VIP proinflamatuvar ve antienflamatuvar faktörler arasındaki dengeye etki ederek immün toleransı düzenler; fonksiyonel düzenleyici (*regulatory T cells: Treg*) T hücrelerinin gelişimini tetikler, Th1/Th2 dengesine Th2 hücrelerinin farklılaşma ve hayatta kalımını artırıp Th1 efektörlerinin etkisini azaltarak etki eder (144–147). Liu ve arkadaşları VIP'nin musin sekresyonunu ve kornea epitel hücrelerinden büyüme faktörlerinin salınımını düzenlediğini göstermişlerdir (148). Motterle ve arkadaşları vernal keratokonjonktivitli olguların konjonktivalarında kolinerjik/adrenerjik cevaplarda ve VIP ekspresyonunda değişiklikler olduğunu göstermişler ve bu bulgulara dayanarak kolinerjik muskarinik reseptörlerin fizyolojik şartlarda mukus salgısının düzenlenmesinde rol aldıklarını göz önünde bulundurursak muskarinik reseptörlerdeki irregüleritenin vernal keratokonjonktivitteki aşırı mukus üretimini açıklayabileceğini vurgulamışlardır (149). Micera ve arkadaşları sempatik ve parasempatik yolların patolojik durumlarda mukus

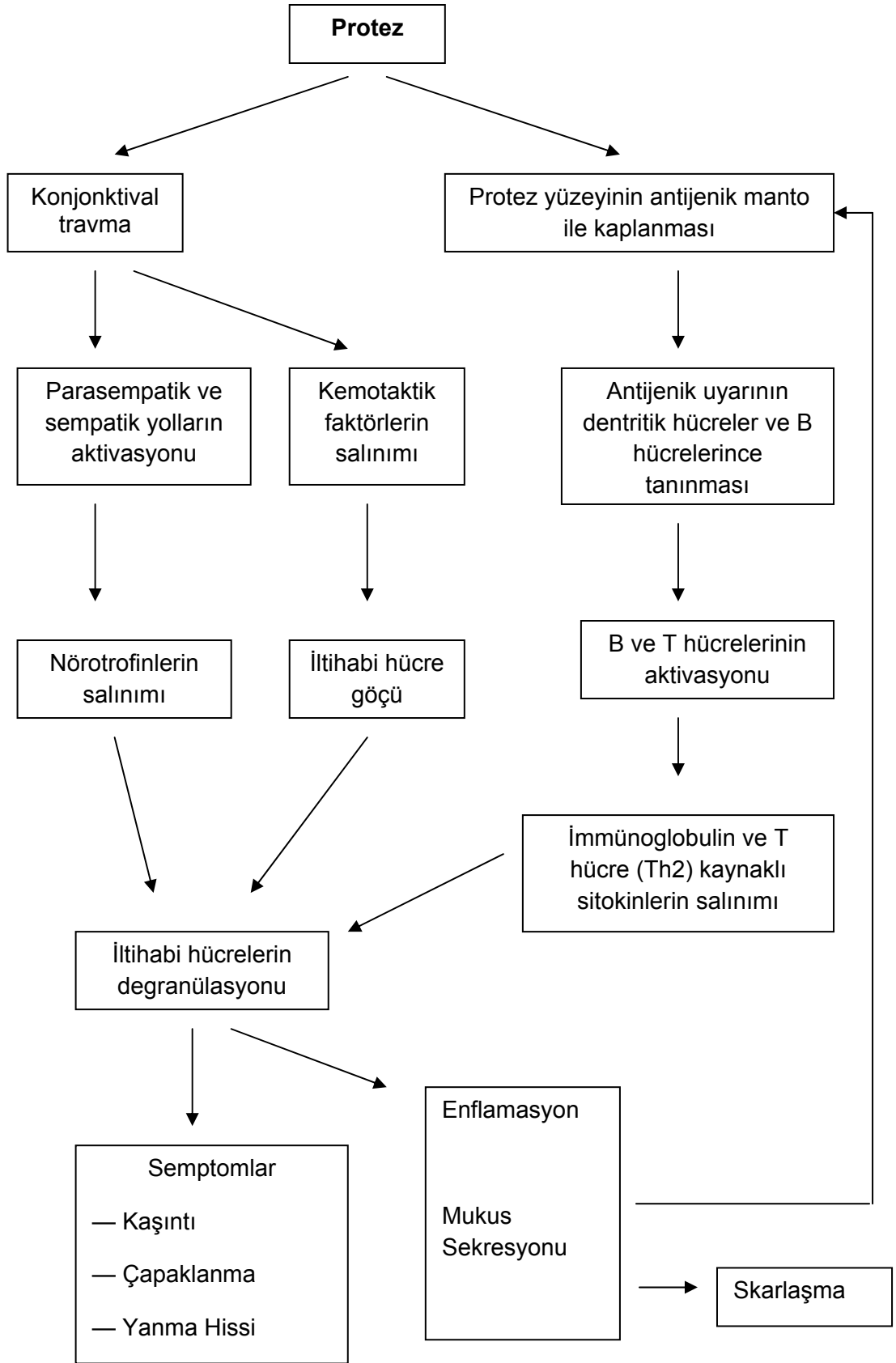
aşırı sekresyonunun, goblet hücre hiperplazisinin, konjonktiva hiperreaktivitesinin, plazma eksudasyonunun ve ödem oluşumunun düzenlenmesinde rol alabileceklerini söylemişlerdir (150). Wessler ve arkadaşları özellikle mast hücrelerinin SubsP ve VIP'ye karşı, konsantrasyon bağımlı olarak, histamin salınımı şeklinde cevap verdiklerini göstermişlerdir (151). Bizim çalışmamızda SubsP ve VIP hücrel ifade düzeyleri dev papiller konjonktivit grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Dev papiller konjonktivitte konjonktiva üzerinde bulunan ve süregelen travmaya neden olan yabancı cisim konjonktiva stroma ve epitelinde bulunan duyuşal sempatik ve parasempatik inervasyon yollarını aktive eder. Bu aktivasyon sonucu nöromediatörlerde artış olur. Nöromediatörlerdeki artış goblet hücre hiperplazisine ve uyarılmış goblet hücrelerinden aşırı mukus salgılanmasına yol açar. Çalışmaya katılan hastalar incelendiğinde tamamında aşırı derecede bir mukus salgısı tespit edilmiştir. Histopatolojik incelemelerde ise bunu destekler bir biçimde goblet hücre hiperplazisi çalışma grubunda anlamlı derecede yüksek tespit edilmiştir. Sonuçlar mukus salgının düzenlenmesinde nöromediatörlerin etkin moleküller olduklarını göstermektedir. Nöromediatörlerin uyarılarına bağılı olarak artan mukus salgısı konjonktivanın, üzerindeki süregelen travmaya sebep olan yabancı cisme karşı geliştirdiği kendini koruma mekanizması olabilir. Yine hastaların tamamında ağrı şikayeti mevcuttu. Artmış SubsP bunun muhtemel bir nedeni gibi görünmektedir. Dev papiller konjonktivit patogeneğinde artmış mast hücre aktivitesinin yeri bilinmektedir (31). Bu hücrelerden salınan histamin kaşıntının en önemli sebeplerinden biridir. Mast hücrelerinin ise SubsP ve VIP'ye konsantrasyon bağımlı olarak histamin salınımı şeklinde cevap verdikleri bilinmektedir (151). Hastalarımızın tamamında kaşıntı şikayetinin varlığı artmış histamin düzeylerini desteklemektedir. Çalışma grubunda tespit edilen artmış SubsP ve VIP düzeyleri mast hücrelerinden histamin salınımını uyararak hastalığın semptomlarının oluşumuna katkıda bulunuyor olabilirler. Hastalığın evresi ile SubsP ve VIP düzeyleri arasındaki ilişkiye baktığımızda; evre 2 hastalığı olan 3 hastada SubsP ifade düzeyleri ortalama 58,09/mm² olarak tespit edilirken evre 3 hastalığı olan 7 hastada 94,9/mm² ve evre 4

hastalığı olan 5 hastada bu değer ortalama $107,38/\text{mm}^2$ olarak bulunmuştur. VIP için ifade düzeyleri evre 2 hastalıkta $67,22/\text{mm}^2$, evre 3 hastalıkta $114,03/\text{mm}^2$ ve evre 4 hastalıkta $142,91/\text{mm}^2$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar üzerinde hasta sayısının yeterli olmaması nedeniyle istatistiksel çalışma yapılamamış olsa da yüksek evrelerde SubsP ve VIP ifade düzeylerinin artma eğiliminde oldukları görülmüştür. Artmakta olan evre ile SubsP ve VIP ifade düzeylerinin gösterdiği yükselme eğilimi fibrozis sürecinde nörotrofinlerin etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Artan evre ile birlikte tespit edilen nörotrofinlerin yükselme eğilimi yüksek evrelerde görülen mukus salgısındaki artışı da açıklar. Bu etkinin tam olarak gösterilebilmesi için daha fazla hasta sayıları içeren daha geniş serilere ihtiyaç vardır.

Çalışmamızın sonuçları literatürdeki diğer çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde proteze bağlı gelişen dev papiller konjonktivitin patogenezinde 2 farklı sürecin işlediğini görmekteyiz. Birincisi protezi kaplayan antijenik mantonun başlattığı immün aracılı iltihabi ve allerjik süreç, ikincisi ise süregelen mekanik travmanın neden olduğu iltihabi süreç olarak nitelendirilebilir. Süregelen travma, nötrofilik kemotaktik faktörlerin salınımına ve konjonktiva üzerinde yer alan parasempatik ve sempatik sistemin aktivasyonuna yol açar. Bu aktivasyon çeşitli nöromediatörlerin salınımına ve sonuç olarak konjonktivaya lenfositler, mast hücreleri, nötrofiller gibi iltihabi hücrelerin göçüne sebep olur. Mast hücrelerinin degranülasyonuna çeşitli hücrelerden sitokinlerin ve vazoaktif aminlerin salınımı eşlik eder. Salınan bu maddeler kaşıntıya, mukus sekresyonuna, goblet hücre hiperplazisine, konjonktivada enflamasyona ve fibrovasküler değişikliklerin oluşumuna yol açar. Diğer süreçte protez üzerinde biriken antijenik manto dentritik hücreler ve B hücreleri tarafından tanınır. Bunun sonucu olarak çeşitli T hücre kaynaklı sitokinler ve B hücre kaynaklı immünooglobulinler ortama salınır. B hücreleri konjonktiva ile ilişkili lenfoid dokuya giderek çoğalırlar ve immün cevap gelişir. Bunların sonucunda, mekanik travma ile gelişen iltihabi süreçte olduğu gibi, mast hücreleri ve çeşitli hücrelerden sitokinler ve vazoaktif

aminler salınırlar ve hastalığın semptom ve bulgularının ortaya çıkmasına yol açarlar. Mukus salgısı arttıkça ve yabancı cismin varlığı devam ettiği sürece protezin üzerindeki antijenik manto daha fazla artar ve bir kısır döngü oluşur. Döngünün kronik olarak devam etmesi ise konjonktivada skatrizasyonla sonuçlanır (Şekil 5.28).

Konjonktiva birçok bakteri içeren bir floraya sahiptir. Konjonktivada mikroorganizmaların varlığı ilk kez 19. yüzyılda Lawson A ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (152). Yapılan çalışmalarda normal konjonktivadan alınan aerob kültürlerde her zaman üreme olmadığını görmekteyiz. Ancak normal konjonktiva kültürlerindeki sterilite oranları yapılan çalışmalarda farklılıklar göstermektedir. Sterilite oranını Perkins ve arkadaşları %9,4 (153), Chang %9 (154), McNat ve arkadaşları %39 (155), Smith %47 (156), Malkoç ve arkadaşları %62,7 (157) olarak bulmuştur. Normal olgulardan alınan kültürlerde ise sterilite oranı %70'lere kadar çıkmaktadır(153, 155). Biz yaptığımız çalışmada sterilite oranını çalışma grubunda %60, kontrol grubunda %73 olarak bulduk ve iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu. Koagülaz (-) Stafilokokus Malkoç ve arkadaşlarının çalışmalarında gerek normal konjonktivalarda gerekse glokom medikasyonu altındaki grupta en sık izole edilen bakteri olmuştur (157). De Kapsar ve arkadaşları katarakt ve glokom ameliyatı olacak hastalarda Koagülaz (-) Stafilokokus bakterileri %65 ve %52 oranında izole etmişlerdir (158). Singer ve arkadaşları ise çocukları ve erişkinleri karşılaştırdıkları çalışmalarında en sık Stafilokokus Epidermidis'i izole ederken ikinci sırada Difteroidler'i izole etmişlerdir (159). Bizim çalışmamızda çalışma grubunda 2 hastada Koagülaz (-) Stafilokokus, 2 hastada Stafilokokus Epidermidis, 1 hastada Koagülaz (-) Stafilokokus ve Difteroidler ve bir hastada Streptokokus Pnömonia üredi. Kontrol grubunda ise 1 hastada Koagülaz (-) Stafilokokus, 2 hastada Difteroidler ve bir hastada Stafilokokus Hominis üremesi oldu. Çalışma grubunda üreme oranı kontrol gurubuna göre bir miktar daha fazla olsa da iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu.



Şekil 5.28. Dev papiller konjonktivit patofizyolojisi.

Sonuç olarak dev papiller konjonktivitteki bakteri florasının tespiti ve bu hastalık ile konjonktivadaki bakteri kolonizasyonu arasındaki ilişkinin tespiti için daha fazla hasta sayıları içeren serilere ihtiyaç duyulduğunu düşünmekteyiz.

Yüzeysel hücre çeşitliliği ve yüzey morfolojisinin tespiti için impresyon sitolojisi kullanılabilecek metotlardan birisidir (160). Bu metotla yüzeysel birkaç hücre tabakası toplanabilirken aynı zamanda yapılan tekrarlayan uygulamalarla daha derin hücre tabakalarının da toplanabileceği literatürde belirtilmiştir (160). Üst tarsal konjonktivanın normal yüzey morfolojisi hekzagonal şekilli epitel hücreleri, bir miktar mukus varlığı ve normal papillaları örten uzamış epitel hücreleri olarak Grenier ve arkadaşları tarafından 1977 yılında tanımlanmıştır (161). Grenier ve arkadaşları bir başka çalışmada semptomatik olmayan kontakt lens kullanıcılarında tarayıcı elektron mikroskobu kullanarak bazı alanlarda epitel hücrelerinin çaplarının azaldığını tespit etmişlerdir (162). Proteze bağlı dev papiller konjonktivite impresyon sitolojisi ile yapılan çalışmalar literatürde kısıtlı sayıdadır. Chang ve arkadaşları oküler proteze bağlı dev papiller konjonktivitin impresyon sitolojisinde çalışma grubunda kontrol grubuna göre goblet hücre yoğunluğu ve epitel hücre morfolojisi açısından fark bulamazken, konjonktiva enflamasyonu ve mukus kordonlarını çalışma grubunda anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Araştırmacılar burada çalışma grubunda alt ve üst tarsal konjonktiva impresyon sitolojisinde bal peteği görünümü varlığından söz etmişlerdir (7). Chang ve arkadaşları bu çalışmada iltihabi hücre varlığını incelemiş ve ağırlıklı olarak polimorfonükleer lökosit varlığını, birkaç örnekte ise tek tük mast hücresi ve eozinofil varlığını kaydetmişlerdir. Kim ve arkadaşları oküler protez kullanan anoftalmik hastaların konjonktiva yüzey özelliklerini impresyon sitolojisi tekniğini kullanarak incelemişlerdir (163). Bu çalışmada anoftalmik tarafta belirgin skuamoz metaplazi, artmış nükleus sitoplazma oranı ve azalmış goblet hücre yoğunluğu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda impresyon sitolojisi için kontrol grubuna ait 6 göz ve çalışma grubuna ait 11 göz değerlendirmeye alındı. Nelson evrelemesine göre

kontrol grubuna ait tüm gözlerde evre 0 infiltrasyon, çalışma grubundaki 2 hastada evre 0, 7 hastada evre 1, 2 hastada evre 3 infiltrasyon görüldü. Çalışma grubunda 5 hastada belirgin nötrofil infiltrasyonu görülürken kontrol grubunda hiçbir örnekte iltihabi hücre görülmedi.

Sonuç olarak, çalışmamızın bulguları göz protezi kullanımı ile ilişkili olarak ortaya çıkan dev papiller konjonktivitin patogeneğinde nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyonu ile birlikte IL-6, TGF-B2, VIP ve SubsP gibi enflamatuvar kökenli sitokinlerin rol oynadığını göstermektedir. Bulgularımız, dev papiller konjonktivitin tıbbi tedavisinde T hücre kökenli immün cevabın baskılanmasının göz protezi kullanan olgularda protez intolerans oluşum sıklığını azaltacağını düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR

1. Göz protezi kullanan olguların %46.7'sinde protez intoleransı saptanmıştır.
2. Göz protezi kullanan olguların konjonktiva epitelinde ve lamina propriasında nötrofilik ve mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmiştir.
3. Göz protezi kullanan olguların konjonktiva lamina propriasında Langerhans hücre infiltrasyonu izlenmiştir.
4. Göz protezi kullanan olguların konjonktivasında eozinofil ve bazofil infiltrasyonu saptanmamıştır.
5. İmmünohistokimyasal IL-6, TGF- β , VIP, Substans P, CD8, CD4 ve CD20 ifade düzeyleri çalışma grubunda, sağlıklı bireylerin gözlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
6. İmmünohistokimyasal IL-1, IL-2, IL-17 ve TNF α ifade düzeyleri bakımından çalışma grubu ile sağlıklı bireylerin gözleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.
7. Çalışma ve kontrol grubu arasında patolojik üreme varlığının oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.
8. Nelson evrelemesine göre kontrol grubuna ait tüm gözlerde evre 0 infiltrasyon, çalışma grubundaki 2 hastada evre 0, 7 hastada evre 1, 2 hastada evre 3 infiltrasyon görülmüştür.
9. Göz protezi kullanan olguların gözyaşlarında IL-6 ve TGF- β konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Spring TF. (1974). Reaction to hydrophilic lenses. *Med J Aust.*1: 499–500.
2. Srinivasan BD, Jakobiec FA, Lamoto T, DeVoe AG. (1979). Giant papillary conjunctivitis with ocular prostheses. *Arch Ophthalmol.* 97: 892–5.
3. Katelaris CH. (1999). Giant papillary conjunctivitis. *Acta Ophthalmol Scan.* 228: 17–20.
4. Allansmith MR, Ross RN. (1988). Giant papillary conjunctivitis. *Int Ophthalmol Clin.* 28: 309–16.
5. Tan ME, Demirci G, Pearce D, Jalbert I, Sankaridurg P, Willcox MD. (2002). Contact lens-induced papillary conjunctivitis is associated with increased albumin deposits on extended wear hydrogel lenses. *Adv Exp Medical Biol.* 506 (Pt B): 951–5.
6. Allansmith MR, Baird RS, Greiner JV. (1979). Vernal conjunctivitis and contact lens associated giant papillary conjunctivitis compared and contrasted. *Am J Ophthalmol.* 87: 544–55.
7. Chang WJ, Tse DT, Rosa RH, Huang A, Johnson TE, Schiffman J. (2005). Conjunctival cytology features of giant papillary conjunctivitis associated with ocular prostheses. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 21: 39–45.
8. Bonini S. (2006). Allergic Conjunctivitis: The forgotten disease. *Chem Immunol Allergy.* 91:110-120.
9. Allansmith MR, Korb DR, Greiner JV, ve ark. (1977). Giant papillary conjunctivitis in contact lens wearers. *Am J Ophthalmol.* 83(5): 697–708.
10. Friedlaender MH. (1990). Some unusual nonallergic causes of giant papillary conjunctivitis. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 88: 343–9 [discussion: 349–51].
11. Greiner JV. (1988). Papillary conjunctivitis induced by an epithelialized corneal foreign body. *Ophthalmologica.* 196(2): 82–6.
12. Heidemann DG, Dunn SP, Siegal MJ. (1993). Unusual causes of giant papillary conjunctivitis. *Cornea.* 12(1): 78–80.
13. Jolson AS, Jolson SC. (1984). Suture barb giant papillary conjunctivitis. *Ophthalmic Surg.* 15(2): 139–40.

14. Nirankari VS, Karesh JW, Richards RD. (1983). Complications of exposed monofilament sutures. *Am J Ophthalmol.* 95(4): 515–9.
15. Robin JB, Regis-Pacheco LF, May WN, ve ark. (1987). Giant papillary conjunctivitis associated with an extruded scleral buckle: case report. *Arch Ophthalmol.* 105(5): 619.
16. Srinivasan BD, ve ark. (1979). Giant papillary conjunctivitis with ocular prostheses. *Arch Ophthalmol.* 97(5):892–5.
17. Sugar A, Meyer RF. (1981). Giant papillary conjunctivitis after keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 91(2): 239–42.
18. Korb DR, Allansmith MR, Grenier JV, ve ark. (1980). Prevalence of conjunctival changes in wearers of hard contact lenses. *Am J Ophthalmol.* 90(3): 336–42.
19. Donsnik PC. (1994). Giant papillary conjunctivitis. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 92:687–744.
20. Stapleton F, Stretton S, Sankaridurg PR ve ark. (2003). Hypersensitivity responses and contact lens wear. *Contact Lens Anterior Eye.* 26: 57-69.
21. Leonardi A, Dominics CD, Motterle L. (2007). Immunopathogenesis of ocular allergy: a systematic approach to different clinical entities. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 7: 429-435.
22. Leonardi A. (1999). Pathophysiology of allergic conjunctivitis. *Acta Ophthalmol Scan.* 228(suppl.) 21-23.
23. Metz DP, Bacon AS, Holgate S, Lightman SL. (1996). Phenotypic characterization of T cells infiltrating conjunctiva in chronic allergic eye disease. *J Allergy Clin Immunol.* 98: 686-696.
24. Abelson MB, Schaefer K. (1993). Conjunctivitis of allergic origin: immunologic mechanisms and current approaches to therapy. *Surv Ophthalmol.* 38 (Suppl.): 115–32.
25. Allansmith MR, Korb DR, Greiner JV. (1978). Giant papillary conjunctivitis induced by hard or soft contact lens wear: quantitative histology. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 85: 766–78.
26. Hingorani M, Calder V, Jolly G, Buckley RJ, Lightman SL. (1998). Eosinophil surface antigen expression and cytokine production vary in different ocular allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 102: 821–30.
27. Meisler DM, Krachmer JH, Goeken JA. (1981) An immunopathologic study of giant papillary conjunctivitis associated with an ocular prosthesis. *Am J Ophthalmol.* 92: 368–71.

28. Trocme SD, Kephart GM, Allansmith MR ve ark, (1989). Conjunctival deposition of eosinophil granule major basic protein in vernal keratoconjunctivitis and contact lens associated giant papillary conjunctivitis. *Am J ophthalmol.* 108: 57-63.
29. Sarac O, Erdener U, Irkeç M ve ark. (2003). Tear eotaxin level in giant papillary conjunctivitis associated with ocular prosthesis. *Ocul Immunol Inflamm.* 11: 223-230.
30. Montan PG, Van Hage-Hamsten M. (1996). Eosinophil cationic protein in tears in allergic conjunctivitis. *Br J Ophthalmol.* 80: 556–60.
31. Bozkurt B, Akyürek N, İrkeç M, Erdener U, Memiş L. (2007). Immunohistochemical findings in prosthesis-associated giant papillary conjunctivitis. *Clin Exp Ophthalmol.* 35: 535–540.
32. Trocme SD, Hallberg CK, Gill KS ve ark. (1997). Effects of eosinophil granule proteins on human corneal epithelial cell viability and morphology. *Invest Ophth Vis Sci.* 38: 593-599.
33. Kumagai N, Fukuda K, Fujitsu Y, Yamamoto K, Nishida T. (2006). Role of structural cells of the cornea and conjunctiva in the pathogenesis of vernal keratoconjunctivitis. *Prog Retin Eye Res.* 25(2): 165-87.
34. Xingwu Z, Hongshan L, Aijun P, ve ark. (2007). M cell are involved in pathogenesis of human contact lens-associated giant papillary conjunctivitis. *Arch Immunol Ther Exp.* 55: 172–177.
35. Kraehenbuhl JP, Neutra MR. (2000). Epithelial M cells: differentiation and function. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 16:301–332.
36. Liu H, Meagher CK, Moore CP, Phillips TE. (2005). M cells in the follicle-associated epithelium of the rabbit conjunctiva preferentially bind and translocate latex beads. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 46: 4217–4223.
37. Donshik PC, Ballow M. (1983). Tear immunoglobulins in giant papillary conjunctivitis induced by contact lenses. *Am J Ophthalmol.* 96(4): 460–6.
38. De Gaulle IC. (2009). The pathophysiology of ocular allergy: A review. *Cont Lens Anterior Eye.* 32: 3–15.
39. Atsuki F, Tomoko Y, Ken F, Tamaki S, Naoki K, Teruo N, Shosuke I, Hisayuki U. (2006). CD8+ T cells play disparate roles in the induction and the effector phases of murine experimental allergic conjunctivitis. *Microbiol Immunol.* 50(9): 719–728.

40. Brandtzaeg P. (2003). Mucosal immunity in infectious disease and allergy. In: Yamanaka, N. (Ed.), International Congress Series. Elsevier B.V, Amsterdam, pp. 11–20.
41. Steinman RM. (1991). The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 9: 271–296.
42. McWilliam AS, Napoli S, Marsh AM, ve ark. (1996). Dendritic cells are recruited into the airway epithelium during the inflammatory response to a broad spectrum of stimuli. *J. Exp. Med.* 184: 2429–2432.
43. Cumberbatch M, Dearman RJ, Griffiths CE, Kimber I, (2003). Epidermal Langerhans cell migration and sensitisation to chemical allergens. *APMIS* 111: 797–804.
44. Edwan JH, Talmadge JE, Agrawal DK. (2005). Treatment with Flt3 ligand plasmid reverses allergic airway inflammation in ovalbumin-sensitized and -challenged mice. *Int. Immunopharmacol.* 5: 345–357.
45. Jahnsen FL, Lund-Johansen F, Dunne JF, ve ark. (2000). Experimentally induced recruitment of plasmacytoid (CD123^{high}) dendritic cells in human nasal allergy. *J. Immunol.* 165: 4062–4068.
46. Yoneyama H, Matsuno K, Zhang Y, ve ark. (2001). Regulation by chemokines of circulating dendritic cell precursors, and the formation of portal tract-associated lymphoid tissue, in a granulomatous liver disease. *J. Exp. Med.* 193: 35–49.
47. Baudouin C, Brignole F, Pisella PJ, Becquet F, Philip PJ. (1997). Immunophenotyping of human dendriform cells from the conjunctival epithelium. *Curr. Eye Res.* 16: 475–481.
48. Ohbayashi M, Manzouri B, Flynn T, Toda M, Ikeda Y, Nakamura T, Ono SJ. (2007). Dynamic changes in conjunctival dendritic cell numbers, anatomical position and phenotype during experimental allergic conjunctivitis. *Exp Mol Pathol.* 83: 216–223.
49. Choi TH, Ko MK, Choe JK. (1996). Increased numbers of Langerhans cells and Expression of HLA-Dr Antigen in giant papilla of patients with giant papillary conjunctivitis. *Korea J Ophthalmol.* 10: 18-23.
50. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. (1996). Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* 383: 787-793.
51. Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, Kamradt T. (2000). Microbial lipopeptides induce the production of IL-17 in Th cells. *J. Immunol.* 165: 6107-6115.
52. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL. (2003). Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state

- characterized by the production of interleukin- 17. *J. Biol. Chem.* 278: 1910-1914.
53. Murphy CA, Langrish CL, Chen Y ve ark. (2003). Divergent pro and antiinflammatory roles for IL-23 and IL-12 in joint autoimmune inflammation. *J. Exp. Med.* 198: 1951-1957.
 54. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR ve ark. (2005). Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.* 6: 1123-1132.
 55. Park H, Li Z, Yang XO ve ark. (2005). A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat. Immunol.* 6: 1133-1141.
 56. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR ve ark. (2007). Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat. Immunol.* 8: 950-957.
 57. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. (2007). Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat. Immunol.* 8: 942-949.
 58. Schnyder-Candrian S, Togbe D, Couillin I, Mercier I, Brombacher F, Quesniaux V, Fossiez F, Ryffel B, Schnyder B. (2006). Interleukin- 17 is a negative regulator of established allergic asthma. *J Exp Med.* 203: 2715–2725.
 59. Atsuki F, Tamaki S, Waka I, Jun Y, Yoichiro I, Hisayuki U. (2008). Endogenous IL-17 Does Not Play a Significant Role in the Development of Experimental Murine Allergic Conjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 147: 206–212.
 60. Yoshizaki K ve ark. (1984). Isolation and characterization of B cell differentiation factor (BCDF) secreted from a human B lymphoblastoid cell line. *J Immunol.* 132: 2948–2954.
 61. Norihiro N, Tadamitsu K. (2006). Interleukin 6: From bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2(11): 619-626.
 62. Wolvekamp MC and Marquet RL. (1990). Interleukin-6: historical background, genetics and biological significance. *Immunol Lett* 24: 1–9.
 63. Leonardi AA, Curnow JS, Calder VL. (2004). Multiple cytokine evaluation in tears of allergic conjunctivitis patients by multi-cytokine bead assay (özet). *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45: 625.

64. Leonardi A, Borghesan F, DePaoli M, Plebani M, Secchi AG. (1998). Procollagens and Inflammatory Cytokine Concentrations in Tarsal and Limbal Vernal Keratoconjunctivitis. *Exp Eye Res.* 67: 105-112.
65. Leonardi AA, Curnow JS, Zhan H, Calder VL. (2006). Multiple cytokines in human tear specimens in seasonal and chronic allergic eye disease and in conjunctival fibroblast cultures. *Clinical and Experimental Allergy*, 36: 777–784.
66. Tishler M, Yaron I, Geyer O, Shirazi I, Naftaliev E, Yaron M, (1998). Elevated Tear Interleukin-6 Levels in Patients with Sjogren Syndrome. *Ophthalmology.* 105: 2327–2329.
67. Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S. (1998). Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res.* 17(6): 673-6.
68. Shoji J, Inada N, Sawa M. (2006). Antibody array-generated cytokine profiles of tears of patients with vernal keratoconjunctivitis or giant papillary conjunctivitis. *Jpn J Ophthalmol.* 50: 195–204.
69. Giallard JP, Liauterd J, Klein B, Brochier J. (1997). Major role of the soluble interleukin-6/interleukin-6 receptor complex for the proliferation of interleukin-6-dependent human myeloma cell lines. *Eur J Immunol.* 12: 3332–3340.
70. Yamamoto H, Hayashi H, Uchida H, Kato H, Oshima K. (2003). Increased soluble interleukin-6 receptor in vitreous fluid of proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res.* 26: 9–14.
71. Shoji J, Kawaguchi A, Gotoh A, Inada N, Sawa M. (2007). Concentration of Soluble Interleukin-6 Receptors in Tears of Allergic Conjunctival Disease Patients. *Jpn J Ophthalmol.* 51: 332–337.
72. Mihara M, Moriyama Y, Kishimoto T, Ohsugi Y. (1995). Interleukin-6 (IL-6) induces the proliferation of synovial fibroblastic cells in the presence of soluble IL-6 receptor. *Br J Rheumatol.* 34: 321-25.
73. Natsume M, Tsuji H, Harada A et al. (1999). Attenuated liver fibrosis and depressed serum albumin levels in carbontetrachloride-treated IL-6 deficient mice. *J Leukoc Biol.* 66: 601-608.
74. Martelli-Junior H, Cotrim P, Graner E, Sauk JJ, Coletta RD. (2003). Effect of transforming growth factor-beta1, interleukin-6, and interferon-gamma on the expression of type I collagen, heat shock protein 47, matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-2 by fibroblasts from normal gingiva and hereditary gingival fibromatosis. *J Periodontol.* 74(3): 296-306.
75. Fee D, Grzybicki D, Dobbs M, Ihyer S, Clotfelter J, Macvilay S, Hart MN, Sandor M, Fabry Z. (2000). Interleukin 6 promotes

- vasculogenesis of murine brain microvessel endothelial cells. *Cytokine*. 12(6): 655-65.
76. Cohen T, Nahari D, Cerem LW, Neufeld G, Levi BZ. (1996). Interleukin 6 induces the expression of vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem*. 271(2): 736-41.
 77. Dogancı A, Eigenbrod T, Krug N ve ark. (2005). The IL-6R α chain controls lung CD4+CD25+ Treg development and function during allergic airway inflammation in vivo. *J Clin Invest*. 115: 313–325.
 78. De Gaulle IC. (2009). The pathophysiology of ocular allergy: A review. *Cont Lens Anterior Eye*. 32: 3–15.
 79. Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, Takaoka C, Kashima N, ve ark. (1983). Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature* 302: 305–10.
 80. Thomas RM. (2008). The biology of Interleukin-2. *Annu. Rev. Immunol*. 26: 453–79.
 81. Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I. (1993). Ulcerative colitis like disease in mice with a disrupted interleukin-2 gene. *Cell*. 75: 253–61.
 82. Willerford DM, Chen J, Ferry JA, Davidson L, Ma A, Alt FW. (1995). Interleukin-2 receptor α chain regulates the size and content of the peripheral lymphoid compartment. *Immunity*. 3: 521–30.
 83. Suzuki H, Kundig TM, Furlonger C, Wakeham A, Timms E, ve ark. (1995). Deregulated T cell activation and autoimmunity in mice lacking interleukin-2 receptor β . *Science*. 268: 1472–76.
 84. Male D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. (2006). Immunological tolerance. In: *Immunology*. Mosby. 343–64.
 85. Dinarello CA. (1996). Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 15: 2095–2147.
 86. Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, Connolly RJ, Dinarello CA. (1988). Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits, synergism with tumor necrosis factor and the effect of cyclooxygenase inhibition. *J Clin Invest*. 81: 1162–1172.
 87. Jiang Y, Genant HK, Watt I, ve ark. (2000). A multicenter double-blind, dose ranging, randomized, placebo-controlled study of recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in patients with rheumatoid arthritis: radiologic progression and correlation of Genant and Larsen scores. *Arthritis Rheum*. 43: 1001–1009.

88. McDevitt MJ, Wang HY, Konbelman C, ve ark. (2000). Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol.* 71: 156–163.
89. Afonso A, Sobrin L, Monroy DC, Selzer M, Lokeshwar B, Pflugfelder SC. (1999). Tear fluid gelatinase B activity correlates with IL-1a concentration and fluorescein tear clearance. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 40: 2506–2512.
90. Rosenbaum JT, Plank ST, Huang XN, Rich L, Ansel JC. (1995). Detection of mRNA for the cytokines, interleukin-1a and interleukin-8, in corneas from patients with pseudophakic bullous keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 36: 2151–2155.
91. Fabre EJ, Bureau J, Pouliquen Y, Lorans G. (1991). Binding sites for human interleukin 1a, gamma interferon and tumor necrosis factor on cultured fibroblasts of normal corneas and keratoconus. *Curr Eye Res.* 10: 585–592.
92. Woessner JF. (1991). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.* 5: 2145–2154.
93. Dinarello CA, Wolff SM. (1993). The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med.* 328: 106–113.
94. Andrea M.KM, Miyazaki D, Grace L, Iva D, Santa O, Dana MR. (1999). Prevention of Allergic Eye Disease by Treatment with IL-1 Receptor Antagonist. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 40; 12: 3041-46.
95. Garcia-Zepeda E, Rothenberg M, Ownbey R, Celestin J, Leder P, Luster A. (1996). Human eotaxin is an eosinophil selective chemoattractant that provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nat Med.* 2: 449–456.
96. Asano-Kato N, Kazumi F, Naoko O, Tetsuya K, Yoji T, Dogru M , Kazuo T, Hiroshi F. (2005). TGF-beta1, IL-1beta, and Th2 cytokines stimulate vascular endothelial growth factor production from conjunctival fibroblasts. *Exp Eye Res.* 80: 555–560.
97. Acera A, Rocha G, Vecino E, I LemaJuan AI. Durán JA. (2008). Inflammatory Markers in the Tears of Patients with Ocular Surface Disease *Ophthalmic Res.* 40: 315–321.
98. Elgebaly SA, Donshi PC, Rahhal F, Williams W. (1991). Neutrophil Chemotactic Factors in the Tears of Giant Papillary Conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 32(1): 208-213.
99. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. (2003). Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 10: 45–65.

100. Stahl JL, Cook EB, Graziano FM, Barney NP. (2003). Differential and cooperative effects of TNF alpha, IL-1 beta, and IFN gamma on human cell conjunctival epithelial cell receptor expression and chemokine release. *Invest Ophthalmol Visual Sci.* 44: 2010–2015.
101. Leonardi A, Jose PF, Zhan H, Calder VL. (2003). Tear and mucus eotaxin-1 and eotaxin-2 in allergic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology.* 110: 487–492.
102. Stahl JL, Cook EB, Graziano FM, Barney NP. (1999). Human conjunctival mast cells: expression of FcεRI, c-kit, ICAM-1 and IgE. *Arch Ophthalmol.* 117: 493–497.
103. Miguel CC, Taygan Y ve Stephen F. (2007). Tumour necrosis factor-α in conjunctiva affected by ocular cicatricial pemphigoid. *Acta Ophthalmol Scand.* 85: 753–755.
104. Tamaki S, Waka I, Ko O, Hideo Y ve Atsuki F. (2008). Activation of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor enhances the severity of murine allergic conjunctivitis. *Br. J. Ophthalmol.*
105. Leonardi A, Brun P, Tavolato M, ve ark. (2003). TNF-alpha in seasonal allergic conjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis. *Eur J Ophthalmol.* 13: 606– 610.
106. Leonardi A, Jose PF, Zhan H, Calder VL. (2003). Tear and mucus eotaxin-1 and eotaxin-2 in allergic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology.* 110: 487–492.
107. Kumagai N, Fukuda K, Fujitsu Y, Nishida T. (2003). Synergistic effect of TNF-alpha and either IL-4 or IL-13 on VCAM-1 expression by cultured human corneal fibroblasts. *Cornea.* 22: 557–561.
108. McGill J. (2000). Conjunctival cytokines in ocular allergy. *Clin Exp Allergy.* 30: 1355–1357.
109. Stahl JL, Cook EB, Graziano FM, Barney NP. (2003). Differential and cooperative effects of TNF alpha, IL-1 beta, and IFN gamma on human cell conjunctival epithelial cell receptor expression and chemokine release. *Invest Ophthalmol Visual Sci.* 44: 2010–2015.
110. Smit EE, Sra SK, Grabowski LR ve ark. (2003). Modulation of IL-8 and RANTES release in human conjunctival epithelial cells: primary cells and cell line compared and contrasted. *Cornea.* 22: 332–337.
111. Stern ME, Siemasko KF, Niederkorn JY. (2005). The Th1/Th2 paradigm in ocular allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 5: 446–450.

112. Ashcroft, G. S., Dodsworth, J., van Boxtel, E. ve ark. (1997). Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF-beta1 levels. *Nat. Med.* 3: 1209-1215.
113. Levine, J. H., Moses, H. L., Gold, L. I. ve Nanney, L. B. (1993). Spatial and temporal patterns of immunoreactive transforming growth factor-beta-1, -beta-2 and -beta-3 during excisional wound repair. *Am. J. Pathol.* 143: 368-380.
114. Merwin, J. R., Roberts, A., Kondaiah, P., Tucker, A. and Madri, J. (1991). Vascular cell responses to TGF- β 3 mimic those of TGF- β 1 in vitro. *Growth Factors* 5: 149-158.
115. Shah M, Foreman DM, Ferguson MW. (1995). Neutralisation of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 or exogenous addition of TGF-beta 3 to cutaneous rat wounds reduces scarring. *J. Cell. Sci.* 108: 985-1002.
116. Whitby, DJ, Ferguson MWJ. (1991). Immunohistochemical localization of growth factors in fetal wound healing. *Dev. Biol.* 147: 207-215.
117. Longaker MT, Bouhana KS, Harrison MR, Danielpour D, Roberts, AB, Banda MJ. (1994). Wound healing in the fetus: possible role for inflammatory macrophages and transforming growth factor-beta isoforms. *Wound Rep. Reg.* 2: 104-112.
118. Gruschwitz M, Muller PU, Sepp N, Hofer E, Fontana A, Wick G. (1990). Transcription and expression of transforming growth factor type beta in the skin of progressive systemic sclerosis: a mediator of fibrosis? *J. Invest. Dermatol.* 94: 197-203.
119. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK, Smith JM, Roche NS. (1986). Transforming growth factor beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 4167-4171.
120. Cordeiro MF. (2003). Role of transforming growth factor β in conjunctival scarring. *Clin Sci.* 104: 181-187.
121. Cox DA. (1995). Transforming growth factor-beta 3. *Cell. Biol. Int.* 19: 357-371.
122. Connor TB, Roberts AB, Sporn MB ve ark. (1989). Correlation of fibrosis and transforming growth factorbeta type 2 levels in the eye. *J. Clin. Invest.* 83: 1661-1666.
123. Hales AM, Chamberlain CG ve McAvoy JW. (1995). Cataract induction in lenses cultured with transforming growth factor-beta. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36: 1709-1713.

124. Elder MJ, Dart JKG, Lightman S. (1997). Conjunctival fibrosis in ocular cicatricial pemphigoid ± the role of cytokines. *Exp. Eye Res.* 65: 165-176.
125. Cordeiro MF. (2003). Role of transforming growth factor β in conjunctival scarring. *Clin Sci.* 104: 181-187.
126. Khaw PT, Occleston NL, Schultz G, Grierson I, Sherwood MB, Larkin G. (1994). Activation and suppression of fibroblast function. *Eye* 8: 188-195.
127. Cordeiro MF, Mead A, Ali RR, Alexander RA, Murray S, Chen C, York-Defalco C, Dean NM, Schultz GS ve Khaw PT. (2003). Novel antisense oligonucleotides targeting TGF- β inhibit in vivo scarring and improve surgical outcome. *Gene Therapy.* 10: 59–71.
128. Satıcı A, Guzey M, Doğan Z ve Kılıç A. (2003). Relationship between tear TNF- α , TGF- β 1, and EGF levels and severity of conjunctival cicatrization in patients with inactive trachoma. *Ophthalmic Res.* 35: 301–305.
129. Dartt DA. (2002). Regulation of mucin and fluid secretion by conjunctival epithelial cells. *Prog Retin Eye Res.* 21:555–576.
130. Dartt DA, Matkin C, Gray K. (1988). Comparison of proteins in lacrimal gland fluid secreted in response to different stimuli. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 29: 991–995.
131. Rios JD, Zoukhri D, Rawe IM ve ark. (1999). Immunolocalization of muscarinic and VIP receptor subtypes and their role in stimulating goblet cell secretion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 40: 1102–1111.
132. Nietgen GW, Schmidt J, Hesse L ve ark. (1999). Muscarinic receptor functioning and distribution in the eye: molecular basis and implications for clinical diagnosis and therapy. *Eye.* 13: 285–300.
133. Durnett Richardson J, Vasko MR. (2002). Cellular Mechanisms of Neurogenic Inflammation. *J Pharmacol Exp Ther.* 302: 839–845.
134. Troger J, Kieselbach G, Teuchner B ve ark. (2007). Peptidergic nerves in the eye, their source and potential pathophysiological relevance. *Brain Res Rev.* 53: 39–62.
135. Frieri M. (2003). Neuroimmunology and inflammation: implications for therapy of allergic and autoimmune diseases. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 90: 34–40.
136. Bulut K, Felderbauer P, Deters S ve ark. (2008). Sensory neuropeptides and epithelial cell restitution: the relevance of SP- and CGRP-stimulated mast cells. *Int J Colorectal Dis.* 23: 535–541.

137. Mantyh PW. (1991). Substance P and the inflammatory and immune response. *Ann N Y Acad Sci.* 632: 263–271.
138. Levite M. (1998). Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95: 12544–12549.
139. Mathers AR, Tckacheva OA, Janelins BM ve ark. (2007). In vivo signaling through the neurokinin 1 receptor favors transgene expression by Langerhans cells and promotes the generation of Th1- and Tc1-biased immune responses. *J Immunol.* 178: 7006–7017.
140. Scott JR, Muangman P, Gibran NS. (2007). Making sense of hypertrophic scar: a role for nerves. *Wound Repair Regen.* 15: 27–31.
141. Lambiase A, Bonini S, Micera A ve ark. (1997). Increased plasma levels of substance P in vernal keratoconjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 38: 2161–2164.
142. Fujishima H, Takeyama M, Takeuchi T, Saito I, Tsubota K. (1997). Elevated levels of substance P in tears of patients wsth allergic conjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis. *Clin Exp Aller.* 27: 372-378.
143. Ganea D. (2007). Vasoactive intestinal peptide: an antiinflammatory neuropeptide. In: Ader RA, editor. *Psychoneuroimmunology*, 4th ed. New York: Elsevier Inc. pp: 131–158.
144. Delgado M, Pozo D, Ganea D. (2004). The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev.* 56: 249–290.
145. Pozo D, Gonzalez-Rey E, Chorny A ve ark. (2007). Tuning immune tolerance with vasoactive intestinal peptide: a new therapeutic approach for immune disorders. *Peptides.* 28: 1833–1846.
146. Chorny A, Gonzalez-Rey E, Fernandez-Martin A ve ark. (2005). Vasoactive intestinal peptide induces regulatory dendritic cells with therapeutic effects on autoimmune disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102: 13562–13567.
147. Kulka M, Sheen CH, Tancowny BP ve ark. (2008). Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology.* 123: 398–410.
148. Liu L, Yen JH, Ganea D. (2007). A novel VIP signaling pathway in T cells cAMP! protein tyrosine phosphatase (SHP-2?)!JAK2/STAT4! Th1 differentiation. *Peptides.* 28: 1814–1824.

149. Motterle L, Diebold Y, Enriquez de Salamanca A ve ark. (2006). Altered expression of neurotransmitter receptors and neuromediators in vernal keratoconjunctivitis. *Arch Ophthalmol.* 124: 462–468.
150. Micera A, Lambiase A, Bonini S. (2008). The role of neuromediators in ocular allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 8: 466–471.
151. Wessler I, Kilbinger H, Bittinger F ve ark. (2003). The nonneuronal cholinergic system in humans: expression, function and pathophysiology. *Life Sci.* 72: 2055–2061.
152. Lawson A. (1898). The bacteriology of the normal conjunctival sac, and its practical bearing on the utility of antiseptics in ophthalmic surgery. *Br Med J.* 2: 486–487.
153. Perkins RE, Kundsın RB, Pratt MV ve ark. (1975). Bacteriology of normal and infected conjunctiva. *J Clin Microbiol.* 1: 147–149.
154. Chang HL. (1957). Bacteria flora of the normal conjunctiva. *Chin Med J.* 75: 233–235.
155. McNatt J, Allen SD, Wilson LA ve ark. (1978). Anaerobic flora of the normal human conjunctival sac. *Arch Ophthalmol.* 96: 1448–1450.
156. Smith CH. (1954). Bacteriology of the healthy conjunctiva. *Br J Ophthalmol.* 38: 719–726.
157. Malkoç Şen E, Balıkoglu Yılmaz M, Dansuk Z, Aksakal FN, Altınok A, Tuna T and Köklü G. (2009). Effect of Chronic Topical Glaucoma Medications on Aerobic Conjunctival Bacterial Flora. *Cornea.* 28: 266–270.
158. De Kaspar HM, Kreidl KO, Singh K ve ark. (2004). Comparison of preoperative conjunctival bacterial flora in patients undergoing glaucoma or cataract surgery. *J Glaucoma.* 13: 507–509.
159. Singer TR, Isenberg SJ, Apt L. (1988). Conjunctival anaerobic and aerobic bacterial flora in paediatric versus adult subjects. *Br J Ophthalmol.* 72: 448–451.
160. Singh R, Joseph A, Umapathy T, Tint NL, Dua HS. (2005). İmpression cytology of the ocular surface. *Br J Ophthalmol.* 89: 1655–1659.
161. Greiner JV, Covington HI, Allansmith MR. (1977). Surface morphology of the human upper tarsal conjunctiva. *Am J Ophthalmol.* 83: 892–905.
162. Greiner JV, Covington HI, Korb DR ve ark. (1978). Conjunctiva in asymptomatic contact lens wearers. *Am J Ophthalmol.* 86: 403–13.

163. Kim JH, Lee MJ, Choung HK, Kim NJ, Hwang SW, Sung MS, Khwarg SI. (2008). Conjunctival Cytologic Features in Anophthalmic Patients Wearing an Ocular Prosthesis. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 24(4): 290-5.