

T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ALERJİK KONJONKTİVİTLİ HASTALARDA GÖZYAŞINDAKİ IFN-
GAMMA, IL-4, IL-10, EOZİNOFİLİK KATYONİK PROTEİN
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Burak Taha KEŞKEKOĞLU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Atilla NURSOY

**Bu tez, Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
Başkanlığı tarafından 20220424 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

İSTANBUL

KASIM-2022

T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ALERJİK KONJONKTİVİTLİ HASTALARDA GÖZYAŞINDAKİ IFN-
GAMMA, IL-4, IL-10, EOZİNOFİLİK KATYONİK PROTEİN
DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Burak Taha KEŞKEKOĞLU

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Atilla NURSOY

**Bu tez, Bezmîâlem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
Başkanlığı tarafından 20220424 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

İSTANBUL

KASIM-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, plan aşamasında yazım sürecine kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Dr.Burak Taha KEŞKEKOĞLU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
KISALTMALAR	V
ŞEKİL LİSTESİ	VII
TABLO LİSTESİ	VIII
ÖZET	IX
SUMMARY	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1 Konjonktivit	5
2.1.1 Tanım	5
2.1.2 Sınıflama	6
2.2 Alerjik Konjonktivit.....	7
2.2.1 Alerjik konjonktivit tanımı, epidemiyolojisi.....	7
2.2.2 Risk faktörleri	8
2.2.3 Sınıflandırma.....	10
2.2.3.1 Mevsimsel ve perennial alerjik konjonktivit.....	11
2.2.3.2 Vernal keratokonjonktivit	12
2.2.3.3 Atopik keratokonjonktivit.....	13
2.2.3.4 Dev papiller konjonktivit	14
2.2.3.5 Kontakt blefarokonjonktivit.....	15
2.2.4 Alerjik konjonktivitte immünopatogenez	16
2.2.5 Tanı	22
2.2.5.1 Öykü.....	22
2.2.5.2 Fizik muayene	23
2.2.5.3 Laboratuvar	24
2.2.6 Ayırıcı tanı	30
2.2.7 Alerjik konjonktivitin yönetimi ve tedavisi	31
2.2.7.1 Alerjenden kaçınma	32
2.2.7.2 Farmakolojik tedavi	32
2.2.7.3 İmmünoterapi	35
2.3 Alerjik Konjonktivitte Sitokinlerin Rolü	36
2.3.1 İnterferon-Gamma.....	36
2.3.2 İnterlökin-4.....	37

2.3.3 İnterlökin-10.....	40
2.3.4 Eozinofilik katyonik protein	41
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
3.1 Araştırmanın Amacı ve Tipi	43
3.2 Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Evreni.....	43
3.3 Araştırmaya Dahil Olacak Hastaların Seçimi	43
3.4 Gözyaşı Örneğinin Alımı ve Saklama Yöntemi	45
3.5 Örneklerin Protein Ölçümleri ve Sitokin Düzeylerinin Hesaplanması.....	46
3.6 Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntem.....	48
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇLAR.....	64
KAYNAKLAR	66

TEŞEKKÜR

Bu tezi hazırlamamda bana danışmanlık yapan Prof. Dr. Mustafa Atilla NURSOY'a, Asistanlık sürecimde tecrübelerinden istifade ettiğim, desteklerini hep yanımda hissettiğim başta Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı başkanı sayın Prof. Dr. Erkan ÇAKIR'a ve Doç. Dr. Ayşegül DOĞAN DEMİR'e, Prof. Dr. Fatma Betül ÇAKIR'a, Prof. Dr. Aysel VEHAPOĞLU'na, Prof. Dr. Emel TORUN'a, Doç. Dr. Güzide DOĞAN'a, Doç. Dr. Feyza USTABAŞ KAHRAMAN'a, Uzm. Dr. Yalçın ERDOĞAN'a, Uzm. Dr. Abdulhamit ÇOLLAK'a,

Asistanlık sürecimde kendisinden çok şey öğrendiğim, baba gibi gördüğüm, hekimliği ve insanlığıyla daima örnek aldığım Dr. Öğr. Üyesi Selçuk UZUNER'e, Kendileri ile çalışmaktan mutluluk duyduğum ve mesleki birikimlerinden yararlandığım isimlerini sayamadığım tüm hocalarım, uzman abi ve ablalarım, asistan arkadaşlarıma,

Asistanlık boyunca beraber çalışıp ter döktüğüm aynı zamanda beraber gülüp eğlendiğim eş kıdemlerim, arkadaşlarım Dr. Abdurrahman Zarif GÜNEY'e ve Dr. Furkan YILMAZ'a,

Hayatıma girdiği günden itibaren her konuda en büyük destekçim, en yakın arkadaşım, asistanlığımda ve tezimi hazırlama sürecimde her an yanımda olan, varlığıyla beni hep mutlu eden ve bana güç veren canım eşim Şeyma ER KEŞKEKOĞLU'na ve bana bu dünyadaki en büyük mutluluğu yaşatan biricik kızım Sare KEŞKEKOĞLU'na,

Beni bugünlere kadar büyütüp yetiştiren, üzerimde büyük hakları olup asla ödeyemeyeceğim aileme, başta sevgili annem Leyla KEŞKEKOĞLU'na ve babam Muhammet Raci KEŞKEKOĞLU'na, kız kardeşim Burcu Şeyma KEŞKEKOĞLU'na, kardeşim kuzenim Ömer Mert AKYOL'a,

Beni öz evlatları gibi gören her konuda destekleyen ikinci ailem olan eşimin ailesine, özellikle kayınvalidem Ümmühan ER'e ve kayınpederim Ömer Faruk ER'e teşekkür ederim.

Dr. Burak Taha KEŞKEKOĞLU

KISALTMALAR

AA: Araşidonik Asit

AC: Allergic Conjunktivitis

AK: Alerjik Konjunktivit

AKK: Atopik Keratokonjunktivit

AR: Alerjik Rinit

ARK: Alerjik Rinokonjunktivit

ASH: Antijen Sunan Hücre

COX: Siklooksijenaz Enzimi

DPK: Dev Papiller Konjunktivit

EAACI: Avrupa Alerji ve Klinik İmmünoloji Akademisi

ECP: Eozinofilik Katyonik Protein

EDN: Eozinofilden Türetilmiş Nörotoksin

EPO: Eozinofil Peroksidaz

ICAM: Hücreler Arası Yapışma Molekülü

IFN-Gamma: İnterferon Gamma

Ig: İmmünoglobulin

IL: İnterlökin

ISAAC: Uluslararası Çocuklukta Astım ve Alerjiler Çalışması

KBK: Kontakt Blefarokonjunktivit

KPT: Konjunktival Provokasyon Testi

LT: Lökotrien

MAK: Mevsimsel Alerjik Konjunktivit

MBP: Majör Bazik Protein

MCP: Monosit Kemoatraktant Protein

MHC: Majör Histokompatibilite Kompleksi

MIP: Makrofaj İnflamatuar Protein
MMP: Matriks Metalloproteinaz
NHANES: Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi
NO: Nitrik Oksit
NSAİİ: Non-Steroid Anti-inflamatuar İlaçlar
PAF: Trombosit Aktive Edici Faktör
PAK: Perennial Alerjik Konjonktivit
SCIT: Subkutanöz İmmünoterapi
sIgE: Spesifik IgE
SLIT: Sublingual İmmünoterapi
T-bet: T-box protein expressed in T cells
Tc: T cytotoxic (Sitotoksik T lenfosit)
Th: T helper (Yardımcı T lenfosit)
TLR: Toll-Like Reseptör
TNF: Tümör Nekroz Faktörü
Treg: Düzenleyici T hücreleri
VCAM: Vasküler Hücre Yapışma Molekülü
VKK: Vernal Keratokonjonktivit
WAO: Dünya Alerji Örgütü
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Normal Konjonktival Anatomi.	5
Şekil 2: Mevsimsel alerjik konjonktivit (Hafif bir konjonktival enjeksiyon ve makroskopik olarak görülebilen kemoz vardır).	12
Şekil 3: Vernal keratokonjonktivit (Horner Trantas nodülleri (a), tarsal dev papilla(b))	13
Şekil 4: Atopik keratokonjonktivit (oküler yüzey ve göz kapaklarının tutulduğu blefarokonjonktivit (a), kornea neovaskülarizasyonu, konjonktival fibrozis ve sekonder keratinizasyon (b))	14
Şekil 5: Dev papiller konjonktivit.	15
Şekil 6: Siyah kına nedeniyle oluşan kontakt blefarokonjonktivit	15
Şekil 7: Alerjik konjonktivit patofizyolojisi (duyarlılaşma ve provokasyon).....	17
Şekil 8: IgE tarafından başlatılan oküler alerjik reaksiyonda yer alan mekanizmaların şematik gösterimi	21
Şekil 9: Farmakolojik tedavilerin etki ettiği mekanizmalar.....	34
Şekil 10: IFN-Gamma'nın immün ve alerjik mekanizmalara etkileri.....	36
Şekil 11: IL-4 reseptör komplekslerinin şematik gösterimi.....	38
Şekil 12: IL-4 ün farklı hücreler üzerindeki etkileri.	39
Şekil 13: IL-10'un çeşitli hücre tipleri üzerindeki etkileri	41
Şekil 14: ECP'nin çeşitli hücre tipleri üzerindeki spesifik etkileri	42
Şekil 15: Schirmer fitre kâğıdı ve eppendorf tüp örnekleri.	45
Şekil 16: Schirmer testi uygulama tekniği.	46
Şekil 17: Schirmer filtre kağıtları bistüri ve penset yardımıyla 3-5 mm'lik parçalara bölündü.	46
Şekil 18: Bradford protein ölçümü ve ELISA plateleri.	48
Şekil 19: Vaka ve kontrol gruplarının ECP değerleri.	50
Şekil 20: Vaka ve kontrol gruplarının IL-4 değerleri.	51
Şekil 21: Vaka ve kontrol gruplarının IL-10 değerleri.	51
Şekil 22: Vaka ve kontrol gruplarının IFN-Gamma değerleri.	52

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Oküler Alerji sınıflandırma.	11
Tablo 2: Oküler alerjilerin klinik özellikleri.	16
Tablo 3: Deri testinde sık kullanılan alerjenler.	28
Tablo 4: Deri testi (in vivo) ile spesifik IgE (in vitro) ölçüm yöntemlerinin karşılaştırılması.	29
Tablo 5: Alerjik konjonktivitte ayırıcı tanı	31
Tablo 6: Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik ve klinik özellikleri.	49
Tablo 7: Vaka ve kontrol grupları cinsiyet dağılımları.	50
Tablo 8: Vaka ve kontrol grupları yaş dağılımları.	50
Tablo 9: Vaka ve kontrol gruplarının laboratuvar parametreleri.	53
Tablo 10: Vaka grubu tedavi öncesi ile tedavi sonrası sitokin değerleri.	54
Tablo 11: Vaka grubu tedavi öncesi ve kontrol grubu sitokin değerleri.	54
Tablo 12: Kontrol grubu ve vaka grubu tedavi sonrasının sitokin değerleri.	55
Tablo 13: ECP, IL-4, IL-10 ve IFN-Gamma değerlerinin Total IgE ve Eozinofil yüzdesi ile korelasyonu.	56
Tablo 14: Sitokin değerlerinin cinsiyet değişkenine göre değerleri.	56

ALERJİK KONJONKTİVİTLİ HASTALARDA GÖZYAŞINDAKİ IFN-GAMMA, IL-4, IL-10, EOZİNOFİLİK KATYONİK PROTEİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Giriş: Alerjik konjonktivit (AK) pediyatrik yaş grubunda en sık görülen alerjilerden biridir ve sıklığı dünya genelinde artmaktadır. Kızarıklık, kaşıntı, kemozis, akıntı gibi semptomlara neden olarak hastaların yaşam kalitelerini önemli ölçüde etkiler. Gözyaşı, göz yüzeyini kaplayıp, gözü korumaya yardımcı olan, içeriğinde birçok hücre, protein ve molekül içeren bir sıvıdır. Göz hastalıkları ile ilgili çalışmalarda gözyaşı örnekleri erişimi ve toplaması kolay ve daha az invaziv bir yöntemle toplanması nedeniyle sık kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda AK patogeneğinde farklı sitokinlerin ve sitokin gruplarının önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Gözyaşı sitokin çalışmaları son yıllarda giderek artmasına rağmen hala bir sürü yeni çalışmaya ihtiyaç vardır. Biz de çalışmamızı gözyaşı sitokinleri üzerinden planlayıp burada alerjik mekanizmalara farklı etkileri olan sitokinleri tercih ettik. Başlıca Th2 kaynaklı sitokin olarak IL-4, Th1 kaynaklı sitokin olarak IFN-Gamma, anti-inflamatuar olarak IL-10 ve eozinofil kaynaklı protein olarak ECP üzerinden alerjik inflamasyonu farklı yönlerden incelemeyi ve aynı zamanda bu sitokinlerin poliklinik takiplerinde önceden bakılmış olan serum parametreleri ile korelasyonunu değerlendirmeyi amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmamıza Nisan 2022 ve Ekim 2022 tarihleri arasında Bezmîâlem Çocuk Alerji Hastalıkları Polikliniklerimizde AK tanısı alan toplam 27 hasta ve kontrol grubu olarak Göz Hastalıkları Polikliniklerine gelen herhangi bir kronik hastalığı ve ek hastalığı olmayan 27 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edildi. Gözyaşı numuneleri schirmer fitre kağıtları ile schirmer 1 test protokolüne göre toplanıp -40 derecede muhafaza edildi. Hastanemiz biyokimya laboratuvarında oda sıcaklığına getirilip protein ölçümleri yapılan numunelerden yeterli protein miktarına sahip olan numuneler seçilip çalışmaya dahil edildi. Seçilen numuneler ELISA kit protokolüne uygun bir şekilde çalışıldı. Standart grafiği çizilerek her bir örneğin değeri protein miktarları ile hesaplandı. İstatistiksel analizleri yapıldı.

Bulgular: Çalışmaya katılan vaka ve kontrol grupları arasında cinsiyet ve yaş ortalaması olarak anlamlı fark yoktu. Vaka grubunda tedavi öncesi ve tedavi sonrası

sonuçları arasında sadece IFN-Gamma'da anlamlı yükseklik vardı. Diğer sitokinler arasında anlamlı bir fark yoktu. Tedavi öncesi ile kontrol grubu sonuçları arasında IL-4 ve ECP düzeylerinde anlamlı yükseklik vardı. Tedavi sonrası ile kontrol grubu sonuçları arasında IL-4, ECP, IFN-Gamma'da anlamlı fark vardı. IL-10 sonuçlarında, hiçbir grupta anlamlı fark gözlenmemiştir. IL-4, ECP, IFN-Gamma ve IL-10 düzeyleri ile Total IgE ve eozinofil yüzdesi arasında korelasyon yoktu.

Sonuç: IL-4 ve ECP hasta grupta sağlıklı gruptan daha yüksek olması alerjik inflamasyonda Th2 kaynaklı IgE aracılı tip 1 reaksiyonu ve eozinofilik infiltrasyona bağlı gelişen inflamasyonu desteklemektedir. Tedaviye yanıtı değerlendirmede etkin parametreler olmadıklarını gözlemledik. Tedavi sonrası klinik düzelme olmasına rağmen IL-4 ve ECP düzeylerinin sağlıklı gruptan yüksek olması konjonktivada hala devam eden bir subklinik inflamasyonun olabileceğini düşündürmektedir. IFN-Gamma'nın alerjiyi kanıtlamada etkin bir parametre olmadığını, terapötik yanıtı değerlendirmede anlamlı bir test olduğunu gözlemledik. Çalışmada IL-10 için anlamlı bir sonuç gösterilememiştir. Sitokin düzeyleri ile serum parametreleri arasında anlamlı bir korelasyon gösterilememiştir.

Anahtar Kelimeler: Alerjik Konjonktivit, Gözyaşı, IFN-Gamma, IL-4, IL-10, Eozinofilik Katyonik Protein

EVALUATION OF IFN-GAMMA, IL-4, IL-10, EOSINOPHILIC CATIONIC PROTEIN LEVELS IN TEAR IN PATIENTS WITH ALLERGIC CONJUNCTIVITIS

SUMMARY

Introduction: Allergic conjunctivitis (AC) is one of the most common allergies in the pediatric age group and its frequency is increasing worldwide. It significantly affects the quality of life of patients by causing symptoms such as redness, itching, chemosis, and discharge. Tear is a liquid that covers the surface of the eye and helps to protect the eye, containing many cells, proteins and molecules. In studies on eye diseases, tear samples are frequently used due to their easy access and collection, and collection with a less invasive method. Studies have shown that different cytokines and cytokine groups play an important role in the pathogenesis of AC. Although tear cytokine studies have increased in recent years, many new studies are still needed. In our study, we planned on tear cytokines and preferred cytokines that have different effects on allergic mechanisms. We aimed to examine allergic inflammation from different aspects via IL-4 as a Th2-derived cytokine, IFN-Gamma as a Th1-derived cytokine, IL-10 as an anti-inflammatory and ECP as an eosinophil-derived protein, and we also aimed to evaluate the correlation between these cytokines and serum parameters to correlate these cytokines with serum parameters that were previously checked in outpatient follow-ups.

Material and Methods: A total of 27 patients diagnosed with AC in our Bezmiâlem Pediatric Allergy Diseases Outpatient Clinic between April 2022 and October 2022, and 27 healthy children without any chronic disease or additional disease who came to the Ophthalmology Outpatient Clinic as a control group were included in the study. Tear samples were collected with Schirmer filter papers according to the Schirmer 1 test protocol and stored at -40 degrees. The samples were brought to room temperature in our hospital's biochemistry laboratory and were selected the samples with sufficient protein amount and included in the study. Selected samples were studied in accordance with the ELISA kit protocol. Calculations were made with the protein amounts of each sample by drawing the standard graph.

Results: There was no significant difference between the case and control groups participating in the study in terms of gender and mean age. There was only a significant increase in IFN-Gamma among the pre-treatment and post-treatment

results in the case group. There was no significant difference between other cytokines. There was a significant increase in IL-4 and ECP levels between the pre-treatment and control group results. There was a significant difference in IL-4, ECP, IFN-Gamma between the post-treatment, and control group results. In IL-10 results, no significant difference was observed in any group. There was no correlation between IL-4, ECP, IFN-Gamma and IL-10 levels and Total IgE and percentage of eosinophils.

Conclusion: The fact that IL-4 and ECP were higher in the patient group than in the healthy group supports Th2-mediated IgE-mediated type 1 reaction and inflammation due to eosinophilic infiltration in allergic inflammation. We observed that they were not effective parameters in evaluating response to treatment. Despite clinical improvement after treatment, the fact that IL-4 and ECP levels were higher than the healthy group suggests that there may still be ongoing subclinical inflammation in the conjunctiva. We observed that IFN-Gamma is not an effective parameter in proving allergy, but is a meaningful test in evaluating the therapeutic response. No significant results were shown for IL-10 in the study. There was no significant correlation between cytokine levels and serum parameters.

Keywords: Allergic Conjunctivitis, Tear, IFN-Gamma, IL-4, IL-10, Eosinophilic Cationic Protein

1. GİRİŞ

AK, mast hücrelerinin aktivasyonu ile modüle edilen, konjonktiva, göz kapakları ve korneayı etkileyen oküler inflamatuvar bir durumdur (1). Pediatrik yaşta, alerjik konjonktivit sık görülür, daha çok geç çocukluk ve genç erişkinlik dönemlerinde görülmektedir (2). Alerjik konjonktivit sadece oküler sağlık üzerinde değil, aynı zamanda yaşam ve genel olarak üretkenlik üzerinde de önemli olumsuz etkileri olabilir. Dünya Alerji Örgütü (WAO), dünya genelinde, özellikle çocuklarda ve gelişmekte olan ülkelerde artan alerjik hastalık yükü konusunda alarm vermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), alerjisi olan hastaların yaşam kalitesinin optimalin altında olduğunu ve bunun olumsuz bir ekonomik etkiye neden olduğunu belirtmiştir. Sanayileşmenin arttığı gelişmiş ülkelerde, mevcut popülasyonda görülme sıklığı artmıştır. Genetik, kentsel alanlardaki hava kirliliği, evcil hayvanlar ve erken çocukluk döneminde alerjene maruz kalma gibi çok sayıda faktörün katkısının olduğu düşünülmektedir. Nüfusun daha fazla alerji tedavisine ihtiyaç duyması nedeniyle ilişkili maliyetler de önemli ölçüde artmıştır (2).

AK, mevsimsel alerjik konjonktiviti (MAK), perennial alerjik konjonktiviti (PAK), vernal keratokonjonktiviti (VKK) ve atopik keratokonjonktiviti (AKK) kapsayan kapsayıcı bir terimdir. MAK ve PAK, alerjik konjonktivitinin en yaygın biçimleridir (2). Çocuklarda AKK ve VKK daha az sıklıkla görülür, ancak potansiyel olarak daha şiddetlidir. Tanı öncelikle klinikdir, tanıyı desteklemede faydalı olabilecek laboratuvar testler de vardır (2).

Alerjik konjonktivit oluşum mekanizması olarak tip 1 aşırı duyarlılık mekanizması olarak meydana gelir. Tip I aşırı duyarlılık, ani bir reaksiyon olarak da bilinir ve çözünebilir antijene karşı antikorların immünoglobulin E (IgE) aracılı salınımını içerir (3).

Alerjenler, Tip I aşırı duyarlılığın duyarlılaştırma aşaması sırasında Antijen sunan hücreler tarafından T hücrelerine sunulur. T hücreleri daha sonra, mast hücreleri ve bazofiller üzerindeki Fc reseptörlerine bağlanan IgE antikorları üretmek için B

hücrelerinin uyarılması için sinyal verir. Ardından serbest antijen, bu mast hücresi ve bazofil bağlı IgE antikorlarının çapraz bağlanmasını indükler. Bu, hücrelerin degranülasyonu ve histamin, proteolitik enzimler, sitokinler, lökotrienler ve diğer araçların (yani prostaglandin, trombosit aktive edici faktörler, makrofaj inflamatuvar proteinleri, triptaz, vb.) salınımı gerçekleşir. Sonuç olarak, vasküler geçirgenlikte artma, periferik vazodilatasyon, konjonktival ödem, kaşıntı vs. meydana gelebilir (3).

Birçok hücresel elemanın ve immünolojik mekanizmanın bir arada olması mevcut durumun kompleks yapısını ortaya koymaktadır. Bu durum fizyopatolojinin anlaşılmasını güçleştirmektedir ve bu mekanizmaları açıklamak için daha birçok çalışmaya ihtiyaç olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, alerjik konjonktivitte yer alan sistemik ve lokal mekanizmaları anlamak, farklı seviyelerde immün modülatör tedavilerin tasarlanmasına yardımcı olacaktır (4).

Çalışmamızda İnterlökin-4 (IL-4), İnterlökin-10 (IL-10), İnterferon-Gamma (IFN-Gamma), Eozinofilik Katyonik Protein (ECP) düzeyleri üzerinden değerlendirmeler yapılmıştır. IL-4 tip I hipersensitivitede anahtar sitokindir. IL-4, IgE üretimi için gereklidir. Tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonunda antijen sunulan Th-2 hücreleri tarafından sentezlenir ve B hücrelerinin bu ağır zincir izotipine değişimini uyararak temel sitokindir. IgE ani hipersensitivite (alerjik) reaksiyonlarının aracısıdır ve IL-4 üretiminin artışına alerjilerin gelişiminin de merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. IgE ve eozinofil aracılığıyla gelişen inflamatuvar reaksiyonlarda kritik rol oynar (5).

Güçlü bir immünosupresif sitokin olarak IL-10, immün sistemin hem doğal hem de adaptif kolları üzerinde doğrudan ve dolaylı olarak etki ederek farklı seviyelerde immün yanıtları bloke eder. Proinflamatuvar sitokinlerin üretimini, antijen sunumunu ve hücre proliferasyonunu inhibe edebilir. Bağışıklık sisteminin hem doğuştan gelen hem de adaptif kolları üzerinde güçlü bağışıklık düzenleyici etkileri olan bir pluripotent sitokindir. T helper 1 (Th1) tarafından proinflamatuvar (IFN-Gamma ve TNF-alfa) sitokinlerin üretimini inhibe etme yeteneği nedeniyle orijinal olarak sitokin sentezi inhibitör faktör olarak etiketlenen güçlü bir anti-inflamatuvar sitokindir (6).

Tip 1 hipersensitivite reaksiyonu, erken ve geç fazlara ayrılır ve geç faz reaksiyonu, eozinofil ve lenfositler tarafından doku infiltrasyonu ile karakterize edilir. Eozinofil,

sitoplazmasında spesifik granüller içerir. ECP, eozinofildeki belirli bir granülün matris kısmındaki spesifik bir granüler proteindir ve eozinofilin degranülasyonu ile dokulara salınır ve sadece eozinofilde bulunur (7). Astımlı hastalarda balgam ECP konsantrasyonunun yüksek olduğu ve klinik evreleri ile iyi bir korelasyon göstermesi nedeniyle gözyaşı ECP konsantrasyonu, konjonktivada eozinofillerin infiltrasyonu ve degranülasyonu için bir indeks olabilir. Bu nedenle gözyaşı ECP tespitinin alerjik bozuklukların tanısında ve hastalığın evrelerinin takip çalışmasında klinik önemi olduğu düşünülmektedir (7).

Alerjik hastalıkların patogenezinin Th1/Th2 bağışıklık tepkileri arasındaki dengesizlikle ilişkili olduğu fikri desteklenmektedir. Alerjik inflamasyonun gelişmiş bir Th2 bağışıklık tepkisi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, yetkin Th1 bağışıklık tepkilerinin yokluğunun, özellikle IFN-Gamma'nın down regülasyonunun, bu hastalıkların oluşumundan sorumlu olduğu bilinmektedir (8). IFN-Gamma, başlıca Th1 efektör sitokinidir ve Th1 farklılaşmasında çok önemli bir role sahiptir. IFN-Gamma alerjenlere karşı yanıt üzerinde inhibitör etki gösterir. IL-4 ve IL-5 üretim seviyelerini azaltarak, Th2 sitokinlerine doğrudan inhibitör etki yapar. IFN-Gamma sinyal yolu, Th1'e özgü ve Th2'yi baskılayan transkripsiyon faktörü olan T-bet proteinini aktive eder. Th2 sitokinler tarafından indüklenen alerjik patolojilerin önemli bir aracısı olan immünoglobulin sınıfının IgE' ye geçişini engeller. Ayrıca, T hücrelerinde ve eozinofillerde apoptozu indüklediği de gösterilmiştir. IFN-Gamma'nın Th2 yanıtları ve alerjik inflamasyon üzerindeki güçlü inhibitör özelliği, bu tür hastalıklar için olası bir tedavi yaklaşımı olabileceğini düşündürmüştür (8).

Literatürde farklı sitokin gruplarıyla farklı çalışmalar yapılmıştır. Biz bu çalışmamızda alerjik inflamasyonun patogenezinden sorumlu Th2 tepkimelerini değerlendirmeyi (IL-4), geç faz reaksiyonlarında eozinofil üzerinden inflamasyonun şiddetini değerlendirmeyi (ECP), alerjik mekanizmayı baskılayan Th1 tepkimelerini değerlendirmeyi (IFN-Gamma) ve anti-inflamatuar yanıtı (IL-10) değerlendirmeyi planladık. Farklı mekanizmaları aynı anda inceleyerek daha kapsamlı ve detaylı bir değerlendirme yapmayı amaçladık.

Gözyaşı örneklerinin toplanması nispeten kolaydır, biyopsi ihtiyacını ortadan kaldırır ve oküler yüzeydeki ayırıcı gözyaşı sitolojisi ve araçlar hakkında değerli bilgiler

sağlar (9). Bu nedenle daha önceki benzer çalışmalarda da yapıldığı gibi schirmer kâğıdı ile gözyaşı numunelerini elde etmeyi planladık.

Bu çalışmamızda, hastalardan ilk gözyaşı örneğini aldıktan sonra standart bir tedavi uygulayacağız ve sonra kontrol gözyaşı örneği alacağız. Aynı zamanda sağlıklı kontrol grubundan da gözyaşı örneği toplayacağız. IL-4, IL-10, IFN-Gamma, ECP ölçümleriyle hem alerjik konjonktivitin gelişmesine sebep olan mekanizmalardaki hem de alerjiyi baskılayan mekanizmalardaki proteinlerin ve sitokinlerin ölçümlerini değerlendirip tedavi öncesi ve sonrası ile kıyaslayarak tedaviyle regülasyonlarını değerlendirmeyi hedefliyoruz. Bu şekilde hangi mekanizmanın tedavide ne kadar yol gösterici olduğunu değerlendirmemize olanak sağlayacak. Aynı zamanda bu hastaların ölçtüğümüz sitokin değerlerinin daha önceden yapılmış rutin alerji laboratuvar testlerindeki bulgular ile ne kadar uyumlu olduğunu değerlendireceğiz. Böylece sitokinlerin alerjiyi gösterme güçlerini inceleyeceğiz.

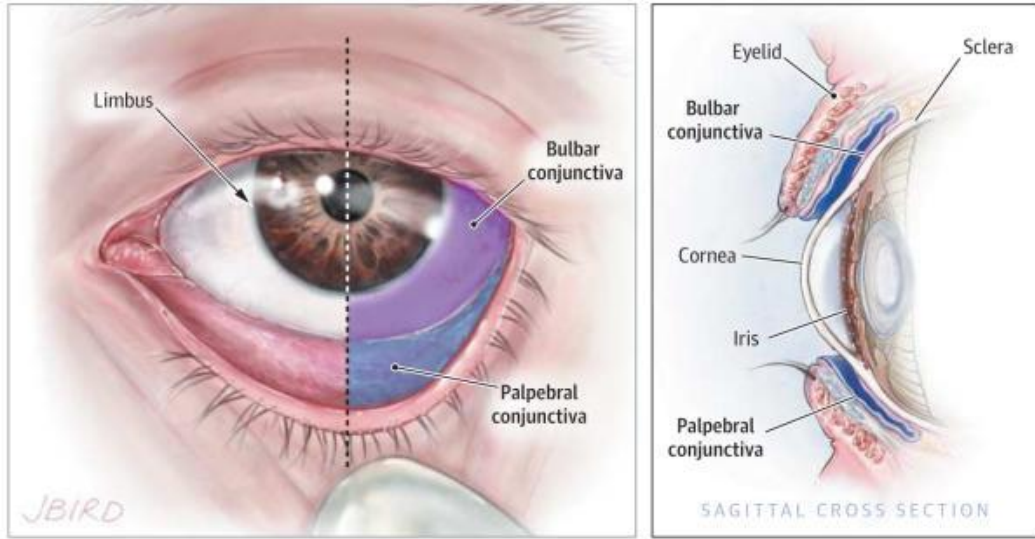
Hasta olgu grubunun sonuçları, sağlıklı olgu grubunun sonuçlarıyla da kıyaslandığında bu moleküllerin alerjik hastalarda alerjiyi göstermede ne kadar duyarlı olduklarını değerlendirmemize olanak sağlayacaktır. Hasta grup tedavi ile asemptomatik hale geldiğinde alınan örneklerin sonuçları sağlıklı kontrol grubunun sonuçları ile kıyaslanarak bu moleküllerin atopiyi ve atopiye yatkınlığı göstermedeki gücünü değerlendirmiş olacağız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Konjonktivit

2.1.1 Tanım

Konjonktiva, skleranın ön yüzeyini ve göz kapaklarının iç kısmını kaplayan ince, yarı saydam bir zarıdır. Bulbar ve palpebral olmak üzere 2 kısımdan oluşur (Şekil 1). Bulbar kısım korneanın kenarında başlar ve skleranın görünen kısmını kaplar; palpebral kısım göz kapaklarının içini çizer (10). Konumu nedeniyle, konjonktiva, konjonktivit oluşturabilen çok sayıda mikroorganizmaya, olası tahriş edici maddelere ve alerjenlere maruz kalır (11).



Şekil 1: Normal Konjonktival Anatomi (10).

Konjonktivitın patogenezi gözün doğal savunma mekanizmalarının bozulmasını içerir. Göz kapakları ilk savunma hattıdır. Normal göz kapağı konumu ve işlevi, oküler yüzeyin kurumasını önler ve periyodik kapanma ile gözyaşı döngüsünü destekler. Gözyaşı lizozim, laktoferrin, immünooglobulinler (özellikle IgA) ve sitokinler dahil olmak üzere gözyaşının çeşitli bileşenleri gözün savunmasında yer

alır. Konjonktivanın goblet hücrelerinden gelen müsin, mikropların oküler yüzey epiteline yapışmasını engeller. Göz kapağı kenarı boyunca meibomian bezlerinden gelen lipid, buharlaşmayı azaltmaya ve oküler yüzeyin kurumasını önlemeye yardımcı olur. Ek olarak, konjonktiva, immünolojik olarak yetkin hücre tiplerinin eksiksiz bir spektrumunu içerir (11).

Konjonktivit, konjonktivanın enfeksiyonu veya inflamasyonu olarak bilinir ve konjonktiva damarlarının dilatasyonu ile karakterize edilir, bu durum konjonktivada hiperemi ve ödem ile sonuçlanır, bu da tipik olarak akıntıyla ilişkilidir (10). Konjonktivit belirtileri, hiperemi, sulu veya pürülan akıntı, kemoz, yabancı cisim hissi, kaşıntı, yanma ve fotofobi dahil olmak üzere çok sayıdadır (11).

2.1.2 Sınıflama

Konjonktivit, bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan nedenlere ayrılabilir. Enfeksiyöz konjonktivitin bakteriyel, viral, klamidyal, mantar ve parazit gibi çeşitli nedenleri olabilir. Enfeksiyöz olmayan konjonktivitin nedenleri arasında alerjenler, toksisiteler ve tahriş edici maddeler bulunur (12). Virüsler ve bakteriler en yaygın bulaşıcı nedenlerdir. Viral konjonktivitler en sık enfeksiyöz konjonktivit nedenidir. Bakteriyel konjonktivitler, ikinci en sık enfeksiyöz konjonktivit nedenidir (10). Yaygın bakteriyel patojenler arasında *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* ve difteri bulunur. Yaygın viral ajanlar arasında adenovirüs, herpes simpleks, herpes zoster ve enterovirüs bulunur. Alerjik konjonktivit, mevsimsel alerjik konjonktivit, pereniyal alerjik konjonktivit, vernal keratokonjonktivit, atopik keratokonjonktivit ve dev papiller konjonktivit gibi durumları kapsar. Toksin kaynaklı ve tahriş edici kaynaklı konjonktivit örnekleri arasında kontakt lensle ilişkili keratokonjonktivit, sarkık göz kapağı sendromu ve ilaca bağlı keratokonjonktivit bulunur (12).

Konjonktivit ayrıca başlangıç şekline ve klinik yanıtın ciddiyetine göre akut veya kronik olarak sınıflandırılabilir. Akut konjonktivit, başvurunun 3 ila 4 hafta içinde başlaması ile karakterize edilir, kronik ise 4 haftadan fazla süre olarak tanımlanır (13).

2.2 Alerjik Konjonktivit

2.2.1 Alerjik konjonktivit tanımı, epidemiyolojisi

AK, mast hücrelerinin aktivasyonu ile modüle edilen, konjonktiva, göz kapakları ve korneayı etkileyen oküler inflamatuvar bir durumdur (1). AK, spesifik bir alerjene alerjisi olan kişide alerjenlerin göz yüzeyine temas etmesinden kaynaklanır. Diğer atopik hastalıkların patofizyolojisinde olduğu gibi immünoglobulin E (IgE) aracılı Tip I hipersensitivite reaksiyonudur (14).

AK, genellikle görmeyi etkilemese de önemli semptomatolojiye neden olur ve özellikle çocuklar ve ergenler olmak üzere etkilenen hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde azaltır. Genellikle belirtiler iki taraflıdır ve kaşıntı, yabancı cisim hissi, konjonktival hiperemi, seröz veya müköz akıntı, tarsal papiller reaksiyon olmak üzere yaygın göz semptomları ve belirtileri vardır (15).

Alerjik hastalıklarda son yıllarda dramatik bir artış olmuştur. Oküler alerji, klinik uygulamada en sık karşılaşılan oküler durumlardan biridir (2). Oküler alerjilerin her yıl nüfusun en az yüzde 20'sini etkilediği tahmin edilmektedir ve görülme sıklığı giderek artmaktadır (14). Genellikle genç popülasyonu etkilemesi ve prevalansının yıllar içinde yükselmesi oküler alerjiye olan ilginin giderek artmasına neden olmuştur. AK prevalansındaki artış dünya çapında olmakla birlikte, ülkelere ve hatta aynı ülkenin farklı bölgelerine göre oldukça değişkendir. Bu varyasyonlar, alerjik hastalıkların oldukça heterojen doğasını ve ayrıca etnik köken, alerjen türleri ve çevresel risk faktörlerindeki farklılıkları yansıtmaktadır (16).

ABD'de, AK popülasyon düzeyi, 1988–1994'te Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi (NHANES) III adlı geniş ölçekli bir anketle belirlendi. NHANES'te 33.994 katılımcı ile daha çok sağlıkla ilgili anket soruları üzerinden görüşülmüştür. Bu veri setine dayanarak, 17 yaş üzeri popülasyonunun %40'ının oküler alerjik semptomlara sahip olduğu bildirildi ve bunlar alerjik konjonktivit olarak sınıflandırıldı (17).

Japonya'da rinokonjonktivit yaygınlık eğilimindeki değişiklikleri anlamak için, Kyoto'daki 7 ila 15 yaşındaki okul çocukları 1996'da ve 2006'da bir anket (N = 13,215) ile araştırıldı. Alerjik konjonktivitın yaşam boyu yaygınlığı 1996'da %24,5 iken 2006'da %30,0'dı (18).

Alerjik hastalıklar konusunda yapılmış çok sayıda epidemiyolojik çalışma olmasına karşın farklı metotlar kullanılmış olması, bu çalışmalar arasında sağlıklı karşılaştırma yapmayı zorlaştırmış ve standardizasyon gereği doğurmuştur. Bu amaçla 1990'lı yılların başlarından itibaren uluslararası çok merkezli iki büyük çalışma yürütülmeye başlanmıştır. Bunlardan biri çocuklarda astım ve alerjik hastalıkların epidemiyolojisi için geliştirilmiş olan Uluslararası Çocukluk Çağı Astım ve Alerjik Hastalıklar çalışmasıdır (International Study of Asthma and Allergies in Childhood – ISAAC) (19). ISAAC alerjik hastalıklarının prevalansını saptamak, bu yönde yapılan çalışmalarını desteklemek ve bu hastalıklara yönelik etiyolojik araştırmalar yapılmasını sağlamak için geliştirilen ve tüm dünyada geçerliliği olan standart bir ankettir (20, 21). ISAAC'ın 3 fazı bulunmaktadır. FAZ 1 çalışması; farklı bölgelerdeki astım ve alerjik hastalıkların prevalansını ve ciddiyetini değerlendirmek, Faz 2; Faz 1'deki sonuçlara göre etiyolojik nedenleri araştırmak, Faz 3 ise; prevalansdaki değişimi değerlendirmek için Faz 1'in tekrarı olarak 5-10 yıl sonra prevelanstaki değişimi saptamak için kullanılan çalışmadır (20).

56 ülkeden 6-7 yaş aralığında 257.800 ve 13-14 yaş grubundan 463.801 çocuğun yer aldığı çok merkezli ISAAC Faz 1 çalışmasında alerjik rinokonjonktivit görülme sıklığı 6-7 yaş aralığında %0.8-14.9, 13-14 yaş aralığında ise %1.4-39.7 olarak bulunmuştur. (20) Beş ile on yıl sonra dünya genelinde, 98 ülkede, 233 merkezde, yaklaşık 1,2 milyon çocuk üzerinde yapılan ISAAC Faz 3 çalışmalarında 6-7 yaşları arasındaki çocuklarda rinokonjonktivit prevalansı %8,5, 13-14 yaş arası çocuklarda %14,6 olarak bulunmuştur (19). Birçok merkezde oranlarda artış olduğu bildirilmiştir.

2.2.2 Risk faktörleri

AK de dahil olmak üzere tüm alerjik problemler genetik ve çevresel durumlardan etkilenmektedir. Ailede anne ve babadan birinde alerji olması durumunda çocukta alerji gelişme riski %30 iken, ebeveynlerin her ikisinde alerji olması durumunda oran %50'ye yükselmektedir. Hem annede hem de babada benzer alerjik semptomlar varsa çocukta o alerjik hastalığın gelişme riski %72'ye çıkmaktadır (22). Genetik olarak atopik hastalıklara yatkın kişilerde en önemli dış etkenler polenler, ev tozu akarları, mantar sporları ve hayvan epiteli gibi aeroalerjenlere maruz kalmaktır (23).

Oküler alerjilerin genel prevalansı, kadınlarla karşılaştırıldığında erkeklerde neredeyse tam olarak iki kat daha fazladır. Yapılan bir çalışmada erkek cinsiyet, erken ve orta çocukluk yaş grupları, yüksek sosyoekonomik sınıf ve sistemik alerji öyküsü oküler alerjik hastalık geliştirmenin yüksek risk faktörleri olarak tespit edilmiştir (1, 24).

Alerjenlerden iç ortam alerjenleri başlıca evcil hayvanlar, küf mantarları, ev tozu akarları ve hamam böceği; dış ortam alerjenlerinde ise polenler, mantarlar, buğday, çavdar, arpa gibi tahıllar ve hayvan alerjenleri en sık karşılaştığımız alerjenlerdir. Mevsimsel alerjik rinokonjonktivit, esas olarak dış mekân aeroalerjenleri tarafından tetiklenirken, çok yıllık rinokonjonktivitin esas olarak iç mekân aeroalerjenleri ile tetiklenir (25).

Eşik seviyesinin üzerinde havadaki polenlere maruz kalma, duyarlı bireylerde alerji semptomlarını tetikleyebilir. Erken yaşta alerjene maruz kalma da alerji semptomlarının başlamasında önemli bir faktördür (25). Yakın tarihli bir Avustralya çalışması, bebeklik döneminde 3 aya kadar polene sürekli maruz kalmanın daha yüksek saman nezlesi riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (26). Benzer şekilde, Hong Kong'daki 508 okul öncesi çocuk üzerinde yapılan bir araştırma, yaşamın ilk yılında neme ve küfe maruz kalmanın rinokonjonktivit riskini artırdığını göstermiştir (27).

Kentleşme, sanayileşme ve iklim değişikliğinden kaynaklanan hem iç hem de dış ortamda hızla meydana gelen değişikliklerin konjonktivit de dahil olmak üzere alerjik hastalıkların prevalansına ve bu hastalıkların yönetimine önemli etkileri vardır (25). Polen sayılarını ve alerjik hastalıklarla ilişkili diğer aeroalerjenlerin prevalansını etkileyen çevresel ve iklimsel değişikliklerin, alerji problemlerinin daha çok artmasına neden olması beklenmektedir. Bu durum yaşam kalitesinin düşmesine, morbidite ve mortalitenin artmasına ve hastalara önemli maliyetlere neden olmaktadır (23).

İç ve dış mekân alerjenlerinin nispi dengesi, coğrafi konuma, mevsime, endüstriyel kirlilik seviyelerindeki değişikliklere ve iç mekân havalandırmasına ve ftalat içeren ürünlerin temizliğine ve kullanımına göre değişiklik göstermektedir. Ftalat esterleri, oyuncaklar, gıda kapları, mobilyalar ve boyalar dahil olmak üzere birçok plastik ürün için plastikleştiricidir. Bunlar sık karşılaşılan bir iç mekân kirleticileridir. Ftalatlar

materyallerden sızıp havaya dağılarak veya toza yerleşerek ftalatlara duyarlı insanlar için alerjen görevi görür. İnsanlar toz yutma, soluma, deri yoluyla emilim ve gıda alımı yoluyla bu alerjenlere maruz kalmaktadır ayrıca ftalatların diğer alerjenlerin gücünü artırarak alerjik reaksiyonları güçlendirdiği de öne sürülmüştür (25).

2.2.3 Sınıflandırma

Alerjik konjonktivit sınıflandırması yakın zamanda Avrupa Alerji ve Klinik İmmünoloji Akademisi'nin (EAACI) Oküler Alerji grubu tarafından yenilenmiştir ve bu grup iki tip oküler yüzey hipersensitivite bozukluğu ayrımı yapar: oküler alerji veya oküler non-alerjik hipersensitivite (Tablo 1) (28). Birinci tip olan oküler alerji, IgE aracılı veya IgE aracılı olmayan mekanizmalardan kaynaklanabilir. IgE aracılı oküler alerji, mevsimsel alerjik konjonktivit, perennial alerjik konjonktivit, vernal keratokonjonktivit ve atopik keratokonjonktivit içerir. IgE aracılı olmayan formlar arasında kontakt blefarokonjonktivit (KBK), VKK ve AKK bulunur. İkinci tip, oküler alerjik olmayan aşırı duyarlılık, dev papiller konjonktivit (DPK), iritatif konjonktivit, iritatif blefarit ve diğer sınırdaki veya karışık formları içerir (15, 28).

Alerjik konjonktivit, MAK, PAK, VKK, AKK'yı kapsayan genel bir terimdir. Ancak AKK ve VKK, alerjinin bazı ortak belirteçlerine rağmen MAK ve PAK'tan oldukça farklı klinik ve patofizyolojik özelliklere sahiptir. Ayrıca kontakt lensler veya oküler protezlerle ilişkili DPK sıklıkla oküler alerji grubuna dahil edilir, ancak gerçek alerjik hastalıklar olarak değil, kronik oküler mikrotravma ile ilişkili bozukluklar olarak kabul edilmelidir (Tablo 2) (2).

Tablo 1: Oküler Alerji sınıflandırma.

Oküler Yüzey Hipersensitivite Bozuklukları		
Oküler Alerji		Oküler Non-alerjik Hipersensitivite
IgE ilişkili Oküler alerji	Non-IgE ilişkili Oküler alerji	
Mevsimsel Alerjik Konjonktivit	Kontakt Bilefarokonjonktivit	Dev Papiller Konjonktivit
Perennial Alerjik Konjonktivit	Vernal Keratokonjonktivit	İritatif Konjonktivit
Vernal Keratokonjonktivit	Atopik Keratokonjonktivit	İritatif blefarit
Atopik Keratokonjonktivit		Diğer sınırdaki veya karışık formlar

2.2.3.1 Mevsimsel ve perennial alerjik konjonktivit

Oküler alerjinin en sık görülen formlarıdır. Alerjen hava ile taşınan toz, polen, saç ve yün gibi maddelerdir (29). IgE aracılı alerjik reaksiyonlardır (28). Saman nezlesi konjonktiviti olarak da bilinen MAK, genellikle çimen polenleri gibi açık hava alerjenlerinin neden olduğu ve bu nedenle yılın sadece mevsimlere ve iklime göre değişebilen belirli dönemlerinde ortaya çıkan bilateral akut bir hastalıktır. PAK da iki taraflıdır, ancak alevlenme ve remisyon dönemleri ile kroniktir ve genellikle ev tozu akarları, küf mantarı veya evcil hayvan tüyü gibi kapalı hava kaynaklı antijenlere bağlıdır (15).

Klinik; aniden başlayan kaşıntı, yanma ve sulanma olarak başlar. Şiddetli kaşıntının tanısız önemi vardır. Ataklar genellikle kısa süreli ve epizodiktir. Muayenede palpebral ödem, kemozis, hiperemi, diffüz papiller reaksiyon, sulu mukoid sekresyon tespit edilir (Şekil 2). Papiller oluşumlar özellikle üst kapak tarsal konjonktivasında görülebilir. İki durum arasındaki en temel fark semptomların periyodikliğidir; MAK genellikle ilkbahardan sonbahara kadar daha kötüdür, soğuk aylarda azalırken, PAK

yıl boyunca ortaya çıkar ve genellikle daha az şiddetlidir. Klinik, mevsimsel tipe benzer fakat yılın herhangi bir zamanında ortaya çıkabilir. Kornea tutulumu MAK ve PAK'ta çok nadirdir, ancak şiddetli formlarda ortaya çıkabilir.

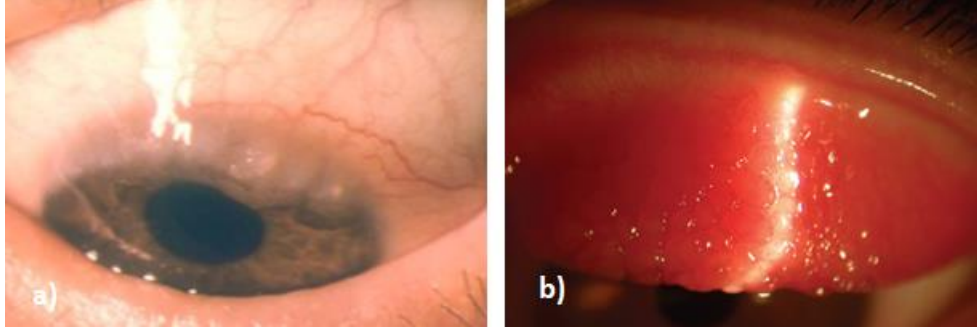
MAK ve PAK, genellikle solunum sisteminde de alerjik rinit ve/veya astım şeklinde kendini gösteren sistemik bir alerjik bozukluğun oküler formlarıdır. Oküler semptomlara sıklıkla nazal veya faringeal şikayetler de eşlik eder. Her iki form da semptomların yoğunluğuna ve yaşam kalitesi üzerindeki etkisine bağlı olarak hafif, orta veya şiddetli olabilir (15, 29).



Şekil 2: Mevsimsel alerjik konjonktivit (Hafif bir konjonktival enjeksiyon ve makroskobik olarak görülebilen kemoz vardır) (30).

2.2.3.2 Vernal keratokonjonktivit

Genellikle üst tarsal veya limbal konjonktivayı etkileyen bilateral kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Nadir bir formdur, ılık ve kuru iklimli bölgelerde daha sık olarak görülür. Tipik olarak mevsimseldir, bahar ve yaz aylarında başlar, soğuk aylarda düzelir. Yıl boyu devam eden nadir vakalar da olabilmektedir. Gençlerde sık görülür (15, 31). MAK ve PAK'a göre daha şiddetli bir formdur. Şiddetli kaşıntı olup bunu fotofobi, yanma, yabancı cisim hissi ve görme bulanıklığı izler. Olguların çoğunda kornea tutulumu olur. Yüzeysel punktat keratit, makroerozyonlar, kornea ülserasyonları ve neovaskülarizasyon gibi çok çeşitli klinik belirtiler görülebilir (32).



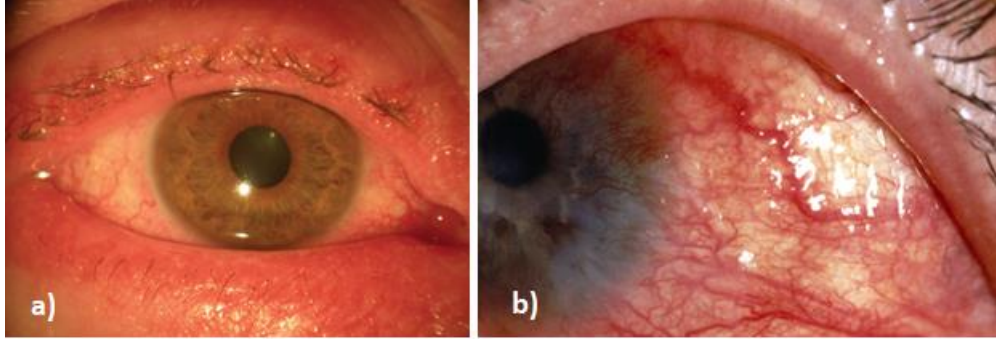
Şekil 3: Vernal keratokonjonktivit (Horner Trantas nodülleri (a), tarsal dev papilla(b)) (2, 15).

VKK klinik olarak tarsal, limbal veya karışık form olarak sınıflandırılır. Tarsal formda, tarsal konjonktivada zamanla “arnavut kaldırımı benzeri” papilla haline gelebilen mukusla çevrili dev papillalar (Şekil 3.b) görünür. Limbal formda, limbusta papillalar oluşabilir ve üstlerinde eozinofil, fibroblast ve nekroze epitelden zengin Horner Trantas nodülleri (Şekil 3.a) adı verilen beyaz noktasal infiltrasyon alanları görülebilir (15).

Olguların birçoğunda atopi öyküsü (atopik dermatit, alerjik rinit, astım) bulunur. VKK'ya tip 1 (IgE'ye bağımlı) ve tip 4 (IgE'den bağımsız) immün patojenik mekanizmalar neden olur. VKK'lı hastalarda artmış sayıda aktif CD4+ T-lenfosit ve karakteristik olarak Th2 lenfositler vardır, bu da tip 4 hipersensitivite reaksiyonunu düşündürür (15, 33).

2.2.3.3 Atopik keratokonjonktivit

Atopik keratokonjonktivit (AKK), oküler yüzey ve göz kapağının bilateral kronik inflamatuvar bir hastalıdır (Şekil 4.a) (2). Patogeneizde IgE, Th2 ve Th1 aracılı mekanizmalar yer almaktadır. T-hücrelerinin ve eozinofil üretimini uyaran Th1 hücrelerinin baskın katılımı ile gerçekleşen tip 4 aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Ayrıca eozinofiller ve diğer inflamatuvar hücreler de rol oynar (2, 15, 28). AKK, belirgin dermal/kapak bileşeni ve daha özel olarak hastalığın atopik etiyojisi ile VKK'den ayrılan ciddi bir oküler alerjik durumdur. 30-50 yaş arası erkeklerde daha sık görülür. Ailede atopi öyküsü (alerji, astım, ürtiker ve/veya saman nezlesi) hemen hemen her zaman mevcuttur (33). Genellikle kış aylarında ve soğuk iklimlerde şikayetler şiddetlenir (15).



Şekil 4: Atopik keratokonjunktivit (oküler yüzey ve göz kapaklarının tutulduğu blefarokonjunktivit (a), kornea neovaskülarizasyonu, konjunktival fibrozis ve sekonder keratinizasyon (b)) (15, 34).

Oküler semptomlar arasında şiddetli kaşıntı, fotofobi, yanma, yabancı bir cisim varlığı hissi ve akıntı görülmektedir. Klinik belirtilerde, konjunktiva ve episkleral damarların hiperemisi, üst tarsal konjunktivadaki papilla ve eşlik eden blefarit görülebilir. Kapak egzaması, kapak hiperpigmentasyonu yatay kapak kırışıklıklarına neden olan ödem ve kaşların yan ucunun yokluğu (Hertoghe belirtisi) ile sonuçlanır. En şiddetli vakalarda subepitelyal fibrozis ile konjunktival skarlaşma, forniks kısılması, semblefaron ve kornea ülserasyonu ve neovaskülarizasyon meydana gelebilir (Şekil 4.b) (15, 35).

2.2.3.4 Dev papiller konjunktivit

Oküler yüzeyin, en sık olarak kontakt lenslere, kontakt, lens solüsyonlarına, oküler protezlere, ameliyat sonrası süturlara karşı alerjik olmayan bir hipersensitivite reaksiyonudur (15, 28). DPK hastalarının gözyaşlarında IgE veya histamin artışı yoktur ancak hastaların konjunktivasında mast hücreleri, eozinofiller ve bazofiller bulunur ve gözyaşında başta eotaksin olmak üzere çeşitli immünoglobulin ve sitokinlerde artış gösterirler (2, 15). DPK'nın semptomları arasında kaşıntı, yabancı cisim hissi, sulu veya müköz akıntı, hafif konjunktival hiperemi ve superior tarsal konjunktivada papiller reaksiyon gelişimi (Şekil 5) yer alır (15, 28, 33). Genellikle kornea tutulumu yoktur. Tablo; kliniğe kontakt lense karşı intolerans şeklinde yansır. Oküler yüzeyde ve konjunktivada hipersensitivite reaksiyonuna neden olan etkenin teması ortadan kalktığı andan itibaren klinik rahatlamaya başlar (15).



Şekil 5: Dev papiller konjonktivit (2).

2.2.3.5 Kontakt blefarokonjonktivit

Göz kapağı derisine veya konjonktivaya bir alerjenle temasın neden olduğu alerjik, tahriş edici bir hipersensitivite reaksiyonudur (15, 28). Ekzojen bir alerjen tarafından başlatılan ve inflamatuvar sitokinler salgılayan Th1 ve Th2 lenfositlerin aracılık ettiği tip 4 gecikmiş bir hipersensitivite reaksiyonudur (15).



Şekil 6: Siyah kına nedeniyle oluşan kontakt blefarokonjonktivit (36).

Oküler yüzeyde veya periorbital alanda kullanılan bir oftalmik solüsyona, merheme, kreme veya kozmetik ürünlerin kullanımına bağlı göz kapağı derisi ve konjonktivada akut inflamasyona bağlı kızarıklık, yanma, kaşıntı ve akıntı semptomları görülür. En belirgin semptomlar göz kapağında kaşıntı ve yanmadır. Klinik tabloda ödem, göz kapağı kızarıklığı, egzama veya likenifikasyon, konjonktival kızarıklık ve papilla ile karakterizedir (15, 28).

Tablo 2: Oküler alerjilerin klinik özellikleri (28).

	MAK	PAK	VKK	AKK	DPK	KBK
Prezantasyon	İntermittan	Persistan	İntermittan / Persistan alevlenmeler	Kronik	Persistan	Kronik / İntermittan alevlenmeler
Alerjik Mekanizma	IgE aracılı	IgE aracılı	IgE aracılı ve IgE aracılı olmayan	IgE aracılı ve IgE aracılı olmayan	Alerjik olmayan	IgE aracılı olmayan
Altta yatan durum	Atopik	Atopik	Çocukluk atopik	Yetişkin atopik	Atopik veya atopik olmayan	Atopik olmayan
Göz kapakları	±Ödem	±Ödem	Ödem psödoptozis	Egzama + meibomit blefarit	-	Eritem, egzama
Konjonktiva	Foliküller ve/veya papilla	Foliküller ve/veya papilla	Dev papilla	Papilla ± fibrozis	Dev papillalar	±Hiperemi Foliküller
Limbus	-	-	±Kalınlaşmış +Trans noktaları	±Kalınlaşmış ±Trans noktalar	Hiperemi	-
Kornea	-	-	Süperfisyal punktat keratit ±Ülser ±Vernal plak	Süperfisyal punktat keratit Ülser, Plak, Opaklıklar neovasküleri- zasyon	Nadir	-

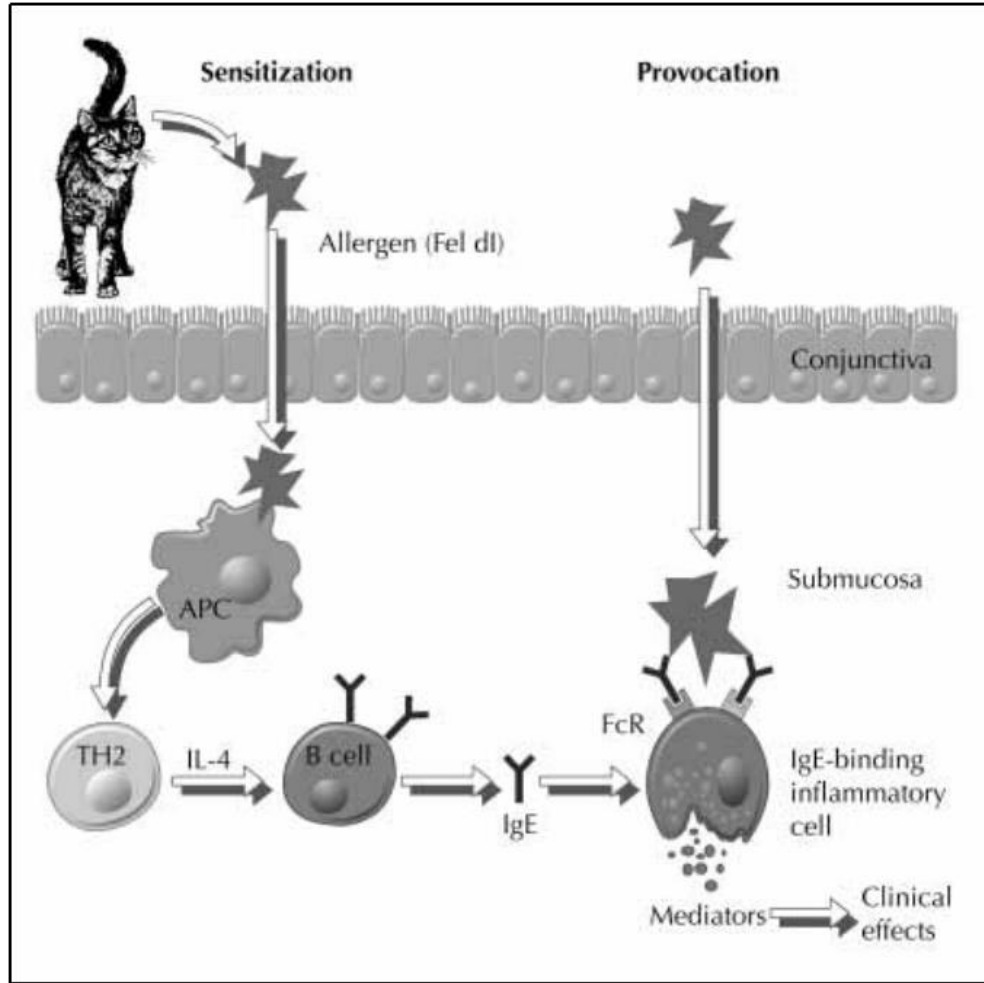
2.2.4 Alerjik konjonktivitte immünopatogenez

Alerjik konjonjtit, alerjenlerin duyarlılaştırılmış mast hücrelerine bağlı IgE ile etkileşime girdiği ve klinik oküler alerjik ekspresyonla sonuçlanan alerjen kaynaklı bir inflamatuvar yanıtta kaynaklanır. Alerjik oküler hastalıklar IgE aracılı tip I, tip IV veya tip I ve IV hipersensitivite reaksiyonlarının bir kombinasyonunu ortaya çıkarma kapasitesine sahiptir (37). Alerjik konjonktivitin patogenezi ağırlıklı olarak IgE aracılı bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Mast hücrelerinin aktivasyonu, histamin, triptaz, prostaglandinler ve lökotrienlerin gözyaşındaki seviyelerini artırır. Erken alerjik yanıtı tetikler. Mast hücre degranülasyonu vasküler endotelial hücrelerin aktivasyonunu da indükler, bu da hücreler arası yapışma molekülü (ICAM), vasküler hücre yapışma molekülü (VCAM), ve diğer bazı kemokinlerin (RANTES, MCP, MIP-1 alfa vs.) ve yapışma moleküllerinin salgılanmasını sağlar. Bu faktörler, oküler geç faz reaksiyonuna yol açar (2).

Alerjen molekül oküler yüzeye temas ettiğinde, gözyaşında çözünüp doğrudan veya bir immünoglobulin içeren bir bağışıklık kompleksinin bir parçası olarak antijen

sunan hücrelerle (ASH) (dentritik hücreler, langerhans hücreleri veya konjonktival mukozal epiteldeki makrofajlar vs.) karşılaşır. Burada alerjenik peptidlere işlenirler. Daha sonra CD4+ T hücrelerine majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf II molekülünün peptid parçası olarak sunulur (Şekil 7) (33, 38).

T ve B lenfositler, alerjik reaksiyonda önemli hücrelerdir. T lenfositlerin yüzey antijenlerine göre; CD4+ olanlar Th hücreleri, CD8+ olanlar ise sitotoksik T (Tc) hücreleridir. Th hücreleri alerji regülasyonunda etkilidirler ve Th1 ve Th2 hücrelerine farklılaşırlar. Bu farklılaşmada belirli sitokinler rol oynar. Th1/Th2 oranındaki denge önemlidir. Th1 hücreler antienflamatuvar özelliğe sahipken, Th2 hücreler proinflamatuvar özellik taşırlar. Alerji duyarlılığında bu denge Th2'nin artması ile değişir. Th hücrelerin Th2 hücelere farklılaşmasında IL-4 önemli bir rol oynar (39).



Şekil 7: Alerjik konjonktivit patofizyolojisi (duyarlılaşma ve provokasyon) (38).

Toll-like reseptörler (TLR) enflamasyonun erken immün cevabını tetikleyen antijenleri tanıyan ve cevap veren kalıtsal immün reseptör grubudur. ASH'lerin TLR stimülasyonu T hücrelerinin aktivasyonuna, sitokin oluşumuna, IgE sentezinin regülasyonuna ve eozinofil proliferasyonuna neden olur. Aktif Th2 hücreleri tarafından üretilen sitokinler (IL-4), B hücrelerinin olgunlaşmasını, B hücreleri ve plazma hücrelerinin antikor üretimini düzenlerler. Aktif T hücrelerinin aynı antijenle karşılaşan B lenfositleri ile etkileşimi daha fazla Th2 sitokinleri salınmasıyla (özellikle IL-4) sonuçlanır. B hücrelerinin ürettiği alerjen spesifik IgE, mast hücreleri ve bazofiller gibi IgE bağlayıcı inflamatuvar hücrelerin yüksek afiniteli IgE reseptörlerine (IgE Fc) bağlanır (Şekil 7). Aynı antijenle karşılaşıldığı zaman immün hücreler tetiklenir ve alerjik cevap başlar (39, 40).

Duyarlılaştırılmış IgE kaplı mast hücrelerinin spesifik alerjene maruz kalması, membrana bağlı IgE FcεRI reseptörlerinin çapraz bağlanmasına, mast hücrelerinin aktivasyonuna ve önceden oluşturulmuş ve yeni oluşturulmuş mediatörlerin salınmasına neden olur (Şekil 7). Mast hücrelerinin degranülasyonu ve histamin salınımı MAK ve PAK etyopatogenezinde anahtar rol oynar (39). Mast hücre kaynaklı mediatörler, alerjik konjonktivitte ortaya çıkan, kaşıntı, vazodilatasyon, kemozis ve artmış vasküler geçirgenlik ile karakterize tip I aşırı duyarlı reaksiyonların gelişimine katkıda bulunur (37). Histamin, proteoglikanlar, nötral serin proteazlar ve karboksipeptidaz dahil olmak üzere önceden oluşturulmuş mediatörler, intrasitoplazmik granüllerde depolanır. Alerjen ile temasta daha önceden üretilmiş ve hücre içinde depolanmış histamin, triptaz, heparin, karboksipeptidaz, asit hidrolaz gibi mediatörler erken fazda ortaya çıkan kaşıntı, kızarıklık ve ödem gibi semptomlardan sorumludur (Şekil 8). Bazı mediatörler ise araşidonik asitten siklooksijenaz ve lipoksijenaz enzimlerinin aktivasyonu sonucu sentezlenmektedir ve vazodilatasyon, inflamatuvar hücre kemotaksisi gibi geç faz alerjik reaksiyonlardan sorumludur (Şekil 8) (33, 39).

Histamin oküler alerjik reaksiyondan sorumlu en önemli mediatördür. Konjonktiva dokusunda H1 ve H2 olmak üzere iki ayrı tip histamin reseptörü vardır. Oküler alerjik reaksiyonun çoğu, hücre içi inositol fosfatı yükselten histamin tarafından H1 reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla meydana gelir, bu da hücre içi kalsiyumu artırır ve kaşıntı semptomunun yanı sıra inflamatuvar sitokin salgılanması ve kaskad

süreçlerine yol açar. Ek olarak, H2 reseptörlerinin aktivasyonu, vazodilatasyona yaparak kızarıklığa ve bazı dolaylı tepkilere neden olur. Histaminin konjonktivadaki H1 ve H2 reseptörlerine bağlanmasının ilave etkileri arasında hiperemi, ödem, fibroblast hücre proliferasyonu, sitokin salgılanması ve artan mikrovasküler hücre geçirgenliği bulunur (39, 40).

Histamin hem akut alerjik reaksiyonların klinik bulgu ve semptomlarından hem de kronik alerjik reaksiyonlarda kollajen yapılanmasından sorumludur. Normalde konjonktiva epitelinin sıkı yapısı, alerjenlerin submukozal bölgedeki mast hücrelerine ulaşmasını engeller. Fakat ev tozu akarları, polen peptidazları ve histaminin epitelin sıkı bağlarını bozarak alerjik reaksiyonların gelişimini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (39, 40). Histamin tarafından doğrudan veya dolaylı olarak adezyon molekülü ekspresyonu artırılabilir. İn vitro histamin ile uyarılan konjonktival fibroblastlarda ICAM-1'in artan ekspresyonu tespit edilmiş ve bu, yapısal hücrelerin, konjonktival mukozada inflamatuvar hücrelerin ikametına önemli ölçüde katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

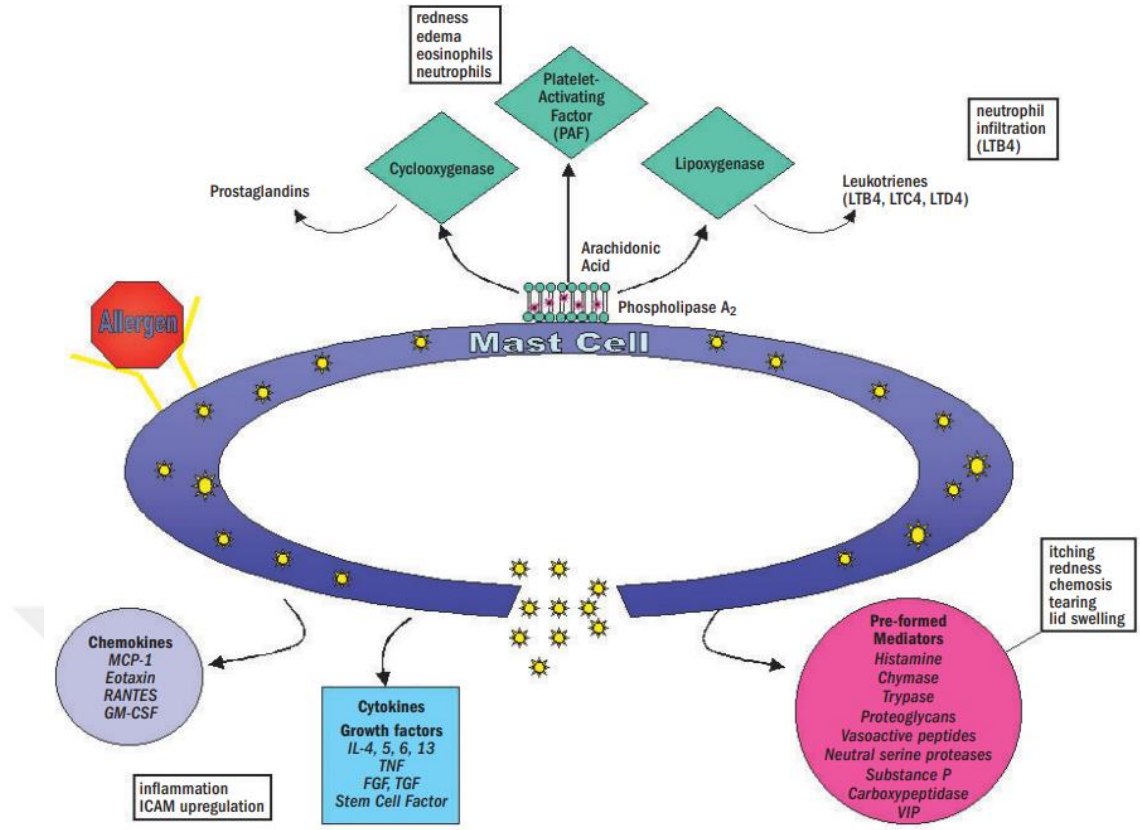
Mast hücre degranülasyonu ile kompleks bir hücre içi kaskad tetiklenir ve hücre içi kalsiyum depolarının mobilizasyonuna ve/veya fosfolipaz A2'nin aktivasyonu ile araşidonik asidin (AA) membran fosfolipitlerinden ayrılması için gerekli bir element olan kalsiyum akışının artmasına yol açar. AA'nın fosfolipaz tarafından mast hücrelerinin zarından serbest bırakılması, AA mediatörlerinin oluşumu için siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz enzimlerine substrat sağlar (33).

AA metabolitlerinden daha sonra prostaglandin D2, lökotrienler (LTB4, LTC4 ve LTD4) ve trombosit aktive edici faktör (PAF) biyosentezlenir (Şekil 8) (33). Prostaglandinler, siklooksijenaz (COX-1 ve COX-2) enzimatik yolun ürünüdür, lökotrienler ise lipoksijenaz yoluyla üretilir. Prostaglandin D2, alerjen tehdidinden sonra mikrovasküler geçirgenliğin artmasına neden olur, gözlerde kızarıklık ve şişlik oluşturur. Histaminin pruritojenik etkilerini artırır. Goblet hücre deşarjını uyararak aşırı mukus salgılanmasına neden olur. Ayrıca eozinofil infiltrasyonunu uyararak alerjik reaksiyonun geç fazının bir parçası olarak daha fazla inflamasyona yol açar. Lökotrienler, prostaglandinlerle beraber vasküler geçirgenliğin artmasına ve ödem oluşumunu katkıda bulunur (33, 40). Trombosit aktive edici faktör (PAF) de

fosfolipazdan salınır ve gözde kızarıklık, ödem ve eozinofillerle nötrofillerin sızmasına yol açar (33).

Sitokinler (IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-33, TNF-alfa, IFN-Gamma vs.) hücreler arası etkileşimi sağlarlar ve alerjik hastalıklarda inflamatuvar hücre göçü ve aktivasyonundan sorumludurlar. Kemokinler inflamatuvar hücrelerin göçünden sorumlu sitokinlerdir (MCP-1, RANTES, eotaksin vs.). Konjonktiva ve korneanın epitel hücreleri ve fibroblastları da sitokin, kemokin ve adezyon molekülleri üreterek alerjik inflamasyona bizzat katılmaktadırlar (39). RANTES ve eotaksin gibi kemokinlerin, alerjik yanıt geçiren hasta popülasyonlarında upregüle olmaktadır. Bu kemokinlerin her ikisi de eozinofiller için oldukça seçicidir ve alerjik inflamasyonda eozinofillerin artışına neden olmaktadır (38).

Konjonktival mast hücrelerinin birkaç sitokin (IL-4, IL-5, IL-6, tümör nekroz faktörü- α ve kök hücre faktörü) kaynağı olduğu gösterilmiştir (Şekil 8). Bu sitokinlerin sitoplazmik salgı granülleri içinde depolanıp mast hücre degranülasyonu ile hızla salındıklarını düşünülmektedir. Mast hücreleri tarafından salınan sitokinler ve büyüme faktörleri, hücre dışı matris metabolizmasını düzenleyebilir ve epitel hücre ve fibroblast aktivitesini uyarabilir (33). Mast hücre degranülasyonu, TNF-alfa gibi inflamatuvar araçların salınmasına neden olur ve adhezyon molekülü ICAM-1'in konjonktival epitel hücreleri üzerinde artan ekspresyonu ile sonuçlanır (Şekil 8). İnflamatuvar hücrelerin konjonktivaya infiltrasyonuna neden olur (33, 40). TNF-alfa'nın ayrıca histamin ile uyarılan konjonktival epitel hücreleri tarafından üretildiğinin gösterilmesi, bu sitokinin üretiminin alerjik reaksiyon sırasında yerleşik konjonktival hücreler tarafından upregüle edilebileceğini düşündürmektedir (33). Histamin konjonktival fibroblastları uyarmakta, prokollajen I ve III'ün üretimini, proinflamatuvar sitokinler IL-1, IL-6 ve IL-8'in üretimini ve ICAM-1'in ekspresyonunu arttırmakta ve hepsinin patogeneğinde önemli rol almaktadır (33, 41).



Şekil 8: IgE tarafından başlatılan oküler alerjik reaksiyonda yer alan mekanizmaların şematik gösterimi (33).

IL-4, T-hücre büyümesinin teşvik edilmesi, B hücrelerinden IgE üretiminin indüklenmesi, adezyon moleküllerinin upregülasyonu ve T-helper hücrelerinin Th2 ye farklılaşmasını düzenlenmesi yoluyla oküler alerjik yanıtın geç fazında devam eden inflamasyonda anahtar bir rol oynar. IL-4 ayrıca, tercihen eozinofilleri çeken kornea stromal keratositlerinden ve konjonktival fibroblastlardan eotaksin ekspresyonunu ve salgılanmasını destekler (40).

Kronik alerjik hastalıklarda matriks metalloproteinaz (MMP) seviyesinde de artış görülmektedir (39). Ekstrasellüler matriksin tüm bileşenlerini parçalayan matriks MMP'ler, alerjik inflamasyon sırasında eozinofil migrasyonu ile ilgili inflamasyonda yer alır ve AK'li hastaların gözyaşlarında yüksek konsantrasyonda bulunur (40).

Eozinofiller, geç faz alerjik cevapta öne çıkan hücrelerdir ve normal konjonktivada epitelde bulunmazlar (39). Kronik alerjik inflamasyonda önemli rol oynar ve konjonktival mukozada derin değişiklikler üretir. Eozinofiller, diğer inflamatuvar hücrelerle, mediatörlerle ve IgE ile etkileşim yoluyla aktive edilir. Aktive edilmiş

eozinofiller, majör bazik protein (MBP), eozinofil katyonik protein (ECP), eozinofilden türetilmiş nörotoksin (EDN) ve eozinofil peroksidaz (EPO) dahil olmak üzere çok bazik, yüksek oranda yüklü polipeptitler salgılar. Bu proteinler, bazal membran proteoglikanlarına ve hyaluranına bağlanarak hücrel ayrışmaya ve epitelyal deskuamasyona neden olabilir. ECP ve MBP epitelyotoksiktir ve şiddetli kronik alerjik durumlarda meydana gelen kornea hasarında rol oynar (33). Eozinofiller tarafından üretilen MMP-9'un kollajen tip 4 ve laminin gibi epitel bazal membran yapılarını parçalayıp kornea ülserlerine yol açmaktadır (39). ECP ve EPX gözyaşı seviyeleri, VKK ve AKK klinik belirti ve semptomları ile de ilişkilidir ve eozinofil aktivasyonunun lokal belirteçleri olarak kabul edilebilir. Eozinofiller ayrıca lökotrienler, prostaglandinler, sitokinler ve kemokinlerin (IL-3, IL-5, GM-CSF, eotaksin ve RANTES gibi) önemli bir kaynağıdır ve eozinofilin hayatta kalmasını ve kemoatraksiyonunu teşvik eder (33).

2.2.5 Tanı

AK tedavisi genellikle bir alerjinin belgelenmesine bağlı olduğundan, hastanın hangi alerjenlere alerjisi olduğunu araştırmak ve belirlemek önemlidir (15). AK tanısı esas olarak detaylı bir anamnez, ayrıntılı fizik muayene ile konur ve laboratuvar testleri ile tanı desteklenir. Ayrıntılı öykü alınması tanı konulmasında önemli bir basamaktır ve bazen tek başına tanı koydurabilir.

2.2.5.1 Öykü

Anamnez alınırken her yakınma ve semptom ayrıntılı sorgulanmalıdır. Hangi semptomların olduğu (kaşıntı, kızarıklık, akıntı, bulanıklık, yanma, batma, ışığa karşı hassasiyet, görme bulanıklığı vs.), semptomların hangi sıklıkta olduğu (devamlı veya aralıklı), tek taraflı mı yoksa bilateral mi olduğu, yılın hangi döneminde belirgin olduğu (mevsimsel, yıl boyu veya bunların kombinasyonu), şiddeti, süresi, semptomları tetikleyen etkenler (alerjenler, iritanlar, besinler, egzersiz, ilaçlar ve hava değişimleri), tetikleyiciye maruziyetten sonra geçen süre (ani veya geç başlangıçlı), coğrafi, çevresel faktörlerle (ev, kreş, okul) ilişkisi, herhangi bir travmaya maruziyet, tedavide kullanılmış veya kullanılmakta olan ilaçlar, tedavi süresi, etkinliği ve varsa tedavinin yan etkileri ve alerjik semptomların yaşam kalitesi üzerine etkileri ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Diğer oküler tetikleyicilere

maruz kalma, örneğin sigara dumanı, mesleki maruziyet, varsa kullanılan kişisel koruyucu ekipman veya uzun süreli kontakt lens kullanımı araştırılmalıdır (42).

AK şikâyetleri mevsimsel olarak artıyorsa muhtemel etkenler polenler veya küf sporları, şikâyetler yıl boyu tekrarlıyorsa ev tozu akarları, evcil hayvan tüyleri veya küfler sorumlu olabilir. Ailede atopi varlığı alerjik hastalık gelişme riskini arttırdığından dolayı detaylı aile öyküsü alınmalıdır. Ev içinde evcil hayvan ya da içi doldurulmuş pelüş oyuncakların olması, yatak, çarşaf ve nevresim takımlarından kaynaklanan akar ve mantarlarla karşılaşma, viral enfeksiyonlar ve ebeveynlerin sigara içmesi alerjik yakınmaları tetiklediğinden ayrıntılı çevresel öykü almakta önemlidir. Ev içi ısıtması (klima, soba vs.), evin nem oranı, rutubetli olup olmadığı sorulmalıdır (42).

2.2.5.2 Fizik muayene

Semptomatik hastaların değerlendirilmesi, kapsamlı görsel muayeneyi içermelidir. Kaşıntı ve kızarıklık ile başvuran hastalarda tüm fasiyal yapılar incelenmeli ve dikkatli bir oftalmolojik muayene yapılmalıdır. Orta ve şiddetli hastalıkta kornea ve limbusun yüksek büyütme değerlendirilmesi de dahil olmak üzere perioküler ve oküler dokuların yarıq lamba biyomikroskopisi önerilir. Biyomikroskopi, kapakların ve kirpiklerin, kapak kenarlarının ve meibomian bezlerinin, gözyaşı filminin (akıntı dahil), bulbar ve palpebral konjonktivanın ve korneanın değerlendirilmesini içerir. Özellikle kapaklar ve bulbar konjonktival yapıları içeren eksternal oküler adneksler, blefarit, kuru göz, meibomian gland disfonksiyonu, kontakt lensle ilgili problemler, medikamentoza, enfektif konjonktivitler, bağ dokusu hastalıkları açısından detaylı değerlendirilmelidir. Hastalığın ciddiyetine bakılmaksızın tüm hastalar ayrıntılı bir incelemeden fayda görebilir (39, 42).

Alerjik gözler nemli, ılımlı pembe kırmızı, mikrokemotik parlak görünümündedir. Yerçekimi nedeniyle alt kapakta daha belirgin periorbital ödem, alt kapakta çizgi şeklinde ikinci bir kıvrımlanma (Danniel's line), göz altlarında venöz konjesyondan kaynaklanan donuk mavimsi renk değişikliği (alerjik shiner) görülür. Konjonktivada hafif kemozis ve ödem, özellikle plika semilunaris belirginleşmiş ve nazal bulbar konjonktiva hafifçe gevşekleşmiştir. Palpebral konjonktiva soluk pembe ve papiller reaksiyon vardır. Bilateral konjonktival enjeksiyon en belirgin genel

bulgudur. Şiddetli olduğunda, konjonktiva jelatinimsi görünür ve korneanın girintili görüldüğü noktaya kadar kalınlaşabilir. Korneada oküler komplikasyonlara neden olabilir. Aksi takdirde kornea tutulumu nadirdir (39, 42).

Fizik muayenenin geri kalanı rinore veya konjesyon için nazal pasajların değerlendirilmesini, orofarenks muayenesini, servikal lenfadenopatinin palpasyonunu, eşlik eden atopik dermatit için cilt muayenesini ve astım belirtileri için akciğer değerlendirmesini içermelidir (42).

Detaylı öykü ve fizik muayene ile genellikle AK tanısı konulabilir. Fakat tanıyı kesinleştirmek veya ayırıcı tanı yapabilmek için laboratuvar testlerine de gereksinim olabiliyor. Bu testler aynı zamanda spesifik alerjene karşı tedavide de yol gösterici olabilir.

2.2.5.3 Laboratuvar

AK de laboratuvar testleri tanıyı desteklemek için kullanılır tek başına kesin tanı koydurmaz. Tanıda kullanılan testler in vitro ve in vivo testler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

a. İn Vitro Testler

İn vivo testlere göre daha sık kullanılmaktadırlar. Hastanın venöz kan veya serum örneğinin kullanıldığı testlerdir. Bunlardan hemogramda eozinofil sayımı, total serum IgE, serum spesifik IgE testleri en sık kullanılanlardır.

Periferik kan sayımı: Eozinofiller, alerjik hastalıkların gelişiminde önemli rol oynarlar. Periferik kanda 500 eozinofil/ μ L bulunması ile tanımlanan eozinofili, alerjik hastalıkların en sık görülen hematolojik anomalisidir. Alerjik hastalıklar dışında paraziter enfeksiyonlar, kolajen doku hastalıkları, tüberküloz, hematopoitik sistem maligniteleri, sarkoidoz, ilaç kullanımları gibi durumlarda da kanda artış gösterebilirler. Bu nedenle atopi tanısını desteklerler fakat kesin tanı belirteci değildirler (43, 44).

Total serum IgE düzeyi: Serum IgE seviyeleri yaşamın ilk yıllarında giderek artar, genç yaşlarda en yüksek değere yükselir ve daha sonra devamlı olarak azalır. Kandaki değerinin yüksek olması atopi tanısını destekler. Genetik etkiler, ırk, cinsiyet, bazı hastalıklar, sigara dumanı ve alerjene maruziyet gibi faktörler serum

IgE düzeylerini etkiler. Her ne kadar ortalama total serum IgE düzeyleri alerjik hasta popülasyonlarında, alerjik hastalığı olmayan karşılaştırılabilen popülasyonlardan daha yüksek olmasına rağmen, seviyelerdeki örtüşme, total IgE seviyesinin tanısal değerinin zayıf olacağı şekildedir. Total IgE ve eozinofil sayısında artışın klinik bulgularla kombine edildiğinde tanıda faydalı olmasına rağmen, AK dışında da yüksek olabilmesi bu belirteçlerin tanısal değerini sınırlandırmaktadır (44).

Antijen spesifik IgE: Belirli bir alerjene özgü IgE varlığı serumdaki alerjene özgü IgE (sIgE) seviyelerinin ölçümü ile in vitro olarak belgelenebilir (44). Spesifik IgE, alerjen ile temas öyküsü olan bireyde duyarlılık gelişip gelişmediğini gösteren, alerjeni saptayabilme olanağı sağlayan serolojik bir testtir. Deri testleri ile sIgE testleri aynı şeyi ölçmektedir. sIgE testleri daha pahalı ve uzun dönemde sonuçlanan testlerdir. sIgE ölçümünün avantajları önceden şüpheli alerjen ile anafilaksi öyküsü, şiddetli dermografizm, aktif cilt patolojileri, ilaç kesilmesinin hastalığın tedavisini aksatabileceği durumlar, küçük çocuklar, mental veya fiziksel bozukluklara bağlı hasta uyumsuzluğu gibi deri prick testi için kontrendikasyon oluşturan durumlarda yapılabilmesidir (45).

Multialerjen IgE antikor tarama testi: sIgE antikorları her bir alerjen için ayrı değerlendirilebileceği gibi aynı kan örneğinde multialerjen taraması da yapılabilmektedir (46). Günümüzde, testin içerdiği alerjen sayıları birbirinden küçük farklılıklar gösteren birkaç farklı çoklu alerjen tarama testi kullanılmaktadır. Ayrıca gıda alerjenlerine ve aeroalerjenlere karşı oluşan IgE antikorlarını saptayan ve daha küçük çocuklara yönelik geliştirilen multialerjen tarama testleri de bulunmaktadır (47). Çoklu tarama testlerinde sonuçlar pozitif/negatif olarak verilmektedir. Pahalı olması, her zaman spesifik alerjenlerin belirlenememesi, ülkeler ve yaş grupları arasında alerjenlerin ve alerjen duyarlılıklarının farklı olması nedeniyle her yaş grubu ve ülkeye özgü çoklu tarama testi gereksinimi ve alerjen özgüllüğünün üretici firmalara göre belirsiz ve farklı olması testlerin dezavantajıdır (47, 48).

Periferik kan aktivasyon belirteçleri: Alerjik hastalarda kandaki bazofiller spesifik alerjenlerle uyarıldığı zaman degranüle olarak histamin ve sisteinil lökotrienler gibi mediyatörler salgılayabilirler. Ancak bu mediyatörlerin ölçümü pratik olmamaları ve sensitivitelevlerinin zayıf olması nedeniyle rutin olarak kullanılmamaktadır.

b. İn Vivo Testler: Deri prick testi, intradermal testler ve provokasyon testlerinden oluşur.

Alerji deri testleri: Deri testleri kolay ve çabuk uygulanması, hassas olması, kısa sürede yanıt alınması ve ucuz olması nedeniyle alerjik hastalıkların tanısında en sık kullanılan tanı testidir (49). AK'li hastalarda alerjene spesifik IgE'nin saptanmasında deri testleri önemli rol oynamaktadır. Rutin olarak kullanılan yöntemler; deri prick, intradermal ve yama testleridir.

Deri prick testi: Atopik, IgE aracılı durumların teşhisine yardımcı olmak için 100 yılı aşkın bir süredir kullanılmaktadır ve diğer tanı yöntemleriyle karşılaştırıldığında altın standart olarak kabul edilmektedir (50). Deri testleri içinde en sık kullanılanıdır. Deriye uygulanan provokasyon testleridir. Deriye uygulanan antijenin, derideki yüzeylerinde yüksek afiniteli reseptörlere bağlı sIgE antikorları olan mast hücrelerine bağlanarak lokal mast hücresi aktivasyonunun tetiklenmesi, tip 1 immün reaksiyon oluşturması ve mast hücrelerinden salınan histamine bağlı kaşıntı, kızarıklık ve kabarıklık gelişimi ile ortaya çıkan reaksiyonlardır (44, 51).

Deri prick testi, tek seferde birden çok alerjenin değerlendirilmesine imkân tanır. Her bireyin deri duyarlılığı farklıdır bu farkı ortadan kaldırmak amacıyla testte pozitif (histamin) ve negatif (serum fizyolojik) kontrol olması gerekmektedir (52, 53). Deri üzerine alerjen solüsyon damlatılır ve tek başlı metal lanset ile alerjen maddenin epidermisin stratum korneumun tabakasına nüfuz etmesi sağlanır. Epidermisin söz konusu alerjene maruz kalması sonucunda kişide o alerjene karşı duyarlılık mevcutsa 15-20 dakika içerisinde cilt yüzeyinde kızarıklık ve endurasyon oluşur ve Tip I hipersensitivite reaksiyonu meydana gelir (49, 51, 53). Endurasyon çapının > 3 mm olması pozitif reaksiyon olarak kabul edilir. İnhalen alerjenler için deri testi duyarlılığı %80-97, özgüllüğü %70-95'tir (51, 52). Küçük yaşlardaki çocuklar için sırt bölgesi daha uygundur; çünkü bu yaş grubu hastalar kollarını test boyunca hareketsiz tutamayarak alerjen ekstre damlalarının karışmasına neden olabilirler. Sırt, özellikle bebeklerde SPT için de kullanılabilir. Sırttaki cilt, ön koldan daha hassastır, bu da daha büyük kabarcıklara ve dolayısıyla muhtemelen daha fazla sayıda pozitif test sonucuna neden olabilir. İki deri prik testi arasındaki mesafe ≥ 2 cm olması, yakındaki bir testin doğrudan kontaminasyonundan veya bir akson refleksine sekonder olarak yanlış pozitif reaksiyonları önlemek için kritik öneme sahiptir. Her

test solüsyonundan bir damla test edilen her denek için deriye aynı sırayla konulmalı ve hemen delinmelidir, epitel tabakasını penetre ederken kanama oluşturmaktan kaçınılmalıdır (49, 51).

Deri prick testi intradermal teste göre daha hızlı sonuç verir ve anafilaksi riski daha azdır (51, 52). Prick testi güvenilir bir metot olmasına karşın, nadiren sistemik yan etkiler bildirilmiştir (53). Anafilaksi gelişme riskinin %0.02'nin altında olduğu bildirilmiştir. Özellikle taze gıdalar, antibiyotikler ve arı venomuna karşı yapılan testlerde bu risk daha fazladır. Ayrıca deri prick testleri, deneyimli kişilerce yapılmalı ve anafilaksi riskine karşı her türlü acil tedavi önlemleri alınmış olunmalıdır (49).

Deri testlerinin başarısını etkileyen bazı faktörler mevcuttur. Testlerin sonuçları; kullanılan alerjen ekstraktlarının kalitesine, test yapılan vücut alanına, ağır atopik dermatit, dermografizm, ürtiker varlığına, hastanın yaşına, ek sistemik hastalık varlığına ve hastanın almış olduğu ilaçlara bağlı olarak değişebilir. Özellikle bazı ilaçlar, deri testinde endurasyon ve hiperemi çaplarını etkileyerek testlerin yorumlanmasını güçleştirebilir. Antihistaminiklerin yanında trisiklik antidepressanların da deri testini baskılayıcı etkilerinin güçlü olduğu ve bu etkinin haftalarca sürdüğü bilinmektedir (49, 53). Hastanın yaşı prick test sonuçlarını etkileyebilir. Yaş da cilt reaktivitesinde rol oynayabilir. Bebeklerde histamine karşı cilt reaktivitesinin, yaşlılara kıyasla azaldığı gösterilmiştir, ayrıca cilt reaktivitesinde azalma olabilir. Yaşla yanıt vermede farklılıklar olmasına rağmen deri prick testi her yaşta hastaya yapılabilir (53). Bebekler, histamin ve alerjenlere karşı daha küçük pozitif reaksiyonlara sahiptir; ancak küçük çocuklarda da net sonuçlar elde edilebilir. Cilt reaktivitesi çocukluk yaşı arttıkça giderek artar, ergenlik çağının ortalarında plato çizer. Genellikle 50 ila 60 yaşından sonra reaktivitede kademeli bir düşüş görülür. Test sırasında uygulanacak alerjen sayısı; hastanın öyküsüne, yaşına, yaşanan coğrafik bölge ve hastalığın öyküsüne göre değişmelidir. Örneğin; süt çocuğuna yapılacak deri testi paneli polenlerden çok besinler ve ev tozu akarı, ev içi küf mantarı gibi ev içi alerjenlerden oluşmalıdır (49, 51). Bunun yanında deri prick testin yapılmasının uygun olmadığı durumlarda in vitro ölçümlerin kullanılabileceği unutulmamalıdır (53).

Tablo 3: Deri testinde sık kullanılan alerjenler (51).

Alerjenler	
Ev Tozu Akarları	Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae
Mantarlar	Alternaria alternata, Cladosporium herbarum, Aspergillus fumigatus
Polenler	Çayır, ağaç, yabani ot, hububat
Hayvan Epitelleri	Kedi, köpek, hamam böceği

Intradermal Test: Deri prick testi negatif fakat hikâye alerji düşündürüyorsa, intradermal teknik kullanılarak seçici deri testi uygulanabilir (44). Deri prick testi ile aynı ilkelere sahiptir. Epidermal testlere göre yanlış pozitiflik oranı yüksektir. Bu nedenle tüm alerjenlerle kullanımı uygun değildir. Arı venomu, ilaç (penisilinler, heparin, insülin, kas gevşeticiler) alerjileri, aşılar ve aeroalerjenler için tanısal değeri epidermal testlere göre daha yüksektir (45, 54).

0,01-0,05 ml alerjen solüsyonu, bir tüberkülin enjektörü yardımı ile dermis içine enjekte edilir. İğnenin eğimli uç kısmı cilde bakacak şekilde 45° açıyla cilde girilmelidir. Başlangıç dozu, deri prick testine göre 100-1000 kat daha düşük tutulur. Deri prick testindeki gibi 15-20 dk sonra değerlendirme yapılır. Test konulan bölgelerin çok yakın olması, alerjenin yüksek konsantrasyonda uygulanması, enjekte edilen hacmin fazla olması (>0.1 ml), enjektör içinde hava olması ve intrakütanöz hemoraji oluşması yanlış pozitif değerlendirmelere yol açabilmektedir. Ayrıca çok sayıda testin aynı anda konularak intradermal test yapılması, sistemik reaksiyon gelişmesine neden olabilmektedir. Anafilaksi riski daha yüksek olması nedeniyle hastalar en az 20 dakika hekim gözetiminde bulundurulmalıdır (45, 49, 54).

Prick to Prick Test: Taze besinler kullanılarak yapılan bir diğer cilt testi çeşididir. Test materyali olmayan sebze ve meyvelerden alerji testi yapma imkânı sunar. Değerlendirme prick testindeki gibi yapılmaktadır (55).

Tablo 4: Deri testi (in vivo) ile spesifik IgE (in vitro) ölçüm yöntemlerinin karşılaştırılması (44).

	Deri testi	Serum antijen spesifik IgE
Alerjik reaksiyon riski	Var	Yok
Duyarlılık (relatif)	Yüksek	Düşük
Antihistaminlerden etkilenme	Var	Yok
Kortikosteroidlerden etkilenme	Genellikle yok	Yok
Yaygın dermatit ve dermografizmden etkilenme	Var	Yok
Uygulama kolaylığı, düşük hasta anksiyetesi	Yok	Var
Geniş antijen seçme imkânı	Var	Yok
Hızlı sonuç verme	Var	Yok
Pahalı	Hayır	Evet
Semikantitatif	Hayır	Evet
Antijen labilitesi	Evet	Hayır
Hasta tarafından görülebilir	Evet	Hayır
Uzmanlık gerektirir	Evet	Hayır
Kalite kontrolü yapılabilir	Hayır	Evet

Provokasyon Testi: Bir alerjenin, duyarlı olduğu varsayılan bir hastada topikal olarak uygulanmasından sonra dış oküler yüzey üzerindeki inflamatuvar etkileri değerlendirmek için kullanılan bir konjonktival provokasyon testidir (KPT) (56). KPT, negatif deri prick testi veya negatif spesifik IgE 'si olan, ancak kliniğinde oküler alerji öyküsü olan hastalarda spesifik konjonktival yanıtı değerlendirmek için ve ayrıca anti-alerjik tedavilerin ve spesifik immünoterapinin etkisini değerlendirmek için uygulanabilir. KPT, hangi alerjenin/alerjenlerin oküler semptomları tetiklediğini belirleyebilir veya doğrulayabilir (28). Hasta asemptomatik olmalı ve gözü iltihaplı olmamalıdır. Herhangi bir oküler inflamasyonu ekarte etmek için bir oftalmik muayene ve pozitiflik kriterlerine dayalı kontrollü bir protokol gerekir (57). Standardize edilmiş alerjenlerle uygulanır ve sistemik yan etkiler (genel kaşıntı, bronkospazm, anafilaksi) nadirdir (28). Araştırma ortamlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, oküler veya diğer IgE aracılı alerjik hastalıkları değerlendirmek için güvenli, basit ve hızlı bir araç olmasına rağmen, günlük klinik uygulamada açıkça yetersiz kullanılmaktadır (56).

2.2.6 Ayırıcı tanı

Hastanın tıbbi öyküsü, hastanın kliniği ve predispozan faktörlerinin sorgulanması tanı için ilk basamağı oluşturmaktadır. Semptom ve bulguların (kaşıntı, kızarıklık, kemozis) varlığı, süresi, sulanma, tek taraflı mı çift taraflı mı olduğu, kontakt lens kullanımı, atopi öyküsü, ilaç kullanımı, ek hastalıklar ve sosyal faktörler (sigara kullanımı, iş çevresi, vs.) sorgulanmalıdır (Tablo 5). Oftalmik muayene özellikle konjonktivaya odaklanmalıdır (58).

Gözyaşı filmi disfonksiyonu (kuru göz), gözyaşı üretiminin azalması veya gözyaşı buharlaşmasının artmasının bir sonucudur. Yetişkinlerde sık olmakla birlikte her yaşta görülür ve sistemik otoimmün bozukluklarla ilişkili olabilir. AK'e benzer şikayetlerle prezante olabilir. Alerji ile ortaya çıkabilir (28).

Blefarit ve diğer bulaşıcı konjonktivit türleri genellikle mevsimsel değildir. Semptom ve bulgular genellikle uyandıktan sonra daha kötüdür. Ek olarak, alerjide belirgin bir özellik olan kaşıntı, enfeksiyöz konjonktivitte genellikle yoktur. Göz kapaklarının yanması, batması ve keçeleşmesi blefaritin ortak özellikleridir (59). Blefaritte şikayetlerin uykudan uyanınca daha fazla olması ve kapak kenarlarının dikkatli muayenesi tanıyı kolaylaştırır. Alerjik konjonktivit, kuru göz ve blefarit aynı hastada birlikte görülebileceği de dikkate alınmalıdır (39).

Bakteriyel konjonktivitte akıntı genellikle cerahlidir (yeşilimsi, mukoid) ve sabahları göz kapaklarının çevresinde kabuklanma görülür. Viral konjonktivit sıklıkla yeni bir üst solunum yolu enfeksiyonu ile görülür. Konjonktival hiperemi, kemoz, seröz akıntı ve korneal subepitelyal opasiteler viral bir enfeksiyonu gösterir. Klamidyal konjonktivit, foliküler kalıcı veya kronik konjonktivit ile karakterizedir (28). Alerjik konjonktivitli hastaların çoğunda gözyaşı IgE seviyeleri yükselir, ancak blefaritli hastalarda normaldir. Kültürler enfeksiyöz konjonktivit tanısında yardımcıdır. Temas alerjisi genellikle alt göz kapaklarının derisini etkiler (59, 60).

MAK ve PAK'ı çevresel alerjenler tetikler. Esas semptom ve bulguları kaşıntı ve kızarıklıktır. Diğer semptomlar gözlerde yanma, sulanma, kemozistir. Üst tarsal konjonktivada kaldırım taşı görünümü veya papiller hipertrofi varlığı alerjik konjonktivitin kronik ve daha ağır bir formunu düşündürür. MAK belirti ve semptomları daha hafiftir ve kornea lezyonları genellikle oluşmaz. AKK konjonktival skar ve göz kapağı tutulumu ile seyredebilir, atopik dermatit eşlik

edebilir. VKK'da korneal skar görülmez. DPK'nın klinik bulgularının yanında histopatolojik özellikleri, hafif VKK'yı andırır (59, 61). Klinik muayene VKK, AKK ve DPK gibi kronik formların ayırıcı tanısında yeterli olabilir (Tablo 5). Hafif ve tekrarlayan oküler alerji formlarında ayırıcı tanı yapmak bazen daha zor olabilir (39).

Tablo 5: Alerjik konjonktivitte ayırıcı tanı (58).

	MAK VE PAK	VKK	AKK	DPK
Predispozan faktörler	Çevresel alerjenler	Sıcak kuru hava ve çevresel alerjenler	Genetik yatkınlık ve çevresel alerjenler	Kontakt lens kullanımı, sütür veya proteze bağlı irritasyon
Bulgular				
Kemozis	+	±	±	±
Kaldırım taşı görünümü	-	++	++	++
Sulanma	Temiz mukoid	Lifli mukoid	Lifli mukoid	Temiz beyaz
Kapak tutulumu	-	+	+	-
Predominant hücre tipi	Eozinofil, mast hücre	Lenfosit, eozinofil	Lenfosit, eozinofil	Lenfosit, eozinofil
Semptomlar				
Yabancı cisim hissi	±	±	±	+
Kaşıntı	+	++	++	++
Mevsimsel değişkenlik	+	+	±	±

2.2.7 Alerjik konjonktivitin yönetimi ve tedavisi

AK tedavi yaklaşımında hasta ve ailesinin eğitimi, alerjiden kaçınma, farmakolojik tedavi ve immünoterapi yer alır (28). Tedavide temel amaç semptom ve bulguları kontrol altına almak, hastanın yaşam kalitesini arttırmak ve oküler yüzey hasarını önlemektir (39).

2.2.7.1 Alerjenden kaçınma

Farmakolojik olmayan tedaviler, alerjenlerin gözle temasını en aza indirmeyi amaçlar. Herhangi bir yaklaşımın ilk parçası olarak düşünölmelidir ve ilk girişim olarak topikal tedavilere eşlik etmelidir. Tam alerjenden kaçınma en iyi yaklaşımdır; fakat bu hem iç hem de dış mekân alerjenleri için çoğu zaman imkansızdır (15, 62).

Polen salınımının yoğun olduğu ya da kişinin semptomlarının şiddetli seyrettiği mevsimlerde dış ortamlarda az vakit geçirmek, evleri polen düzeylerinin daha düşük olduğu akşam saatlerinde havalandırmak ve her akşam duş almak alerjenden korunmak için alınacak önlemler arasındadır (63). Nemin düşük olduğu ortamlarda ev tozu akarları kuruyup öldükleri, küf mantarları da azaldıkları için iç ortam nem seviyesi %50 nin altında tutulmalıdır. Duvardan duvara kaplı halılar kaldırılmalı ve içi doldurulmuş pelüş oyuncaklar ortamdan uzaklaştırılmalıdır (64). Hayvan tüyü alerjisi olanlar hayvanlardan uzak durmalıdır. Hava kirliliği, sigara dumanına maruz kalma AK semptomlarını tetikleyebileceğinden bu iritanlardan da uzak durulmalıdır.

Hastalar ve ebeveynleri göz ovuşturmasını mümkün olduğunca ortadan kaldırmaya ya da en aza indirmeye çalışmalıdır, çünkü bu hareket göz tahrişini şiddetlendirir ve ayrıca göze alerjeni kendi kendine aşılabilir. Mast hücre degranülasyonu artırarak kaşıntıyı daha da artırır. Birçok klinisyen, alerjenlerin hastanın gözlerini tahriş etmesini önlemek için yatmadan önce saçların yıkanmasını önermektedir (62).

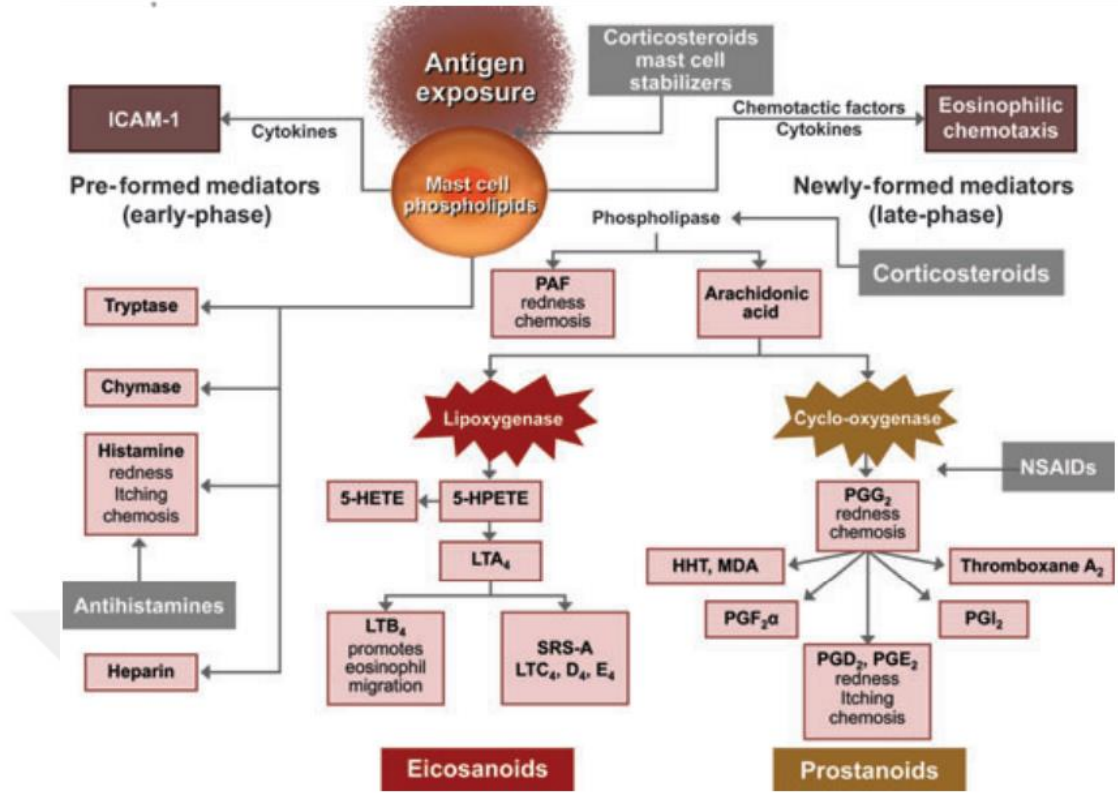
Soğuk kompresler, tuzlu su ve soğuk suni gözyaşı veya merhemler, özellikle akut alerjik konjonktivitte semptomları hafiflettiği ve alerjeni seyrelttiği için faydalıdır (15, 28, 56). Ancak bu ajanlar altta yatan alerjik yanıtı tedavi edemediği ve inflamatuvar mediatörlerin aktivitesini değiştiremedikleri için hafif AK vakalarında kullanılmaktadır (62).

2.2.7.2 Farmakolojik tedavi

- a) **Topikal antihistaminikler:** Etkisi oral antihistaminiklerden daha hızlı başlar ve daha iyi tolere edilirler. Primer olarak alerjik konjonktivitinin erken faz cevabına etkilidir. Etkileri kısa sürelidir, kalıcı değildir. Diğer proinflamatuvar araçları (lökotrienler, prostaglandinler) etkilemez. Özellikle histaminin neden olduğu kaşıntı kızarıklık, kemozis bulgularını hızlı iyileştirir (Şekil 9). Sistemik yan etkileri belirgin

değildir ve kuru göze daha az neden olurlar. Topikal dekonjestan ve mast hücre stabilizatörleri ile kombine ilaç olarak kullanılabilir. En sık kullanılanlar levokabastin, feniramin maleat ve azelastindir (15, 33, 39, 62).

- b) Sistemik antihistaminikler:** Histaminin reseptörlere bağlanmasını kompetitif olarak bloke ederler. Loratadin, desloratadin, setirizin ve klorfeniramin gibi oral antihistaminikler, alerjik rinokonjonktivit vakalarında çok etkilidir. Topikal antihistaminiklere kıyasla sedasyon gibi sistemik yan etkilerin sıklığı daha yüksektir. Sedasyon, ağız kuruluğu ve taşikardi gibi yan etkilere neden olurlar. Gözyaşı üretiminde azalmaya neden olabilirler ve bu nedenle kuru göz semptomatolojisini indükleyerek konjonktivit semptomlarını şiddetlendirebilirler (2, 15, 39).
- c) Mast hücre stabilizatörleri:** Bu grup ilaçlar mast hücre membranının akışkanlığını bozarak hücre degranülasyonunu inhibe ederler ve histamin ve diğer kemotaktik faktörlerin salınmasını bloke ederler (Şekil 9). Bu nedenle bu ilaçlar indirekt olarak hem kemotaksisi hem de nötrofil ve eozinofillerin sitotoksitesini bloke ederler. Antihistaminik, anti-inflamatuar ve vazokonstriktör etkileri yoktur. Mevcut semptomu hafifletmezler. Yavaş etkilidirler, 2 haftalık yükleme periyodu ile profilaktik kullanılabilir. Kromolin sodyum, nedokromil sodyum, lodoksamid bu grubun başlıca ilaçlarıdır (2, 15, 33, 39).
- d) Topikal antihistaminik-mast hücre stabilizatörleri (kombine ilaçlar):** Çift etkili ilaçlar, tek başına topikal antihistaminiklerden ve mast hücre stabilizatörlerinden daha çok tercih edilmektedir. Hızlı başlangıçlı ve geç faz cevabına etkindirler. Akut tedavi için H1 reseptörlerini bloke eder (antihistaminik etki) ve profilaksi için mast hücre degranülasyonunu engeller (mast hücre stabilizatör etkisi). Semptomların hafifletilmesi hem de tolere edilebilirlik açısından klinik olarak üstündür ve en sık reçete edilen tedavilerdir. Tekli antihistaminiklerden daha iyi tolere edilirler. Sedasyon ve kuruluk gibi yan etkileri azdır. Olapatadin, alcaftadin ve ketotifen bu grubun üyeleridir (15, 33, 39, 40).



Şekil 9: Farmakolojik tedavilerin etki ettiği mekanizmalar (40).

- e) **Topikal dekonjestanlar:** Bu grup ilaçlar alfa-adenoreseptör stimülasyonu yoluyla konjunktival vazokonstriksiyon ile etki gösterirler. Etkileri hızlı başlar ve kısa sürer. Kızarıklığı azaltmada etkilidir ama kaşıntıyı azaltmazlar. Tetrahidrozolin, nafazolin, efedrin bu grubun bilinen üyeleridir. Yan etkiler arasında, damlatma sırasında yanma ve batma, midriyazis ve kronik kullanımda rebound hiperemi veya konjunktivit medicamentosa yer alır. Bu nedenle, bu tedaviler yalnızca kısa süreli semptomların giderilmesi için uygundur. Kardiyovasküler hastalık, hipertansiyon ve diyabette dikkatli kullanılmalıdır (2, 33, 39, 62).
- f) **Topikal kortikosteroidler:** Fosfolipaz A₂'i inhibe ederek araşidonik asit ürünlerinin (lökotrien, prostaglandin, PAF) oluşumunu engeller (Şekil 9). Alerjik yanıtın erken ve geç fazına etkilidir. İmmünosupresif ve antiproliferatif özelliklere sahiptirler. Alerjik konjunktivitte en etkili anti-inflamatuar ajanlardır. Sık ve ciddi oküler yan etkileri nedeniyle sadece şiddetli veya çok akut konjunktivit formlarında ve kısa süreli olarak kullanılmalı ve bir doktor tarafından takip edilmeli. Göz içi basıncını artırıcı etkileri vardır. Katarakt oluşumuna neden olabilir. Klinikte; düşük

etkili steroidler olarak bilinen florometolon, rimeksolon ve loteprednol tercih edilmelidir. Klinik yanıt alınınca doz, hızlıca azaltılarak kesilmelidir (2, 15, 33, 39).

g) Topikal non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ): Siklooksijenaz inhibisyonu yaparak prostaglandin sentezini azaltarak etki gösterirler. Damlanın oluşturduğu yanma ve kaşıntı hissi nedeniyle çok tercih edilmemektedirler. Topikal NSAİİ'ler genellikle kısa süreli olarak, topikal bir antihistaminik veya çift etkili ajana ek olarak kullanılır (15, 33, 39).

h) Kalsinörin inhibitörü: Siklosporin-A, takrolimus ve pimekrolimus gibi immünsüpressif ilaçlardır. Kronik ve ağır oküler alerji tablolarında (DPK, VKK ve AKK) uzun süreli kortikosteroid kullanımının yaratacağı komplikasyonları azaltmak veya engellemek için tercih edilen anti-inflamatuar ajanlardır (15, 39).

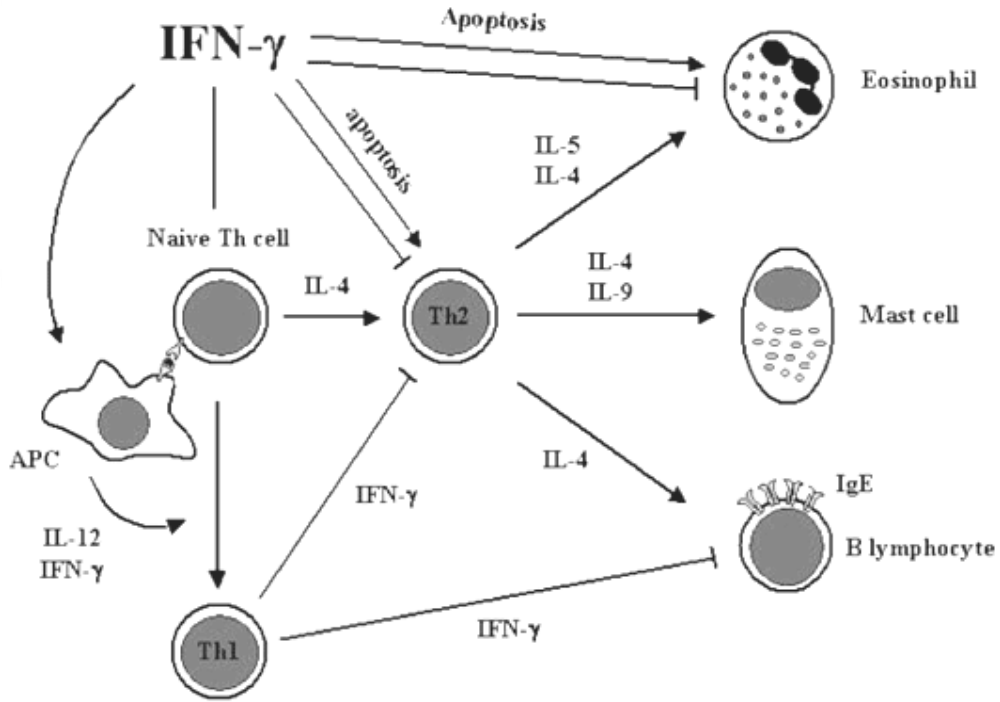
2.2.7.3 İmmünoterapi

Semptomları ilaç tedavisi ile yeterince kontrol altına alınamayan veya ilacı tolere edemeyen pediyatrik hastalar için alerjene özgü immünoterapi bir seçenek olabilir (62). EAACI kılavuzlarına göre, alerjiden kaçınma ve farmakoterapiye rağmen yaşam kalitelerini etkileyen ciddi rinokonjonktivit formları olan, havadaki ajanlara karşı belgelenmiş IgE aracılı aşırı duyarlılığı olan hastalarda endikedir. Çocuklarda da uygulanabilir, ancak katı bir duyarsızlaştırma rejimi gerektirdiğinden 6 yaşın altındaki çocukları tedavi etmek zor olabilir (15, 65). İmmünoterapinin amacı, bilinen alerjenler tarafından tetiklenen rinit ve konjonktivit semptomlarını ve belirtilerini azaltmak ve tekrarını önlemektir. Hiposensitizasyon elde etmek için alerjenin hastaya kademeli olarak artan miktarlarının farklı yollarla uygulanması yöntemidir. Değişiklikler, Th2 yanıtının down-regülasyonunu ve Treg hücrelerinin up-regülasyonunu içerir (15, 39). Antijenin uygulanmasının standart yöntemi deri altı enjeksiyon (SCIT) olmuştur, ancak son zamanlarda dil altı (SLIT) veya epikutanöz uygulama gibi daha az invaziv yöntemler geliştirilmiştir ve iyi sonuçlar vermiştir (15, 66). Potansiyel anafilaksi riski nedeniyle, SCIT enjeksiyonları, alerji konusunda uygun uzmanlığa veya eğitime sahip ve ayrıca acil ilaçları bulunan bir doktor tarafından uygulanır (62). SLIT daha emniyetli ve uygulama yolu kolaydır. SCIT ve SLIT, MAK ve PAK'tan etkilenen hastaların tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (28).

2.3 Alerjik Konjonktivitte Sitokinlerin Rolü

2.3.1 İnterferon-Gamma

Alerjenlere karşı bağışıklık tepkisinin kritik bir yönüne CD4+ T hücrelerinin yardımcı işlevi aracılık eder. T hücre reseptörlerinin uygun peptid-MHC kompleksi tarafından bağlanmasından sonra, saf CD4+ T hücreleri, işlevsel olarak farklı iki hücre grubu gelişir. Th1 hücreleri, IFN-Gamma ve TNF-beta salgılar ve hücre içi patojenleri ortadan kaldırmada etkilidir. Th2 hücreleri, helmintik parazitlere karşı humoral bağışıklığı etkileyen ve kalıcı alerjenlere karşı bağışıklık tepkilerinden sorumlu olan IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 üretir. CD4+ Th hücrelerinin farklılaşma yolunu, özellikle bu hücrelerin antijenlerle karşılaştığı mikroçevrede hüküm süren sitokinler olmak üzere çeşitli faktörler etkileyebilir (8, 67).



Şekil 10: IFN-Gamma'nın immün ve alerjik mekanizmalara etkileri (8).

IFN-Gamma'nın birçok bağışıklık tepkisini indükleyen ve düzenleyen bir pleiotropik sitokindir. Başlıca Th1 efektör sitokinidir ve Th1 farklılaşmasında çok önemli bir role sahiptir. Dendritik hücreler ve makrofajlar gibi ASH'ler IL-12 üretimini indükler. Bu ASH'ler, saf CD4+ T hücrelerinin antijen ile ilk temasını sağlar ve bu IL-12 üretimine ve Th1 fenotipine doğru farklılaşma yolunda büyük önem taşır. IFN-

Gamma, T-bet aktivasyonu ile IL-12'nin aracılık ettiği Th1 tepkimelerinin üzerinde önemli bir katkıda bulunur. Ayrıca otokrin mekanizmayla CD4+ T lenfositlerine etki ederek Th1 polarizasyonunu indükleyebilmektedir (8, 68, 69).

Th2 hücrelerinin sitokin üreten profilini değiştirmenin (Th1 yanıtlarını indükleyerek), alerji gibi Th2 ile ilişkili bozukluklara karşı koruyucu olduğu göstermiştir. Th1 lenfositlerin ve IFN-Gamma, IL-12 gibi sitokinlerin alerjik hastalıkların Th2 yanıtlarını baskıladığı gösterilmiştir (8,70).

IFN-Gamma ayrıca, IL-4 ve IL-5 üretim seviyelerini azaltarak Th2 sitokinleri üzerinde doğrudan inhibitör etkiler de uygular (69). IFN-Gamma, alerjik reaksiyonların merkezi aracıları olan mast hücrelerinin antijen sunma kapasitesini azaltmaktadır (Şekil 10) (71). Eozinofillerin aktivasyonunu, farklılaşmasını ve alımını düzenlemekten sorumlu olduğu gösterilmiştir (Şekil 10). Eozinofil farklılaşmasının önemli bir indükleyicisi olan eotaksin reseptörünün ekspresyonunda azalmaya neden olur (72). IFN-Gamma ayrıca bir nitrik oksit (NO) sentazı indükleyerek nitrik oksit üretiminde de rol oynar. NO üretiminin uyarılması yoluyla IFN-Gamma, mast hücrelerinin IgE aracılı degranülasyonunu inhibe eder. IFN-Gamma'nın bir diğer kritik rolü, IgE dönüşümünü inhibe etme yeteneğidir (Şekil 10). IgE sınıfına geçişi engellemesinin yanında, IgE yerine IgG üretimini indükler (73).

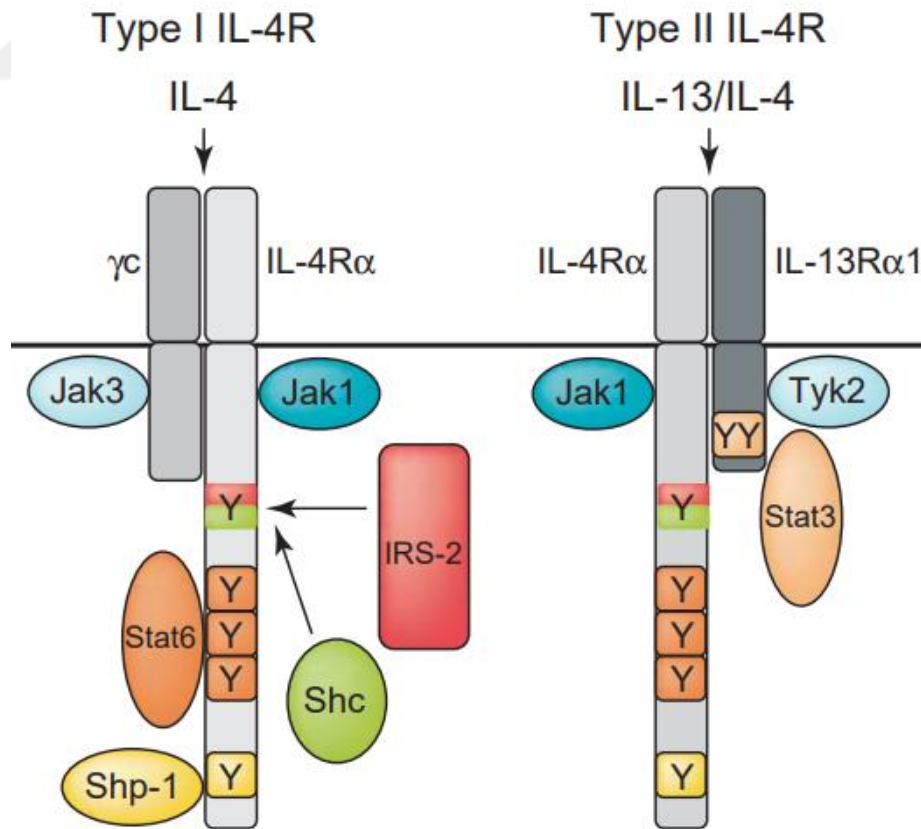
2.3.2 İnterlökin-4

IL-4 bağışıklık sistemi tarafından oluşturulan yanıtların düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan sitokindir. Birçok hücre tipi üzerinde pleiotropik etki gösteren 15 kD'lik bir polipeptittir. 5. kromozomun uzun kolunda (5q31.1) yer alan 5 ekzondan oluşan IL-4 geni tarafından sentezlenir. İnterlökin-4 başlangıçta anti-IgM antikoru ile uyarılan B lenfositlerin proliferasyonu için bir kostimölan (BCGF-1) olarak tanımlandı (74-76). IL-4'ün bağlandığı reseptör, IL-4Ra olarak bilinir. Bu reseptör vücutta 3 farklı kompleks halinde bulunur. Tip 1 reseptörler, ortak bir γ zincirine sahip IL-4Ra alt biriminden oluşur ve spesifik olarak IL-4'ü bağlar. Tip 2 reseptörler, IL-13Ra1 olarak bilinen farklı bir alt birime bağlı bir IL-4Ra alt biriminden oluşur. Bu tip 2 reseptörler, fonksiyonları açısından yakın ilişkili olan IL-4 ve IL-13 sitokinlerini bağlama yeteneğine sahiptir. IL-4'ün ilgili reseptör komplekslerine bağlanması, yapısal olarak IL-4Ra (Jak1), γ c zinciri (Jak3) ve IL-13Ra1 zinciri

(Tyk2) ile ilişkili Janus protein kinaz ailesinin (Jaks) üyelerinin aktivasyonunu destekler (31, 77).

Th1 ve Th2 hücreleri, timusta ayrı öncüllerden programlanmış hücreler değildir. Ortak bir periferik öncü T hücresinden (CD4⁺ T hücresi) gelişirler. Antijen ve ASH'ler tarafından aktivasyonun tanınması üzerine, saf periferik CD4⁺T hücreleri mikro-ortamlarının koşullarına yanıt olarak gelişimsel bir yola bağlanırlar ve sitokinleri sentezlemeye ve salgılamaya başlarlar. Th1/Th2 hücre kaderi kararını etkileyen en önemli faktör aktivasyon anındaki sitokin ortamıdır. Burada IL-4, Th2 farklılaşmasını yönlendirmede ve Th1 hücrelerinin gelişimini inhibe etmede önemli bir rolü vardır. Farklılaşma sonucu oluşan Th2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-13'ü üretir (76).

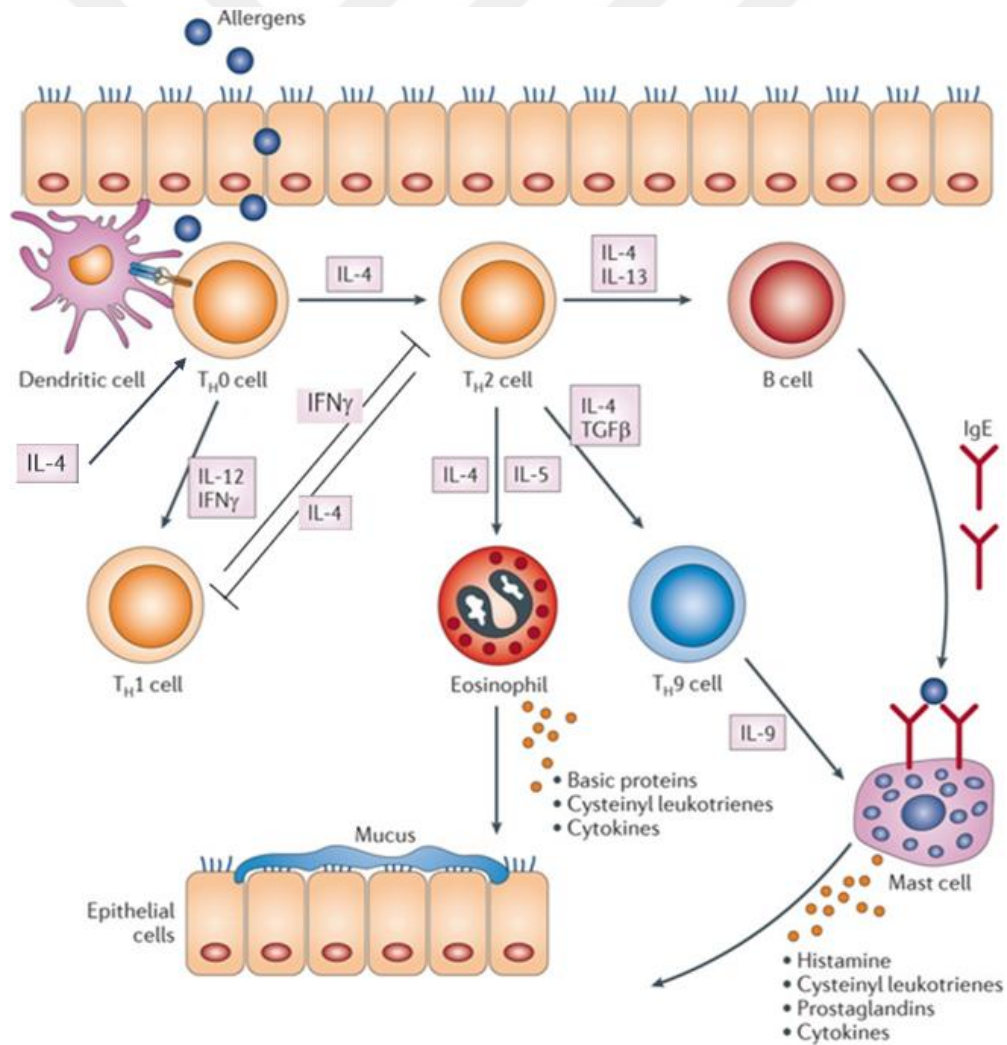
IL-4'e atfedilen ilk biyolojik fonksiyon B hücresi proliferasyonunun artırılmasıydı ve bu nedenle BCGF-1 olarak adlandırıldı. Tek başına B hücresi proliferasyonunu indüklemeyen, ancak anti-IgM antikoru ile uyarılan B hücrelerinin proliferasyonunu artırır (75).



Şekil 11: IL-4 reseptör komplekslerinin şematik gösterimi (77).

IL-4, alerjik inflamasyonun gelişimi için önemlidir. B hücrelerini uyararak IgE izotip değişimini indükler, düşük afiniteli ve yüksek afiniteli IgE reseptörlerin up-regülasyonunu sağlar ve VCAM-1'i indükleyerek eozinofilik inflamasyonu destekler. IgE üretimi üzerindeki etkilere ek olarak, IL-4 ayrıca hem B hücreleri hem de monositler üzerinde IgE için düşük afiniteli reseptör ekspresyonunu indükler. Ayrıca, IL-4 hem taze izole edilmiş mast hücrelerinin hem de mast hücre hatlarının proliferasyonunu indükler. IL-4, mast hücreleri tarafından da üretilbildiğinden, bu hücreler için bir otokrin büyüme faktörü olarak hizmet edebilir (75, 78).

IL-4, endotel hücrelerine etki ederek, lenfosit, monosit ve özellikle eozinofillerin bağlanması artıran VCAM-1'in ekspresyonunu uyararak hücrelerinin bir kemokin olan MCP-1 ve özellikle eozinofillere etki eden eotaksini salgırlar. Yüksek lokal konsantrasyonlarda, IL-4 monosit ve eozinofilden zengin inflamasyonu tetikler (5).

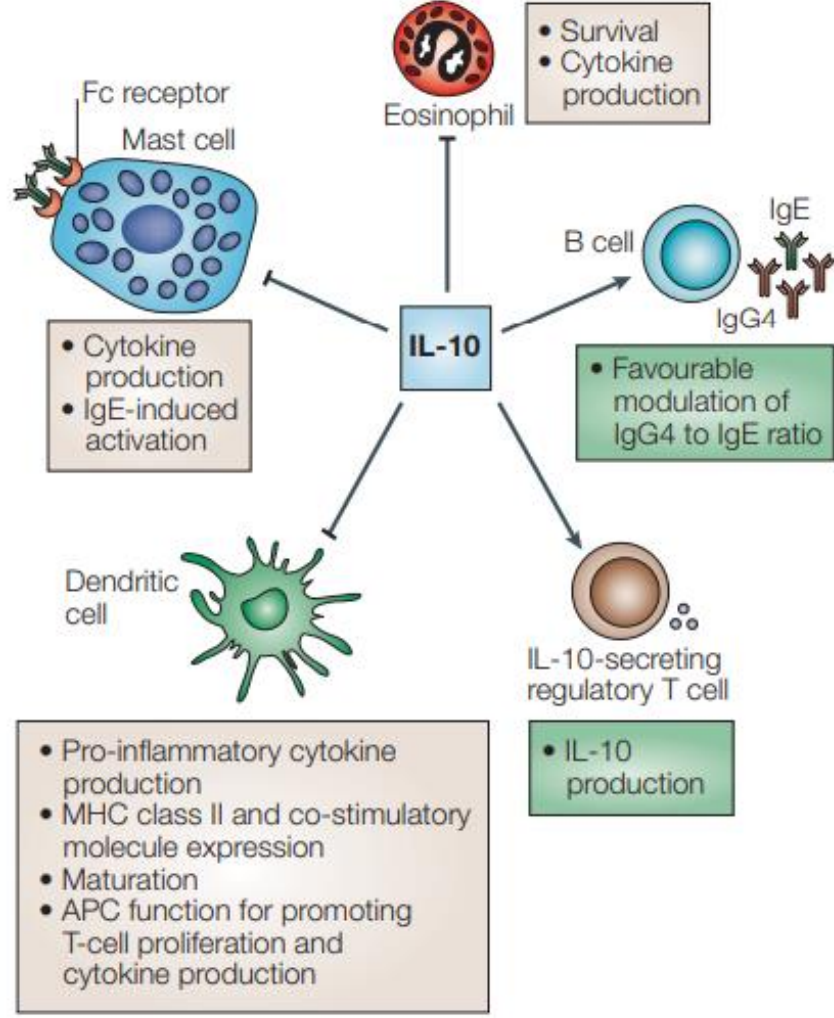


Şekil 12: IL-4 ün farklı hücreler üzerindeki etkileri.

IL-4, kemik iliği progenitör hücrelerinde tek başına koloni büyümesini etkileyemese de farklılaşma soyuna, kullanılan koloni stimulan faktörün tipine ve yardımcı hücrelerin varlığına bağlı olarak hematopoietik progenitör hücrelerin bağlı büyümesini doğrudan veya dolaylı olarak arttırabilir veya inhibe edebilir (75).

2.3.3 İnterlökin-10

IL-10, önemli antiinflamatuvar etkilere sahip bir pleiotropik sitokindir. Th1, Th2 ve Th17 hücre alt kümeleri, TReg hücreleri, CD8+ T hücreleri ve B hücreleri dahil olmak üzere adaptif bağışıklık sisteminin birçok hücresi tarafından eksprese edilir (79). IL-10 güçlü bir monosit/makrofaj fonksiyonu inhibitörüdür ve TNF-alfa, IL-1beta, IL-6, MIP-1alfa ve IL-8 dahil olmak üzere bir dizi proinflamatuvar sitokinin üretimini baskılar. IL-10, B7-CD28'e bağlı sinyallere müdahale ederek Th1 lenfositleri tarafından IFN-Gamma ve IL-2 üretimini ve Th2 hücreleri tarafından IL-4 ve IL-5 üretimini inhibe eder. Alerjik bireyler periferik kanlarında alerjene duyarlı IL-10 salgılayan T hücrelerinin daha düşük oranlarına ve artan sayıda IL-4 salgılayan hücrelere sahiptir. Öte yandan, IL-10, canlılıklarını, hücre proliferasyonunu, izotip değişimi ile immünoglobulin salgılanmasını ve sınıf II MHC ekspresyonunu arttırmak için B hücreleri üzerinde etki eder (80, 81). B hücrelerinde IgG4 üretimini teşvik ederek uygun bir IgG4 ile IgE oranına yol açar. Ayrıca eozinofil sağkalımını ve sitokin üretimini down regüle eder ve mast hücrelerinin IgE aracılı aktivasyonunu inhibe eder. Ayrıca, IL-10 dentritik hücre olgunlaşmasını bozar ve böylece Th1 ve Th2 hücrelerinin indüksiyonu için uyarıcı kapasitelerini azaltır (80).



Şekil 13: IL-10'un çeşitli hücre tipleri üzerindeki etkileri (82).

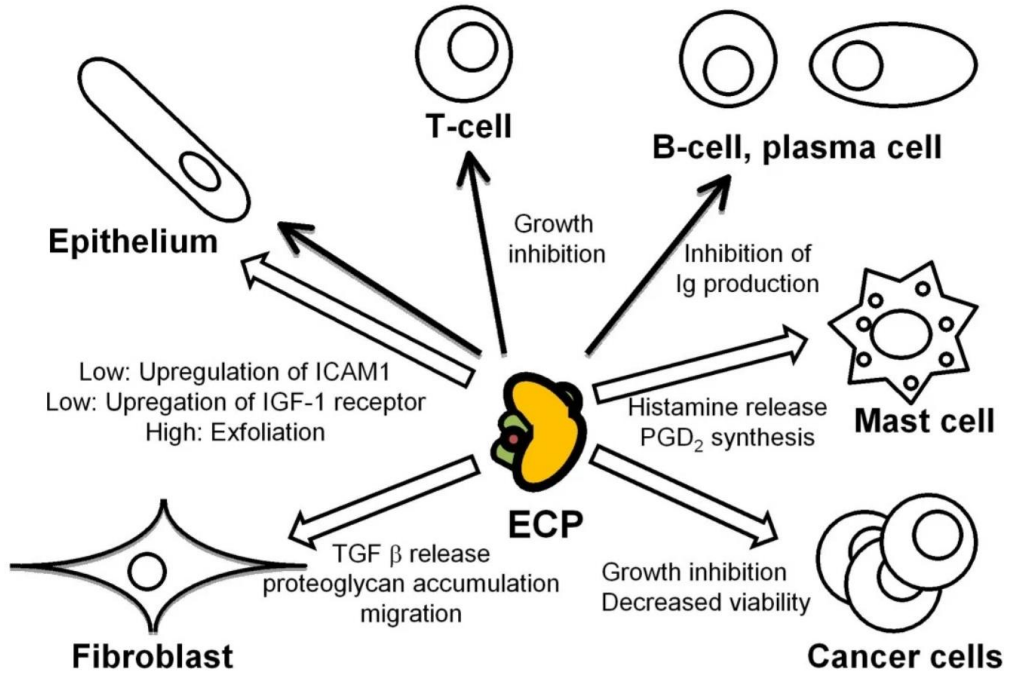
2.3.4 Eozinofilik katyonik protein

ECP, inflamatuvar süreçlerde yer alan eozinofil tarafından salgılanan bir proteindir (83). ECP bakteriler, helmintler, protozoa ve virüsler gibi çok çeşitli patojenlere karşı sitotoksiktir. ECP'nin ayrıca nörotoksik etkisi de vardır. Esas olarak rolü genel konak savunmasıdır (84). T hücre proliferasyonunun inhibisyonu, B hücreleri tarafından immünoglobulin sentezinin baskılanması, mast hücre degranülasyonu, fibroblast aktivitelerinin düzenlenmesi, epitel hücreleri üzerindeki reseptörlerin ve adezyon moleküllerinin up-regülasyonu hava yolu mukus salgısının indüklenmesi dahil olmak üzere bir dizi biyolojik aktiviteye sahiptir (Şekil 13) (83, 84).

Eozinofiller dolaşımdan ayrıldıktan sonra ECP'nin birçoğu salınır. Adhezyon molekülleri, PAF, IL-5, immünoglobulinler, kompleman bileşenleri ve LTB4 ile

stimülasyon gibi çeşitli inflamatuvar uyaran türlerinin eozinofillerin degranülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Mast hücreleri, ECP'nin eozinofillerden salınmasını arttırdığı bilinen IL-5, PAF ve LTB₄'ü üretir ve salgılar (83, 85).

Plazma, serum, balgam, bronkoalveolar lavaj (BAL), tükürük, nazal lavaj, gözyaşı, jejunal sıvı, feçeste, eklem sıvısı gibi çok sayıda vücut sıvısında bulunur (86). Bu biyolojik sıvılarda, hastalık zamanlarında dokudaki lokal aktif enflamasyonun bir göstergesi olduğu tespit edilmiştir. Astım patogenezinde rol oynadığı, akciğer hasarı yapabildiği ve astım hastalarında bronkoalveolar lavaj sıvısında ECP ölçümünün hasta takibinde enflamasyon göstergesi olarak kullanılabilceği tespit edilmiştir (87, 88). MAK, VKK, AKK'da aktif hastalık durumunda serumda ve gözyaşında ECP değerlerinin yüksek olduğu ve gözyaşındaki ECP düzeylerinin hastalığın ciddiyetiyle ilişkili olduğu tespit edilmiş ve oküler alerjik hastalıklarda özellikle kornea tutulumunda rol oynadığı bildirilmiştir (89-91). Alerjik konjonktivitli hastalarda gözyaşı ECP düzeylerinin ölçümü, uygulanan topikal tedavinin spesifik olarak eozinofil aktivasyonuna karşı etkinliğini belirlemede ve farklı ajanların etkinliğini karşılaştırmada kolay ve yararlı bir metot olabileceği ileri sürülmüştür (88-90).



Şekil 14: ECP'nin çeşitli hücre tipleri üzerindeki spesifik etkileri (92).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Amacı ve Tipi

Bu çalışmanın amacı alerjik konjonktivit hastalarında gözyaşı örneklerinden sitokin düzeylerini ölçmek ve sağlıklı kişilerin göz yaşı örneklerindeki sitokin düzeyleri ile karşılaştırmak, alerjik konjonktivitli hastalara tedavi verilip bu hastalar asemptomatik hale getirildikten sonra kontrol gözyaşı alınarak tedaviye yanıtı değerlendirmede sitokinlerin etkinliğini incelemek, alerjik konjonktivitli hastaların ölçülen sitokin değerlerini daha önceden poliklinik takibinde rutin bakılmış olan in vitro laboratuvar değerleri ile korelasyonunu incelemek, asemptomatik hale gelen hastaların sitokin değerlerini sağlıklı grupla kıyaslayarak sitokinlerin atopiyi öngörmedeki gücünü göstermektir.

Bu çalışma kontrollü randomize tasarlanan sitokin değerlendirmesinin yapıldığı bilimsel bir çalışmadır.

3.2 Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Evreni

Bu çalışma, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Çocuk Alerji Kliniği’imizde Nisan 2022-Ekim 2022 tarihleri arasında klinik bulgular ve laboratuvar değerlerle teyit edilen AK tanısıyla takipli hastalar ve farklı nedenlerle Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Göz Hastalıkları Polikliniği’nde takip edilen, sağlıklı, konjuktiviti olmayan çocuklarla yapıldı. Deney Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Biyokimya Anabilimdalı’nın laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.3 Araştırmaya Dahil Olacak Hastaların Seçimi

Hasta grubu, 6-18 yaş arasındaki AK tanılı, ek hastalığı (immün yetmezlik, otoimmün hastalık, romatolojik hastalık, genetik veya metabolik hastalık, aktif diğer alerjik hastalıklar vs.) olmayan, Çocuk Alerji Polikliniğinden takipli, klinik bulguları

ve daha önceden bakılan rutin laboratuvar tetkikleriyle birlikte AK tanısı konulmuş 27 çocuğu kapsamaktadır. Kontrol grubu, 6-18 yaş arasındaki sağlıklı, herhangi bir nedenden ötürü konjonktiviti olmayan, bunun haricinde ek hastalığı (immün yetmezlik, otoimmün hastalık, romatolojik hastalık, genetik veya metabolik hastalık, alerjik hastalıklar vs.) olmayan, Göz Hastalıkları Polikliniği'ne gelen 27 çocuğu kapsamaktadır.

Dahil edilme kriterleri

Araştırma Grubu:

- 6-18 yaş aralığındaki çocuklar,
- Alerjik konjonktivit tanısı konulduktan sonra henüz tedavi almamış olup, tedavisi verildikten sonra tedaviyi düzenli kullanan çocuklar,
- Tedavi sonrası klinik olarak AK bulguları tam remisyona giren hastalar.
- Alerjik Konjonktivit dışında bilinen ek hastalığı olmayan çocuklar,
- Araştırmamıza gönüllü olarak katılmayı kabul eden velilerin çocukları.

Kontrol Grubu:

- 6-18 yaş aralığındaki çocuklar,
- Göz Hastalıkları Polikliniğine gelen atopik semptom ve bulguları olmayan sağlıklı çocuklar,
- Araştırmamıza gönüllü olarak katılmayı kabul eden velilerin çocukları.

Dahil edilmeme kriterleri

Araştırma Grubu:

- 6 yaşından küçük olan çocuklar,
- Alerjik konjonktivit dışında aktif ek alerjik hastalığı olan (atopik dermatit, astım) çocuklar (aktif şikâyet olmayıp, geçmiş ek alerjik hastalıkları olanlar alınacak),
- MAK ve PAK dışında alerjik konjonktiviti olan hastalar (Vernal keratokonjonktivit, dev papiller konjonktivit ve atopik keratokonjonktivit, kontakt blefarokonjonktivit),
- Alerji dışı herhangi bir nedenle konjonktivit, kuru göz, diğer konjonktival patoloji bulguları olan çocuklar,

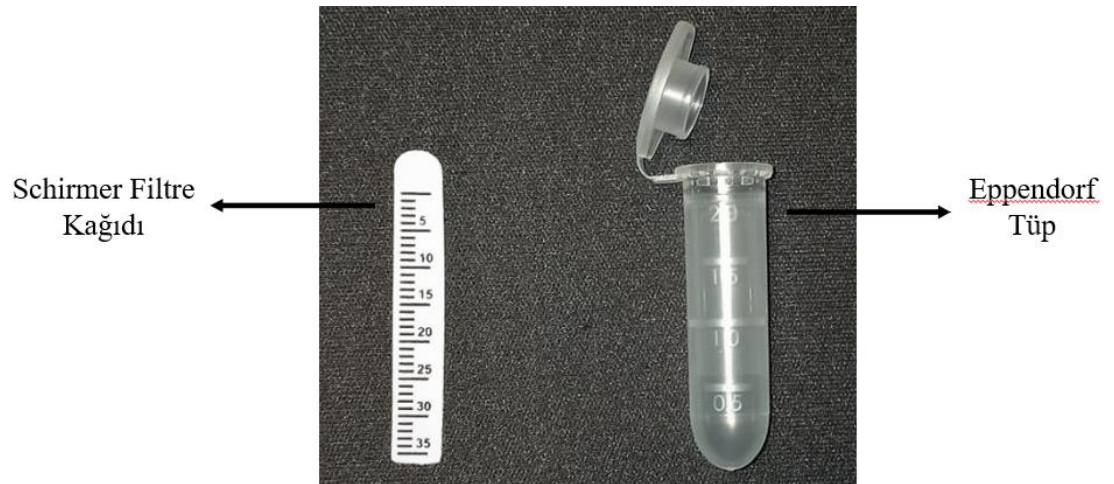
- Alerjik konjonktivit tanısı konulduktan sonra tedavi verilmesine rağmen, tedaviyi düzgün kullanmayan veya eksik kullanan çocuklar,
- İmmün sistem yanıtı etkileyecek otoimmün hastalık, immün yetmezlik, romatolojik hastalık, genetik hastalık, metabolik hastalık vb. hastalığı olan çocuklar.
- Araştırmamıza gönüllü olarak katılmayı kabul etmeyen velilerin çocukları.

Kontrol Grubu:

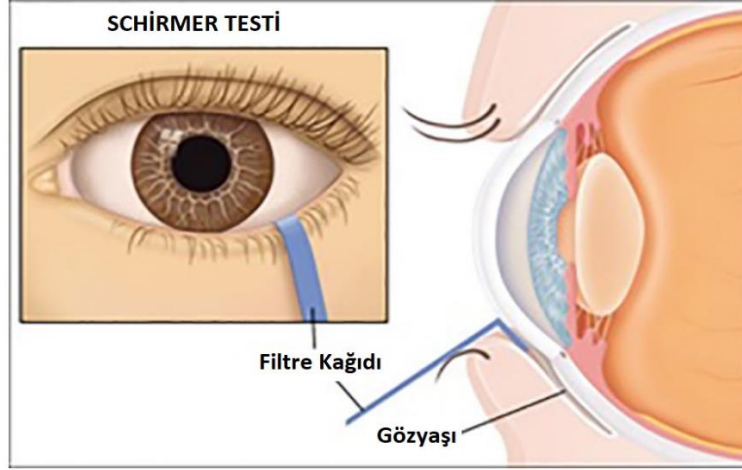
- 6 yaşından küçük olan çocuklar,
- Alerjik semptom ve bulguları olan çocuklar,
- Herhangi bir nedenle konjonktivit, kuru göz, diğer konjonktival patoloji bulguları olan çocuklar,
- İmmün sistem yanıtı etkileyecek otoimmün hastalık, immün yetmezlik, romatolojik hastalık, genetik hastalık, metabolik hastalık vb. hastalığı olan çocuklar.
- Araştırmamıza gönüllü olarak katılmayı kabul etmeyen velilerin çocukları.

3.4 Gözyaşı Örneğinin Alımı ve Saklama Yöntemi

Hasta ve kontrol grubu gözyaşı örnekleri schirmer filtre kâğıdı ile schirmer 1 testi protokolüne göre toplandı. Schirmer filtre kağıtları (5x35 mm'lik) gözün 1/3 dış kısmına temporal bulbar konjonktiva ile alt göz kapağının arasına yerleştirip (Şekil 16), anestezi damla damlatılmadan 5 dakika bekletildikten sonra çıkarıldı. Toplanan kağıtlar kuru 2 ml'lik eppendorf tüplere konularak -40 derecede muhafaza edildi.



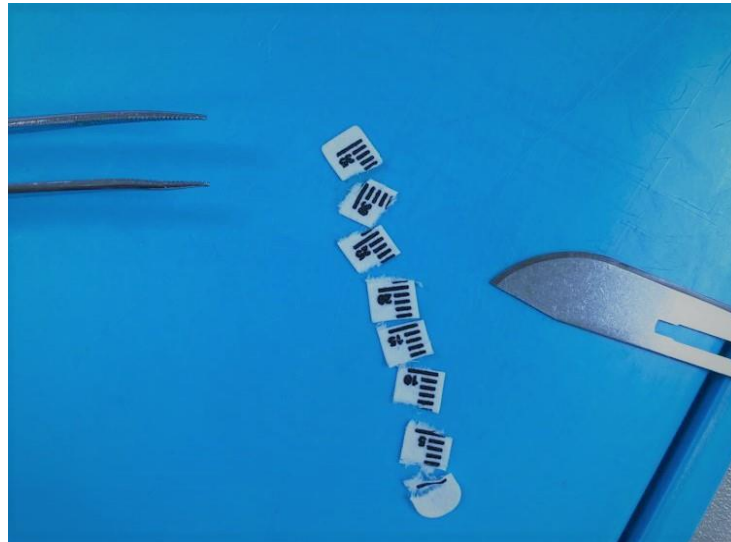
Şekil 15: Schirmer filtre kâğıdı ve eppendorf tüp örnekleri.



Şekil 16: Schirmer testi uygulama tekniği.

3.5 Örneklerin Protein Ölçümleri ve Sitokin Düzeylerinin Hesaplanması

Gözyaşı örneklerinde 3 farklı sitokin (IL-4, IL-10, IFN-Gamma) ve Eozinofilik Katyonik Protein (ECP) düzeyleri ELISA yöntemi ile araştırıldı. Gözyaşı numuneleri toplandıktan sonra, hastanemiz biyokimya birimince gözyaşı örnekleri oda sıcaklığına getirildi, Schirmer filtre kağıtları steril bistüri ve penset yardımıyla 3-5 mm'lik parçalara bölündü (Şekil 16). Tüm örnekler 0.5 molar (M) NaCl ve 0.5 M Tween 20 içeren 0.05 M fosfat tampon solüsyonu (pH 7.2) ile inkübe edilerek 1 gece boyunca elüsyon sağlandı (93).

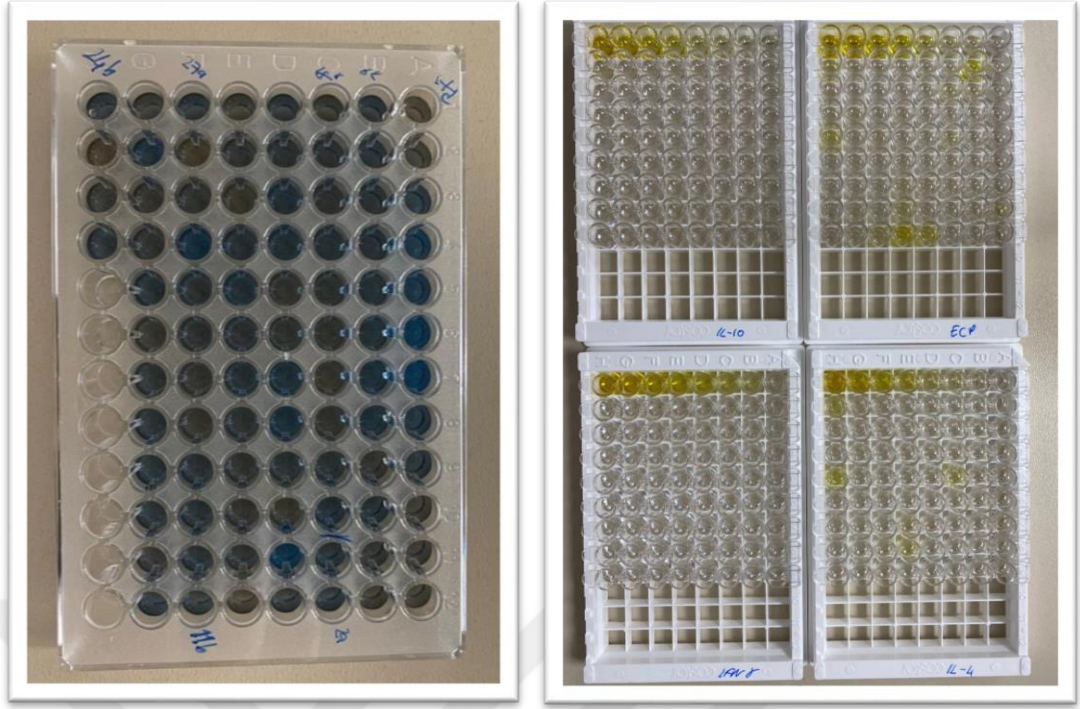


Şekil 17: Schirmer filtre kağıtları bistüri ve penset yardımıyla 3-5 mm'lik parçalara bölündü.

Coomassie Plus (Bradford) Assay reaktifi (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) ile numunelerin protein miktarları ölçüldü (94). Protein ölçümü için önce 96-kuyucuklu plakalara standart ve numunelerden 5 µL eklendi. Ardından her bir kuyuya 250 µL Coomassie Plus (Bradford) Assay reaktifi ilave edilerek 10 dakika çalkalayıcıda inkübe edildi ve 595 nm dalga boyunda fotometrik olarak ölçümü yapıldı. Protein standardı olarak 7 farklı konsantrasyonda (0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5 ve 2 mg/ml) BSA (bovine serum albumin) kullanıldı (Quick Start BSA standard set, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) ve standart eğri grafiği çizilerek hesaplamalar gerçekleştirildi.

ELISA deneyleri (Elabsience, Houston, Texas, USA) kit protokolüne uygun olarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi;

- Kuyulara 100µL standart veya numune eklendi, 37°C'de 90 dakika inkübe edildi.
- Sıvı uzaklaştırıldı. Her kuyuya 100µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi. 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
- Sıvı uzaklaştırıldı ve kuyular 3 kez yıkama tampon ile ELISA yıkayıcıda (Thermo Scientific™ Wellwash™ Microplate Washer) yıkandı.
- 100µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Kuyular 5 kez yıkandı.
- 90 µL Substrate Reaktifi eklendi ve 37°C'de 15 dakika inkübe edildi.
- Üzerine 50 µL durdurma solüsyonu eklendi.
- Plate hemen 450 nm'de okutuldu.
- Standart grafiği çizilerek her bir örneğin protein miktarları ile birlikte hesaplama yapıldı.



Şekil 18: Bradford protein ölçümü ve ELISA plateleri.

3.6 Araştırmada Kullanılan İstatistiksel Yöntem

Daha önceki çalışmalar referans alınarak %95 güven düzeyinde %80 güç için korelasyon katsayısı 0,86 olarak alındığında minimum örneklem için $n_1=n_2=17$ toplam 34 olarak hesaplanmıştır. Veriler IBM SPSS 22.0 paket programıyla analiz edildi. Tedavi ve kontrol gruplarının kıyaslanmasında Mann Whitney U Test, grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon Signed Ranks testleri kullanıldı. Cinsiyet dağılımları için Ki-Kare Testi kullanıldı. Korelasyonlar Spearman korelasyon katsayısı kullanılarak hesaplandı. Tanımlayıcı istatistik olarak medyan, minimum-maksimum, frekans ve yüzde değerleri verildi. $P<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 6-18 yaş arasında AK tanısı alan 27 hasta ve AK tanısı ve ek hastalığı olmayan sağlıklı 27 kontrol grubu dahil edildi. Vaka grubunda 6 hastada, kontrol grubunda 5 hastada gözyaşı numunelerinin protein ölçümleri çok düşük olup ECP, IL-4, IL-10 ve IFN-Gamma düzeyleri ölçümü yetersiz bulunmuştur. Vaka grubunda kalan 21 hastada, kontrol grubunda kalan 22 hastada ölçümler yapıp değerlendirmeye alınmıştır.

Çalışmada değerlendirmeye alınan 43 hastanın %48,8'i kız, %51,2'si erkek cinsiyette olup anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Çalışmada değerlendirmeye alınan 43 hastanın yaş ortalaması 11,83 olup, medyan 12 olarak saptandı. Çalışmaya dahil edilen hastalar ile ilgili demografik ve klinik bilgiler Tablo 6'te gösterilmiştir.

Tablo 6: Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik ve klinik özellikleri.

	Medyan (Min.-Maks.)
	n%
Cinsiyet	
Kız	21 (48,8%)
Erkek	22 (51,2%)
Yaş	12 (7-18)
ECP (pg/mL)	34,14 (14,30-146,61)
IL-4 (pg/mL)	29,76 (11,97-134,30)
IL-10 (pg/mL)	1,59 (0,58-4,50)
IFN-Gamma (pg/mL)	2,33 (0,45-8,81)

Vaka grubu kız oranı %42,9, erkek oranı %54,5 olup cinsiyet oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Kontrol grubunun kız oranı %57,1, erkek oranı %45,5 olup cinsiyet oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$). Her iki grupta da cinsiyet dağılımı anlamlı ($p> 0.05$) farklılık göstermemiştir.

Vaka grubunun yaş ortalaması 11,71 ve kontrol grubunun yaş ortalaması 11,95 olup, medyanları 12 saptandı. Grupların yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p>0.05$) farklılık görülmedi.

Tablo 7: Vaka ve kontrol grupları cinsiyet dağılımları.

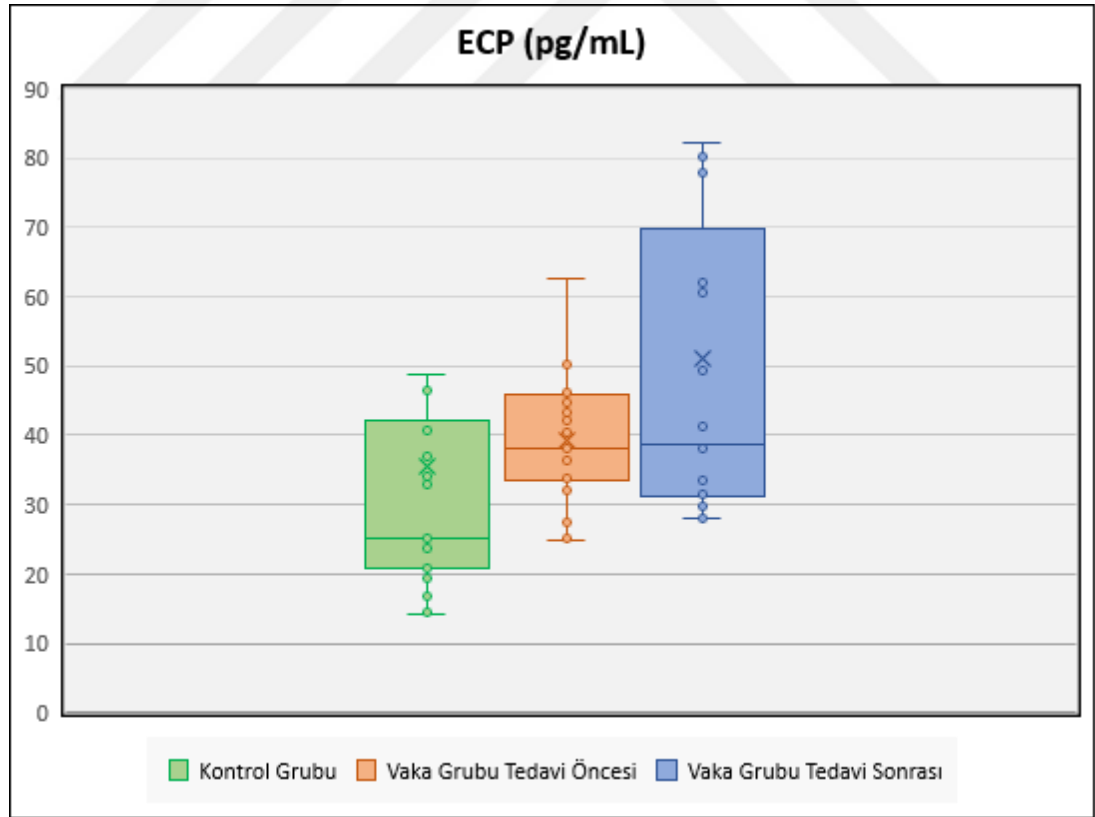
	Cinsiyet		Total	p
	Kız	Erkek		
Kontrol	12 (57,1%)	10 (45,5%)	22 (51,2%)	0.443
Vaka	9 (42,9%)	12 (54,5%)	21 (48,8%)	

Ki-kare Testi

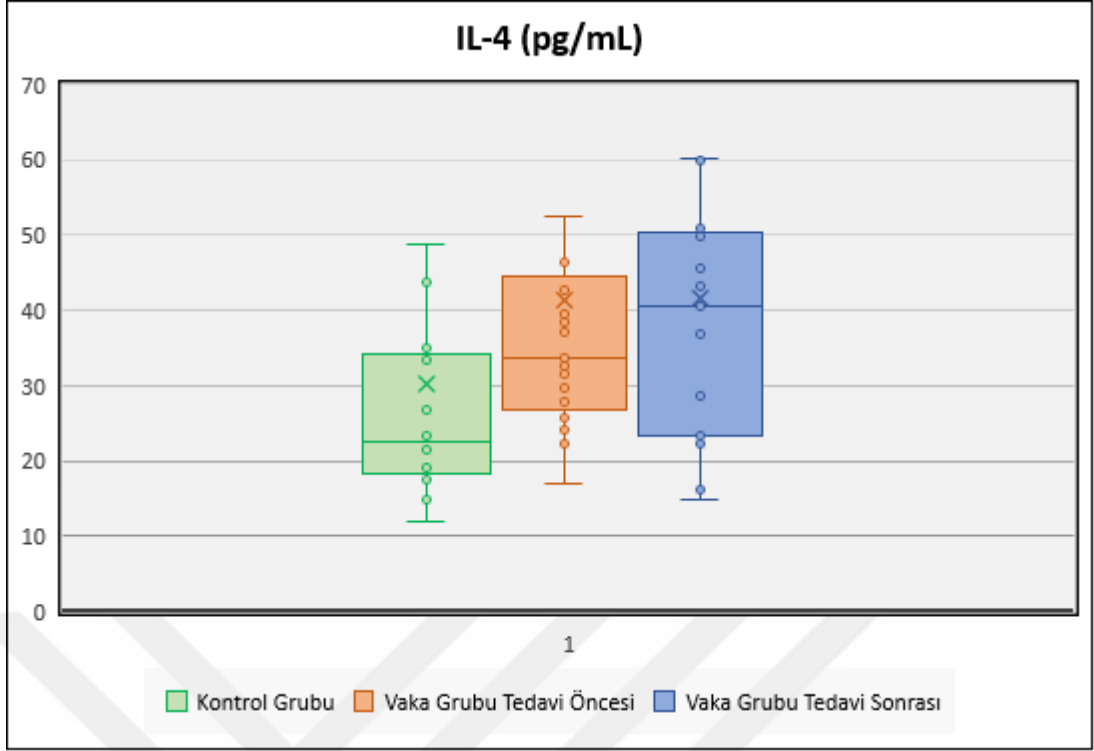
Tablo 8: Vaka ve kontrol grupları yaş dağılımları.

	Kontrol Grubu	Vaka Grubu	p
	n%	n%	
Yaş Medyan (Min.-Maks.)	12 (7-18)	12 (7-17)	0.741

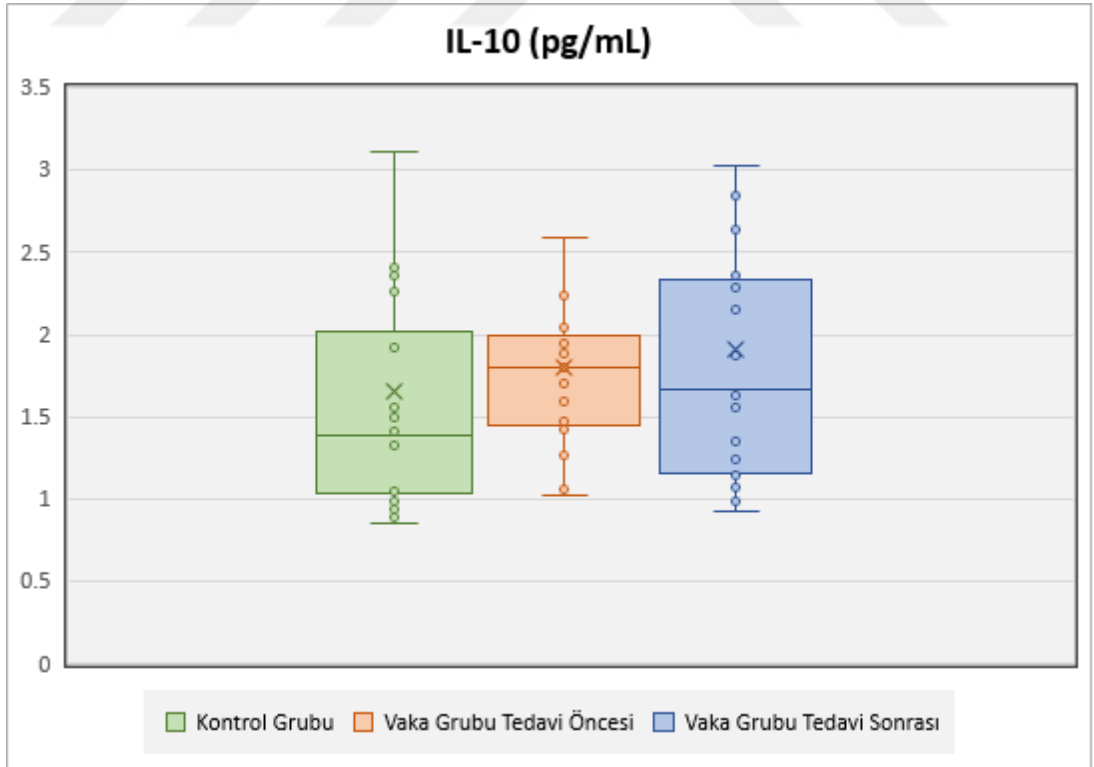
Mann Whitney U Testi



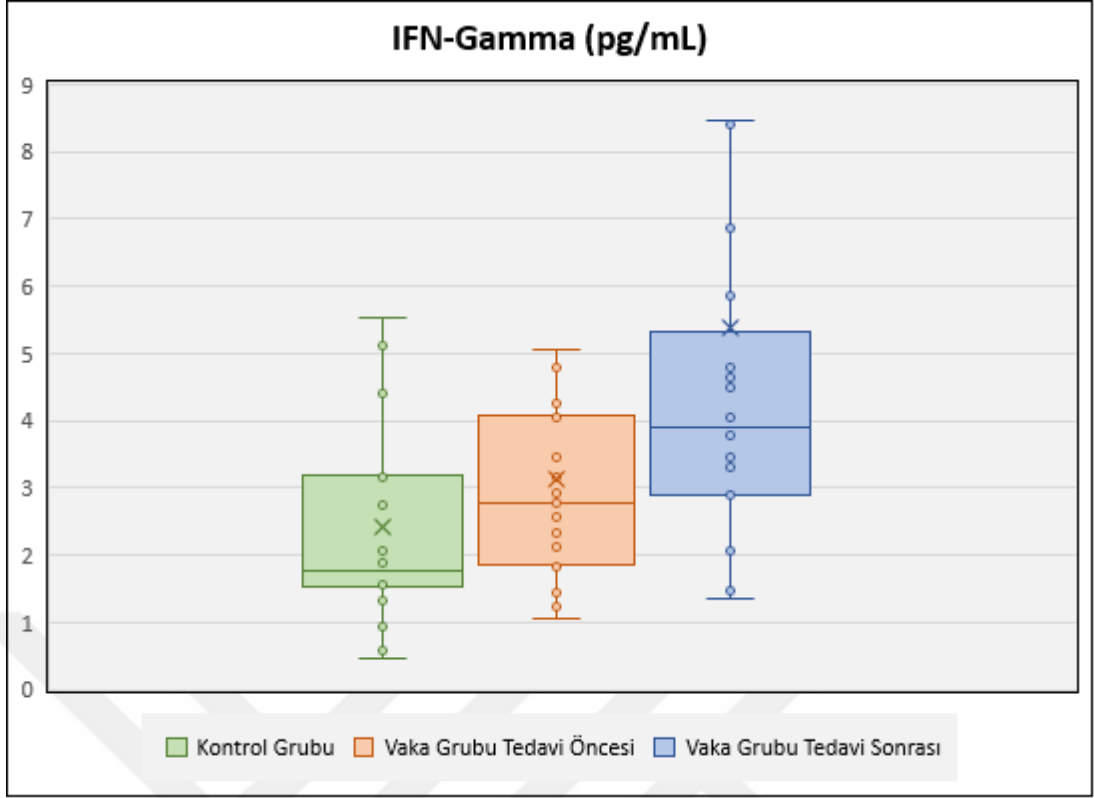
Şekil 19: Vaka ve kontrol gruplarının ECP değerleri.



Şekil 20: Vaka ve kontrol gruplarının IL-4 değerleri.



Şekil 21: Vaka ve kontrol gruplarının IL-10 değerleri.



Şekil 22: Vaka ve kontrol gruplarının IFN-Gamma değerleri.

Vaka grubunda tedavi öncesi ECP değeri (medyan 38,02 pg/ml) vaka grubunda tedavi sonrası ECP değerinden (medyan 38,71 pg/ml) anlamlı ($p>0.05$) olarak farkı gösterilememiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-4 değeri (medyan 33.74 pg/ml) vaka grubunda tedavi sonrası IL-4 değerinden (medyan 40.61 pg/ml) anlamlı ($p>0.05$) olarak farkı gösterilememiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-10 değeri (medyan 1.81 pg/ml) vaka grubunda tedavi sonrası IL-10 değerinden (medyan 1.67 pg/ml) anlamlı ($p>0.05$) olarak farkı gösterilememiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IFN-Gamma değeri (medyan 2.78 pg/ml) vaka grubunda tedavi sonrası IFN-Gamma değerinden (medyan 3.90 pg/ml) anlamlı ($p<0.05$) olarak düşüktür.

Tablo 9: Vaka ve kontrol gruplarının laboratuvar parametreleri.

	Kontrol Grubu	Vaka Grubu Tedavi Öncesi	Vaka Grubu Tedavi Sonrası
	Medyan (Min.-Maks.)	Medyan (Min.-Maks.)	Medyan (Min.- Maks.)
ECP (pg/mL)	25,26 (14,30- 146,61)	38,02 (24,88- 62,68)	38,71 (27,99- 135,84)
IL-4 (pg/mL)	22,55 (11,97- 134,31)	33,74 (16,96- 100,71)	40,62 (14,76- 142,38)
IL-10 (pg/mL)	1,39 (0,86- 4,49)	1,81 (0,58- 3,43)	1,67 (0,93- 4,67)
IFN-Gamma (pg/mL)	1,77 (0,45- 5,69)	2,78 (1,05- 8,81)	3,90 (1,36- 30,85)
Total IgE (IU/mL)		214,70 (33,2- 2874,0)	
Eozinofil %		6,26 (0,35- 12,4)	

Tablo 10: Vaka grubu tedavi öncesi ile tedavi sonrası sitokin değerleri.

	Vaka Grubu Tedavi Öncesi	Vaka Grubu Tedavi Sonrası	p
	Medyan (Min.-Maks.)	Medyan (Min.- Maks.)	
ECP (pg/mL)	38,02 (24,88- 62,68)	38,71 (27,99- 135,84)	0.274
IL-4 (pg/mL)	33,74 (16,96- 100,71)	40,62 (14,76- 142,38)	0.986
IL-10 (pg/mL)	1,81 (0,58- 3,43)	1,67 (0,93- 4,67)	0.741
IFN-Gamma (pg/mL)	2,78 (1,05- 8,81)	3,90 (1,36- 30,85)	0.039

Wilcoxon Signed Ranks Test

Vaka grubunda tedavi öncesi ECP değeri (medyan 38.02 pg/ml) kontrol grubu ECP değerinden (medyan 25.26 pg/ml) anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksektir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-4 değeri (medyan 33.74 pg/ml) kontrol grubu IL-4 değerinden (medyan 22.55 pg/ml) anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksektir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-10 değeri (medyan 1.81 pg/ml) kontrol grubu IL-10 değerinden (medyan 1.39 pg/ml) anlamlı ($p>0.05$) olarak farkı gösterilememiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IFN-Gamma değeri (medyan 2.78 pg/ml) kontrol grubu IFN-Gamma değerinden (medyan 1.77 pg/ml) anlamlı ($p>0.05$) olarak farkı gösterilememiştir.

Tablo 11: Vaka grubu tedavi öncesi ve kontrol grubu sitokin değerleri.

	Kontrol Grubu	Vaka Grubu Tedavi Öncesi	p
	Medyan (Min.-Maks.)	Medyan (Min.-Maks.)	
ECP (pg/mL)	25,26 (14,30- 146,61)	38,02 (24,88- 62,68)	0.017
IL-4 (pg/mL)	22,55 (11,97- 134,31)	33,74 (16,96- 100,71)	0.007
IL-10 (pg/mL)	1,39 (0,86- 4,49)	1,81 (0,58- 3,43)	0.145
IFN-Gamma (pg/mL)	1,77 (0,45- 5,69)	2,78 (1,05- 8,81)	0.145

Mann-Whitney U Test

Vaka grubunda tedavi sonrası ECP değeri (medyan 38.71 pg/ml) kontrol grubu ECP değerinden (medyan 25.26 pg/ml) anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksektir.

Vaka grubunda tedavi sonrası IL-4 değeri (medyan 40.62 pg/ml) kontrol grubu IL-4 değerinden (medyan 22.55 pg/ml) anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksektir.

Vaka grubunda tedavi sonrası IL-10 değeri (medyan 1.67 pg/ml) kontrol grubu IL-10 değerinden (medyan 1.39 pg/ml) anlamlı ($p>0.05$) olarak farkı gösterilememiştir.

Vaka grubunda tedavi sonrası IFN-Gamma değeri (medyan 3.90 pg/ml) kontrol grubu IFN-Gamma değerinden (medyan 1.77 pg/ml) anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksektir.

Tablo 12: Kontrol grubu ve vaka grubu tedavi sonrasında sitokin değerleri.

	Kontrol Grubu	Vaka Grubu Tedavi Sonrası	p
	Medyan (Min.-Maks.)	Medyan (Min.- Maks.)	
ECP (pg/mL)	25,26 (14,30- 146,61)	38,71 (27,99- 135,84)	0.003
IL-4 (pg/mL)	22,55 (11,97- 134,31)	40,62 (14,76- 142,38)	0.011
IL-10 (pg/mL)	1,39 (0,86- 4,49)	1,67 (0,93- 4,67)	0.253
IFN-Gamma (pg/mL)	1,77 (0,45- 5,69)	3,90 (1,36- 30,85)	0.003

Mann-Whitney U Test

Vaka grubunda tedavi öncesi ECP pg/ml değeri ile eozinofil yüzdesi arasında hafif düzeyde anlamlı ($p<0.05$) negatif korelasyon gözlenmiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi ECP pg/ml değeri ile Total IgE arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-4 pg/ml değeri ile eozinofil yüzdesi arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-4 pg/ml değeri ile Total IgE arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-10 pg/ml değeri ile eozinofil yüzdesi arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IL-10 pg/ml değeri ile Total IgE arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IFN-Gamma pg/ml değeri ile eozinofil yüzdesi arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Vaka grubunda tedavi öncesi IFN-Gamma pg/ml değeri ile Total IgE arasında anlamlı ($p>0.05$) korelasyon gözlenmemiştir.

Tablo 13: ECP, IL-4, IL-10 ve IFN-Gamma değerlerinin Total IgE ve Eozinofil yüzdesi ile korelasyonu.

		Total IgE	Eozinofil %
ECP	r	-0.342	-0.439
	p	0.130	0.047
IL-4	r	0.018	-0.255
	p	0.938	0.265
IL-10	r	-0.269	-0.031
	p	0.239	0.893
IFN-Gamma	r	-0.077	0.170
	p	0.741	0.461

Spearman Korelasyon

Çalışmaya alınan hastaların sitokin değerleri cinsiyet değişkenine göre değerlendirildi. Kızlar ve erkekler arasında ECP, IL-4, IL-10 ve IFN-Gamma değerleri arasında anlamlı ($p>0.05$) fark gözlenmemiştir.

Tablo 14: Sitokin değerlerinin cinsiyet değişkenine göre değerleri.

	Cinsiyet		p
	Kız	Erkek	
	Medyan (Min.-Maks.)	Medyan (Min.-Maks.)	
ECP (pg/mL)	34.14 (14.35-74.50)	34.35 (14.30-146.61)	0.846
IL-4 (pg/mL)	32.91 (11.97-134.31)	32.91 (16.96-100.71)	0.437
IL-10 (pg/mL)	1.52 (0.58-3.43)	1.72 (0.90-4.49)	0.680
IFN-Gamma (pg/mL)	2.82 (0.57-8.81)	1.98 (0.45-5.12)	0.234

Mann-Whitney U Test

5. TARTIŞMA

Alerjik konjunktivitler, oküler yüzeyi etkileyen bir hastalık grubunu oluşturur. MAK ve PAK oküler yüzeyin havadaki alerjenlere doğrudan maruz kalması sonucu yılın farklı mevsimlerinde alevlenmelerle seyreden tekrarlayan ve bilateral konjonktival inflamasyon olarak tanımlanabilir. Her ikisi de temel olarak, hastaların havadaki alerjenlere karşı klinik ve laboratuvar bulgulara sahip olduğu klasik tip I aşırı duyarlılığa bağlıdır (95). Oküler kaşıntı, hiperemi, mukus akıntısı ve yırtılma dahil olmak üzere 4 temel semptomun varlığı ile karakterizedir ve dünya çapında en yaygın alerjik hastalıklardan biridir (96). AK hastaların sağlık durumunda hayati problemlere neden olmasa bile yaşam kalitelerinde ciddi bozulmalara neden olan ve sağlık harcamalarında maliyetin önemli derecede artmasına neden olan bir sağlık sorunudur (97-99).

Her yıl nüfusun en az yüzde 20'sini etkilediği tahmin edilen bu sağlık sorununun görülme sıklığı da giderek artmaktadır (14). Özellikle genç popülasyonun alerjik hastalıkları arasında en yaygın görülen alerji kliniğidir (16, 100). ISAAC çalışmasında alerjik rinokonjunktivitte (ARK) küresel bir artış olduğunu ve özellikle 6-7 yaş ve 13-14 yaşlarındaki çocuklarda neredeyse tüm dünyada arttığını göstermektedir (16). Genellikle genç popülasyonu etkilemesi ve prevalansının yıllar içinde yükselmesi oküler alerjiye olan ilginin giderek artmasına neden olmuştur. Küresel anlamda yaygın ve önemli bir sağlık sorunu olduğu için biz de çalışmamızı alerjik konjunktivitli çocuklar üzerinde tasarladık. Küçük çocuklarda örnek toplamada ve tedaviyi uygulamada daha fazla sorunlarla karşılaşıldığı için çalışmamızın yaş grubunu 6-18 yaş ile sınırladık. Çalışmamızda vaka ve kontrol grupları arasında anlamlı ($p>0.05$) yaş farkı yoktu.

Çalışmaya katılan kız sayısı (21) ve erkek sayısı (22) arasında anlamlı ($p>0.05$) fark yoktu. Kızlar ve erkekler arası sitokin düzeyleri karşılaştırıldı. Kız ve erkek

cinsiyetler arasında sitokin düzeyleri kıyaslandığında anlamlı ($p>0.05$) fark gözlenmemiştir.

Gözyaşı filmi, oküler yüzeyi kaplayan ve gözün yağlanması ve korunmasında rol oynayan ince bir sıvı tabakasıdır (101). Gözyaşı sıvısı, yaklaşık %98'i sudan oluşan berrak, hipotonik bir kan plazması ultrafiltratıdır. Geriye kalan yaklaşık %2'lik kısım, 500'e yakın çözülmüş protein, lipid, elektrolit, münin, metabolit, hormon, pul pul dökülmüş epitel hücreleri ve ortam havasından yabancı maddeler içerir (101-103).

Biyobelirteçler, hastalıkların tahmini ve teşhisinin yanı sıra takip ve tedavinin izlemi için önemlidir. Kolayca erişilebilen biyolojik sıvılar, daha fazla araştırma için umut verici fırsatlar sunar (104). Gözyaşı sıvısı, erişimi ve toplanması nispeten kolay olduğundan, belli bir konsantrasyonda protein içerdiğinden ve protein içeriğindeki değişikliklerin normal veya hastalık durumlarını yansıtabileceğine işaret eden birçok rapordan dolayı ilgi çekici bir vücut sıvısı haline gelmiştir (101). AK hastalarında da gözyaşı numuneleri birçok çalışmada farklı parametreler tanı, tedavi, izlem amaçlı kullanılmakta ve geliştirilmektedir (93, 105-107). Bizim çalışmamızda da hastaların AK kliniğini değerlendirmede numuneye erişimi ve toplama metodu kolay olması, hastalar açısından daha az invaziv bir metot olması, hastanın kliniği, izlemi ve tedavi değerlendirmesi için birtakım değerlendirmeler yapılabiliyor olması ve bu alanda birçok yeni gelişmelerin hala devam etmekte olması ve daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmasından dolayı bizlerde de merak uyandırıp bu nedenle gözyaşı örneği toplanması tercih edilmiştir.

Gözyaşı filmi sitokin düzeylerinin enzim bağlantılı immünolojik testler (ELISA) aracılığıyla ölçülmesi, çeşitli oküler hastalıklarda altta yatan immünolojik mekanizmaları araştırmak için ve aynı zamanda tedaviye yanıtı değerlendirmek için objektif, invaziv olmayan bir yöntem olarak yaygın kullanılmaktadır (93, 105, 108-110). Oküler alerjik inflamasyon alanında, son çalışmalar özellikle gözyaşındaki sitokinlere odaklanmıştır (111). Sitokinler, sadece normal gözyaşında değil, aynı zamanda çeşitli atopik göz hastalıkları durumlarından kaynaklanan gözyaşında artan konsantrasyonlarda da tespit edilmiştir (112-115). Sitokin çalışmaları ilerledikçe atopik hastalıklarda sitokin oranları ve konsantrasyonları hakkında önemli bilgiler sunmakta ve bu, çoklu sitokinleri ölçebilme yeteneğinin konjonktiva yüzeyindeki

inflamatuvar süreçlerin anlaşılmasında daha önemli hale geldi (111). Bizim çalışmamızda da sitokin düzeyleri değerlendirmesi üzerine planlanmış olup birden çok sitokin ile farklı mekanizmalar arasındaki ilişki gözlemlenmek istendi.

IL-4 AK'te önemli rol oynamaktadır. IL-4'ün Tip 1 hipersensitivitede önemli rol olan, başlıca Th2 tarafından üretilen sitokindir (67). Monosit ve eozinofilden zengin inflamasyonu tetikler, Th1 gelişimini inhibe eder (5, 76). IFN-Gamma çoğunlukla Th1 hücreler tarafından üretilir. Th2 kaynaklı sitokinleri inhibe ederek alerjik yanıtı baskılar. Atopik hastalık Th1'den Th2 profiline doğru kayan bir sitokin dengesizliği ile ilişkilidir. Bununla birlikte, iyileşme ile bu sitokin dengesizliği arasında ters ilişki olup olmadığı net değildir. Literatüre baktığımızda atopik kaynaklı hastalıklarla ilgili çalışmalarda Th1 ve Th2 aracılıklı mekanizmaların aynı anda değerlendirildiği mevcut çalışmalar vardır (67, 117, 118). Çalışmamızda IL-4 ve IFN-Gamma düzeylerini değerlendirmeyi tercih etmemizin sebebi AK'te konjonktivadaki inflamasyonu değerlendirirken hem Th2 kaynaklı hem de Th1 kaynaklı sitokinlerin düzeylerini aynı hasta grubunda karşılaştırıp, hastalık ve remisyon süreciyle ilişkilerini değerlendirmektir.

Eozinofiller, genel olarak alerjik hastalıkların inflamasyonunda anahtar rol oynar. Hedef organ ister akciğer ister göz olsun, geç alerjik yanıtta önemli bir hücresel bileşendir (90). Eozinofiller alerjik inflamasyonun geç fazında öne çıkar ve konjonktivaya infiltre olurlar. ECP, inflamatuvar süreçlerde yer alan eozinofil tarafından salgılanan bir proteindir (83). AK'li hastalarda gözyaşı ECP düzeylerinin ölçümü, uygulanan topikal tedavinin spesifik olarak eozinofil aktivasyonuna karşı etkinliğini belirlemede ve farklı ajanların etkinliğini karşılaştırmada kolay ve yararlı bir metot olabileceği ileri sürülmüştür (88-90). Bizim çalışmamızda da ECP düzeyi bakılarak eozinofilik infiltrasyonu kanıtlayıp tedavi ile ilişkisini incelemeyi planladık.

IL-10, inflamatuvar ve otoimmün patolojileri önlemede çok önemli bir role sahip bir anti-inflamatuvar sitokindir. İlk önce Th2 hücrelerinde üretimi tanımlandı. Th1, Th2, Th17, Treg vs. hücrelerinde de üretimi gösterilmiştir (79). Dentritik hücreler ve makrofajlar üzerinde hareket ederek Th1 tipi tepkilerin gelişimini inhibe eder, aynı zamanda Th2 hücresinin ve alerjik tepkilerin baskılanmasına da yol açar (118). IL-10'nun alerji ve astımla ilişkisinin incelendiği bir çalışmada, IL-10 alerjik hastalıkla

ilişkili birçok hücreyi ve efektör işlevi modüle ettiği ve akciğerlerde bağışıklık homeostazını doğal olarak düzenlemede bir rolü olduğu düşünülmekte ve IL-10 seviyeleri ile alerjik ve astımlı hastalığın şiddeti arasında ters bir ilişkisi olduğu belirtilmektedir (82). Akdiş ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada sağlıklı hem ve alerjik kişilerde belirli miktarlarda Th2 ve Treg bulunur ve bunların oranları, sağlıklı veya alerjik bir bağışıklık tepkisinin gelişimini belirler. Sağlıklı bireylerde IL-10 salgılayan Treg yüksek olup tam tersi alerjik bireylerde IL-4 salgılayan Th2 yüksek bulunmuştur (119). Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde alerji ile olan bu ilişkisi ve gözyaşıyla AK hastalarında IL-10 çalışmalarının az olması nedeniyle anti-inflamatuar bir sitokin olarak IL-10'u da çalışmaya karar verdik.

Gözyaşı örneklerinin toplanması için literatürde tercih edilen gözyaşı toplama yöntemleri incelendi. Gözyaşı toplama yöntemlerinin incelendiği çalışmalarda belirlenen gözyaşı sıvısı toplama yöntemlerinden en sık kullanılanları Schirmer şerit tekniği, mikro kapiller tüpler, cerrahi sünger, selüloz asetat filtre çubukları, spatulalar, cam çubuklar, poliüretan mikro süngerler, selüloz mikrocerrahi süngerlerdir (120, 121). Bunların içinde gözyaşı örnekleme için en yaygın kullanılan teknikler Schirmer şeritleri, cam mikro kapiller tüplerdir (102, 120). Schirmer şeritlerinin avantajları şunlardır: düşük fiyat, kolay bulunabilirlik ve kullanım kolaylığı. Schirmer şeritlerini kullanmanın dezavantajları ise, yeterli miktarda gözyaşı sıvısı elde etmedeki zorluk ve sıvının daha fazla kimyasal analiz için kullanılmasına izin veren ek yıkama ve çözme tamponlarının kullanılması ihtiyacıdır (102, 120, 122). Schirmer şeritleri ile kılcal tüp yöntemlerinin farklarının incelendiği çalışmalarda schirmer şeritlerinde yüksek gözyaşı akış hızları veya ekstraksiyon sırasında protein kaybı protein seviyelerini etkileyebilmektedir. Yine refleks uyarıya bağlı artmış gözyaşı akış hızı protein seviyelerinde azalmaya neden olabilir (104). Bizim çalışmamızda da schirmer şeritlerinin mevcut avantajları ve özellikle mikro kapiller tüplerin küçük çocuklarda numune toplanmasında hastanın uyumunu zorlaştırabileceği ve konjonktivanın travmatize olması ihtimali düşünülerek mikro kapiller tüp yerine Schirmer filtre kâğıdı ile numune toplanması tercih edildi. Çalışmada vaka grubunda 6 hastada, kontrol grubunda 5 hastada protein ölçümlerinde çok düşük miktarda protein düzeyi ölçülmesi nedeniyle ELISA kit protokolünde değerlendirmeye alınamamıştır. Total hasta popülasyonunun yaklaşık

%20'lik kısmının değerlendirme dışı kalması schirmer filtre kâğıdı yönteminin dezavantajlarındanadır.

Serum total IgE ve serum eozinofil düzeylerinin yüksek olması alerji kaynaklı hastalıkların varlığını kanıtlamada önemli bir tanı yöntemidir fakat her iki parametrenin de sensitivitesi düşüktür. Bu ölçümlerin normal düzeyleri alerjik hastalıkları dışlamamaktadır. Gözyaşı sitokin testleri ise yeni gelişmekte olan ve daha hala alerji üzerine yeni çalışmalar planlanan testlerdir. Literatürde gözyaşı sitokin düzeylerinin serum alerji testlerinden Total IgE ve eozinofil yüzdesi arasındaki korelasyonlarının değerlendirildiği çalışmalara rastlayamadık. Bizim çalışmamızda da bu ilişki değerlendirilip lokal ve sistemik ölçümler arasında anlamlı ilişki olup olmadığı ortaya konulmak istenmiştir.

Çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan hastaların bir kısmı MAK, bir kısmı da PAK tanısı aldı. Kontrol grubu atopi öyküsü “Kontrol grubu olgu formu” ile değerlendirilerek dışlandı. Hasta gruba 4 haftalık non-spesifik tedavi olarak sistemik desloratadin (antihistaminik) ve topikal olopatadin (antihistaminik / mast hücre stabilizatörü) verildi. Tedavi sonrasında hastalar kontrole çağrılarak muayeneleri yapıp klinik olarak AK semptom ve bulguları gerileyen hastalardan ikinci gözyaşı numunesi alındı.

Çalışmamızda vaka grubunun tedavi öncesi IL-4 düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı yüksekti. Uchio ve ark. yaptığı çalışmada kronik AK olan hastaların gözyaşı IL-4 değerleri kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır (114). Bu sonuç, mevcut Tip 1 IgE aracılı alerjik inflamasyonun klinik özellikleri ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Vaka grubunun tedavi sonrası IL-4 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksekti. Bu durum, hastaların tedavi ile kliniklerinin tamamen düzeliş asemptomatik olmalarına rağmen konjonktivada devam eden subklinik bir inflamasyonun olabileceğini düşündürdü. Mimura ve ark. yaptığı bir çalışmada Alerjik Rinit (AR) hastalarının herhangi bir göz semptomu olmamasına rağmen kontrol grubundan yüksek IL-4 sonuçları olması subklinik inflamasyonun olabileceğini düşündürmektedir (106). Yine aynı çalışmada ARK hastalarının IL-4 düzeyleri kontrol grubundan yüksek olarak tespit edilip alerjik inflamasyonun Tip 1 IgE aracılı inflamasyonun klinik özellikleri ile ilişkilendirilmiştir (106). Vaka grubunun tedavi öncesi ile tedavi sonrası IL-4 düzeyleri arasında anlamlı ($p>0.05$)

bir fark bulunmamaktadır. Fırat Üniversitesinde yapılan bir çalışmada AK'li hastalarda tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol grubu ile karşılaştırmalı IL-4 düzeyleri değerlendirildiğinde bizim çalışmamızdan farklı olarak tedavi sonrası sonuçlar tedavi öncesine göre anlamlı düşüş tespit edilmiş olup kontrol grubunun vaka grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası karşılaştırmalarında bizim çalışmamızla benzer sonuçlar göstermektedir (124).

Çalışmamızda IFN-Gamma'nın vaka grubunda tedavi sonrası düzeyi hem tedavi öncesinden hem de kontrol grubundan anlamlı ($p<0.05$) yükseklik gözlenmiştir. Tedavi öncesi değerler ile kontrol grubu arasında anlamlı ($p>0.05$) fark görülmemiştir. Bu sonuçlar, alerjik inflamasyonun Th1 kaynaklı sitokinleri baskılamış olduğunu ve Th1 kaynaklı IFN-Gamma üzerindeki inhibitör rol oynayan Th2 orjinli alerjik inflamasyon, tedavi ile baskılandığı zaman IFN-Gamma düzeylerinin yükseldiğini desteklemektedir. Smart ve ark. astımlı hastalarda yaptığı çalışmada IFN-Gamma düzeylerinin şiddetli astımı olan hastalarda astımı remisyonunda olanlara göre daha düşük ölçülmüştür (116). Noma ve ark. yaptığı çalışmada astımlı hastaların T lenfositleri dermatophagoides farinae antijeni ile indüklendiğinde IFN-Gamma seviyelerinin remisyonundaki hastalarda aktif astımlı hastalardan daha yüksek olduğu, yine remisyonundaki hastaların kontrol grubuna göre daha yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir (117). Yine bizim çalışmamıza benzer sonuçları olan Uchio ve ark. yaptığı çalışmada AK'li (AKK, VKK, AK) hastaların gözyaşı IFN-Gamma değerlerinin hem kendi aralarında hem de kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmemiştir (114). Yan ve ark. yaptığı çalışma esnasında MAK (polen sezonundaki) ve PAK hastalarının, kontrol ve MAK (polen sezonu dışındaki) grubuna göre anlamlı düşük olduğu görülmüştür (125).

Çalışmamızda vaka grubunun tedavi öncesi ECP düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı ($p<0.05$) yüksekti. Vaka grubunun tedavi sonrası ECP düzeyleri, kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) olarak yüksekti. Vaka grubunun tedavi öncesi ile tedavi sonrası ECP düzeyleri arasında anlamlı ($p>0.05$) bir fark bulunmamaktadır. Montan ve ark. ile Shoji ve ark. yaptıkları çalışmalarda farklı AK hastalarının ECP düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.05$) yüksek tespit etmişlerdir (90, 126). Marmara Üniversitesinde ECP düzeyine lodoksamid tedavisinin etkisinin incelendiği bir çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak tedavi öncesi ile tedavi

sonrası arasında anlamlı yüksek görülmüştür. Yine aynı çalışmada da tedavi öncesi ve tedavi sonrası sağlıklı gruptan daha yüksek ECP değerleri gözlenmiştir (88). Mevcut yapılmış çalışmalar ve bizim çalışmamız, AK olan hastalarda lokal eozinofil aktivasyonuna dair kanıtlar sunmaktadır. Leonardi ve ark. yaptığı bir çalışmada VKK'lı hastalarda farklı iki mast hücre stabilizatörüne karşı ECP düzeyleri kıyaslandığında birinde anlamlı düşüş görülürken diğerinde anlamlı fark gözlenmeyip bazı olgularda ECP düzeylerinde artış tespit edilmiş ve yine benzer başka bir çalışmada iki ilaçtan birinde ECP düşüş gösterirken diğerinde yükselme görülmektedir (127, 128). Tedavi sonrası sonuçların kontrol grubuna göre yüksek olması yine ECP'de de devam eden bir subklinik inflamasyonun olabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda IL-10 düzeyleri vaka grubunda tedavi öncesi ve sonrası kıyaslandığında anlamlı fark ($p>0.05$) gözlenmemiştir. Kontrol grubunun hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası sonuçlarla kıyaslandığında anlamlı ($p>0.05$) fark gözlenmemiştir.

Çalışmamızda hastaların gözyaşından lokal olarak ölçülen sitokin değerlerinin serum Eozinofil yüzdesi ve Total IgE ile ilişkisi değerlendirildiğinde istatistiksel olarak IL-4, ECP, IL-10 ve IFN-Gamma ile serum parametreleri arasında anlamlı korelasyon gözlenmemiştir.

6. SONUÇLAR

1. Vaka grubunun tedavi öncesi ECP değerlerinin kontrol grubundan anlamlı yüksek olup AK hastalarında eozinofil kaynaklı inflamasyonu desteklemektedir.
2. Vaka grubunun tedavi sonrası ECP değerlerinin kontrol grubundan anlamlı yüksek olması geç faz yanıtta ve kronik inflamasyondan sorumlu eozinofillerin tedaviyle tamamen baskılanamayıp klinik düzelme olmasına rağmen hala subklinik inflamasyonun devam ettiğini düşündürmektedir.
3. Vaka grubunda tedavi öncesi ile tedavi sonrasında ECP değerleri arasında anlamlı fark olmaması ECP yanıtının tedaviye yanıtı değerlendirmede yetersiz olup bu konuda daha çok veriye ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.
4. Vaka grubunun tedavi öncesi IL-4 değerlerinin kontrol grubundan anlamlı yüksek olup tip 1 IgE aracılı alerjik inflamasyonun klinik özellikleriyle ilişkili olduğunu desteklemektedir.
5. Vaka grubunun tedavi sonrası IL-4 değerlerinin kontrol grubundan anlamlı yüksek olması tedaviyle tamamen baskılanamayıp klinik düzelme olmasına rağmen hala subklinik inflamasyonun devam ettiğini düşündürmektedir.
6. Vaka grubunda tedavi öncesi ile tedavi sonrasında IL-4 değerleri arasında anlamlı fark olmaması IL-4 yanıtının tedaviye yanıtı değerlendirmede yetersiz olup bu konuda daha çok veriye ihtiyaç olduğunu düşündürmektedir.
7. Vaka grubunda IFN-Gamma'nın tedavi sonrasında tedavi öncesine göre yüksek olması alerjik inflamasyonun Th1 kaynaklı sitokinleri baskıladığını ve IFN-Gamma üzerindeki inhibitör rol oynayan Th2 orjinli alerjik inflamasyon, tedavi ile baskılandığı zaman IFN-Gamma düzeylerinin yükseldiğini desteklemektedir.
8. Vaka grubu tedavi öncesi IFN-Gamma değerleri ile kontrol grubu arasında anlamlı fark gözlenmeyip IFN-Gamma'nın alerjiyi göstermede etkili bir sitokin olmadığını düşündürmektedir.
9. IL-10 için vaka grubunda tedavi öncesi ve sonrası ile vaka grubu ve kontrol grupları arasında herhangi bir anlamlı değerlendirme yapılamamıştır.

10. Vaka grubunun sitokin değerleri ile serumdan bakılan eozinofil ve total IgE değerleri arasında herhangi bir klinik olarak anlamlı korelasyon gözlenmedi.
11. Çalışma popülasyonları arasında sitokin düzeylerinde (ECP, IL-4, IFN-Gamma, IL-10) kızlar ve erkekler arasında anlamlı bir fark gözlenmedi.

Bu çalışmada, gözyaşı seviyelerini belirleyerek gözyaşı sitokin testinin klinik faydasını, gözyaşı sitokin testlerinin AK teşhisinde kullanılabilirliğini, sitokin testlerinin tedavinin terapötik yanıtını değerlendirmede kullanılabilirliğini, lokal sitokin değerlerinin serumdan bakılan alerji testleri ile ilişkisini araştırdık.



KAYNAKLAR

1. **Vazirani, J., Shukla, S., Chhawchharia, R., Sahu, S., Gokhale, N., & Basu, S.** (2020). Allergic conjunctivitis in children: current understanding and future perspectives. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 20(5), 507–515.
2. **La Rosa, M., Lionetti, E., Reibaldi, M., Russo, A., Longo, A., Leonardi, S., Tomarchio, S., Avitabile, T., & Reibaldi, A.** (2013). Allergic conjunctivitis: a comprehensive review of the literature. *Italian journal of pediatrics*, 39, 18.
3. **Abbas, M., Moussa, M., & Akel, H.** (2022). Type I Hypersensitivity Reaction. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
4. **Salazar, A., Casanova-Méndez, I., Pacheco-Quito, M., Velázquez-Soto, H., Ayala-Balboa, J., Graue-Hernández, E. O., Serafín-López, J., & Jiménez-Martínez, M. C.** (2019). Low Expression of IL-10 in Circulating Bregs and Inverted IL-10/TNF- α Ratio in Tears of Patients with Perennial Allergic Conjunctivitis: A Preliminary Study. *International journal of molecular sciences*, 20(5), 1035.
5. **İnci Güner, Dilek Özmen, Oya Bayındır.** (1997). Sitokinler, Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 1997;17(2):65-74.
6. **Saxena, A., Khosraviani, S., Noel, S., Mohan, D., Donner, T., & Hamad, A. R.** (2015). Interleukin-10 paradox: A potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy. *Cytokine*, 74(1), 27–34.
7. **Shoji, J., Kitazawa, M., Inada, N., Sawa, M., Ono, T., Kawamura, M., & Kato, H.** (2003). Efficacy of tear eosinophil cationic protein level measurement using filter paper for diagnosing allergic conjunctival disorders. *Japanese journal of ophthalmology*, 47(1), 64–68.
8. **Teixeira, L. K., Fonseca, B. P., Barboza, B. A., & Viola, J. P.** (2005). The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100 Suppl 1, 137–144.
9. **Leonardi, A., Curnow, S. J., Zhan, H., & Calder, V. L.** (2006). Multiple cytokines in human tear specimens in seasonal and chronic allergic eye disease and in conjunctival fibroblast cultures. *Clinical and experimental allergy*:

journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 36(6), 777–784.

10. **Azari, A. A., & Barney, N. P.** (2013). Conjunctivitis: a systematic review of diagnosis and treatment. *JAMA*, 310(16), 1721–1729.
11. **Richards, A., & Guzman-Cottrill, J. A.** (2010). Conjunctivitis. *Pediatrics in review*, 31(5), 196–208.
12. **Alfonso, S. A., Fawley, J. D., & Alexa Lu, X.** (2015). Conjunctivitis. Primary care, 42(3), 325–345.
13. **Hovding G.** (2008). Acute bacterial conjunctivitis. *Acta ophthalmologica*, 86(1), 5–17.
14. **Allergic conjunctivitis: Clinical manifestations and diagnosis.** (2022). Retrieved August 6, 2022, from <https://www.uptodate.com/contents/allergic-conjunctivitis-clinical-manifestations-and-diagnosis>.
15. **Villegas, B. V., & Benitez-Del-Castillo, J. M.** (2021). Current Knowledge in Allergic Conjunctivitis. *Turkish journal of ophthalmology*, 51(1), 45–54.
16. **Miyazaki, D., Fukagawa, K., Okamoto, S., Fukushima, A., Uchio, E., Ebihara, N., Shoji, J., Namba, K., & Shimizu, Y.** (2020). Epidemiological aspects of allergic conjunctivitis. *Allergology international: official journal of the Japanese Society of Allergology*, 69(4), 487–495.
17. **Singh, K., Axelrod, S., & Bielory, L.** (2010). The epidemiology of ocular and nasal allergy in the United States, 1988-1994. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 126(4), 778–783.e6.
18. **Kusunoki, T., Morimoto, T., Nishikomori, R., Yasumi, T., Heike, T., Fujii, T., & Nakahata, T.** (2009). Changing prevalence and severity of childhood allergic diseases in kyoto, Japan, from 1996 to 2006. *Allergology international: official journal of the Japanese Society of Allergology*, 58(4), 543–548.
19. **Mallol, J., Crane, J., von Mutius, E., Odhiambo, J., Keil, U., Stewart, A., & ISAAC Phase Three Study Group.** (2013). The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three: a global synthesis. *Allergologia et immunopathologia*, 41(2), 73–85.
20. **Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study**

- of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. (1998). *Lancet (London, England)*, 351(9111), 1225–1232.
21. Asher, M. I., Keil, U., Anderson, H. R., Beasley, R., Crane, J., Martinez, F., Mitchell, E. A., Pearce, N., Sibbald, B., & Stewart, A. W. (1995). International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *The European respiratory journal*, 8(3), 483–491.
 22. Nimmagadda, S. R., & Evans, R., 3rd (1999). Allergy: etiology and epidemiology. *Pediatrics in review*, 20(4), 111–116.
 23. Grau M, Mardones P, Donoso G, et al. (2018). Principales aeroalérgenos en rinoconjuntivitis alérgica en la ciudad de Temuco, Chile [Aeroallergens causing rhinoconjunctivitis]. *Rev Med Chil*. 146(9):994-1000.
 24. Das, A. V., Donthineni, P. R., Sai Prashanthi, G., & Basu, S. (2019). Allergic eye disease in children and adolescents seeking eye care in India: Electronic medical records driven big data analytics report II. *The ocular surface*, 17(4), 683–689.
 25. Jalbert, I., & Golebiowski, B. (2015). Environmental aeroallergens and allergic rhino-conjunctivitis. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 15(5), 476–481.
 26. Erbas, B., Akram, M., Dharmage, S. C., Tham, R., Dennekamp, M., Newbigin, E., Taylor, P., Tang, M. L., & Abramson, M. J. (2012). The role of seasonal grass pollen on childhood asthma emergency department presentations. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 42(5), 799–805.
 27. Lam, A., Wong, G. W., Poon, C. M., & Lee, S. S. (2014). A GIS-based assessment of environmental influences on allergy development in children. *Asia-Pacific journal of public health*, 26(6), 575–587.
 28. Leonardi, A., Bogacka, E., Fauquert, J. L., Kowalski, M. L., Groblewska, A., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Doan, S., Marmouz, F., Demoly, P., & Delgado, L. (2012). Ocular allergy: recognizing and diagnosing hypersensitivity disorders of the ocular surface. *Allergy*, 67(11), 1327–1337.
 29. Bielory, L., & Friedlaender, M. H. (2008). Allergic conjunctivitis. *Immunology and allergy clinics of North America*, 28(1), 43–vi.

30. **Schröder, K., Finis, D., Meller, S., Wagenmann, M., Geerling, G., & Pleyer, U.** (2017). Saisonale allergische Konjunktivitis [Seasonal allergic conjunctivitis]. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 114(11), 1053–1065.
31. **Gour, N., & Wills-Karp, M.** (2015). IL-4 and IL-13 signaling in allergic airway disease. *Cytokine*, 75(1), 68–78.
32. **Hu, Y., Matsumoto, Y., Dogru, M., Okada, N., Igarashi, A., Fukagawa, K., Tsubota, K., & Fujishima, H.** (2007). The differences of tear function and ocular surface findings in patients with atopic keratoconjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis. *Allergy*, 62(8), 917–925.
33. **Abelson, M. B., Smith, L., & Chapin, M.** (2003). Ocular allergic disease: mechanisms, disease sub-types, treatment. *The ocular surface*, 1(3), 127–149.
34. **Bonini S.** (2004). Atopic keratoconjunctivitis. *Allergy*, 59 Suppl 78, 71–73.
35. **Atopic keratoconjunctivitis.** (2022). Retrieved August 11, 2022, from <https://www.uptodate.com/contents/atopic-keratoconjunctivitis>.
36. **Pas-Wyroślak, A., Wiszniewska, M., Kręcisz, B., Swierczyńska-Machura, D., Palczyński, C., & Walusiak-Skorupa, J.** (2012). Contact blepharoconjunctivitis due to black henna--a case report. *International journal of occupational medicine and environmental health*, 25(2), 196–199.
37. **Hodges, M. G., & Keane-Myers, A. M.** (2007). Classification of ocular allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 7(5), 424–428.
38. **Keane-Myers A.** (2001). The pathogenesis of allergic conjunctivitis. *Current allergy and asthma reports*, 1(6), 550–557.
39. **Burcu, Ayşe ve Nurözler Tabakcı, Burcu.** (2016). Allerji ve Kuru Göz. *MN Oftalmoloji Kuru Göz Özel Sayısı*. 2016, Cilt 23.
40. **Bielory, B. P., O'Brien, T. P., & Bielory, L.** (2012). Management of seasonal allergic conjunctivitis: guide to therapy. *Acta ophthalmologica*, 90(5), 399–407.
41. **Leonardi, A., Radice, M., Fregona, I. A., Plebani, M., Abatangelo, G., & Secchi, A. G.** (1999). Histamine effects on conjunctival fibroblasts from patients with vernal conjunctivitis. *Experimental eye research*, 68(6), 739–746.
42. **Dupuis, P., Prokopich, C. L., Hynes, A., & Kim, H.** (2020). A contemporary look at allergic conjunctivitis. *Allergy, asthma, and clinical immunology*:

- official journal of the Canadian Society of Allergy and Clinical Immunology, 16, 5.
43. **Tefferi A.** (2005). Blood eosinophilia: a new paradigm in disease classification, diagnosis, and treatment. *Mayo Clinic proceedings*, 80(1), 75–83.
 44. **Bunyavanich S, Kattan J, Sicherer SH.** (2020). Diagnosis of Allergic Disease. In: Kliegman RM, Blum NJ, Shah SS. et al. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 21st ed. Saunders Elsevier (p.1176-1177).
 45. **Akan, A.** (2016). Alerji Testleri. *Aslan A, Kiper N, editörler. Çocuk Göğüs Hastalıklarında Tanı Yöntemleri, 1*, 65-77.
 46. **Orhan F., Karakaş T.** (2007). Allerjik Hastalıklarda Tanı. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci*, 3(9):5-11.
 47. **Garcia-Marcos, L., Sanchez-Solis, M., Martinez-Torres, A. E., Lucas Moreno, J. M., & Hernando Sastre, V.** (2007). Phadiatop compared to skin-prick test as a tool for diagnosing atopy in epidemiological studies in schoolchildren. *Pediatric allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*, 18(3), 240–244.
 48. **Hamilton, R. G., & Franklin Adkinson, N., Jr** (2004). In vitro assays for the diagnosis of IgE-mediated disorders. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 114(2), 213–226.
 49. **NACAROĞLU, Hikmet Tekin.** (2021). Alerji Testleri Nedir? Ne Değildir?.
 50. **Kakli, H. A., & Riley, T. D.** (2016). Allergic Rhinitis. *Primary care*, 43(3), 465–475.
 51. **Heinzerling, L., Mari, A., Bergmann, K. C., Bresciani, M., Burbach, G., Darsow, U., Durham, S., Fokkens, W., Gjomarkaj, M., Haahtela, T., Bom, A. T., Wöhrle, S., Maibach, H., & Lockey, R.** (2013). The skin prick test-European standards. *Clinical and translational allergy*, 3(1), 3.
 52. **Demoly, P.** (2003). In vivo methods for study of allergy. Skin tests, techniques, and interpretation. *Allergy, principles and practice*.
 53. **Tripathi, Anju & Patterson, Roy.** (2001). Clinical interpretation of skin test results. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 21(2), 291-300.
 54. **Bernstein, I. L., Li, J. T., Bernstein, D. I., Hamilton, R., Spector, S. L., Tan, R., Sicherer, S., Golden, D. B., Khan, D. A., Nicklas, R. A., Portnoy,**

- J. M., Blessing-Moore, J., Cox, L., Lang, D. M., Oppenheimer, J., Randolph, C. C., Schuller, D. E., Tilles, S. A., Wallace, D. V., Levetin, E., ... American College of Allergy, Asthma and Immunology.** (2008). Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*, 100(3 Suppl 3), S1–S148.
55. **Esch, R. E.** (2001). Selection of Allergen Products for Skin Testing. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 21(2), 251–261.
56. **Fauquert, J. L., Jedrzejczak-Czechowicz, M., Rondon, C., Calder, V., Silva, D., Kvenshagen, B. K., Callebaut, I., Allegri, P., Santos, N., Doan, S., Perez Formigo, D., Chiambaretta, F., Delgado, L., Leonardi, A., & Interest Group on Ocular Allergy (IGOA) from the European Academy of Allergy and Clinical Immunology.** (2017). Conjunctival allergen provocation test: guidelines for daily practice. *Allergy*, 72(1), 43–54.
57. **Leonardi, A., Doan, S., Fauquert, J. L., Bozkurt, B., Allegri, P., Marmouz, F., Rondon, C., Jedrzejczak, M., Hellings, P., Delgado, L., & Calder, V.** (2017). Diagnostic tools in ocular allergy. *Allergy*, 72(10), 1485–1498.
58. **GÜLEN, Figen, ULUSOY, Ezgi.** (2017). Alerjik Konjonktivit. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*. Mart- Nisan 2017, Cilt 9, 2.
59. **Friedlaender M. H.** (1993). Conjunctivitis of allergic origin: clinical presentation and differential diagnosis. *Survey of ophthalmology*, 38 Suppl, 105–114.
60. **Donshik P. C.** (1988). Allergic conjunctivitis. *International ophthalmology clinics*, 28(4), 294–302.
61. **Buckley R. J.** (1988). Vernal keratoconjunctivitis. *International ophthalmology clinics*, 28(4), 303–308.
62. **Berger, W. E., Granet, D. B., & Kabat, A. G.** (2017). Diagnosis and management of allergic conjunctivitis in pediatric patients. *Allergy and asthma proceedings*, 38(1), 16–27.
63. **Tuncer A, Yuksel H.** (2012). Allerjik rinit tanı ve tedavi rehberi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi.

64. **Nurmatov, U., van Schayck, C. P., Hurwitz, B., & Sheikh, A.** (2012). House dust mite avoidance measures for perennial allergic rhinitis: an updated Cochrane systematic review. *Allergy*, *67*(2), 158–165.
65. **Roberts, G., Pfaar, O., Akdis, C. A., Ansotegui, I. J., Durham, S. R., Gerth van Wijk, R., Halken, S., Larenas-Linnemann, D., Pawankar, R., Pitsios, C., Sheikh, A., Worm, M., Arasi, S., Calderon, M. A., Cingi, C., Dhimi, S., Fauquert, J. L., Hamelmann, E., Hellings, P., Jacobsen, L., ... Muraro, A.** (2018). EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: Allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy*, *73*(4), 765–798.
66. **Calderon, M. A., Penagos, M., Sheikh, A., Canonica, G. W., & Durham, S.** (2011). Sublingual immunotherapy for treating allergic conjunctivitis. *The Cochrane database of systematic reviews*, (7), CD007685.
67. **Abbas, A. K., Murphy, K. M., & Sher, A.** (1996). Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, *383*(6603), 787–793.
68. **Szabo, S. J., Sullivan, B. M., Peng, S. L., & Glimcher, L. H.** (2003). Molecular mechanisms regulating Th1 immune responses. *Annual review of immunology*, *21*, 713–758.
69. **Lighvani, A. A., Frucht, D. M., Jankovic, D., Yamane, H., Aliberti, J., Hissong, B. D., Nguyen, B. V., Gadina, M., Sher, A., Paul, W. E., & O'Shea, J. J.** (2001). T-bet is rapidly induced by interferon-gamma in lymphoid and myeloid cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(26), 15137–15142.
70. **Dow, S. W., Schwarze, J., Heath, T. D., Potter, T. A., & Gelfand, E. W.** (1999). Systemic and local interferon gamma gene delivery to the lungs for treatment of allergen-induced airway hyperresponsiveness in mice. *Human gene therapy*, *10*(12), 1905–1914.
71. **Frandsen, P., Tkaczyk, C., Oskéritsian, C., Lapeyre, J., Peronet, R., David, B., Guillet, J. G., & Mécheri, S.** (1995). Presentation of soluble antigens by mast cells: upregulation by interleukin-4 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and downregulation by interferon-gamma. *Cellular immunology*, *163*(1), 37–46.
72. **Lamkhioued, B., Abdelilah, S. G., Hamid, Q., Mansour, N., Delespesse, G., & Renzi, P. M.** (2003). The CCR3 receptor is involved in eosinophil

- differentiation and is up regulated by Th2 cytokines in CD34+ progenitor cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 170(1), 537–547.
73. **Boehm, U., Klamp, T., Groot, M., & Howard, J. C.** (1997). Cellular responses to interferon-gamma. *Annual review of immunology*, 15, 749–795.
 74. **Banchereau J.** (1990). Interleukin 4. *International journal of radiation applications and instrumentation. Part B, Nuclear medicine and biology*, 17(7), 619–623.
 75. **Jansen, J. H., Fibbe, W. E., Willemze, R., & Kluin-Nelemans, J. C.** (1990). Interleukin-4. *Blut*, 60(5), 269–274.
 76. **Choi, P., & Reiser, H.** (1998). IL-4: role in disease and regulation of production. *Clinical and experimental immunology*, 113(3), 317–319.
 77. **Chatila T. A.** (2004). Interleukin-4 receptor signaling pathways in asthma pathogenesis. *Trends in molecular medicine*, 10(10), 493–499.
 78. **Enelow, R., Baramki, D. F., & Borish, L. C.** (2004). Inhibition of effector T lymphocytes mediated through antagonism of IL-4. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 113(3), 560–562.
 79. **Saraiva, M., & O’Garra, A.** (2010). The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nature Reviews Immunology*, 10(3), 170–181.
 80. **Urry, Z., Xystrakis, E., & Hawrylowicz, C. M.** (2006). Interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Current allergy and asthma reports*, 6(5), 363–371.
 81. **Chung F.** (2001). Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-gamma. *Mediators of inflammation*, 10(2), 51–59.
 82. **Hawrylowicz, C. M., & O’Garra, A.** (2005). Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nature Reviews Immunology*, 5(4), 271–283.
 83. **De Oliveira, P. C., de Lima, P. O., Oliveira, D. T., & Pereira, M. C.** (2012). Eosinophil cationic protein: overview of biological and genetic features. *DNA and cell biology*, 31(9), 1442–1446.
 84. **Topic, R. Z., & Dodig, S.** (2011). Eosinophil cationic protein--current concepts and controversies. *Biochemia medica*, 21(2), 111–121.

85. **Takafuji, S., Tadokoro, K., & Ito, K.** (1996). Effects of interleukin (IL)-3 and IL-5 on human eosinophil degranulation induced by complement components C3a and C5a. *Allergy*, 51(8), 563–568.
86. **Venge, P., Byström, J., Carlson, M., Håkansson, L., Karawacjzyk, M., Peterson, C., Sevéus, L., & Trulsson, A.** (1999). Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 29(9), 1172–1186.
87. **De Monchy, J. G., Kauffman, H. F., Venge, P., Koëter, G. H., Jansen, H. M., Sluiter, H. J., & De Vries, K.** (1985). Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. *The American review of respiratory disease*, 131(3), 373–376.
88. **Acar, Nur.** (2000). Aktif Mevsimsel Alerjik Konjonktivitte Gözyaşı ve Serum Eozinofilik Katyonik Protein Düzeyleri ve Topikal %0.1 Lodoksamid Tedavisinin Eozinofilik Katyonik Protein Düzeylerine Etkisi (Uzmanlık Tezi, Marmara Üniversitesi).
89. **Leonardi, A., Borghesan, F., Faggian, D., Depaoli, M., Secchi, A. G., & Plebani, M.** (2000). Tear and serum soluble leukocyte activation markers in conjunctival allergic diseases. *American journal of ophthalmology*, 129(2), 151–158.
90. **Montan, P. G., & van Hage-Hamsten, M.** (1996). Eosinophil cationic protein in tears in allergic conjunctivitis. *The British journal of ophthalmology*, 80(6), 556–560.
91. **Bacon, A. S., Tuft, S. J., Metz, D. M., McGill, J. I., Buckley, R. J., Baddeley, S., & Lightman, S. L.** (1993). The origin of keratopathy in chronic allergic eye disease: a histopathological study. *Eye (London, England)*, 7 (Pt 3 Suppl), 21–25.
92. **Bystrom, J., Amin, K., & Bishop-Bailey, D.** (2011). Analysing the eosinophil cationic protein--a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respiratory research*, 12(1), 10.
93. **Muromoto, K., Shoji, J., Inada, N., Sawa, M., & Kato, H.** (2006). Tear eosinophil cationic protein measurement in patients with seasonal allergic conjunctivitis. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 110(1), 13-18.

94. **Kruger, N. J.** (2009). The Bradford method for protein quantitation. *The protein protocols handbook*, 17-24.
95. **Monzón, S., Arrondo, E., Bartra, J., Torres, F., Basagaña, M., Del Mar San Miguel, M., Alonso, R., & Cisteró-Bahima, A.** (2009). Conjunctivitis and Total IgE in Lacrimal Fluid: Lacrytest Screening. *Journal of allergy*, 2009, 518903.
96. **Mimura, T., Usui, T., Mori, M., Funatsu, H., Noma, H., Yamamoto, H., ... Amano, S.** (2010). Relationship between Total Tear and Serum IgE in Allergic Conjunctivitis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 154(4), 349–352.
97. **Smith, A. F., Pitt, A. D., Rodriguez, A. E., Alio, J. L., Marti, N., Teus, M., Guillen, S., Bataille, L., & Barnes, J. R.** (2005). The economic and quality of life impact of seasonal allergic conjunctivitis in a Spanish setting. *Ophthalmic epidemiology*, 12(4), 233–242.
98. **Palmares, J., Delgado, L., Cidade, M., Quadrado, M. J., & Filipe, H. P.** (2010). Allergic Conjunctivitis: A National Cross-Sectional Study of Clinical Characteristics and Quality of Life. *European Journal of Ophthalmology*, 20(2), 257–264.
99. **Patel, N., Venkateswaran, N., Wang, Z., & Galor, A.** (2018). Ocular involvement in atopic disease: a review. *Current opinion in ophthalmology*, 29(6), 576–581.
100. **Ibáñez, M. D., & Garde, J. M.** (2009). Allergy in patients under fourteen years of age in *Alergológica 2005*. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*, 19 Suppl 2, 61–68.
101. **De Souza, G. A., Godoy, L. M., & Mann, M.** (2006). Identification of 491 proteins in the tear fluid proteome reveals a large number of proteases and protease inhibitors. *Genome biology*, 7(8), R72.
102. **Posa, A., Bräuer, L., Schicht, M., Garreis, F., Beileke, S., & Paulsen, F.** (2013). Schirmer strip vs. capillary tube method: non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*, 195(2), 137–142.

103. **Mircheff A. K.** (1989). Lacrimal fluid and electrolyte secretion: a review. *Current eye research*, 8(6), 607–617.
104. **Bachhuber, F., Huss, A., Senel, M., & Tumani, H.** (2021). Diagnostic biomarkers in tear fluid: from sampling to preanalytical processing. *Scientific reports*, 11(1), 10064.
105. **Tai, E. L. M., Loong, L. J., Madhusudhan, P., Ramli, R. R., Che Maraina, C. H., & Hussein, A.** (2019). Tear cytokine levels in allergic rhinitis without ocular symptoms. *Canadian journal of ophthalmology. Journal canadien d'ophtalmologie*, 54(5), 635–639.
106. **Mimura, T., Yamagami, S., Kamei, Y., Goto, M., & Matsubara, M.** (2013). Specific IgE in tear fluid and features of allergic conjunctivitis. *Current eye research*, 38(9), 917–925.
107. **Shoji, J., Aso, H., & Inada, N.** (2017). Clinical Usefulness of Simultaneous Measurement of the Tear Levels of CCL17, CCL24, and IL-16 for the Biomarkers of Allergic Conjunctival Disorders. *Current eye research*, 42(5), 677–684.
108. **Lee, J. H., Min, K., Kim, S. K., Kim, E. K., & Kim, T. I.** (2014). Inflammatory cytokine and osmolarity changes in the tears of dry eye patients treated with topical 1% methylprednisolone. *Yonsei medical journal*, 55(1), 203–208.
109. **Huang, D., Xu, N., Song, Y., Wang, P., & Yang, H.** (2012). Inflammatory cytokine profiles in the tears of thyroid-associated ophthalmopathy. *Graefe's archive for clinical and experimental. ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 250(4), 619–625.
110. **Mimura, T., Usui, T., Yamagami, S., Miyai, T., & Amano, S.** (2012). Relation Between Total Tear IgE and Severity of Acute Seasonal Allergic Conjunctivitis. *Current Eye Research*, 37(10), 864–870.
111. **Cook, E. B.** (2004). Tear cytokines in acute and chronic ocular allergic inflammation. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 4(5), 441–445.

112. **Fujishima, H., Takeuchi, T., Shinozaki, N., Saito, I., & Tsubota, K.** (1995). Measurement of IL-4 in tears of patients with seasonal allergic conjunctivitis and vernal keratoconjunctivitis. *Clinical and experimental immunology*, 102(2), 395–398.
113. **Vesaluoma, M., Rosenberg, M. E., Teppo, A., Grönhagen-Riska, C., Haahtela, T., & Tervo, T.** (1999). Tumour necrosis factor alpha (TNFalpha) in tears of atopic patients after conjunctival allergen challenge. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 29(4), 537–542.
114. **Uchio, E., Ono, S. Y., Ikezawa, Z., & Ohno, S.** (2000). Tear levels of interferon-gamma, interleukin (IL) -2, IL-4 and IL-5 in patients with vernal keratoconjunctivitis,. atopic keratoconjunctivitis and allergic conjunctivitis. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*, 30(1), 103–109. .
115. **Leonardi AA, Curnow JS, Calder VL.** (2004). Multiple cytokine evaluation in tears of allergic conjunctivitis patients by multi-cytokine bead assay [abstract]. *Invest Ophthalmol Vis Sci* ; 45(13), 625.
116. **Smart, J. M., Horak, E., Kemp, A. S., Robertson, C. F., & Tang, M. L. K.** (2002). Polyclonal and allergen-induced cytokine responses in adults with asthma: Resolution of asthma is associated with normalization of IFN- γ responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 110(3), 450–456.
117. **Noma, T., Yoshizawa, I., Kou, K., Nakajima, T., Kawano, Y., Itoh, M., ... Yata, J.** (1995). Pattern of Cytokine Production by T Cells from Adolescents with Asthma in Remission, after Stimulation with Dermatophagoides farinae Antigen. *Pediatric Research*, 38(2), 187–193.
118. **Leonardi, A., Fregona, I. A., Plebani, M., Secchi, A. G., & Calder, V. L.** (2006). Th1- and Th2-type cytokines in chronic ocular allergy. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 244(10), 1240–1245.

119. **Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A.** (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*, 19, 683–765.
120. **Akdis, M., Verhagen, J., Taylor, A., Karamloo, F., Karagiannidis, C., Cramer, R., Thunberg, S., Deniz, G., Valenta, R., Fiebig, H., Kegel, C., Disch, R., Schmidt-Weber, C. B., Blaser, K., & Akdis, C. A.** (2004). Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *The Journal of experimental medicine*, 199(11), 1567–1575.
121. **Pieczynski, J., Szulc, U., Harazna, J., Szulc, A., & Kiewisz, J.** (2021). Tear fluid collection methods: Review of current techniques. *European Journal of Ophthalmology*, 112067212199892.
122. **Saijyothi, A. V., Angayarkanni, N., Syama, C., Utpal, T., Shweta, A., Bhaskar, S., Geetha, I. K., Vinay, P. S., Thennarasu, M., Sivakumar, R. M., & Prema, P.** (2010). Two dimensional electrophoretic analysis of human tears: collection method in dry eye syndrome. *Electrophoresis*, 31(20), 3420–3427.
123. **Georgakopoulos, C. D., Lamari, F. N., Karathanasopoulou, I. N., Gartaganis, V. S., Pharmakakis, N. M., & Karamanos, N. K.** (2010). Tear analysis of ascorbic acid, uric acid and malondialdehyde with capillary electrophoresis. *Biomedical chromatography : BMC*, 24(8), 852–857.
124. **Ulaş F.,** (2003). Olopatadin oftalmik solüsyonun mevsimsel alerjik konjonktivit kliniği ve gözyaşı IL-4 ile IL-5 düzeyleri üzerine etkisi (Uzmanlık tezi, Fırat Üniversitesi).
125. **Yan, A., Luo, G., Zhou, Z., Hang, W., & Qin, D.** (2018). Tear osteopontin level and its relationship with local Th1/Th2/Th17/Treg cytokines in children with allergic conjunctivitis. *Allergologia et Immunopathologia*, 46(2), 144–148.
126. **Shoji, M., Shoji, J., & Inada, N.** (2018). Clinical Severity and Tear Biomarkers, Eosinophil Cationic Protein and CCL23, in Chronic Allergic Conjunctival Diseases. *Seminars in ophthalmology*, 33(3), 325–330.

127. **Leonardi, A., Borghesan, F., Avarello, A., Plebani, M., & Secchi, A. G.** (1997). Effect of lodoxamide and disodium cromoglycate on tear eosinophil cationic protein in vernal keratoconjunctivitis. *The British journal of ophthalmology*, 81(1), 23–26.
128. **Leonardi, A., Bremond-Gignac, D., Bortolotti, M., Violato, D., Pouliquen, P., Delval, L., Grouin, J. M., & Fregona, I. A.** (2007). Clinical and biological efficacy of preservative-free NAAGA eye-drops versus levocabastine eye-drops in vernal keratoconjunctivitis patients. *The British journal of ophthalmology*, 91(12), 1662–1666.

