



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

KAYSERİ KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KAYSERİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

GÖZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK
OLUŞTURULAN ALERJİK KONJONKTİVİTTE
PROPOLİSİN ETKİSİ**

Dr. Fatma BAĞCI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

KAYSERİ – 2017



T.C.

SAĞLIK BAKANLIĞI

KAYSERİ KAMU HASTANELERİ BİRLİĞİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ

KAYSERİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ

GÖZ HASTALIKLARI KLİNİĞİ

**RATLARDA DENEYSEL OLARAK
OLUŞTURULAN ALERJİK KONJONKTİVİTTE
PROPOLİSİN ETKİSİ**

Dr. Fatma BAĞCI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Sertan GÖKTAŞ

Bu Uzmanlık Tezi Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama ve
Koordinasyon Kurulu Tarafından 26.09.2016 Tarih ve 56 No'lu Karar ile
Desteklenmiştir.

KAYSERİ 2017

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlık ve yapım aşamalarında bana yol gösteren ve yardımcı olan, uzmanlık eğitimim süresince tecrübe ve desteklerini esirgemeyen tez danışmanım ve kıymetli hocam Doç. Dr. Sertan Göktaş'a

Bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan değerli hocalarım Göz Hastalıkları Kliniği Eğitim Sorumlusu Doç. Dr. Süleyman DEMİRCAN'a, Klinik eğitim görevlisi Doç. Dr. Mustafa ATAŞ'a,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve bana her türlü desteği sağlayan uzman hekimlerimize, diğer tüm asistan arkadaşlarıma, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda görev yapan diğer tüm personel arkadaşlara,

Tezimin hazırlanmasında değerli bilgilerinden faydalandığım Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi Medikal Biyoloji ABD Yrd. Doç. Dr Ahmet EKEN'e, Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Histolog Uzm. Dr. Yasemin SAVRANLAR'a, Patolog Doç. Dr. Hatice KARAMAN ve Uzm Dr. Mehtap EROĞLU'na, Mikrobiyolog Uzm. Dr. Yasemin AY ALTINTOP'a, Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi Veteriner Teknikeri Hasan YÜCE'ye,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle hep yanımda olan aileme ve değerli eşime,

TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Dr Fatma BAĞCI

Kayseri – 2017

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	v
TABLolar LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
RESİMLER LİSTESİ.....	x
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Konjonktiva Embriyolojisi ve Anatomisi	3
2.2. Konjonktiva Fizyolojisi.....	4
2.2.1. Epitel.....	4
2.2.2. Lamina Propria	5
2.3. Konjonktiva Hastalıklarında Semptomlar	5
2.4. Alerjik Konjonktivit Tanımı ve Sınıflaması	6
2.5. Alerjik Konjonktivitte İmmunpatogenez	11
2.6. Alerjik Konjonktivit Tedavisi	15
2.6.1. Çevresel ve Tetikleyici Faktörlerin Kontrolü.....	15
2.6.2. Farmakolojik olmayan yöntemler.....	16
2.6.3. Farmakoterapi.....	16
2.6.3.1. Topikal dekonjestanlar (Vazokonstriktörler) ve Antihistaminikler.....	16
2.6.3.2. Mast Hücre Stabilizatörleri.....	17
2.6.3.3. Antihistaminik ve Mast Hücre Stabilizatörleri Kombinasyonu.....	17

2.6.3.4. Nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID)	18
2.6.3.5. Kortikosteroidler (KS)	18
2.6.3.6. Topikal immünmodülatörler	19
2.6.3.7. Sistemik Terapi	19
2.6.3.8. Alerjen spesifik inminoterapi (ASİ)	21
2.6.3.9 . Özel Durumlar	21
2.7. Propolis	22
2.7.1. Arılar için propolisin önemi	24
2.7.2. Propolis ve Kimyasal Yapısı	25
2.8. Rat Konjonktiva Anatomisi.....	26
3. MATERYAL-METOD.....	28
3.1. Çalışma Planı	28
3.1.1. Anestezi ve ilaç uygulaması	28
3.1.2. Fizik Muayene ve Semptomların Takibi	32
3.1.3. Histolojik Takip.....	33
3.1.4. Histolojik Değerlendirme	34
3.1.5. Flowsitometrik Değerlendirme.....	34
3.1.6. İstatistiksel Analiz	34
4. BULGULAR.....	36
4.1. Fizik Muayene Bulguları.....	36
4.2. Seroloji Sonuçları.....	37
4.3. Flowsitometri Sonuçları	38
4.3.1. IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi	39
4.3.1. IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi	41
4.3.2. IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi	42

4.3.3. IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi	44
4.3.4. Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi	46
4.3.4. T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyi	48
4.3.5. CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyi	50
4.4. Histopatoloji Sonuçları.....	52
4.4.1. Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama	52
4.4.2. İmünohistokimyasal boyama ile NF-κB ekspresyonu.....	56
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇLAR.....	68
KAYNAKÇA.....	69

KISALTMALAR

AK	: Alerjik Konjonktivit
AKK	: Atopik Keratokonjonktivit
Al (OH)₃	: Alüminyum Hidroksit
ASİ	: Alerjen Spesifik İmmünoterapi
DEKAM	: Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi
DPK	: Dev Papiller Konjonktivitler
ECP	: Eozinofilik Katyonik Protein
EÜ	: Erciyes Üniversitesi
FDA	: Food and Drug Administration
FKK	: Fliktenüler Keratokonjonktivit
H&E	: Hematoksilen-Eozin
IgE	: İmmunoglobulin E
IL	: İnterlökin
i.p.	: İntraperitoneal
KS	: Kortikosteroidler
MAK	: Mevsimsel Alerjik Konjonktivitler
MBP	: Majör temel Protein
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
NSAID	: Nonsteroidal Anti-inflamatuar İlaçlar
OVA	: Ovalbumin
PAK	: Pereniyel Alerjik Konjonktivitler
PAT	: Olapatadin
PR-OR	: Propolis Oral
PR-TOP	: Propolis Topikal

sIgE	: Spesifik İmmunglobulin E
SLIT	: Sublingual immünoterapi
Th	: T Hücreleri
ve ark.	: ve arkadaşları
VKK	: Vernal keratokonjonktivit
ZYT	: Zeytinyağı



TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1:	Rat grupları	29
Tablo 3:	Ratlarda Alerjik Konjonktivit Semptom Skorlaması	32
Tablo 4:	Gruplararası serum total IgE düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	37
Tablo 5:	Gruplararası serum OVA _s pe IgE düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	37
Tablo 6:	Gruplararası serum IL-4 düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	38
Tablo 7:	Gruplararası serum IL-13 düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	38
Tablo 8:	IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	40
Tablo 9:	IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	40
Tablo 10:	IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	42
Tablo 11:	IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	42
Tablo 12:	IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	44
Tablo 13:	IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	44
Tablo 14:	IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	46
Tablo 15:	IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	46

Tablo 16: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	48
Tablo 17: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	48
Tablo 18: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	50
Tablo 19: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	50
Tablo 20: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)	52
Tablo 21: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	52
Tablo 22: Tüm deneysel grupların H&E boyama sonucu histopatolojik parametrelerinin skorları	53
Tablo 23: Rat grupları histopatolojik parametrelerin ortalama değerleri ve standart sapmaları	54
Tablo 24: Rat gruplararası ödemin istatistiksel olarak karşılaştırılması	54
Tablo 25: Rat gruplararası konjesyonun istatistiksel olarak karşılaştırılması	54
Tablo 26: Rat gruplararası inflamasyonun istatistiksel olarak karşılaştırılması	55
Tablo 27: Tüm deneysel grupların NF-κB ekspresyonunun yoğunluk ve yaygınlık parametrelerinin skorları	57
Tablo 28: Rat gruplararası NF-κB yoğunluğunun istatistiksel olarak karşılaştırılması	58
Tablo 29: Rat gruplararası NF-κB yaygınlığının istatistiksel olarak karşılaştırılması	58

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Mast hücre aktivasyonu sonrasında biyokimyasal olaylar.....	11
Şekil 2: Alerjide Erken ve Geç faz reaksiyonlar	13
Şekil 3: Hipersensitivite reaksiyonlarında medyatörlerin biyolojik etkileri	14
Şekil 4: Verilen bir Propolis Örneğinin Detaylı İncelemesinde İzlenecek Yol	26
Şekil 5: Deney hayvanlarına uygulanan işlemlerin zamansal gösterimi	31



RESİMLER LİSTESİ

- Resim 1:** Gavaj yoluyla ratlara propolis uygulanması..... 31
- Resim 2:** OVA sensitizasyonu sonrası gelişen AK..... 33
- Resim 3:** Konjunktiva epitelinde, bağ dokuda ve gözyaşı bezinde şiddetli inflamasyon alanları. Siyah ok; inflamatuvar hücreleri göstermektedir. (X10 HE) 55
- Resim 4:** Konjontktiva epitelinde HE boyanması. Siyah oklar şiddetli konjesyonun olduğu alanları göstermektedir. (X10 HE)..... 56
- Resim 5:** Konjunktiva epitelinde NF- κ B immünohistokimyasal boyanma. Siyah ok konjunktiva epitelinde NF- κ B ile şiddetli nükleer boyanma alanlarını göstermektedir. (X20 NF- κ B) 58

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1: Tüm rat gruplarının ortalama nazal semptom skorları.....	36
Grafik 2: Ortalama Hücre Sayısı	38
Grafik 3: IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	39
Grafik 4: IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	40
Grafik 5: IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	41
Grafik 6: IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	41
Grafik 7: IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	43
Grafik 8: IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	43
Grafik 9: IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	45
Grafik 10: IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	45
Grafik 11: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	47
Grafik 12: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	47
Grafik 13: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	49
Grafik 14: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	49
Grafik 15: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)	51

Grafik 16: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)	51
Grafik 17: Tüm deneysel grupların konjonktivalarının histopatolojik parametre skorları	53
Grafik 18: Yoğunluk ve yaygınlık.....	57



RATLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN ALERJİK KONJONKTİVİTTE PROPOLİSİN ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Deneysel olarak alerjik konjonktivit oluşturulan ratlarda topikal ve gavaj yoluyla uygulanan propolisin tedavi etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Çalışmaya Wistar ırkı, 20-22 haftalık, 200-250g ağırlığında, sağlıklı 65 adet dişi rat alındı. Deney hayvanları, intrakardiyak kanları alındıktan sonra randomize 7 gruba ayrıldı. Birinci grup (PR-OR): Propolis-gavaj (10 adet rat), ikinci grup (PR-TOP): Topikal propolis (10 adet rat), üçüncü grup (PAT): Topikal antihistaminik (olopatadine) (10 adet rat), dördüncü grup (KS): Topikal kortikosteroid (10 adet rat), beşinci grup (AK): Alerjik konjonktivit (10 adet rat), altıncı grup (ZYT): Zeytinyağı, yedinci grup (SHAM): Sham-Kontrol (5 adet rat) olarak belirlendi. Sham grubu hariç diğer grupların hepsine ovalbümin intraperitoneal (1. ve 7. gün) ve topikal yolla (günaşırı 14 gün süreyle) uygulanarak ratlar sensitize edildi. Çalışmanın 15. gününden itibaren her gün gruplara ilgili maddeler 29. güne kadar verildi. Çalışmanın 29. gününde tüm ratlar intrakardiyak kanları tekrar alınıp sonra kurban edilerek konjonktiva dokuları histopatolojik olarak, servikal lenf nodları mikrobiyolojik (flowsitometri, elisa) olarak incelendi. Çalışma öncesi ve çalışma sonrası tüm ratlardan serum total IgE ve ovalbumin spesifik IgE çalışıldı. Ayrıca tüm çalışma boyunca ratların konjonktival semptom skorları kaydedildi.

Bulgular: Çalışma boyunca tüm grupların konjonktival semptom skorları değerlendirildiğinde, AK grubu hariç diğer gruplarda iyileşme gözlemlendi. H&E bulgularına göre, ödemin AK grubunda şiddetli, ZYT grubunda ise KS grubu kadar azalmış olduğu görüldü. Konjesyon tüm gruplarda hafif düzeyde benzer bulundu. İnflamatuvar hücre düzeyinin ise KS grubunda yok deneye kadar baskılandığı ve PR-TOP grubunda, PR-OR grubuna göre daha fazla azaldığı gözlemlendi. İmmünohistokimyasal olarak NF- κ B ekspresyonu yoğunluğu ve yaygınlığı incelendiğinde, AK grubuna göre Sham, PAT ve PR-OR grubunda istatistiksel olarak anlamlı zayıf belirlendiği ($p<0.05$), AK grubu ile ZYT, KS ve PR-TOP grubu kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadığı görüldü ($p>0,05$).

Flowsitometrik olarak IL-4 ve IL-17 üreten adaptif hücre düzeyi yüzde olarak incelendiğinde anlamlı fark bulunamazken, hücre sayısı olarak incelendiğinde ise, her analizde PR-OR grubunda hücre sayısının, AK grubu hariç PR-TOP ve diğer gruplara göre anlamlı fazla olduğu bulundu ($p<0.05$). Bu da PR-OR grubunda hücre sayısı baskılanmadan antialerjik etkinliğin ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç: Propolisin hem topikal hem gavaj yoluyla uygulanmasının OVA uygulaması sonrasında oluşan alerjik konjonktivit tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur. Propolisin gavaj yoluyla uygulanmasının, hücre sayısını koruyarak immunmodulator etkisi olduğu gösterilmiştir. Propolisin alerjik konjonktivitli hastalar üzerinde objektif semptomlar üzerinden araştıran kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Konjonktivit, Alerjik, Hayvan Modeli, Deneysel, Propolis, Ovalbümin, Rat, Kortikosteroid.

EFFECT OF PROPOLIS IN EXPERIMENTAL ALLERGIC CONJUNTIVITIS OF RATS

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to investigate whether propolis given topical or via gavage has any treatment effect in an experimental model of allergic conjunctivitis in rats.

Material and method: The study conducted on 65 female Wistar rats, aged 20-22 weeks (weighing 200-250 g). After intra-cardiac blood samples were drawn, rats were randomly divided into 7 groups as follows; group 1 (PR-OR): propolis-gavage (10 rats); group 2 (PR-TOP): topical propolis (10 rats); group 3 (PAT): topical antihistaminic (olopatadine) (10 rats); group 4 (KS): topical corticosteroid (10 rats); group 5 (AK): allergic conjunctivitis (10 rats); group 6 (ZYT): olive oil (10 rats); group 7 (SHAM): sham-control (5 rats). Rats were sensitized by intraperitoneal ovalbumin (1. and 7. days) and topically (on alternate days for 14 days) in all groups except sham group. From the 15th day of the experiment, the group specific substances were daily given to the rats until the 29th day. On the 29th day of the experiment, intra-cardiac blood of all rats were taken again and then sacrificed and conjunctiva tissues were histopathologically examined and cervical lymph nodes were microbiologically (flowcytometry, elisa) investigated. Serum total IgE and ovalbumin specific IgE were studied in all rats before and after the experiment. Conjunctival symptom scores of the rats were also recorded throughout the experiment.

Findings: When the conjunctival symptom scores of all groups were evaluated during the experiment, improvement was observed in all groups except AK group. According to the H&E findings, there was a severe edema in the AK group, but edema was reduced in the ZYT group to the level observed in the KS group. Congestion was found mild in all groups. The inflammatory cell level was suppressed to almost zero in the KS group and reduced at a much higher level in the PR-TOP group compared to the PR-OR group ($p < 0.05$).

When the intensity and the frequency of NF- κ B expression were immunohistochemically examined, these levels were significantly weak (at 5% significance level) in Sham, PAT and PR-OR groups compared to AK group ($p < 0.05$);

but there was no statistically significant difference ($p>0,05$) in ZYT, KS and PR-TOP groups compared to AK group.

The levels of IL-4 and IL-17 producing adaptive cells were analysed with flowcytometry in two ways. When analysed in terms of percentages, no statistically significant difference is found ($p>0,05$). When analysed in terms of absolute cell numbers, the number of cells in the PR-OR group was found to be significantly higher ($p<0.05$) than the PR-TOP group and other groups except for the AK group each time.

Conclusion: Both topical and gavage application of propolis has been found to be effective in the treatment of allergic conjunctivitis following OVA administration. Administration of propolis by gavage has been shown to have immunomodulatory effect, preserving cell count. There is a need for controlled clinical trials that investigate the effects of propolis on objective symptoms in patients with allergic conjunctivitis.

Keywords: Conjunctivitis, Allergic, Animal Model, Experimental, Propolis, Ovalbumin, Rats, Corticosteroid.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Alerji prevalansı artmakta olan ciddi bir problem haline gelmektedir. Alerjik hastalıklar içerisinde alerjik konjonktivit toplumun %15-20'sini etkilemektedir. Alerjik konjonktivit; gözde kızarıklık, kaşınma, sulanma, göz kapaklarında şişme ve kemozis ile karakterize kişinin hayat kalitesini etkileyen bir tablodur. Alerjiden kaçınmak esas tedavisini oluştursa da; soğuk uygulama, topikal antihistaminikler (olapatadin, emadastin), steroidler (loteprednol, prednisolon, vb) mast hücre stabilizatörleri, siklosporin tedavide kullanılmaktadır (1).

Tedavide kullanılan ilaçların yan etkileri incelendiğinde; antihistaminikler; gözde kuruluk, iritasyon ve antikolinerjik etkileriyle, steroidler; sekonder enfeksiyonları tetikleme, göz içi basınç artışı, katarakt gelişmesiyle karşımıza çıkmaktadır. Bu sebeple daha güvenli ve etkin tedavi modalitelerini araştırmak gerekmektedir (2, 3).

Propolis, arıların bitkilerden ürettiği ve kovan içi temizlikte ve kovanın yalıtımında kullandıkları bir maddedir. Propolisin geniş ölçüde tedavi edici ve birçok sistem üzerine etkili özellikleri vardır. Bu özellikler arasında antitümoral etki, antioksidan etki, yara iyileşmesi ve doku tamiri etkileri, sindirim sistemi etkileri, deri enfeksiyonları etkisi, antialerjik, antiinflamatuvar etki, anestezi etki, immün regülatör etki, kalp-damar sistemi etkileri ve diş sağlığı etkisi bulunmaktadır. Propolis içerisindeki flavanoid seviyesinin yüksek olmasından dolayı, oksijen radikallerine karşı bağlayıcı olarak görev görür. Ayrıca ilginç olarak vitamin C'nin okside olarak zarar görmesini engeller. Klinik çalışmalar propolisin bronşit ve benzeri rahatsızlıklarda, influenza ve herpes, deri mantarları, diş ve diş eti rahatsızlıklarında, ülser, yanık ve abselerde, göz enfeksiyonlarında, giardia ve kolitte, vajinal ve servikal rahatsızlıklarda etkili olduğunu göstermiştir (4).

Ovalbumin tavuk yumurtasında bol miktarda bulunan bir protein olup, deneysel çalışmalarda alerjik konjonktivit oluşturmada kullanılan bir allerjendir. Sistemik ve konjonktivaya topikal olarak uygulandığında deney hayvanlarında alerjik konjonktivit oluşturduğu tespit edilmiştir (5).

Çalışmamızda amacımız, ovalbumin ile sensitize edilmiş ratlarda oluşturulan alerjik konjonktivit sonrası kortikosteroid olan dexametazon, antihistaminiklerden olapatadine,

antialerjik etkisi kanıtlanmış olan propolisin sistemik ve topikal kullanımı sonucu etkinliklerinin histopatolojik olarak konjonktiva örneklerinde, serolojik olarak ise serumda total IgE ve ovalbumin spesifik IgE düzeyleri, servikal lenf nodundan hazırlanan supernatantta İL-4 ve İL-13 miktarının serolojik ve İL-4 ve İL-17 flowsitometrik yöntemle ölçülerek değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda kortikosteroidlerden dexametazon kullanmamızın sebebi, propolisin etki gücünü, bilinen güçlü bir steroid ile kıyaslamaktır.

Literatürde propolisin etanolde çözöldüğü çalışmalar mevcutken biz yeni üretilen zeytinyağda çözöndürölmüş propolisi kullanmayı tercih ettik.

Sonuç olarak, propolisin kullanıma girmesi ile alerjik konjonktivitte tedavide kullanılan ilaçların oküler yan etkilerinin azaltılması, göz fonksiyonları iyileştireceğı gibi, hastalarda hayat kalitesini artırmakta, kullanılan ilaç sayısı azaltılarak tedavi için yapılan harcamaların maliyetini de düşörmektedir. Bu nedenle yeni tedavilerin ya da alternatif yöntemlerin keşfi için bu çalışmada propolisin etkisinin tedavide kullanılan ilaçlara benzer ya da üstün olup olmadığı ve uygulama yolunun (topikal veya sistemik) farklı bir etki oluşturup oluşturmadığı araştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Konjonktiva Embriyolojisi ve Anatomisi

Konjonktiva ince ve saydam müköz bir membran yapısındadır. Konjonktiva gözü korur, gözün serbest hareket etmesine olanak sağlar ve gözyaşı için bir rezervuardır. Aynı zamanda, yapısında bulunan goblet hücrelerinin mün sekresyonu ile gözyaşına katkı sağlar ve içerdği immün ve antimikrobiyal faktörler ile oküler yüzeyi korur. Konjonktiva, embriyolojik olarak optik vezikülü saran yüzeysel ektoderm ve paraksiyel ve visseral mezodermden oluşur.

Konjonktiva, kapak kenarında mukokutanöz birleşim yerinden başlar. Göz kapaklarının iç yüzünü, gözün dış ortamla temas eden kısımlarını örter ve limbusta sonlanır. Konjonktiva epitel; non-keratinize skuamöz epitel özelliğindedir. Limbusta, karankülde ve mukokutanöz birleşim yeri yakınında çok katlı yassı epitele dönüşür. Konjonktival stroma; zengin damarlar, sinirler ve yardımcı gözyaşı bezlerini içeren bağ dokudan meydana gelir.

Aksesuar gözyaşı bezleri:

- Tarsal kenara yakın bölgede Wolfring,
- Fornikse yakın bölgede Krause bezleri

Aynı zamanda, konjonktiva mün sekresyonu yapan yapılar; Goblet hücreleri (inferonazal bulber konjonktiva), henle kriptaları (tarsal konjonktivada) ve manz glandları (limbusu çevreler) içermektedir.

Konjonktiva anatomik olarak 3 bölümde incelenir.

1. *Palpebral konjonktiva*: Göz kapaklarının altındaki bölümdür. Tarsal plağa sıkıca yapışıktır.
2. *Forniksler*: Alt ve üst kapaklar ile göz küresi arasındaki cep şeklindeki boşluktur. Gözyaşı bezinin kanalları üst lateral fornikse açılır. Medialde plika semilunaris olarak adlandırılan goblet hücrelerinden zengin bir katlantı vardır. Gözün laterale bakışında rahat hareket olanağı sağlar. Forniksler, konjonktiva yüzeyini arttırır, temas alanını azaltır ve bulber ve palpebral konjonktiva arasında sürtünmeyi azaltır.

3. *Bulber konjonktiva*: Skleranın ön yüzünü örter, kornea ile birleştiği bölge limbus olarak isimlendirilir.

Konjonktiva arteriyel beslenmesi, palpebral ve lakrimal arterler ile anterior siliyer arterlerden sağlanır.

Venleri oftalmik vene drene olur. Lenfatikleri; medial taraf submandibuler, lateral taraf preaurikuler lenf bezlerine drene olur. Konjonktivanın sinirsel uyarımı trigeminal sinirin oftalmik ve maksiller dallarından sağlanır (6).

2.2. Konjonktiva Fizyolojisi

Konjonktiva mikroskobik olarak iki kısımdan oluşur. Dışta epitel, içte ise lamina propria tabakası bulunur.

2.2.1. Epitel

Konjonktivanın farklı bölgelerinde değişik özellikler gösterir. Kapak konjonktivasında keratinleşmemiş silindirik epitel, bulber konjonktivada ise bazal hücreler silindirik olup epitel keratinleşmemiş çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Kapak konjonktivasında epitel hücreleri iki kat iken bulber konjonktivada beş kata çıkar. Epitel tabakasında ayrıca bazal hücreler arasında melanositler ve tüm konjonktivada Langerhans hücreleri bulunmaktadır. Özellikle palpebral konjonktiva ve inferonazal bulber konjonktivada yoğun olarak bulunan müsin salgılayan goblet hücreleri bulunur (7).

Epitelin yüzeyinde bulunan mikrovilli ve mikropili adı verilen yapıların üzerini glikokaliks ve hidrofilik özellikteki müsin tabakası örtmektedir. Gözyaşının konjonktiva üzerinde tutulmasında bu yapıların büyük önemi vardır.

Korneadan farklı olarak konjonktiva epiteli organize bir bazal membrandan yoksundur. Substantia propria üzerinde gevşek olarak bulunmaktadır.

Konjonktiva epitelinin kök hücrelerinin kaynağı belirsizdir. Forniksin konjonktiva epitelinin, goblet hücrelerinin, bulber ve palpebral konjonktivadakilere kıyasla proliferasyon yeteneklerinin daha fazla olduğu gösterilmiştir.

2.2.2. Lamina Propria

Epitelden bir bazal membran ile ayrılır. Üstte lenfoid tabaka altta fibrovasküler tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Lenfoid tabakada gözün immünesinde önemli rol oynayan lenfositler, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Lenfoid doku insanda doğumdan 3 ay sonra gelişir. Fibrovasküler tabakada damarlar, lenf yolları ve sinirler mevcuttur. Krause ve Wolfring denilen yardımcı gözyaşı bezleri de bulunmaktadır.

Konjonktiva yabancı cisimlere, eksojen mikroorganizmalara karşı önemli bir bariyerdir. Konjonktiva epiteli biyokimyasal ve histolojik olarak kornea epitelinden çok farklıdır. Kornea saydam, düzenli, kırıcılık özelliği olan damarsız bir yapı iken konjonktiva opak, düzensiz ve vaskülerizedir.

Konjonktiva epitelinde bulunan goblet hücreleri gözyaşı film tabakasında bulunan müsinin önemli kaynağıdır. Tüm oküler yüzey hücrelerinin % 5-10'unda goblet hücreleri oluşturur (8). Karbonhidratlar, aminoasitler ve diğer besinler konjonktival damarlardan kolayca temin edilir. Az miktarda glikojen bulunur. Glikolik, trikarboksiasetik asit ve solunum zinciri enzimlerini yüksek oranda bulundururken düşük oranda heksoz monofosfat aktivitesine sahiptir (9).

Kornea epiteli olmadığında konjonktiva epiteli 1mm/sa hızla korneal stromayı kapatabilir (10). Bir kez kapattığında konjonktival özelliklerini 4-5 hafta sonra kaybeder (11). Bu histolojik görünüm konjonktiva epitelinin kornea epiteline transdiferansiyasyonu olarak adlandırılır. Ancak transdiferansiye epitel kornea epiteline eşit değildir (12). Metabolik seviyesi, enzim aktivitesi, protein profili haftalar sonra bile kornea ile karşılaştırılmaz (12). Bu epitel travmaya karşı dayanıksızdır, kolayca vaskülarize olur ve konjonktiva benzeri bir görünüm alır.

2.3. Konjonktiva Hastalıklarında Semptomlar

Konjonktival hiperemi: Yüzeysel ve derin hiperemi olmak üzere iki tipte gelişebilir.

(a) *Yüzeysel hiperemi:* Konjonktivanın göz kapaklarından gelen yüzeysel damarlarının dilatasyonudur. Daha çok konjonktiva hastalıklarında ortaya çıkar. Açık renklidir, konjonktiva ile birlikte dilate damarlar hareket eder ve hiperemi basmakla solar. Hipereminin şiddeti fornikslerden limbusa doğru gittikçe azalır.

(b) *Derin hiperemi*: Konjonktivanın derinden gelen ön siliyer damarlarının dilatasyonudur. Daha çok kornea, uvea, sklera hastalıkları ve akut glokom krizinde ortaya çıkar. Koyu kırmızı renklidir, damarlar konjonktiva ile birlikte hareket etmez ve hiperemi basmakla solmaz. Şiddeti limbustan fornikslere doğru azalır.

Konjonktival ödem (Kemozis): Kemozis, forniks ve bulbus konjonktivasında daha belirgin olarak ortaya çıkar. Enfeksiyon ve allerjik olaylar ile venöz dönüşün zorlaştığı durumlarda görülebilir.

Foliküller ve papiller oluşumlar: Foliküller, daha çok kapak konjonktivasında ortaya çıkan, küçük, açık ve saydam renkli, hafifçe kabarık lenfoid dokuya ait oluşumlardır. Yenidoğanda 3. aya kadar lenfoid doku gelişmediği için foliküller görülmezler. Viral konjonktivitler, molluskum contagiosum, trahom ve toksik ilaç reaksiyonlarında görülebilir.

Papiller oluşumlar ise, inflamatuvar hücreler ile istila edilmiş vasküler yapılardır. Poligonal şekilde (kaldırım taşı) kabarık alanlardır. Bakteriyel, viral ve klamidyal konjonktivitlerde saptanır. Aynı şekilde üst tarsda izlenen dev papiller oluşumlar vernal konjonktivit, atopik keratokonjonktivit ve dev papiller konjonktivit gibi allerjik tablolarda görülür.

Sekresyon: Konjonktivanın inflamatuvar hastalıklarında, gözyaşı fazlalığı (lakrimasyon) ile birlikte konjonktiva hücreleri ve dilate kan damarlarının eksudasyonundan kaynaklanan sekresyonlar, seröz, mukoid, fibrinöz, müköpürülen ve pürülen karakterde olabilir.

Konjonktival pseudomembran ve membranlar: Fibrinden zengin eksudalar konjonktiva epiteli üzerinde membranlar oluşturabilirler. Pseudomembranlar, konjonktiva epiteli üzerinden kolayca soyulabildikleri halde, gerçek membranlar epitel üzerinden soyulamazlar ve kaldırılmaya çalışılırsa kanamaya neden olurlar (13).

2.4. Alerjik Konjonktivit Tanımı ve Sınıflaması

Latince “allos” “farklı davranış = başka” ve “ergon” = “cevap” kelimesinden türetilen alerji, günümüzde, tıbbi olarak organik ve inorganik maddelere karşı vücudun immünolojik olarak farklı cevap vermesi diye tanımlanmaktadır.

Yirminci yüzyılın başlarında herhangi bir değişmiş reaksiyonu tanımlamak üzere ilk defa allerji terimi kullanıldı (14). Ancak günümüzde ‘allerji’ çoğu kişinin sorunsuzca kabul edebileceği bir maddeye karşı olan anormal duyarlılık olarak tanımlanmaktadır. Bugünkü bilgilerimiz ile 1921’de Prausnitz ve Küstner, balık allerjisi olan bir kişiye intradermal balık ekstresi enjekte ettiklerinde ani bir kızarıklık ve ödem gözleyip, ilk allerjik reaksiyonun tanımını yapmışlardır (15). 1923’te Cooke, allerjik reaksiyon görülen saman nezlesi, astım, allerjik ekzema gibi hastalıkları belirtmek üzere, Yunanca’da yerinde olmayan anlamına gelen ‘atopi’ terimini kullanmıştır. 1967’de Ishizaka allerjik reaksiyonları oluşturan IgE antikorunu saman nezleli hastaların serumunda bularak, temel allerji kavramında önemli gelişmeleri başlatmıştır (15). ‘Allergen’ genetik olarak yatkın kişilerde, yüksek spesifik immunglobülin E (sIgE) düzeyleri oluşturan antijene verilen addır (16).

Oküler alerji, ABD’de alerjik hastalıkların %40’ını oluşturmaktadır. En sık konjonktivit sebebi olan alerjik konjonktivitler ise, hayat kalitesini düşürmekle birlikte hafif rahatsızlık hissinden kalıcı görme kaybına uzanan geniş bir yelpazeye sahiptir (1, 2). Hastalar ömürboyu sürebilen tedavi süresi ve maliyetinden yakınır (2). Alerjik hastalıkların dünya genelinde gitgide artan insidansı, araştırmaların konu üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur (3).

Oküler alerjiye nazal semptomlar sıkça eşlik eder ve rinokojjonktivit olarak adlandırılır. Alerjik rinit hastalarının %64’ü oküler semptomlarla birliktelik gösterir (17). Bir çalışmada mevsimsel alerjik konjonktivite eşlik eden alerjik rinit yüzdesi %85.3 iken, tek başına oküler semptom oranı %8 olarak rapor edilmiştir (18).

Oküler alerjik inflamasyonun temel yerinin konjonktiva olması sebebiyle, alerjik konjonktivit terimi oküler alerji yerine sıkça kullanılmaktadır (1, 2).

Alerjik konjonktivitlerin geleneksel sınıflama metodu oküler alerji etyolojisinden köken almaktadır. Alerjik konjonktivitler, mevsimsel alerjik konjonktivitler (MAK), pereniyel alerjik konjonktivitler (PAK), vernal keratokonjonktivit (VKK), atopik keratokonjonktivit (AKK) ve dev papiller konjonktivitler (DPK) olmak üzere sınıflandırılmaktadır.

(a) MAK ve PAK: En sık görülen tiptir. ABD’de vakaların yaklaşık %95’ini oluşturur (19). Dünya genelinde, MAK ve PAK, en sık rastlanan tip olmasına rağmen,

daha ağır seyreden VKK ve AKK oranı, doğu coğrafyalarda hızla artmaktadır. Artış sebebi olarak hızla gelişen sanayileşme, hava kirliliği ve kayıtdışı kalan hafif ölçekteki vakalar olarak açıklanmaktadır (20). MAK ve PAK, farklı alerjenlerce uyarılarak, semptomların alevlenme zamanına bağlı olarak birbirinden ayırt edilmektedir (21). MAK, diğer adıyla hay fever konjonktiviti, daha sık görülmekle birlikte, bahar ve yaz aylarında alevlenir. Polenler, küf sporları, çimen ağaç ve bitki polenleri gibi alerjenler sorumlu tutulsa da, farklı coğrafyalara özgü alerjenler de bildirilmiştir (21).

PAK semptomları ise bütün yıl boyunca sürmekte ve genellikle ev tozu akarları, hayvan kepeği, uçuşan tüy ve fungal alerjenlere bağlı olarak sonbaharda şiddetlenmektedir. MAK'a göre daha hafif şikayetlerle seyreder (22, 23).

MAK ve PAK , özellikle kızarıklık ve kaşınma şikayetleri ile karşımıza çıkar. Diğer semptomlar, sulanma, yanma hissi, hafif mukoid sekresyon ve kemozis olarak özetlenebilir (22, 23). Semptomlar genellikle bilateral görülürken, tutulumun simetrik olması şart değildir. MAK ve PAK'ta ağır AK bulgusu olan kaldırımtaş manzarası görülmezken, üst tarsal konjonktivada ince papiller hipertrofiye rastlanabilir (24, 25). Korneal tutulum genellikle görülmez (23, 24).

(b) Vernal Keratokonjonktivit (VKK): Oküler alerjiler içinde görmeyi tehdit eden ve neden olan alerjinin genellikle bilinemediği ciddi bir formdur (26). Çocukluk döneminde başlar ve puberteden sonra genellikle kaybolur (26, 27). Hastaların %75'inde astım veya egzema hikayesi mevcuttur (28). VKK geniş coğrafi dağılıma sahipken, genellikle ılık ve kuru havanın hakim olduğu alanlarda görülür (29).

VKK, Palpebral, limbal ve mikst tip olmak üzere üç gruba ayrılır. Palpebral form, primer olarak üst tarsal konjonktivada görülür. VKK, İnflame konjonktiva ve kornea epitelinin yakın temasına bağlı olarak, korneal tutulum ile birliktelik gösterebilir (28, 30). Limbal form, asyalı ve zencilerde görülürken, perilimbal alana sınırlı kalır. Miks form ise, hem palpebral hem limbal formun özelliklerini taşır (28, 30). Hastalar yıl boyunca süren semptomlara sahipken, mevsimsel alevlenmeler de sıkça gözlenebilir. Ana semptom kaşıntıdır. Bu sebeple keratokonus ile birlikteliği mevcuttur. Diğer semptomlar sulanma, fotofobi, batma, kızarıklık, yabancı cisim hissi, seröz-mükoid sekresyon ve yanma hissi olarak özetlenebilir (28, 30). Bulgular çoğunlukla kornea ve konjonktivaya sınırlıdır ve kapak cildi tutulumu genellikle görülmez (30). VKK in

karakterisitk özelliği üst tarsal konjonktivada görülen kaldırım taşı benzeri dev papillalardır (31).

Bulber ve perilimbal konjonktiva ödemlidir. Perilimbal konjonktivada ödem ve kalınlaşmanın neden olduğu jelatinöz hipertrofi ve eozinofil ve ölü epitel hücrelerden oluşan Trantas noktaları görülebilir (28). Limbal değişiklikler korneada neovaskularizasyon ve pannus oluşumuna neden olabilir. En önemli ve görmeyi tehdit eden komplikasyonlar epitelyal keratit ve kalkan ülserlerdir. Kalkan ülserler, mast hücre ve eozinofillerden salgılanan kemokinlerin yüzey epiteline verdiği hasar nedeniyle oluşur. Genellikle üst kısımda, yüzeysel, oval olan bu ülserlerin reepitelizasyonu aylar sürebilir. Kronik ileri formlarda ise, beyazımsı opak plağa dönüşebilir (30).

(c) Atopik Keratokonjonktivit (AKK): İlk kez Michael Hogan tarafından 1952’de alerjik dermatitin eşlik ettiği keratokonjonktivit olarak tanımlandı. AKK, en sık yetişkinlerde görülürken, çocuklarda da rastlanabilir. Erkeklerde 17-23 yaş civarında başlar ve hayatın 4. ve 5. dekadına dek sürebilir. AKK, dudaklarda veya vücudun herhangi bir yerinde egzema ile birliktelik gösterir. Oküler semptomlar arasında fazlaca rahatsızlık veren kaşınma, fotofobi, yanma ve yabancı cisim hissi bulunur (32, 33). Hastalar sabah kirpiklerin birbirine yapıştığı yoğun mukoid akıntıdan yakınır. Gözkapağı hastalıkları atopik dermatitin neden olduğu en sık oküler komplikasyondur. Kapaklar, kırmızı, kabuklu ve yumuşamış görünümündedir. Kapak bulguları VKK’de görülmez (33). Ağır AKK vakalarında subepitelyal fibrozis, konjontivada skarlaşma, fornikte kısılma, semblefaron, korneal ülser ve neovaskularizasyon görülebilir. Konjontival skarlaşma varlığı, oküler skatrisyel pemfigoid gibi sikatrisyel hastalıklarda da görülmesi nedeniyle tanı koymada güçlük oluşturabilir (33).

(d) Dev Papiller Konjonktivit (DPK): DPK genellikle kontak lens, korneal yabancı cisim, oküler protez, dışa yönelmiş sütürü ve ekstrude skleral materyali olan hastalarda görülmektedir. DPK’da üst tarsal konjonktivada 1 mm veya daha büyük çaplı papilla ile karakterizedir. Göz kaşıma kontak lens intoleransı konjontival enjeksiyonu olan hastalara 0,3 mm ve daha büyük çaplı papüller de DPK tanı kriterini karşılar (34,35).

DPK’lı hastalarda kontak lens intoleransı, bozulmuş görme, artmış mukus sekresyonu, kaşınma ve oküler iritasyon semptomlarına rastlanır. Kimi zaman normal bireylerde

görülebilen, üst tarsın medial ve latarel kısmında karşımıza çıkan büyük papillalar, DPK papillaları olarak yorumlanmamalıdır (34, 35).

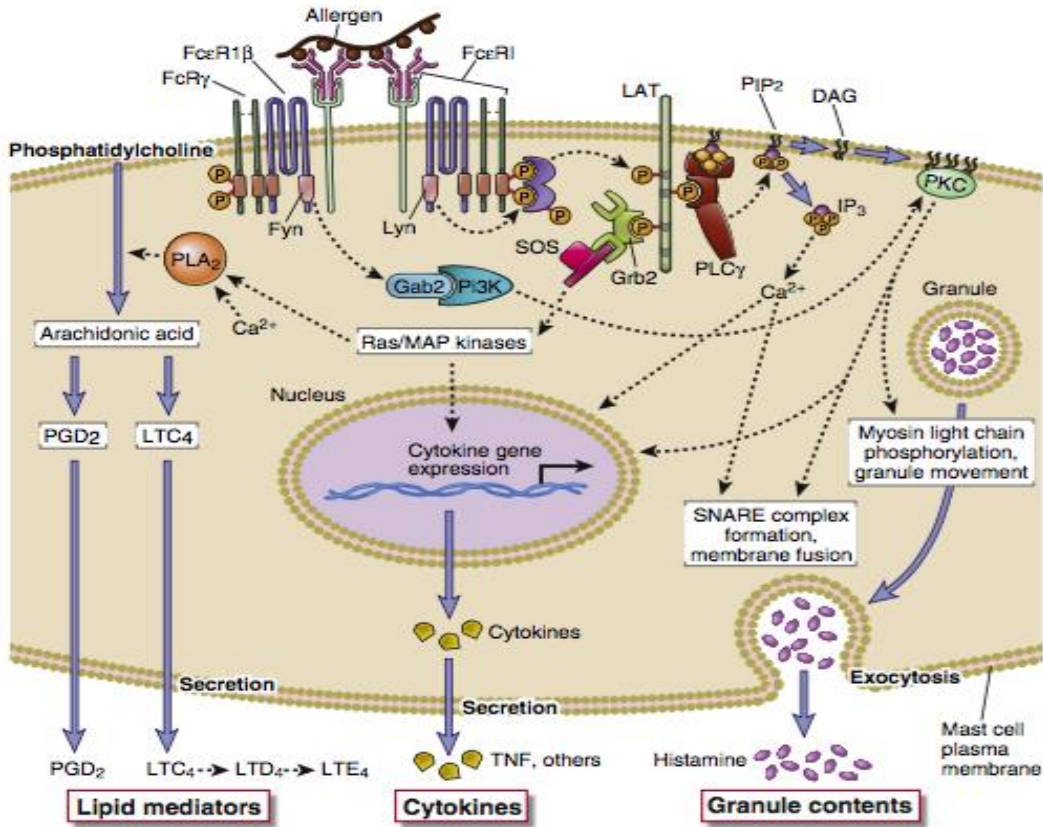
(e) Diğer Oküler Alerjik hastalıklar olarak tanımlanan kontakt blefarokonjonktivit ve fliktenüler keratokonjonktivitin ayrıca tanıda akılda tutulması gerekir. Kontakt blefarokonjonktivit, kontakt lens solüsyonları ve topikal damla içerisinde bulunan prezervan maddelere karşı gelişen akut veya subakut reaksiyondur (36). Genellikle erken kullanımda ortaya çıkarken, aynı damlanın kronik kullanımı sonrasında da görülebilir. Bulguların görüldüğü başlıca yer göz kapağıdır (eritem, kalınlaşma, endurasyon). Bazen konjonktival tutulum da eşlik edebilir. Prezervan maddeler ana nedeni oluşturmalarına rağmen, antiglokomatözler ve antibiyotikli damlalar sıkça karşımıza çıkan nedenler arasındadır (36).

Fliktenüler keratokonjonktivit (FKK), yabancı antijene karşı gelişen hipersensitivite reaksiyonu ile karakterize, kornea ve konjonktivanın tutulduğu nodüler inflamasyondur. Konjonktiva tutulumu geçici ve asemptomatik olmasına rağmen, kornea tutulumu haifi bulgulardan görme kaybına dek uzanan çeşitli formlarda karşımıza çıkabilir. Başlıca sorumlu antijen eskiden tüberkulin proteini olarak düşünülürken, son zamanlarda stafilokokkus aureusun mikrobial proteini olarak bulundu. stafilokokkus aureus yerleşimi için risk faktörleri, kronik blefarit ve supuratif keratitdir. FKK, kadınlarda daha sık görülürken, bahar aylarında yüksek insidansa sahiptir (37).

FKK'nın klinik prezantasyonu altta yatan etyolojiye ve lokalizasyona göre değişir. Konjonktival lezyonlar hafif ve orta şiddette iritasyona sebep olurken korneal lezyonlar ise daha fazla ağrı ve fotofobi şikayeti ile karşımıza çıkar. Ciddi ışık hassasiyeti S. aureusa bağlı fliktenüllerden ziyade tüberküloza bağlı fliktenüllerde olur (38). FKK konjonktival damarların çevrelediği nodüler reaksiyon ile karakterizedir. Progresyon olursa, floresein boya tutan ülserasyon görülür. Konjonktival fliktenüller sıkça interpalpebral konjonktivada ve limbal alanda görülür. Bazen limbal alanda birden fazla nodüller görülür. Korneal fliktenüller ise genellikle limbal alandan başlar ve sıkça korneal ülserasyona ve görmeyi tehdit eden neovaskülarizasyon ve ülserasyona ilerler. FKK tanısı klinik muayene bulgularına ve hikayeye dayanır. Eğer enfeksiyöz bir etyoloji düşünülüyorsa tüberküloz ve klamidya muhakkak araştırılmalıdır. Eğer pozitifse uygun sistemik tedavi verilmelidir.

2.5. Alerjik Konjonktivitte İmmunpatogenez

MAK ve PAK klasik Gell ve Coombs tip 1 hipersensitivite reaksiyonu ile oluşur. Bu tipte alerjene karşı bir dizi uygun olmayan (atopik veya normal yer dışında) immün cevap gözlenir. Normal bireylerde alerjene karşı bu immün cevap görünmezken, genetik zemini olan alerjiye yatkın bireylerin yetersiz immün regülasyon sonucunda bu tarz cevaplar verdiği bulunmuştur. Alerjene karşı IgE antikoru üretimi ile başlayan olaylar bahsedilen IgE molekülünün mukozal mast hücre yüzeyindeki Fc reseptörüne bağlanmasıyla devam eder. Duyarlılık kazanılan alerjen ile tekrar karşılaşıldığında IgE molekülleri alerjene bağlanır ve komşu 2 IgE molekülü aynı alerjene bağlandığında membran adenilsiklaz (AC) aktivasyonu olur (Şekil 1: Mast hücre aktivasyonu sonrasında biyokimyasal olaylar).



Şekil 1: Mast hücre aktivasyonu sonrasında biyokimyasal olaylar

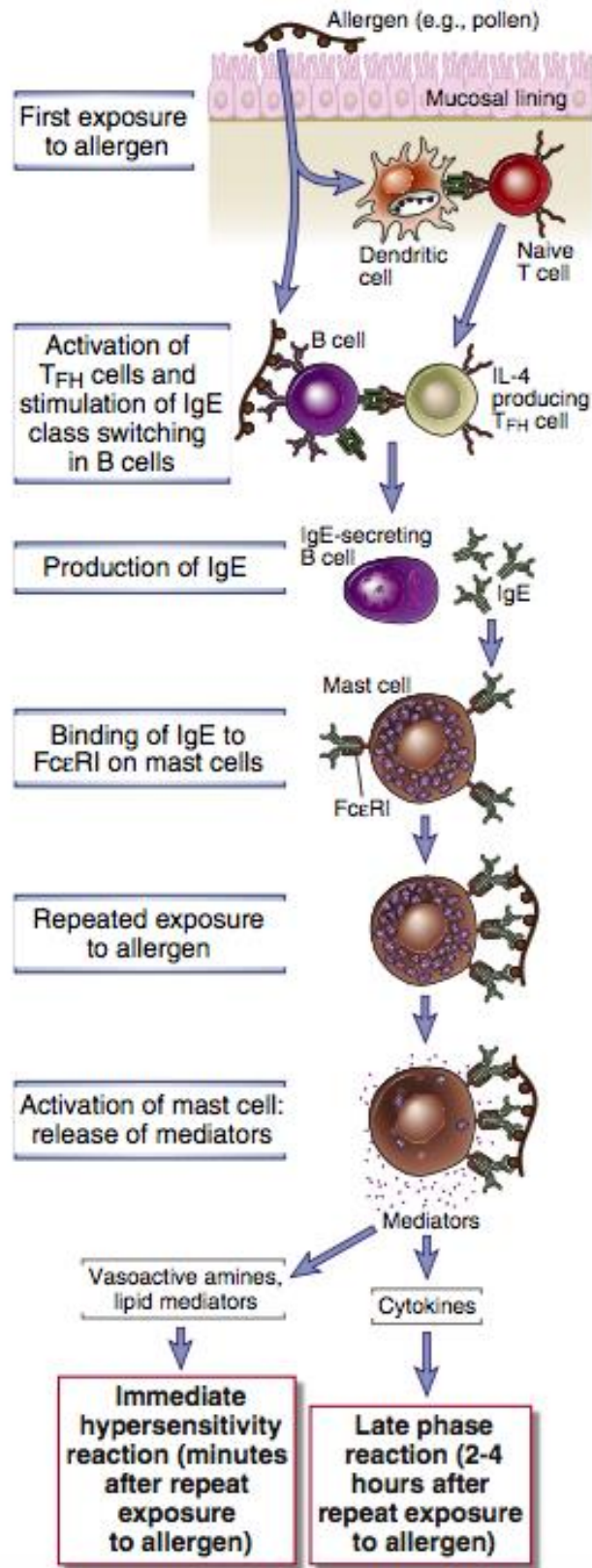
(Kaynak: Cellular and Molecular Immunology, Eight Edition, Elsevier Saunders.)

Hücre içi sıklık AMP konsantrasyonunun artması kalsiyum kapılarını açar ve intraselüler kalsiyumun artmasıyla tübülün alt ünitelerinin agrelasyonu mikrotübül oluşumuna neden

olur. Sonuçta mast hücrede degranülasyon ve histamin ve proteazların salınımı tip 1 hipersensitivite cevabını tetikler (27-28). Kaşınma, sulanma, ödem ve kızarıklıktan oluşan bu cevap 20-30 dakika sürer. Mast hücrelere prostaglandin, lökotrien, platelet aktive edici faktör kemotaktik stokinler gibi geç faz reaktanları üretmeye devam eder. Bu reaktanlar inflamatuvar hücrelerin toplanmasına nötrofil ve eozinofil aktivasyonu, vasküler permabilite artışı ve mikrovasküler dilatasyon ile karakterize inflamatuvar reaksiyonu oluşturur (29, Şekil 3: Hipersensitivite reaksiyonlarında medyatörlerin biyolojik etkileri). Bu geç faz reaksiyon MAK ve PAK'ta subklinik olarak gözlenirken görmeyi tehdit eden ve daha fazla kompleks oküler alerjilerle karşımıza çıkabilir.

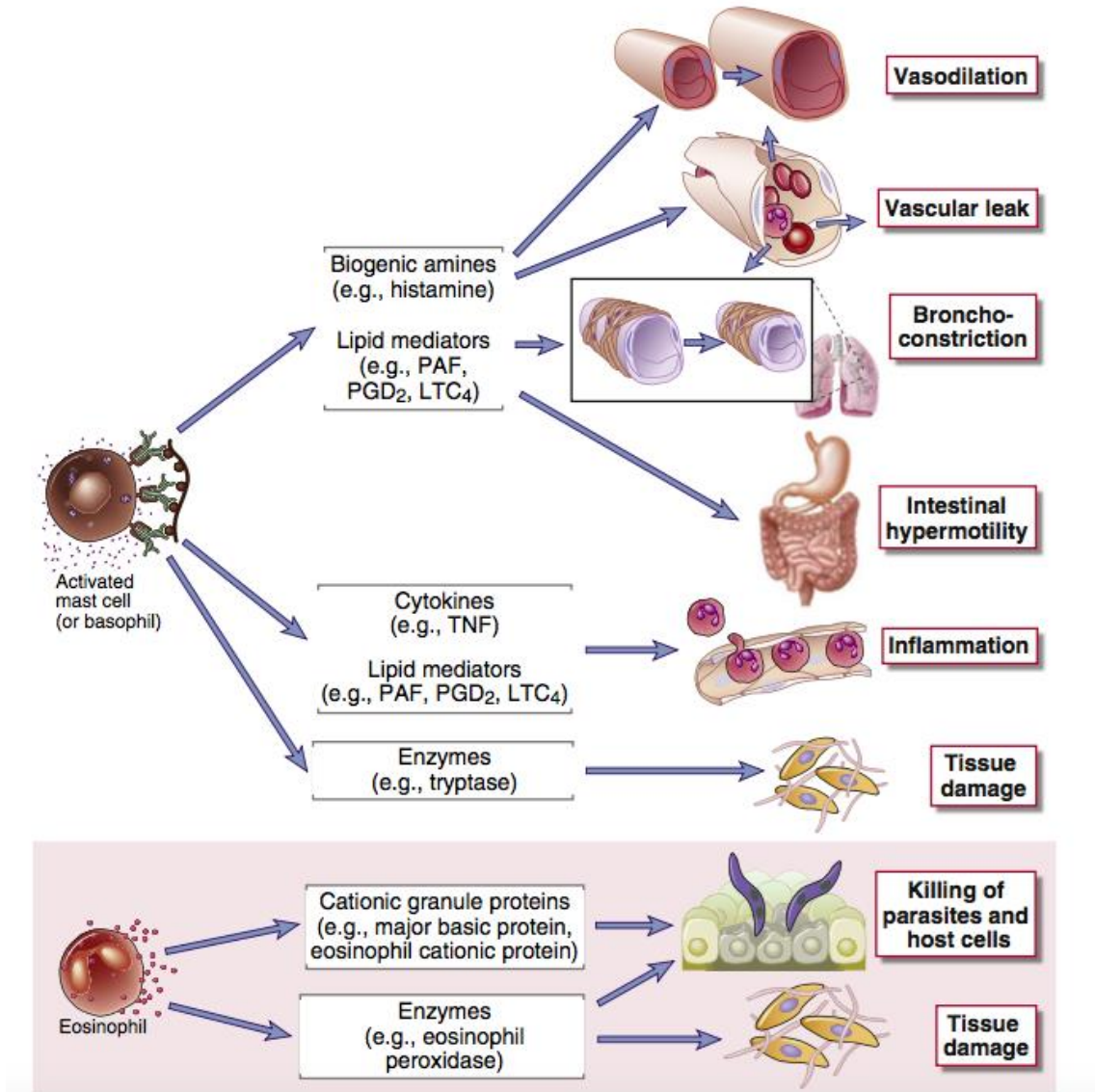
VKK ve AKK patogenezinde de mast hücre degranülasyonu görülür, fakat primer mekanizma Th2 lenfositleri aracılığıdır (30). MAK ve PAK'a göre daha karmaşık olan bu mekanizmada Th2 lenfositlerinden üretilen stokinler mast hücreleri, eozinofil, nötrofil, konjonktival fibroblastların yoğun ekspresyonu ile sonuçlanır. Üretimi artan büyüme faktörlerinden IL-4 ve IL-13 ekstraselüler matriks komponentlerinin ve fibroblastların artmasıyla dev papilla oluşumuna neden olur (31). Eozinofillerden salınan eozinofilik katyonik protein (ECP) ve majör temel proteinin (MBP) kornea epiteline fazlaca toksik olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden VKK ve AKK, hatta DPK kombine tip1 ve tip4 hipersensitivite reaksiyonlarını içeren kompleks yapılarıyla dikkat çeker. AKK patogenezi VKK'ya benzerdir. Ayrıca Th1 lenfosit kaynaklı stokinlerin patogeneizde rol aldığı düşünülür (32). VKK ve AKK'da deri testleri ve serum IgE testlerinin negatif olduğu bildirilmiştir.

Kontakt alerji, IgE aracılığı olmayan alerjilerden olup diğerlerinin tersine tip-4 hipersensitivite reaksiyonu olarak sınıflandırılır (33). Sensitizasyon sırasında basit kimyasal yapıya sahip alerjenler deri proteinleriyle birleşerek antijeni oluştururlar. Bu antijenler T lenfosit üzerindeki MHC 2 molekülleri tarafından işlenir. Böylece T lenfositleri hafıza T lenfositlerine dönüşür (34). Sonraki karşılaşma ise hafıza T lenfositlerinin sitokin üretmesine ve diğer T lenfositlerinin çoğalmasına sebep olur. Th1 lenfositlerden salınan sitokinler (IL-2, IL-3, IF-gama) makrofajları uyarırken Th2'den salınanlar (IL-4,IL-5) eozonofillerin aktivasyonu ve kemotaksisi ile sonuçlanır. Yeni keşfedilen ve T hücre regülatörü olarak bilinen Th17'den salınan IL-17 mast hücre aktivasyonu ile ilişkili düşünölmekle birlikte henüz yeterince anlaşılamamıştır.



Şekil 2: Alerjide Erken ve Geç faz reaksiyonlar

(Kaynak: Cellular and Molecular Immunology, Eight Edition, Elsevier Saunders.)



Şekil 3: Hipersensitivite reaksiyonlarında medyatörlerin biyolojik etkileri

(Kaynak: Cellular and Molecular Immunology, Eight Edition, Elsevier Saunders.)

Patofizyolojide Yeni Gelişmeler

In vitro ve *in vivo* modellerin son zamanklarda kullanımı, alerjik konjonktivit patofizyolojisinde anlamlı şekilde yol gösterici olmuştur. Bu çalışmalar konjonktiva epitel hücrelerinin ve goblet hücrelerinin oküler yüzeyde bilinen durağan hücrelerden daha fazla özelliğe sahip olduğu açığa çıkmıştır. Bu hücreler proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin üretimi ile alerjik hastalıkların oluşumunda aktif rol oynamaktadır. Mast hücreleri en eski zamanlardan bu yana histamin ve lökotirien gibi sitokinlerin kaynağı bilinmesine rağmen; son zamanlardaki çalışmalar mast hücrelerinin

kemokin reseptörleri eksprese ettiğini ve alerjik cevap esnasında salınan kemoatraktanlara cevap verdiğini göstermiştir. Daha fazlası mast hücrelerinin CCL7 gibi kemokin ürettiği ve oküler yüzeydeki inflamasyonu monosit, hafıza T lenfositleri, eozinofil, dentritik hücrelerin sayısını arttırarak amplifiye ettiği gösterildi. Ayrıca mast hücre yüzeyindeki yapısal proteinlerden olan vimentinin mast hücre hareketliliğinde dinamik rol oynadığı ve CCL2 gibi proinflamatuvar kemokin üretimine katkısı olduğu gösterilmiştir.

Farelerde oluşturulan alerjik konjonktivitte (AK) mast hücrelerinden konjonktival epitel ve goblet hücrelerinden salınan kemokin ve medyatörlerin oküler yüzeyde dentritik hücrelere sunulan antijenlerin davranışında ciddi etkisi olduğu vurgulanmıştır. Dentritik hücreler alerjenin yakalanmasında gözetleyici görevleriyle karşımıza çıkar. Hücre yüzeyindeki CCR7 kemokin reseptörü CCL19/CCL21 gibi kemokin işaretlerini algıladığında harekete geçer. Alerjenin tutulumunu takiben dentritik hücreler T hücrelerine antijeni tanıtmak için bölgesel lenf notlarına göç ederler. CCR7/CCR19/CCR21 etkileşimi bloke etmek AK oluşumunda güçlü azaltıcı etkiye sahiptir. Son zamanlardaki deneysel hayvan çalışmaları AK'nın zararlı etkilerinin oküler yüzey arkasına ulaştığını göstermiştir. Son zamandaki deneysel hayvan çalışmaları AK'nın, korneal transplantasyonda greft rejeksiyonunu düzenleyen immün efektör hücrelerin baskılanmasını önlediğini ve korneal transplantasyonda başarıyı azalttığını göstermiştir. Oküler alerjideki son zamanlardaki çalışmaların bize hızla verdiği mesaj oküler yüzey hücrelerin ve immün sistemin karmaşık bir şekilde etkileşimde olduğudur. Yukarıda bahsedilen bütün bilgiler bize pesetmek bilmeyen amansız oküler inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımların araştırılması gerçeğini ortaya koymuştur (81).

2.6. Alerjik Konjonktivit Tedavisi

Oküler alerjinin tedavisi genel olarak önleyici tedbirler, farmakolojik olmayan yöntemler ve farmakoterapi olmak üzere üçe ayrılır.

2.6.1. Çevresel ve Tetikleyici Faktörlerin Kontrolü

Koruyucu yaklaşım provakatif alerjenin tanımlanması, bu alerjiden kaçınma ve alerjen miktarının ve mümkün olduğu kadar alerjenle temasın azaltılması ile çevresel maruziyetin düzenlenmesini içerir (39). Koruyucu yaklaşım alerji uzmanlarının

üzerinde en çok durduğu tiptir. Ek olarak mevsimsel alerjik konjonktivit semptomlarının önlenmesi dış çevresel maruziyetin kısıtlanmasını ev ve araba pencerelerinin polen mevsimlerinin pik yaptığı dönemde kapalı tutulmasını içerir.

Pereniyel alerjik konjonktivitli hastalar için ise bu önlem hastaya özgü spesifik alerjenden kaçınmayı içerir. Örneğin ev tozu akarlarına alerjisi olan biri için eski yastık, battaniye, yorgan, yatak örtüleri ve eski mobilyaların değiştirilmesi koruyucu önlemler içerisinde. Hayvan kepeğine karşı alerji durumunda, ev hayvandan arındırılmalı ve hayvanın temas ettiği her türlü eşya temizlenmelidir. Filtrelerinin sıkça değiştirilmesi de uygun yöntemlerdendir (39, 40).

2.6.2. Farmakolojik olmayan yöntemler

AK hastalarının sıklıkla alışkanlık haline getirdiği göz kaşıma ve ovalama mekanik olarak mast hücre degranulasyonuna neden olur. Terkedilmesi zaman alan, bazen mümkün olmayan bu davranış semptomların kötüleşmesiyle sonuçlanır. Göz kaşımadan kaçınmak ve ek olarak aralıklı soğuk kompres ve suni güzyaşı preparatlarının gün boyu uygulanması, periorbital ödemin azaltılması ve alerjinin gözden uzaklaştırılmasında etkin bulunmuştur (40). AK akut dönemde kontak lens kullanımına ara verilmesi de bu yöntemlerdendir.

2.6.3. Farmakoterapi

AK'nin akut ve kronik tedavisinde topikal ve sistemik ilaçlar yer almaktadır.

2.6.3.1. Topikal dekonjestanlar (Vazokonstriktörler) ve Antihistaminikler

Topikal dekonjestanlar AK tedavisinde tanımlanan ilk ajanlardır. Tetrahidrozolin 1950'li yıllarda, Nafazolin ise 1971 yılında raflara gelmiştir. Oküler hiperemide etkin olmasına rağmen, gözde kaşınma hissine etkisizliği ve taşiflaksi gelişmesi dezavantajlarıdır (39). Bunun üzerine oküler dekonjestanlar, femiramin ve antirozolin gibi topikal antihistaminiklerle kaşınma ve kızarıklık yakınmalarının üstesinden gelmesi amacıyla kombine edilmişlerdir (37, 41). Bu topikal ilaçlar sadece kısa zamanlı ve dönemsel kullanım için uygundur. Bir haftadan uzun süren kullanımlarda vazokonstriktör komponente bağlı olarak rebound hiperemi görülebilir.

Antihistaminik komponenti, yarışmalı (kompetitif) ve geri dönüşümlü olarak konjonktiva ve göz kapağındaki histamin reseptörlerini bloke ederek, primer mast hücre

kökenli medyatörlerin etkinliğini baskılar. Vazokonstriktör komponent ise, kan damarları üzerindeki alfa adrenerjik resaptörleri aktive ederek vazokonstriksiyona ve konjonktival ödemin azalmasına sebep olur. Nafazolin ve Feniramin gibi topikal antihistaminik-vazokonstriktör ilaç kombinasyonları (Naphcon-A, Opcon-A, Visine-A ve diğerleri) akut semptomları hafifletmek için günde iki-dört kez kullanılabilir. Tek bir ajan kullanımı da mümkünken, kombine ajan kullanımının daha iyi etki ettiği bildirilmiştir (41, 42).

1990'lı yıllarda, Levokabastin ve emadastine, en etkin ve ticari olarak başarılı ikinci jenerasyon topikal antihistaminik ajanlar olarak raflara gelmiştir (41). Levokabastinin, mevsimsel alerjik konjonktivit, emadastinin ise alerjik konjonktovit bulgu ve semptomlarında geçici bir rahatlama sağladığı gösterilmiştir. Levokabastin erken ve geç faz oküler alerjik reaksiyonlara birden fazla mekanizma ile etki ettiği gösterilen ilk topikal antihistaminiktir. Ayrıca eozinofil aktivasyon ve infiltrasyonunu düzenlediği bulunmuştur (43).

2.6.3.2. Mast Hücre Stabilizatörleri

Kromolin sodyum (Sodyum Kromoglikat) vernal keratokonjonktivit tedavisinde 1984'te kullanıma girmiştir. Levokabastin ise 1993'te kullanıma giren ve kromolin sodyuma göre daha hızlı etki eden ve daha yüksek potansa sahip olan bir diğer ajandır. Aynı zamanda Levokabastin VKK'e bağlı gelişen kalkan ülseri ve epiteryal hasarda kromolin sodyuma göre daha etkin bulunmuştur (44). Nedokromil sodyum 1999 yılında AK tedavisinde gözde kaşınma hissini azaltan ve kromolin sodyumdan daha efektif bulunan preparattır (45). Mast hücre stabilizatörlerinin total etkisi 5-14 günde normal seviyesine ulaştığından bu ilaçların akut semptomlarda etkili olmadığı belirtilmiştir. Mast hücre stabilizatörleri, mevsimsel alerjik konjonktivitli hastalara, polenlerin yoğun olduğu dönem başlamadan iki ila dört hafta öncesinde günde dört kez pozoloji ile başlanmalıdır (44, 46).

2.6.3.3. Antihistaminik ve Mast Hücre Stabilizatörleri Kombinasyonu

Bu grup içerisinde olopatadine, alcaftadine, bepotastine, azelastine HCl, epinastine, ketotifen fumarate, ve emedastine gibi topikal damlalar bulunmaktadır. Çoğu ürün için günde 2 kez kullanım uygundur. Günde bir kez pozoloji ile kullanılan 3 ilaç bulunmaktadır; alcaftadine 0.25%, olopatadine 0.2%, and olopatadine 0.7%. Ayrıca

alcaftadine, gebelik katogorisi B olan tek üründür (47). Çoğu ilacın etkisi dakikalar içerisinde başlamaktadır. Bu ilaçlar tam etkinliğin sağlanabilmesi için en az iki hafta kullanılmalıdır, böylelikle inflamasyon kontrol altına alınabilir ve semptomlar hafifletilebilir. Bu ilaçların yan etkisi yanma hissi ve kaşıntıdır.İlaçları kullanmadan önce yanma hissini azaltmak amacıyla +4 derecede tutulan suni gözyaşları ve ilaçlar denenebilir (46). Randomize klinik bir çalışmada kromolin sodyum ile (%4 lük, alerjen verilmeden önce 2 hafta boyunca, günde 4 kez) ketotifen fumarat (%0,025, alerjen verilmeden hemen önce, tek doz) karşılaştırıldı. Tek sefer kullanılan ketotifenin alerjen verildikten sonra, kaşınma hissi ve kırmızılığı 15. dakikada ve 4. saatte daha iyi kontrol ettiği belirtildi (48).

2.6.3.4. Nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID)

NSAID'ler, prostaglandin ve lökotrien üretimini inhibe ederek AK tedavisinde kullanılır. Bazı spesifik prostaglandinlerin, histamin kökenli kaşıntının konjonktival eşik değerini düşürdüğü düşünülmektedir.Aynı zamanda prostaglandinlerin kendisi de kaşıntıya sebep verebilir (49).

Oküler alerjide kullanılan bu ilaçlar ketorolak, diklofenak, indometazin ve flurbiprofendir. İçlerinden sadece ketorolak mevsimsel alerjik konjonktivite bağlı kaşıntı yakınması geçici rahatlatıcı etkiye sahiptir. Mevsimsel alerjik konjonktivit tedavisinde tek ajan ketorolak iken, vernal keratokonjonktivit (VKK) tedavisinde ise indometazin ketorolak ve diklofenakın etkin olduğu gösterilmiştir (50).

2.6.3.5. Kortikosteroidler (KS)

KS'in kullanımı, AKK ve VKK gibi tedaviye dirençli vakalar ile sınırlandırılmıştır. Topikal KS'ler erken faz alerjik reaksiyonda etkin değilken, geç faz alerjik reaksiyonlarda ise inflamatuvar medyatörlerin salınımı ve üretimini inhibe ederek etkin bulunmuştur (51, 52). Uzun süreli kullanımlarda göz içi basıncın yükselmesi ve katarakt oluşması gibi ciddi ve görmeyi tehdit edici yan etkilere sahiptir (51). Loteprednol AK tedavisinde 1998'de kullanıma girmiştir. Loteprednol, korneal penetrasyonu takiben, hızlıca inaktif metabolitine dönüşerek göziçi basınç artış riskini düşüren yeni jenerasyon KS'lerdendir (53).

KS'lerden Difluprednadın kullanım alanı başlıca postoperatif inflamasyon ve ağrı kontrolü iken, MAK ile ilişkili hiperemi,erken ve geç fazda ortaya çıkan kaşınma hissini azalttığı gösterilmiştir (56).

2.6.3.6. Topikal immünmodülatörler

Siklosporin A ve Taklorimus görmeyi tehdit edici ve ağır VKK ve AKK tedavisinde daha önceleri incelenmiştir (54, 55). Geniş prospektif gözlemsel bir çalışmada, VKK ve AKK'lı 594 hasta topikal siklosporinin etkisini incelemek üzere çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmada topikal siklosporin A 0,1'lik) kullanımının anlamlı bir şekilde bütün objektif ve subjektif skorları düşürdüğü (kaşıntı dahil) gösterilmiştir. Ayrıca VKK'lı hastaların %44,4'ü, AKK'lı hastaların %21,9'u semptomların tamamen iyileşmesine bağlı olarak tedaviyi bıraktığı ve KS kullanıcıların yaklaşık %30'u da eşzamanlı topikal steroid kullanımına devam etmediği bildirilmiştir. Siklosporine bağlı en sık yan etki, gözde iritasyon oluşturmaları (%4,4) olarak belirtilmiştir. Gözlenen enfeksiyon vakalarının birçoğunun steroid kullanıcılarından çıktığı gözlemlenmiştir (57).

Topikal takrolimusun (%0,03 pomat ve %0,1 oftalmik damla) güvenli ve etkin olduğu gösterilmiştir. VKK ve AKK nedeniyle oluşan dev papillaların iyileşmesinde %0,1 lik takrolimus oftalmik damlanın daha etkin olduğu ortaya çıkmıştır. Takrolimus siklosporine kıyasla 100 kat daha etkindir. Takrolimus, hücrel steroid reseptörlerini bloke etmekte, mast hücrelerinden salınan medyatörleri inhibe etmekte ve böylelikle T hücre aktivasyonunu ve B hücre proliferasyonunu baskılamaktadır (55). Yapılan bir çalışmada, %0,3 lük topikal takrolimus kullanımı ile %0,1 lik %0,005 formülleri kıyaslandığında, gözde kaşınma hissini tedavisinde optimal etkinin ve bütün subjektif ve objektif yakınmaların hafiflediği belirtilmiştir (58).

2.6.3.7. Sistemik Terapi

Oral Antihistaminikler: Mevsimsel alerji vakalarında özellikle rinit ve jeneralize pruritis semptomların iyileştirilmesinde antihistaminikler reçetesiz kullanılmaktadır. Oküler alerjide ise topikal antihistaminiklerin orale göre daha etkin olduğu gösterilmiştir. Özellikle topikal olopatadinin oral (teksofenadin) kullanımdan ve topikal ketotifenin oral desloretadinden daha etkin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca oral

antihistaminiklerin mukozal membranlarda kuruluk yaptığı ve gözyaşı üretimini azalttığı gerekçesiyle bazı hastalarda kuru göze sebebiyet verdiği ispatlanmıştır (59).

Bazı klinik çalışmalarda oral antihistaminiklerin plaseboya göre AK tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir (59, 60). Oral antihistaminikler kullanıldığında, serum seviyeleri 30 dakika ile 3 saat içerisinde pik yapmaktadır. Esas etki ise kullanımdan günler sonra ortaya çıkmaktadır. Bu ajanlar topikal ajanlarla kıyaslandığında daha yavaş etkiye sahiptir. Fakat profilaktik olarak verilebilir.

Sistemik İmmünomodülatörler: Görmeyi tehdit eden ağır alerji vakalarında sistemik immünosüpresif tedavinin faydalarından bahsedilmektedir. Fakat literatürde birkaç vaka takdimi dışında geniş serili bir çalışma bulunmamaktadır. Sistemik immünosüpresif tedaviyle ilişkili kılavuzlar eksiktir (61, 62).

Bu grupta kalsinorin ve TOR inhibitörleri siklosporin A, taklorimus ve fimekrolimus bulunmaktadır. Bu ilaçların ABD ve Avrupa’da oküler alerji tedavisinde kullanımına izin verilmemiştir (sadece Japonya’da onaylanmıştır). Bu ilaçların kullanımı belli merkezlerde takip edilmek suretiyle, seçili hastada önerilmektedir. Siklosporin A IL-2 üretimini ve TH2 lenfosit proliferasyonunu bloke ederek oküler inflamasyon kontrolünde etkindir. Ayrıca mast hücre ve bazofillerden histamin salınımını ve IL-5 üretimini azaltarak konjonktivada eozinofillerin etkisini ve sayısını azaltmaktadır (61). Daha önce yapılan bir çalışmada, bilinen tedavilere dirençli ciddi oküler alerji vakalarında, T lenfosit sinyal iletimi inhibitörlerinin cilt ve oküler bulguları iyileştirdiği belirtilmiştir (62). Bu çalışmada sistemik siklosporin A (2,5 mg/kg/gün bölünmüş dozlarda), ciddi AKC ve kuru göz tedavisinde başarıyla kullanılmıştır (62). Fakat bu ilaçların toksik etkileri, uzun dönem kullanımına sınırlama getirmiştir.

Bir diğer çalışmada KS tedavisine dirençli veya bağımlı ciddi AKK ve atopik dermatidi olan 4 hasta (31-64 yaş aralığında) siklosporin ile (3-5 mg/kg) ortalama 27 ay boyunca tedavi edilmiştir. Oküler inflamasyon, 3 hastada tamamen, bir hastada kısmi olarak kontrol altına alınmıştır (63). Bir diğer vaka takdiminde görmeyi tehdit eden ağır VKK’lı 6 yaşındaki bir çocukta oral siklosporin tedavisi ile semptomların dramatik bir şekilde iyileştiği ve stabilize olduğu bildirilmiştir (64).

2.6.3.8. Alerjen spesifik inminoterapi (ASİ)

ASİ, 1991 yılında Noon ve Freeman tarafından alerjik hastalıklardan rinokonjonktiviti (hayfever) tedavi etmek amacıyla kullanılarak ilk kez literatüre girmiştir (65). Bu tedavide alerjisi olan hastalar, alerjik semptomları baskılamak amacıyla alerjen içeren bileşimi, artan dozda almaktadır. Bu bileşim, hastanın duyarlı olduğu ilgili alerjenleri içermektedir (65).

ASİ, tipik olarak, rinokonjonktivit ve astım semptomları bilinen ilaçlara ve çevresel kontrole rağmen düzelmeyen, verilen tedaviyi tolere edemeyen veya verilen tedavi rejimini uzun süreli kullanmaya uyum gösteremeyen hastalarda önerilmektedir. Alerjenlerin sürekli verilmesiyle, hastaların verilen alerjene toleransının sağlanması, immün sistemin modülasyonu sağlanarak alerjene immune cevabın supresyonunun elde edilmesi amacı beklenmektedir (66-67). ASİ'nin, alerjik hastalarının doğal seyrini değiştirme kapasitesine sahip, uzun dönemde, hastalık modifiye eden etkileri kanıtlanan tek tedavi seçeneği olduğuna inanılmaktadır (68). ASİ, subkutan ve sublingual yolla verilebilir. Bu iki metodun AK tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (69). Fakat çoklu alerjene duyarlı hastalarda enjeksiyon metodunun daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir (70).

Yapılan çalışmalar, polen alerjisine bağlı rinokononjonkivit olan hastaların, sublingual imünoterapi ile tedavi edildiğinde, konjonktivit semptom skorunun %27-28 oranında iyileşmesi gösterdiğini belirtmiştir (71, 72). Son zamanlarda ev tozu akarlarının sublingual imünoterapisinin, konjonktiviti olan veya olmayan alerjik rinit vakalarında etkili olabildiği gösterilmiştir. Randomize çift kör plasebo kontrollü bir çalışmada, sublingual immünoterapi ile tedavi edilen yetişkinlerde nazal ve oküler semptomların azaldığı ispatlanmıştır (73).

2.6.3.9 . Özel Durumlar

Gebelikte okuler alerji: Gebelikte okuler alerji tedavisinde ilk basamak farmakolojik olmayan önlemler ve alerjiden kacinmaktır. Eğer önlemler alerji semptomlarını kontrol altına almakta yeterli gelmezse, kromolin sodyum göz damlasi denenebilir. Eğer alerjene maruziyet önceden tahmin edilebiliyorsa (örneğin, polen mevsimi) tedavi iki hafta önceden başlamalıdır. Kromolin sodyum yeterli gelmezse antihistaminik göz damlaları kullanılabilir. Geçmişte bu ajanlar FDA tarafından kategori C olarak

tanımlansa da yan etkilerin yokluğuna dair raporlar ile çoğu oftalmolojist kullanımlarını güvenli olduğuna inanmaktadır (74).

KS'ler gebe bayanlarda dikkatli kullanılmalıdır. Hem kadın doğum uzmanı hem de oftalmolojist tarafından yakın takipte değerlendirilmelidir. Alerjen imünoterapi ağır vakalarda diğer bir seçenek olsa da, immünoterapi gebelik esnasında başlatılmamalıdır. Gebelikte vazokonstriktör ve dekonjestan göz damlalarından genellikle kaçınılmalıdır (74).

Alerjik perioküler dermatit: Eğer kontakt alerjisi perioküler dermatitin sebebiyse tedavi seçeneği kesinlikle bu alerjiden kaçınmaktır. Atopik dermatit vakaları, topikal terapiler, nemlendiriciler, enfeksiyon tedavisi (varsa), kaşıntı için oral antihistaminik kullanımı, tetikleyen faktörlerden kaçınmak gibi multimodel tedavileri içermektedir. Perioküler dokuları içeren atopik dermatit semptomları kalsironin inhibitörleri ile tedavi edilebilir (75).

Aralık 2000'de %0,03 topikal takrolimus pomadın, 2 yaş ve üstü orta ve şiddetli atopik dermatit vakalarında FDA tarafından kullanımı uygun görülmüştür. Daha güçlü formu olan %0,1 lik ise 16 yaş ve üstü vakalarda kullanılmaktadır. Bir yıl sonra pimekrolimus 2 yaş ve üstü, hafif ve orta şiddetli atopik dermatitli vakalarda kullanılmaya başlanmıştır. Bir çok çalışmada atopik dermatitli vakalarda etkinliği ispatlanmıştır (75). Yüzü içerisine alan atopik dermatit tedavisinde topikal kalsironin inhibitörlerinin güvenli kullanımı kanıta dayalı olarak literatürde belirtildi (76). Kalsironin inhibitörlerinin kullanımı yalnızca atopik dermatit tedavisinde onaylı olsada, bir dizi plasebo kontrollü ve açık çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda, topikal kalsinörin inhibitorlerinin, periorbital kontakt dermatit, irritan kontakt dermatit, seberoik dermatit, rozeoza ve psoriasis vulgarisin bazı tiplerinin tedavisinde etkin olduğu gösterilmektedir (77-79).

2.7. Propolis

Tarihin derinliklerinden günümüze ulaşan balarısı, gerek yaşamı ve gerekse oluşturduğu değerli ürünler ile insanların ilgisini çekmiştir. İnsanların dengeli ve sağlıklı beslenmesinde önemli bir yeri olan bal ürünü yanında; polen, arı sütü, propolis ve arı zehiri birçok hastalığın iyileştirilmesinde günümüzde tıp alanında alternatif ürün olarak kullanılmaktadır.

Propolis bal arıları tarafından ağaçların kozalak ve kabuklarından, bitkilerin tomurcuk ve filizlerinden toplanan çeşitli yağlar, polenler, özel reçine ve mumsu maddelerin karışımından oluşan; çok kuvvetli anti-viral, anti-bakteriyel, anti-fungal etkiye sahip yapışkan bir maddedir. Propolis, sağlık için vücut yoluyla alınması gereken 22 besini bünyesinde taşıması açısından içinde bulunduğumuz yüzyılda keşfedilen mükemmel doğal ilaç özelliği ile önem kazanmıştır.

Propolis, eski Yunan'da pro (ön, giriş) ve polis (şehir) anlamında, bal arılarının kovan savunması ile ilgili olarak kullanılmıştır. Propolis çok eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Yaşadığımız yüzyılda bu değerli arı ürününün antibakteriyel, antifungal, antiviral özellikleri yanında anti-inflamatör, anti-ülser, lokal anestetik, antitümör, bağışıklığı uyarıcı çok sayıda yararlı biyolojik aktivite özelliği göstermesi; tıp, apiterapi, sağlık besini ve biyokozmetik alanında kullanımını yaygınlaştırmıştır (4).

Arılar propolisi kovan ve diğer yaşam alanlarının iç kısmına bir tabaka şeklinde uygular. Kovan delik ve çatlaklarının kapatılmasında, peteklerin tamir edilmesinde, peteklerin birbirlerine yapıştırılmasında, petek gözlerinin parlatılmasında, kovan girişini daraltmak, çeşitli arı hastalıklarından kolonin korunmasında ve hastalık etmenlerinin etkisiz duruma getirilerek gelişmelerinin önlenmesinde kullanılır. Propolisin mikroorganizmalara karşı etkisi en önemli biyolojik özelliğidir. Kovan içinde mantar ve bakterilerin daha düşük düzeyde kalmasını sağlamaktadır. Bu açıdan propolis eski zamanlardan günümüze kadar farmakolojik özellikleri nedeniyle insanlar tarafından kullanılan doğal bir arı ürünüdür.

Propolisin tüm bu özellikleri 1960 yıllarında bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve son 40 yılda pek çok araştırmacı propolisin kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojik ve tedavi edici özellikleri üzerine yayınlar yapmıştır. Bu konudaki ilk çalışmalar Ghisalberti tarafından 1978 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmalardan 20 yıl sonra propolisin biyolojik aktivitesi ve kimyasal yapısına ait değerli bilgiler ortaya konulmuştur.

Batı balarısı (Avrupa balarısı) türü *Apis mellifera* kolonileri tarafından toplanılan propolis, Asya balarısı türleri tarafından toplanılmamaktadır. Meliponine (iğnesiz) cinsi arılarda kovanlarının kapatılmasında, bal ve polen gözlerinin yapımında *Apis*

mellifera'ya benzer yapıda yapışkan reçineli bir madde toplamaktadır. Propolisin kimyasal kompozisyonu toplandığı bölgenin ekolojik yapısına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Özellikle farklı ekosistemlerde bulunan farklı bitki örtüsü propolisin kaynağını oluşturmaktadır. Tropik bölgelerden toplanan propolis örneklerinde büyük sorunlar ortaya çıkmaktadır. Aktif bileşenlere bağlı olarak propolisin kimyasal standardizasyonu henüz gerçekleşmemiştir. Modern arı yetiştiriciliğinde propolis toplama eğilimi yüksek arı ırkları ile çalışmak arıcının çalışma koşullarını ve bal hasadını zorlaştırmakta, petekli balın pazar değerini düşürmektedir. Ancak propolisin tıp, veteriner hekimlik, dişçilik, kozmetik ve bitkisel üretim alanlarında insanlara son derece yararlı yönleri ortaya konulduktan sonra bazı ülkelerde propolis üretimi son derece önem kazanmıştır (4,82).

2.7.1. Arılar için propolisin önemi

Bal arılarının koloni halinde yaşamaları, kovan içi koşullarının sağlıklı olmasını, sıcaklık (34°C) ve neminin (%40-65) ayarlanmasını gerektirmektedir. Bu koşulların sağlanamaması durumunda virüs, bakteri ve fungus gibi çeşitli mikroorganizmalar kovan içersinde üreyebilme özelliği gösterebilmektedir. Bal arıları topladıkları polen, propolis; salgıladıkları bal mumu, çeşitli enzimler ve gösterdikleri davranış modeli ile kovan içerisinde biyolojik aktivitelerini milyonlarca yıl sürdürerek insanların ilgisini çekmiştir. Arıların bireysel vücut ve kovan içi temizleme davranışı, kovan nemini ve sıcaklığını düzenlemeleri, ana arıya özen göstermeleri kovan içi yaşamlarını sağlıklı ve hastalıklara karşı dayanıklı bir duruma getirmektedir. Sağlıklı bir koloni yaşamında arıların doğadan topladıkları ve değişime uğrattıkları propolisin büyük önemi bulunmaktadır. Propolis arılar tarafından kovan içerisinde çok amaçla kullanılmaktadır.

Arılar kovanlarını kış mevsiminde soğuk havalardan, rüzgarın olumsuz etkilerinden korumak, kovan giriş deliğini daraltmak, kovan girişinden gelebilecek tehlikelere karşı koloniyi savunmak, kovan içinde taşıyamayacakları büyüklükte ölen canlıların çürüme, kokuşma yapmasını ve çeşitli mikropların (virüsler, bakteriler ve funguslar) üremesini engellemek amacıyla propolisi kullanırlar. Propolis, petek gözlerinin temizliğinde, ana arının bıraktığı yumurtanın steril bir ortamda gelişmesinde ve yavrunun korumasında etkili olmaktadır. Bal arıları yavru yetiştirme döneminde hava ve nem kaybının azaltılması için kovan iç yüzeyini propolis ile kaplarlar. Propolis arılar tarafından kovan

sınırlarının şekillendirilmesinde, petek kenarlarının sertleştirilip onarılmasında, çerçeve bağlantılarının sağlamlaştırılmasında, çerçevelerin kovan içerisinde sabitleştirilmesinde, yarık ve çatlakların kapatılmasında, petek yapımında ve peteklerin dezenfekte edilmesinde kullanılır ve bu amaçlı kullanımlar için ilkbaharda toplanır. Kovan içinde atmosferden çok daha az oranda mikroorganizma bulunmasının nedeni de propolisin bulunmasıdır. Arılarda çevreden daha az mikroorganizmanın olması arıları çeşitli mikroorganizmalardan korumaktadır. Nektar ve polen toplayan işçi arılar kovan dışında çeşitli mikroorganizmalardan etkilenebilmektedir. Kovan içi görevi yapan arılar, kovan giriş deliğinde dışardan gelen işçi arılara propolisle fırçalama işi yaparak çeşitli enfeksiyonların kovana girmesini önlemektedirler (4,82).

2.7.2. Propolis ve Kimyasal Yapısı

Propolis çok eski zamanlardan beri kullanılsa bile propolis hakkında klinik çalışmalarla ispatlanmış bilgilere ihtiyaç vardır. Son 40 yıl boyunca, propolisin kimyasal kompozisyonu, biyolojik aktivitesi, farmakolojisi ve tedavi edici kullanımları hakkında çok sayıda yayın yapılmıştır. Ghisalberti (1979) propolisin kimyasal yapısının yeterince bilinmemesi sebebiyle tıpta tavsiye edilemeyeceğini ifade etmiştir. Bu nedenle temel problem, propolisin toplanma bölgesine bağlı olarak kimyasal kompozisyonundaki önemli değişikliklerdir. Çünkü farklı ekosistemlerdeki farklı bitki salgıları ve sekresyonları propolis kaynağı olabilmektedir. Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya'nın tropik olmayan bölgeleri gibi karasal iklime sahip bölgelerde kavak (*Populus spp.*) türleri propolisin başlıca kaynağıdır, ancak kavağın yetişmediği yerlerde arılar başka propolis kaynakları aramaktadır, örneğin Rusya'da Huş ağaçları (*Betula verrucosa*), Brezilya'da *Baccharis* türleri propolis kaynağı olabilmektedir. Bu durumda kavak ağacından elde edilen propolisin temel kimyasal bileşikleri flavonoid aglikonlar, hidroksisinnamik asitler ve onların esterleri olurken, huş ağacından elde edilen propoliste flavonoid aglikonlar, *Baccharis spp.* den elde edilen propoliste p-kumarik asitin karbon prenillenmiş türevleri önemli aktif bileşikler olarak görülmektedir (82).



Şekil 4: Verilen bir Propolis Örneğinin Detaylı İncelemesinde İzlenecek Yol
(Kaynak: J.M. Sforcin (2016), *Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis*,
Phototherapy Research 30.)

2.8. Rat Konjonktiva Anatomisi

Ratlarda göz başın yan tarafında olup hem önü hem de arkayı görebilme yeteneğine sahiptir. Göz ve kulak büyüklüğü yaşam biçimine göre değişiklik gösterebilir. Ratlarda görüş zayıftır. Retinanın büyük bir kısmı çubuk şekilli hücrelerden oluşmuştur. Purkinje fenomeni görülmez. Geniş görme açılı göz hareketlidir. Ratlarda vit A eksikliği görme pigmentlerinin kaybına neden olur. Bu durumda karanlığa adaptasyon azalır ve gece körlüğü oluşabilir. Uzun ışık dalgalarına karşı kördür ve renkleri ayırt edemez. Tapetal refleks kırmızıdır [1]. Yaşın ilerlemesi ile birlikte gözler büyümesini vücut ağırlığından bağımsız olarak yaşamın 400. gününe değin sürdürür. Kornea ve skleranın kalınlığı 400. günde 21. günün iki katı kadardır [33]. Rat korneası korneal epitel (genelde 5 sıralı), kollajen ipliklerden oluşan korneal stroma, Descement's membran ve endotelden oluşur. Bowman membranı görülmez. İnsan ile benzer şekilde sklera optik sinirin önünde en kalın; kassel halkanın önünde ise en ince durumdadır. Diğer türlerin aksine rat konjonktiva epiteli yassı değil, polihedral ya da prizmatiktir. Agregatlar halinde kadeh

hücrelerine rastlanır ve lenf folikülü içermez [34]. Rat gözü memeli türleri içinde lamina kribrozası en az gelişendir. Sadece 1-2 sıralı gevşek bağ dokudan oluşur. Bu yüzden rat gözü glaokomatöz göz çalışmalarında oldukça iyi bir modeldir [35]. Albino ratlarda koroideya pigment içermez çoğu kez iki katman halinde kalın duvarlı damarlardan oluşur. Siliyar body oldukça küçüktür. Pupilla sirkülerdir. Nokturnal hayvanların çoğunda olduğu gibi rat retinasının dış çekirdekler katı oldukça kalın bir katmandır [33]. Albino ratlarda pigment epiteli pigment içermez [36]. Oldukça büyük lens, gözün şekline uygun olarak hemen hemen küreseldir. Büyüklüğü yaş ilerledikçe artar [33]. Lens epiteli 21. günde prizmatik iken; 400. günde kübik şekillidir [37].

Ratlarda gözyaşı bezi ekstra ve intra orbital olmak üzere iki kısımdan oluşur. Genelde ekstra orbital kısım histolojik muayenede kullanılır. Tubuloasiner seröz karakterde salgı yapan gözyaşı bezi çok sayıda intraglanduler akıtıcı kanal içerir. Yaşın ilerlemesiyle birlikte çekirdeklerde şekil ve büyüklük farklılıkları, intranükleer inklüzyonlar, lenfosit infiltrasyonları görülebilir [3].

3. MATERYAL-METOD

Bu çalışma Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Eğitim Planlama ve Koordinasyon Kurulu tarafından 26.09.2016 tarih ve 56 no'lu karar ile desteklenmiş, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun onayı alınarak Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DEKAM) yürütülmüştür. Serum total IgE, spesifik OVA IgE, servikal lenf nodu supernatantı IL-4 ve IL-13 ölçümleri Kayseri Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Kliniği laboratuvarında, histopatolojik incelemeler Patoloji Kliniği laboratuvarında yapılmıştır. Servikal lenf nodu supernatantı oluşturulması ve flowsitometrik yöntemle CD3, CD4, IL-4 ve IL-17 analizi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.

Çalışmaya Wistar ırkı, 20-22 haftalık, 200-250g ağırlığında, sağlıklı 65 adet dişi rat alındı. Ratlar Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi DEKAM'dan temin edildi. Ratlar 12 saat aydınlık-karanlık siklusunda $21\pm2^{\circ}\text{C}$ 'lik ortamda tutularak standart laboratuvar diyeti ile beslendi. Hayvanların deney süresi içinde istedikleri kadar su içip, yem yiyebilmeleri sağlandı. Deneklere uygulanan tüm girişimler Helsinki Deklarasyonu ve uluslararası hayvan araştırmaları ilkeleri rehberine uygun olarak yapıldı.

3.1. Çalışma Planı

3.1.1. Anestezi ve ilaç uygulaması

Hayvanlar intraperitoneal (i.p) yolla verilen 80 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, Almanya) kombinasyonu ile sedatize edildiler. Tekrarlayan anestezi dozu gerektiğinde, ilk dozun 1/3'ü kadar ketamin i.p olarak uygulandı. Ratların çalışma öncesi konjonktival muayeneleri yapıp hastalık ya da anomali saptanan ratlar çalışma dışı bırakıldı. Tüm ratlardan intrakardiyak kan alınarak total IgE ve serum spesifik OVA IgE düzeyleri ölçüldü. Ardından ratlar randomize olarak 7 gruba ayrıldı (Tablo 1).

Tablo 1: Rat grupları

Hayvan Grupları	Verilecek İlaçlar	Rat sayısı
Birinci grup (Propolis oral) (Araştırma grubu)	Ovalbumin + Alüminyum Hidroksit + Zeytinyağı Propolis(10 mg/kg/gün) (gavaj)	10 adet
İkinci grup (Propolis topikal) (Araştırma grubu)	Ovalbumin + Alüminyum Hidroksit + Zeytinyağı Propolis(10 mikrol,) (topikal)	10 adet
Üçüncü grup (Olopatadin, PAT) (Tedavi grubu)	Ovalbumin + Alüminyum Hidroksit + antihistaminik(Olopatadine)	10 adet
Dördüncü grup (Kortikosteroid, KS) (Tedavi grubu)	Ovalbumin + Alüminyum Hidroksit +Topikal steroid damla (Deksametazon)	10 adet
Beşinci grup (Alerjik konjonktivit, AK)	Ovalbumin + Alüminyum Hidroksit	10 adet
Altıncı grup (Zeytinyağı, ZYT)	Ovalbumin + Alüminyum Hidroksit + Zeytinyağı	10 adet
Yedinci grup (Sham)	Herhangi bir ilaç uygulanmadı	5 adet

Alerjik konjonktivit modeli oluşturma tekniği:*1. İntraperitoneal yolla verilecek solüsyon hazırlanışı;*

- 100 ml %0.9'luk serum fizyolojik,
- 100 mgr Ovalbümin (OVA, grade V) (Sigma labs, ABD),
- 2 gr Alüminyum Hidroksit'ten (Sigma labs, ABD) oluşan solüsyon hazırlandı.

Hazırlanan solüsyondan 0.1 ml (0.1 mg Ovalbumin (OVA grade V, Sigma Labs, ABD) ve Alüminyum Hidroksit 200 mg/ml (Sigma Labs, ABD) sham grubu hariç, diğer gruptaki hayvanların her birine deneyin 1. ve 7. günlerinde aynı saatte intraperitoneal yolla enjekte edildi.

2.Topikal olarak verilecek solüsyon hazırlanışı:

- 5 ml PBS içine
- 25mgr OVA ilave edilerek OVA solüsyonu hazırlandı.

Hazırlanan solüsyon 14. günden itibaren, sham grubu hariç tim ratların her iki konjonktivasına 14 gün boyunca gūnaşırı olarak, aynı saatte gūnde bir kez 50µg/10µL/gūn (topikal) uygulamayla devam edildi.

3.Propolis (%25 'lik, zeytinyağında çözülmüş) neutral terapi firmasından (Erciyes Üniversitesi Teknopark bünyesinde) temin edilmiştir.

Birinci grup (propolis,gavaj-araştırma grubu); topikal OVA (10 µL, 14-28. günler arasında gūnaşırı, gūnde 1 kez) ve propolis (0.5 mL, 14-28. günler arasında hergūn, gūnde 1 kez) gavaj yoluyla uygulandı .

İkinci gruba (topikal propolis-araştırma grubu); topikal OVA (10 µL, 14-28. günler arasında gūnaşırı, gūnde 1 kez)ve topikal propolis (10 µL, 14-28. günler arasında hergūn, gūnde 2 kez) uygulandı.

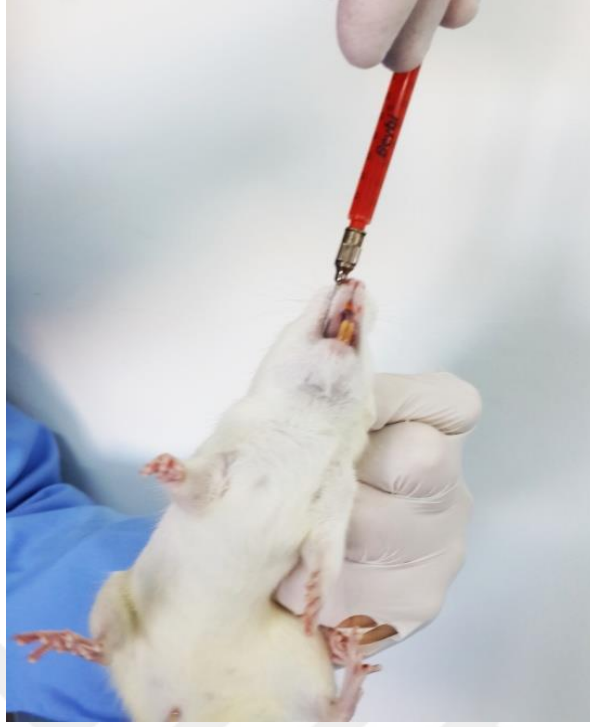
Üçüncü gruba (topikal antihistaminik, olopatadin-tedavi grubu); topikal OVA (10 µL, 14-28. günler arasında gūnaşırı, gūnde 1 kez)ve topikal olopatadin (10 µL, 14-28. günler arasında hergūn, gūnde 2 kez) uygulandı.

Dördüncü gruba (kortikosteroid-tedavi grubu); topikal OVA (10 µL, 14-28. günler arasında gūnaşırı, gūnde 1 kez)ve topikal kortikosteroid (10 µL, 14-28. günler arasında hergūn, gūnde 2 kez) uygulandı.

Beşinci gruba (alerjik konjonktivit –kontrol grubu) 14. günden itibaren 14 gün boyunca gūnaşırı aynı saatte topikal OVA (50µg/10µL/gūn) mikropipetle uygulandı. Tedavi uygulanmadı.

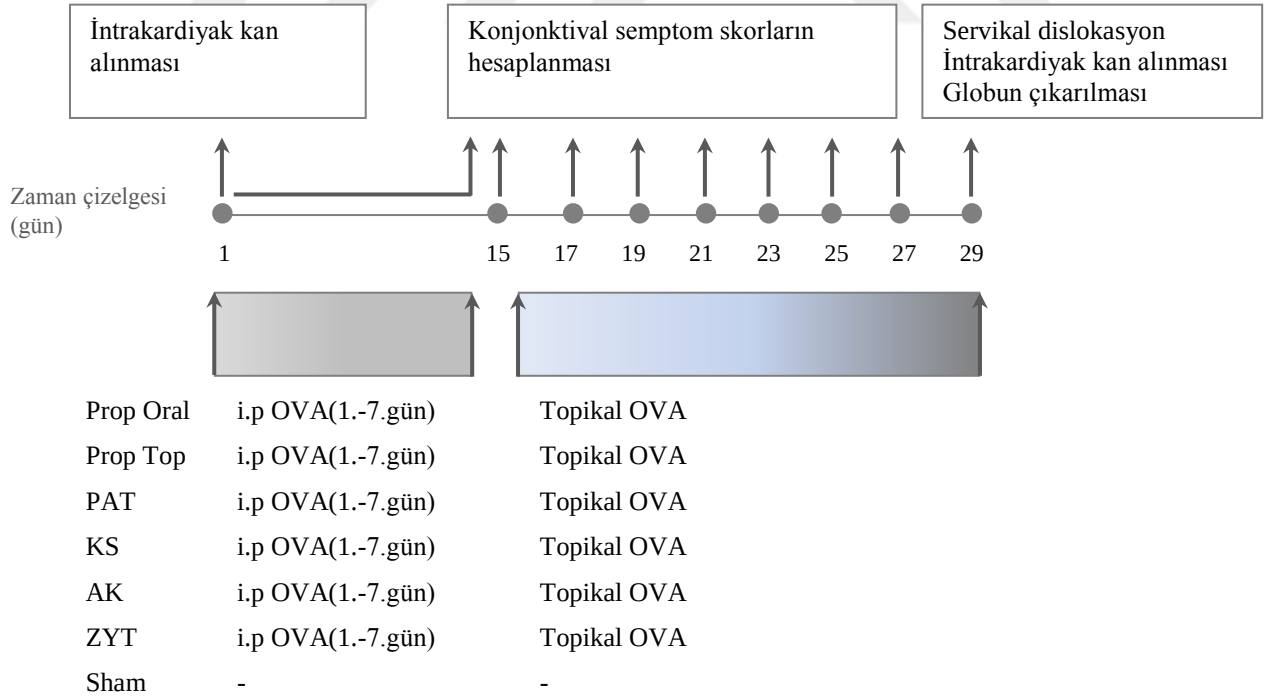
Altıncı gruba (zeytinyağı-pozitif kontrol); topikal OVA (10 µL, 14-28. günler arasında gūnaşırı, gūnde 1 kez) ve topikal zeytinyağı (10 µL, 14-28. günler arasında hergūn, gūnde 2 kez) uygulandı.

Yedinci grub, sham grubu olarak tüm çalışma boyunca herhangi bir ilaç tatbiki yapılmadan takip edildi.



Resim 1: Gavaj yoluyla ratlara propolis uygulanması

Aşağıdaki şekil 5'te ilaçların gruplara uygulanması gösterilmiştir.



Şekil 5. Deney hayvanlarına uygulanan işlemlerin zamansal gösterimi

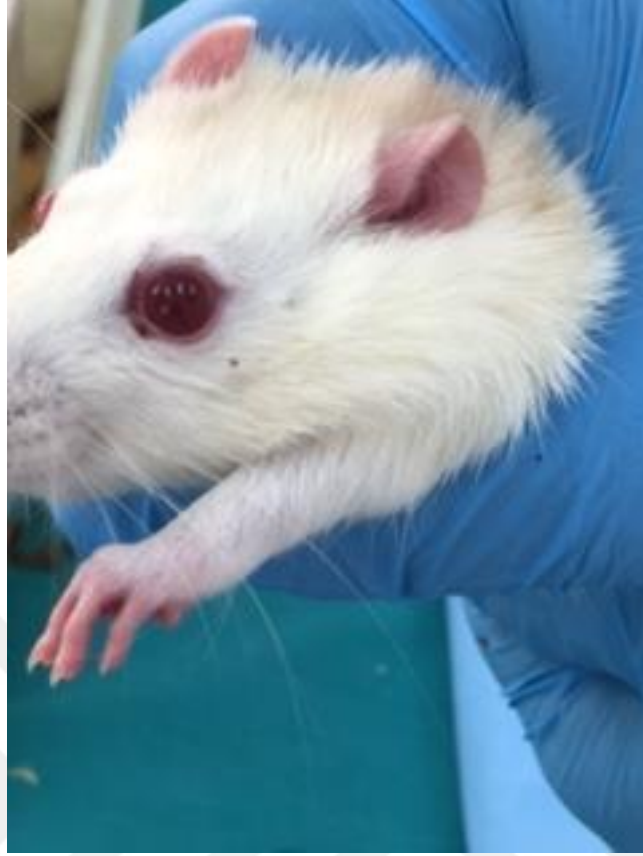
3.1.2. Fizik Muayene ve Semptomların Takibi

Tüm grupların topikal konjonktival uygulama öncesi göz muayeneleri yapıldı. İntraperitoneal OVA enjeksiyonunu takiben tekrarlayan topikal OVA uygulamaları sonrası ratların göz muayeneleri gözleme dayalı olarak yapıldı. Kapak şişliği, yaşarma, konjonktival kemozis ve kızarıklık semptomlarının şiddeti 0-3 arası puanlama sistemi oluşturularak değerlendirme yapıldı. Bu skorlamada semptomlar; “0 = hiçbir bulgu yok”, “1 = hafif”, “2 = orta”, “3 = şiddetli” olarak sınıflanmıştır (Tablo 12,111,113). Ratların topikal OVA ile sensitize edildiği 15. günde semptomlar gözleme dayalı olarak değerlendirilmeye başlandı. 10 dk kadar gözlem yapıldı. Takiben düzenli olarak 17, 19, 21, 23, 25, 27 ve 29. günlerde alerjik konjonktivit skorları kaydedildi (Resim 6).

Tablo 2: Ratlarda Alerjik Konjonktivit Semptom Skorlaması

Semptomlar	0	1	2	3
Kapak şişliği	Bulgu yok	hafif	orta	ağır
Kemozis	Bulgu yok	hafif	orta	ağır
Yaşarma	Bulgu yok	hafif	orta	ağır
Kızarıklık	Bulgu yok	hafif	orta	ağır

Çalışmanın sonunda tüm ratlardan anestezi altında iken intrakardiyak 5 cc kan alındı. Alınan kanlar sentrifüj edilerek, elde edilen serum çalışma sonu total IgE ve serum spesifik OVA IgE düzeyleri ölçülmek üzere mikrobiyoloji laboratuvarına gönderildi. Tüm ratlar derin anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Ratların bilateral gözleri, göz kapaklarını da içine alacak ve glob bütünlüğü korunacak şekilde çıkarıldı. Dokular %10'luk nötral formalin içine alındı ve histopatolojik incelemeye gönderildi. Ratların servikal lenf nodları diseke edildi ve dokular doku supernatantı oluşturmak ve flowsitometrik yöntemle CD3, CD4, IL-4 ve IL-17 analizi yapılmak amacıyla Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Betül-Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Araştırma Merkezi ne gönderildi.



Resim 2: OVA sensitizasyonu sonrası gelişen AK

3.1.3. Histolojik Takip

Dokular %10'luk nötral buffer formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku tespitinden sonra parafin bloklara alındı. 5 Mm kesitler alınarak Hemotoksilen Eozin ile boyandı. Konjunktivanın genel yapısı; epitelyum yapısı, konnektif dokudaki ödem, konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu yönünden hemotoksilen eozin kesitlerde değerlendirildi. Bu değişiklikler: yok (0), hafif (1), orta (2), şiddetli (3) olarak kategorize edildi. Olympus BX53 marka ışık mikroskobu ile taramalar yapıldı. İmmunohistokimyasal inceleme için her vakadan birer adet lizinli lama kesit alındı. Parafine gömülü formalin ile fiske edilmiş dokular 4Mm kalınlığında kesilerek etüvde 15 dakika bekletildi. Kesitlerde NF- κ B sinyal yolağı aktivasyonunun incelenmesi için immunohistokimyasal olarak NF- κ B antikor (BioLegend, p65 Ab-1, 1/250 dilution, San Diego, Ca, USA) kullanıldı. Tam otomatik sistem Roche Ventana Benchmark immünohistokimya makinesi ile boyandı. Çıkan preparatlar 5'er dakika 3

kez alkol, 5'er dakika 2 kez ksilende bekletildi ve daha sonra entellan yapıştırıcı ile kapatıldı. Pozitif kontrol için meme invaziv duktal karsinom dokusu kullanıldı.

3.1.4. Histolojik Değerlendirme

NF-κB aktivasyonu mononükleer hücrelerde ve konjunktiva epitelinde boyanma beraber değerlendirildi. Tüm kesitler bağımsız iki gözlemci tarafından incelendi. Boyanma paterni nükleer olarak değerlendirildi. Boyanmanın yaygınlığı ve yoğunluğu kaydedildi. Boyanma yaygınlığı belirlenirken, boyanma yok ise 0, %1-%10 arası hücrede boyanma varsa 1, %11-50 arası hücrede boyanma varsa 2 ve %50'den fazla hücrede boyanma varsa 3 skoru verildi. Boyanma yoğunluğu boyanma olan alanlarda 1, 2 ve 3 olarak subjektif olarak skorlandı; farklı yoğunlukta boyanan alanlar için en fazla izlenen yoğunluk skoru kaydedildi.

3.1.5. Flowsitometrik Değerlendirme

Hücre içi sitokin boyaması protokolü: Lenfositler kültürleri 96-kuyulu yuvarlak uçlu tabaklarda alınıp PMA (50ng/ml) Ionomycin (1µg/ml) ve Golgi Plug (1µl/ml) üçlüsü ile 10% FBS içeren complete medyum içerisinde 4 saat uyarılıp ardından buz üzerine alınır. 5dk 1µg/ml anti-rat CD16/CD32 ile muamele edilip Fc reseptörleri bloke edilecek, ardından veya anti-rat CD4-FITC, anti-rat CD3 ile 15 dk buz üzerinde yüzey boyamasına tabi tutulacaktır. 1500rpm de 3 dk santrifüjden sonra hücreler boyama buffer'ı ile (%2 FBS 1X PBS) iki defa yıkanıp 100µl Fix/Permiçinde çözülüp 20dk+ 4 derecede fixe ve permabilize edilecek ardından 1500rpm de 3 dk santrifüj edilip 2 kez Perm Buffer ile yıkanıp anti-rat IL-17A ve anti-rat IL-4 eklenerek 20dk 30dk oda sıcaklığında boyanıp, ardından 2 kez boyama bufferı ile yıkanıp Flow sitometri cihazında analiz edilecektir.

3.1.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler Windows için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version 22.0 for windows; SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) programı kullanılarak analiz edildi. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapmalar verildi. Kolmogorov-Smirnov testi yardımıyla parametrik değerlerin dağılımının normal olup olmadığı değerlendirildi. Tedavi öncesi ve sonrası değerler her bir grup içerisinde değerlendirilirken verilerde normal dağılım mevcut ise parametrik testlerden student t testi, dağılım homojen değil ise non parametrik testlerden Wilcoxon rank testi

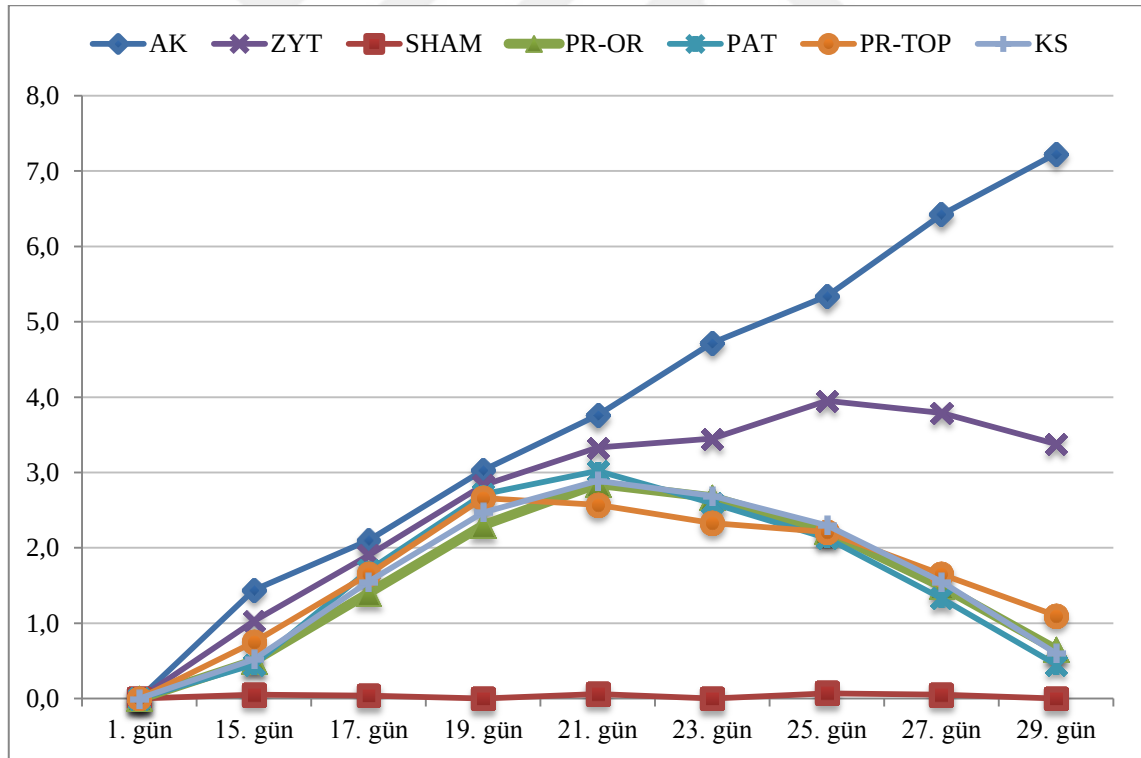
kullanıldı. Gruplar arasındaki değerler karşılaştırılırken normal dağılım mevcut ise parametrik testlerden independent samples t testi, dağılım homojen değil ise non parametrik testlerden Mann–Whitney U testi kullanıldı. Kullanılan tüm analizlerde p değeri 0.05’ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Fizik Muayene Bulguları

Çalışmamızda deneysel olarak ovalbumin ile alerjik konjonktivit modeli geliştirilen ratlarda propolisin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 65 adet rat randomize 7 gruba ayrılarak çalışmaya alındı. Ratların göz muayeneleri normal izlendi. Sham hariç tüm gruplarda ilk konjonktival uygulamada alerji bulguları hafif düzeyde (konjonktival hiperemi) başladı. Takip eden günlerdeki uygulamalarda bulguların ise alerjik konjonktivit (kontrol) grubunda şiddetlenerek arttığı, diğer gruplarda ise muayene bulgularının alerjik konjonktivit grubuna göre daha hafif, birbirleri ile benzer seyrettiği izlendi. Topikal zeytinyağı uygulanan grupta (kontrol pozitif) alerji semptomlarının bir miktar hafiflediği ancak tedavi grubuna göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Sham grubunda ise çalışma boyunca herhangi bir semptom görülmedi (Grafik 1).



Grafik 1: Tüm rat gruplarının ortalama nazal semptom skorları

4.2. Seroloji Sonuçları

Çalışmanın sonunda, tüm gruplarda ratlarda ölçülen serum total IgE ve spesifik OVA IgE değerleri, gruplar arasında ve Sham grubuyla kıyaslanmak istenmiştir. OVA ile sensitize edilen KS grubu ve OVA verilmeyen sham grubu kıyaslandığında, anlamlı değişikliğin olmadığı saptandı ($p>0.05$). Sham grubunda, OVA spesifik IgE'nin, KS grubundaki düzey kadar belirlenmesi üzerine, alınan OVA spesifik IgE kitinin uygulama protokolü incelendi. Protokolde, başka marka kitlerinki ile kıyaslandığında hata olduğunu düşünmekteyiz. Sham ve KS grubu arasında immunizasyon farkı olduğunu flowsitometrik olarak gösterirken, serolojik olarak gösteremedik. Aynı marka kit kullandığımız total IgE, IL-4, IL-13 sonuçlarımızı, sonuçları güvenli bulmadığımızdan yorumlamadık (Tablo 4,5,6,7).

Tablo 3: Gruplararası serum total IgE düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

	Sham	AK	ZYT	KS	PR-OR	PR-TOP
AK	0,6434					
ZYT	0,3865	0,7576				
KS	0,0449	0,0851	0,1649			
PR-OR	0,7576	0,9648	0,7576	0,0851		
PR-TOP	0,089	0,2235	0,3447	0,7506	0,1009	
PAT	0,1649	0,3099	0,4404	0,5078	0,2332	0,711

Tablo 4: Gruplararası serum OVA spe IgE düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

	Sham	AK	ZYT	KS	PR-OR	PR-TOP
AK	0,0449					
ZYT	1,000	0,0308				
KS	0,0449	0,1023	0,0055			
PR-OR	0,2801	0,0092	0,1228	0,0071		
PR-TOP	0,2568	0,0172	0,0588	0,039	0,4273	
PAT	0,3152	0,0305	0,1228	0,2004	0,5078	0,7913

Tablo 5: Gruplararası serum IL-4 düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

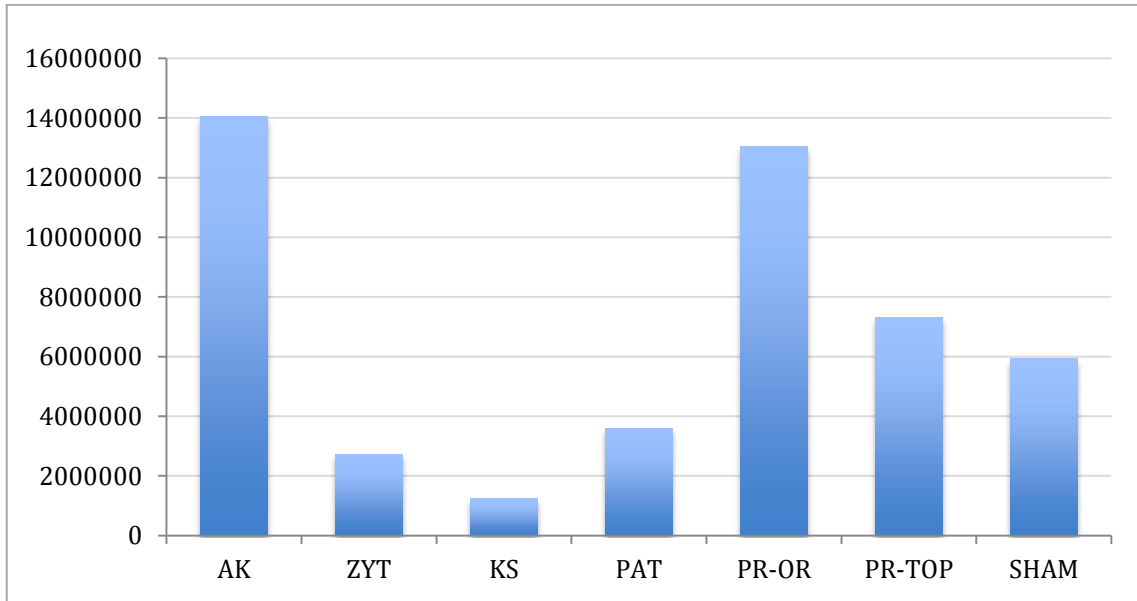
	Sham	AK	ZYT	KS	PR-OR	PR-TOP
AK	0,3545					
ZYT	1,000	1,000				
KS	0,2801	0,2332	0,8774			
PR-OR	0,217	0,8253	1,000	0,2004		
PR-TOP	0,2568	0,2664	0,7055	0,7913	0,2664	
PAT	0,3545	0,4529	0,8774	0,3099	0,6272	0,6338

Tablo 6: Gruplararası serum IL-13 düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

	Sham	AK	ZYT	KS	PR-OR	PR-TOP
AK	0,3545					
ZYT	0,0833	0,6434				
KS	0,217	0,4529	0,2801			
PR-OR	0,3545	0,6911	0,5371	0,7573		
PR-TOP	0,5708	0,8738	0,3447	0,9578	0,5604	
PAT	0,1649	0,9648	0,7576	0,3099	0,6911	0,5604

4.3. Flowsitometri Sonuçları

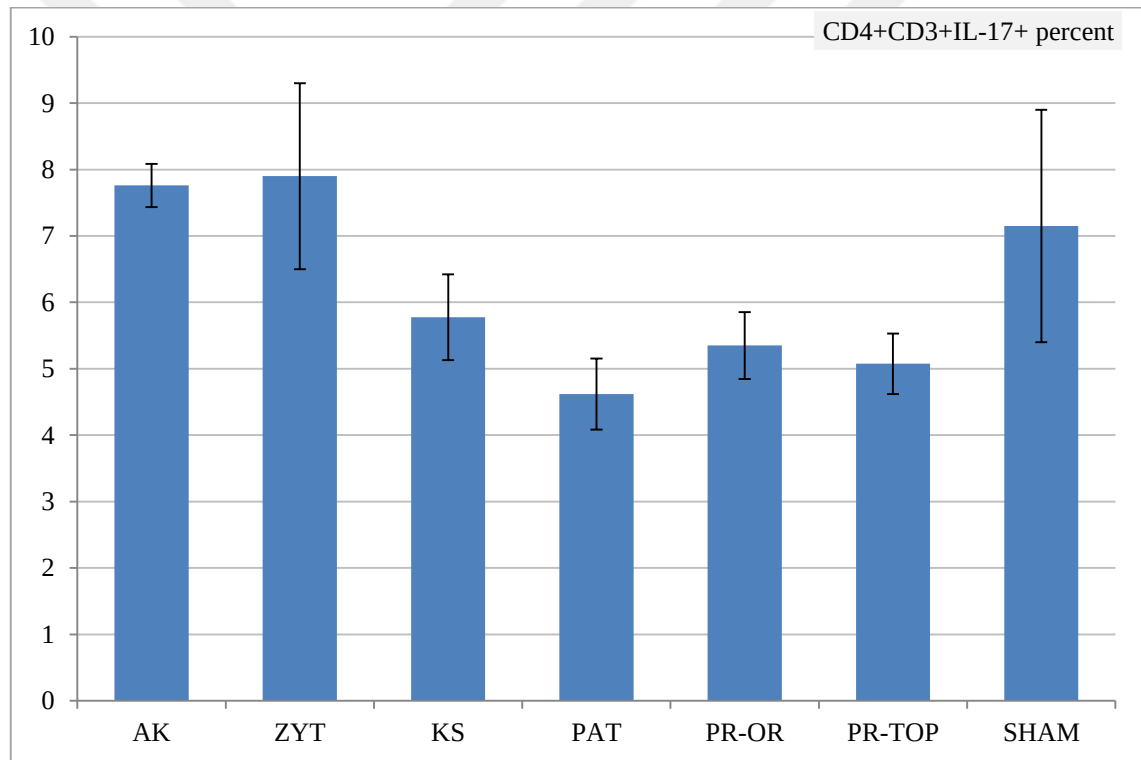
Deney sonunda ratların servikal lenf nodundan elde edilen supernatantta flowsitometrik yöntemle IL-4 ve IL-17 kaynağı olarak doğal (innate) ve kazanılmış (adaptif, CD+3, CD+4) hücre düzeyine bakıldı.

**Grafik 2:** Ortalama Hücre Sayısı

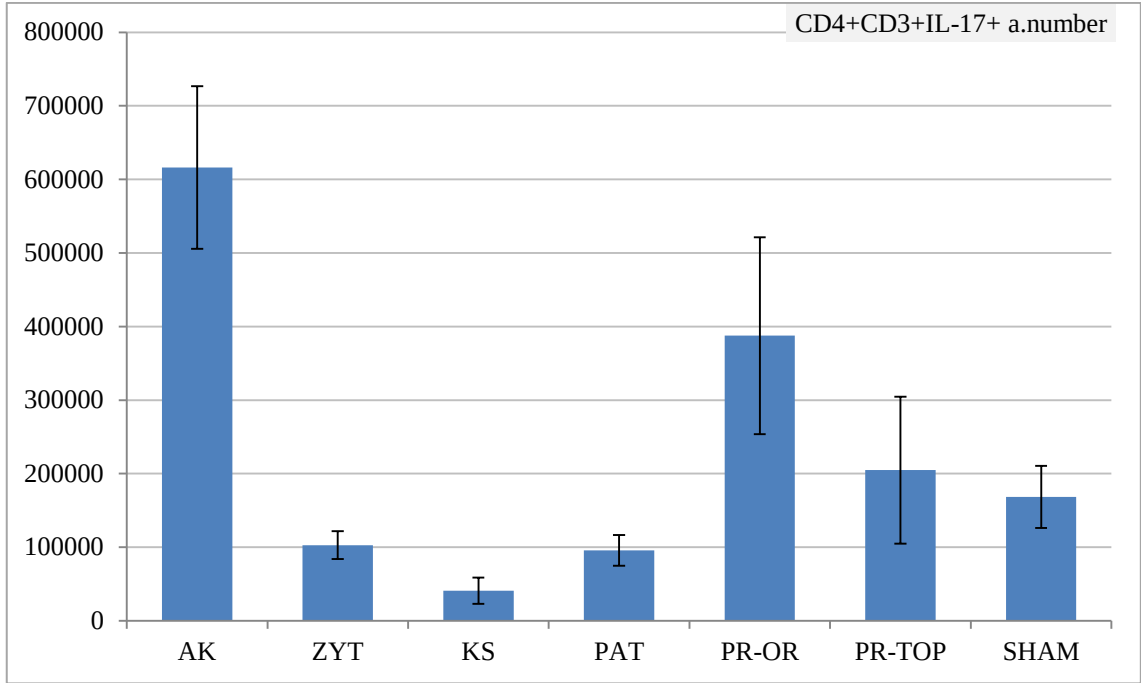
4.3.1. IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi

Çalışma sonunda, gruplar arasında IL-17 üreten bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde KS, PAT, PR-TOP, PR-OR grubunda AK grubuna göre anlamlı bulundu ($p<0.05$, Grafik 3, Tablo 8).

Gruplar arasında IL-17 üreten bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma ZYT, KS, PAT, PR-TOP, PR-OR grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu ($p<0.05$, Tablo 9). PR-OR grubunda diğer gruplara göre hücre sayısının daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Grafik 4, Tablo 9).



Grafik 3: IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 4: IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 7: IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,885					
KS	0,022	0,176				
PAT	0,001	0,037	0,207			
PR-OR	0,004	0,090	0,623	0,364		
PR-TOP	0,002	0,061	0,410	0,551	0,700	
SHAM	0,595	0,770	0,395	0,107	0,242	0,178

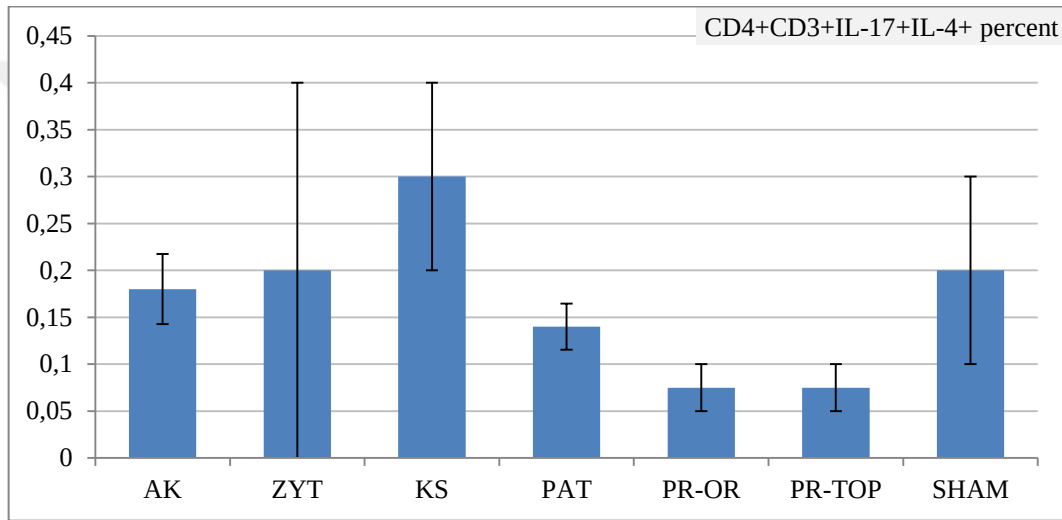
Tablo 8: IL-17 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,039					
KS	0,003	0,101				
PAT	0,002	0,853	0,094			
PR-OR	0,225	0,230	0,042	0,045		
PR-TOP	0,031	0,535	0,157	0,269	0,315	
SHAM	0,061	0,293	0,027	0,140	0,339	0,822

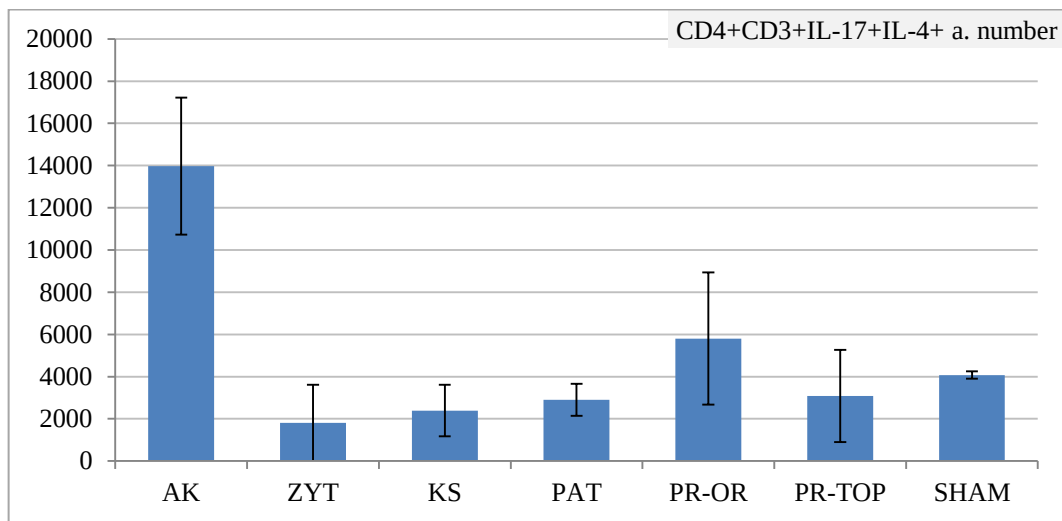
4.3.1. IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi

Çalışma sonunda, gruplar arasında IL-4 ve IL-17 üreten bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$, Grafik 5 Tablo 10).

Gruplar arasında IL-4 ve IL-17 üreten bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma KS, PAT, PR-TOP grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu ($p<0.05$, Grafik 6, Tablo 11).



Grafik 5: IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 6: IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 9: IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,877					
KS	0,258	0,633				
PAT	0,397	0,620	0,126			
PR-OR	0,064	0,384	0,072	0,109		
PR-TOP	0,064	0,384	0,072	0,109	1,000	
SHAM	0,817	1,000	0,570	0,411	0,157	0,157

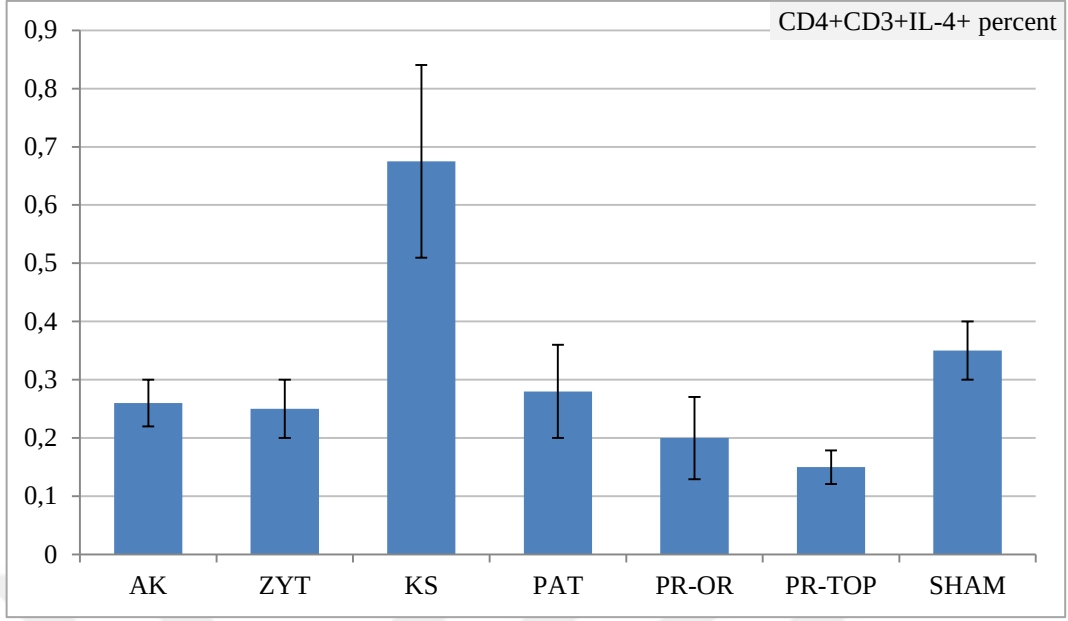
Tablo 10: IL-17 ve IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,079					
KS	0,019	0,799				
PAT	0,011	0,522	0,724			
PR-OR	0,119	0,454	0,350	0,347		
PR-TOP	0,034	0,731	0,792	0,933	0,503	
SHAM	0,128	0,338	0,412	0,398	0,732	0,777

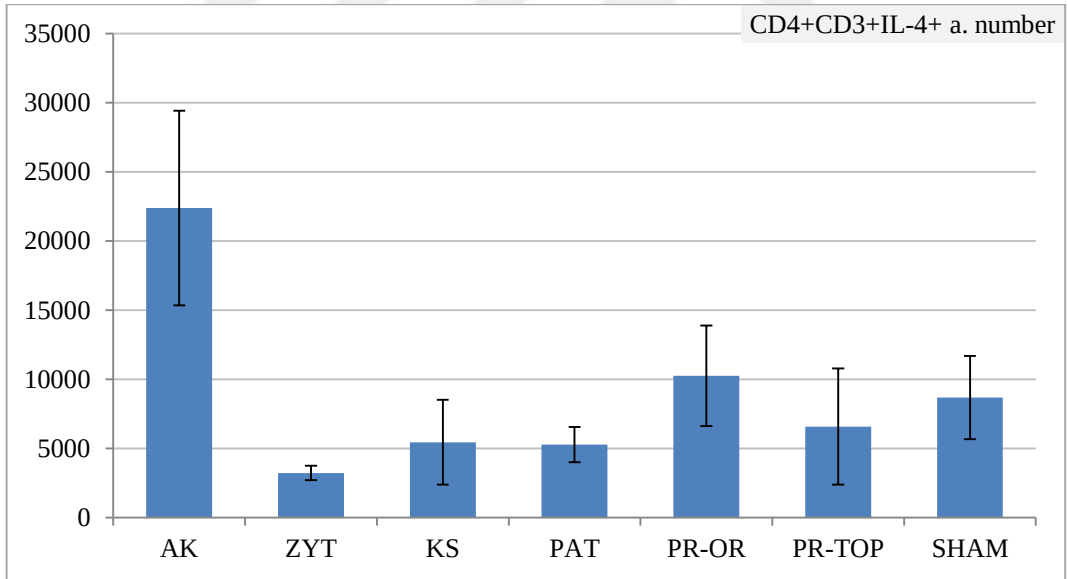
4.3.2. IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi

Çalışma sonunda, gruplar arasında IL-4 üreten bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde KS, PR-TOP, grubunda AK grubuna göre anlamlı düşüş bulundu ($p<0.05$, Grafik 7, Tablo 12).

Gruplar arasında IL-4 üreten bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma, KS, PAT grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu ($p<0.05$, Tablo 13). PR-OR grubunda diğer gruplara göre hücre sayısının daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Grafik 8, Tablo 13).



Grafik 7: IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 8: IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 11: IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,895					
KS	0,029	0,164				
PAT	0,829	0,835	0,054			
PR-OR	0,461	0,674	0,038	0,490		
PR-TOP	0,072	0,132	0,020	0,210	0,537	
SHAM	0,119	0,133	0,179	0,458	0,117	0,004

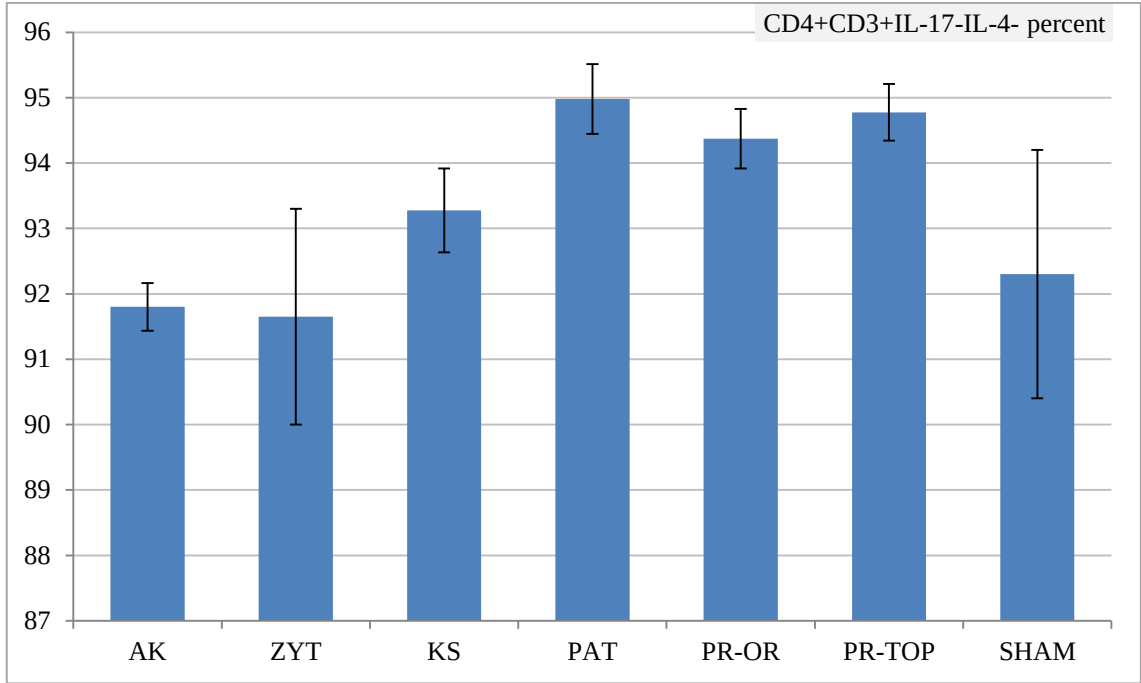
Tablo 12: IL-4 üreten Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PROP oral	PROP topikal
ZYT	0,165					
KS	0,084	0,656				
PAT	0,044	0,383	0,956			
PR-OR	0,201	0,267	0,352	0,198		
PR-TOP	0,115	0,622	0,835	0,751	0,533	
SHAM	0,301	0,217	0,551	0,256	0,799	0,765

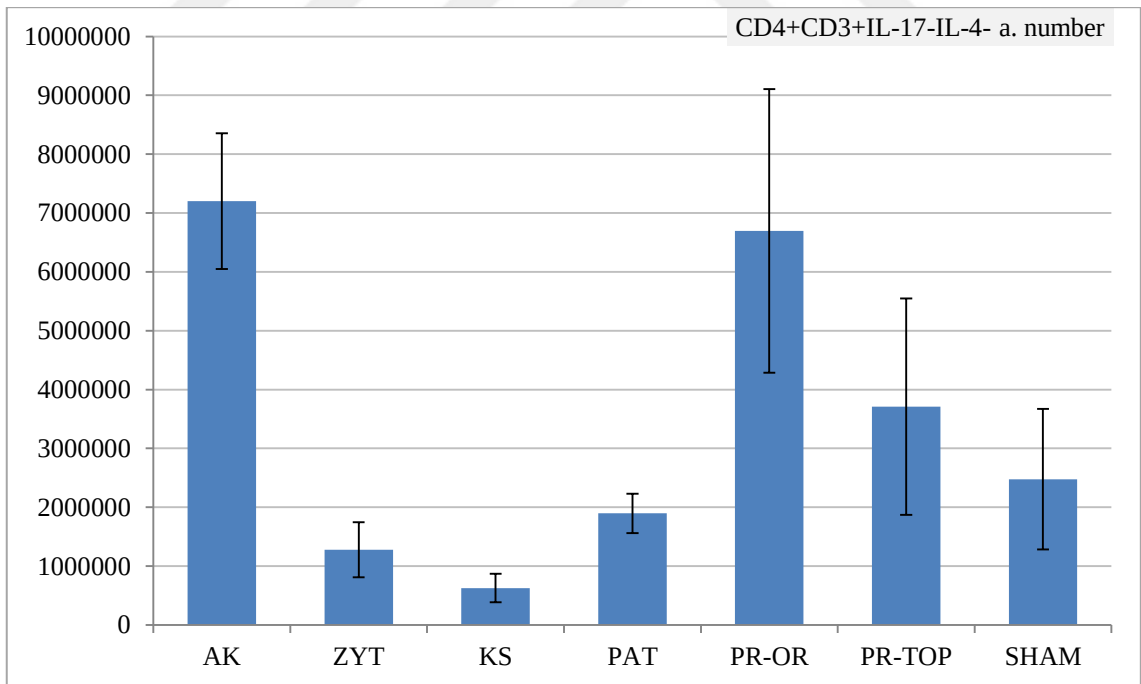
4.3.3. IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi

Çalışma sonunda, gruplar arasında IL-4 ve IL-17 üretmeyen bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde KS, PAT, PR-OR, PR-TOP, grubunda AK grubuna göre anlamlı düşüş bulundu ($p<0.05$, Grafik 9, Tablo 14).

Gruplar arasında IL-4 ve IL-17 üretmeyen bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma, ZYT, KS, Pat grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu. PR-OR grubunda diğer gruplara göre hücre sayısının daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Grafik 10, Tablo 15).



Grafik 9: IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 10: IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 13: IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,894					
KS	0,073	0,309				
PAT	0,001	0,044	0,077			
PR-OR	0,003	0,089	0,211	0,430		
PR-TOP	0,001	0,060	0,100	0,782	0,548	
SHAM	0,689	0,820	0,553	0,102	0,199	0,137

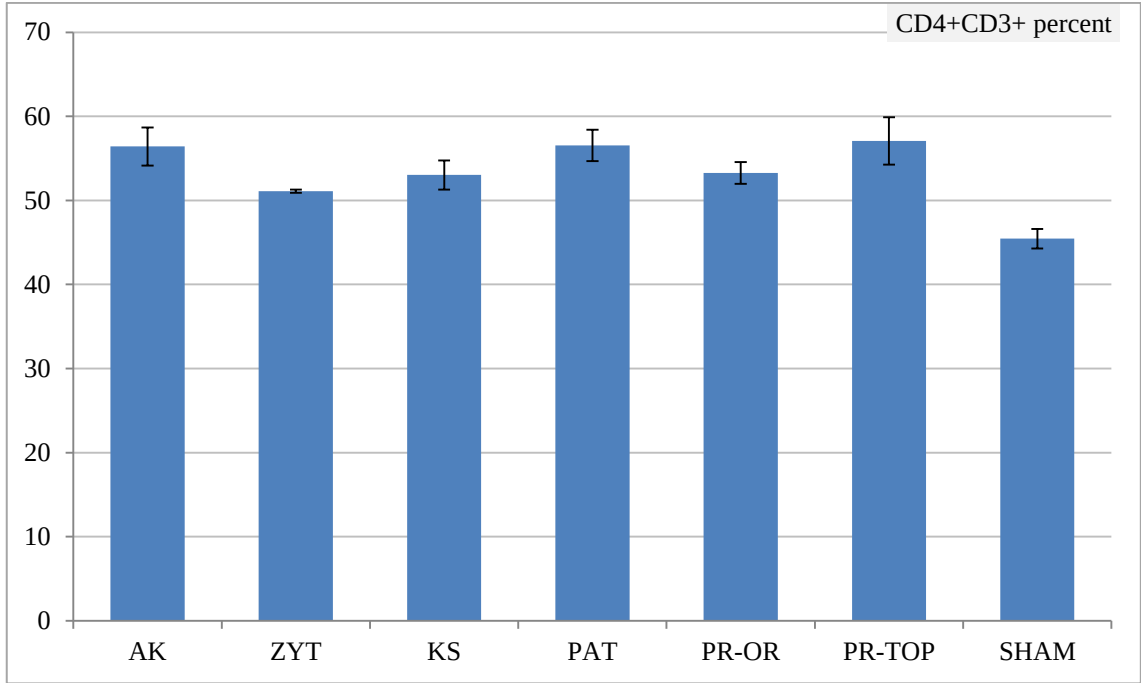
Tablo 14: IL-4 ve IL-17 üretmeyen Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,029					
KS	0,002	0,229				
PAT	0,002	0,359	0,022			
PR-OR	0,844	0,210	0,046	0,061		
PR-TOP	0,136	0,430	0,147	0,310	0,363	
SHAM	0,067	0,450	0,086	0,521	0,317	0,688

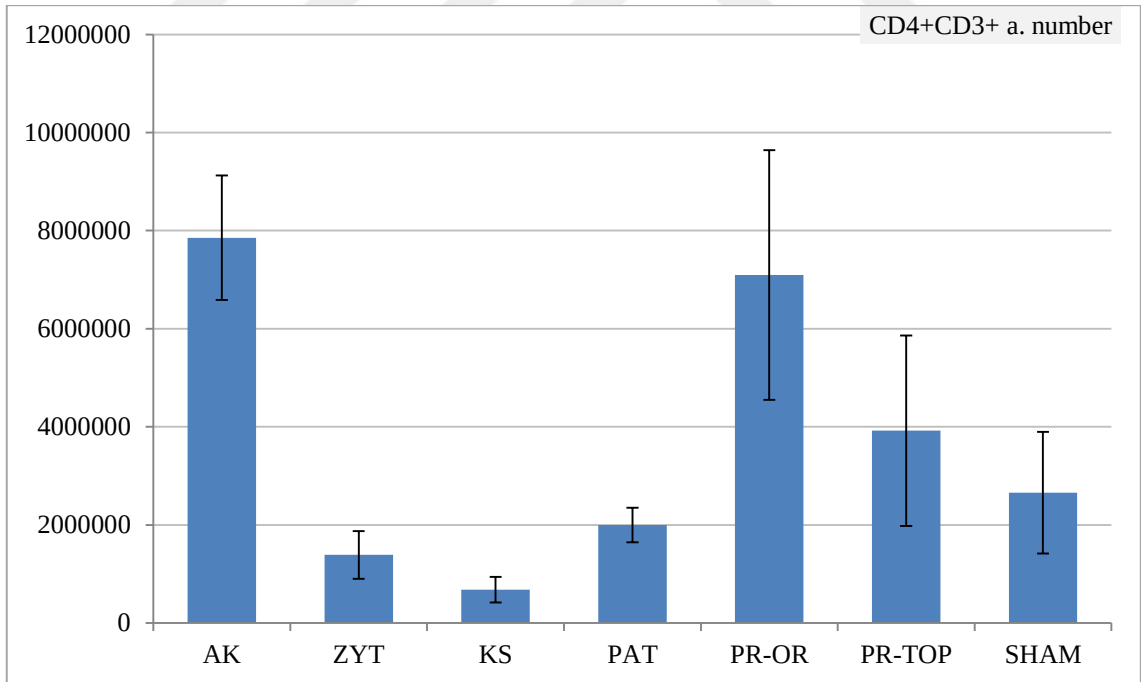
4.3.4. Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyi

Çalışma sonunda, gruplar arasında CD4+CD3+ bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde Sham grubunda AK grubuna göre anlamlı düşüş bulundu ($p<0.05$, Grafik 11, Tablo 16).

Gruplar arasında bütün T hücreleri (Th1 ve Th2) düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma, ZYT, KS, PAT grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu. PR-OR grubunda diğer gruplara göre hücre sayısının daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Grafik 12, Tablo 17).



Grafik 11: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 12: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 15: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,220					
KS	0,294	0,502				
PAT	0,968	0,143	0,220			
PR-OR	0,300	0,327	0,912	0,217		
PR-TOP	0,859	0,230	0,267	0,874	0,266	
SHAM	0,036	0,040	0,049	0,018	0,019	0,053

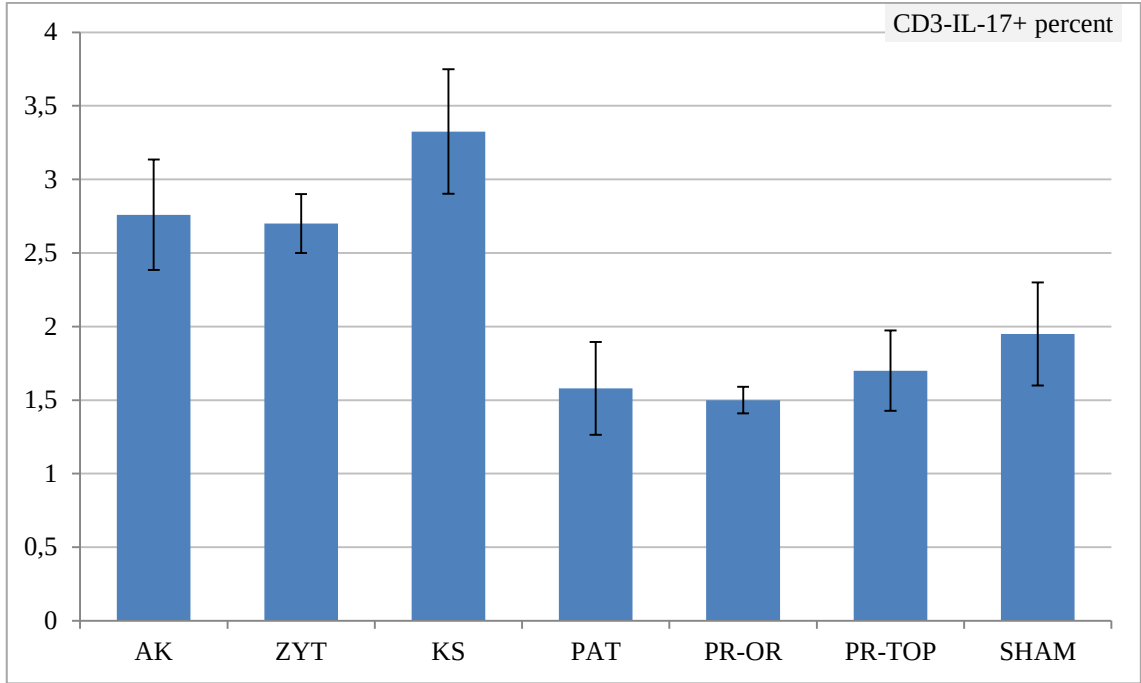
Tablo 16: Adaptif hücre (CD4+CD3+) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,029					
KS	0,002	0,222				
PAT	0,002	0,385	0,024			
PR-OR	0,784	0,211	0,046	0,060		
PR-TOP	0,121	0,436	0,149	0,309	0,359	
SHAM	0,067	0,441	0,082	0,489	0,318	0,696

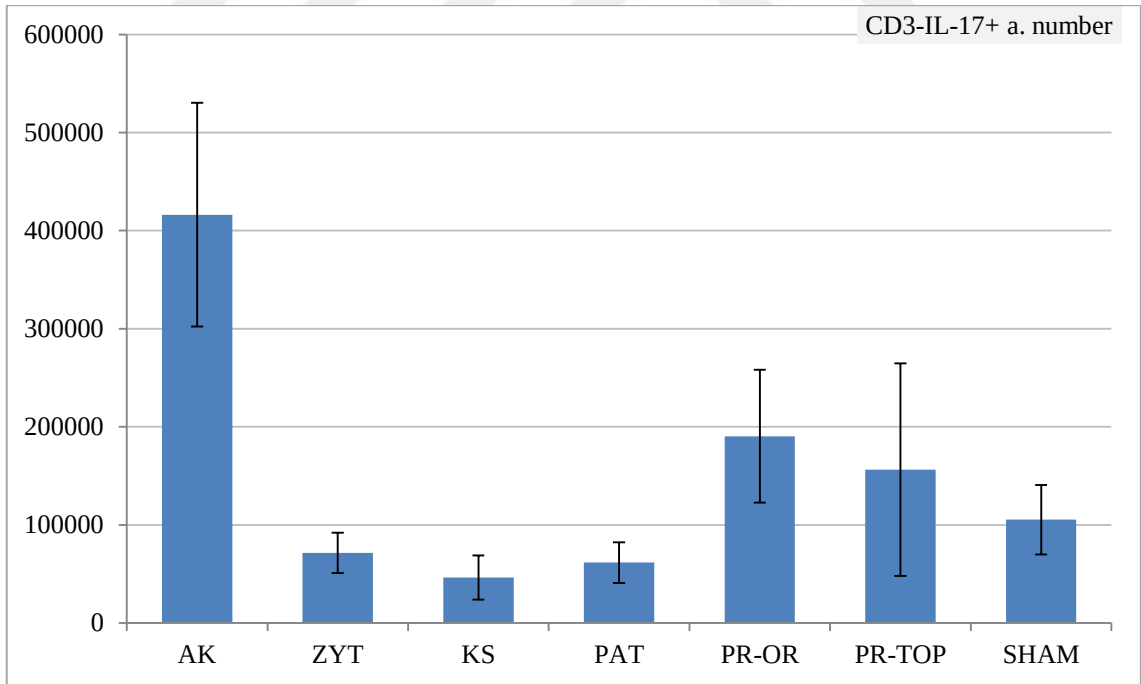
4.3.4. T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyi

Çalışma sonunda, T hücre dışındaki IL-17 üreten hücre (CD3-) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde PAT, PR-OR grubunda AK grubuna göre anlamlı düşüş bulundu ($p<0.05$, Grafik 13, Tablo 18).

Gruplar arasında T hücre dışındaki IL-17 üreten hücre (CD3-) düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma, KS, PAT grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu. PR-OR grubunda diğer gruplara göre hücre sayısının daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Grafik 14, Tablo 19).



Grafik 13: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 14: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 17: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,929					
KS	0,350	0,388				
PAT	0,043	0,092	0,012			
PR-OR	0,023	0,003	0,006	0,833		
PR-TOP	0,067	0,080	0,018	0,789	0,514	
SHAM	0,271	0,204	0,109	0,537	0,152	0,618

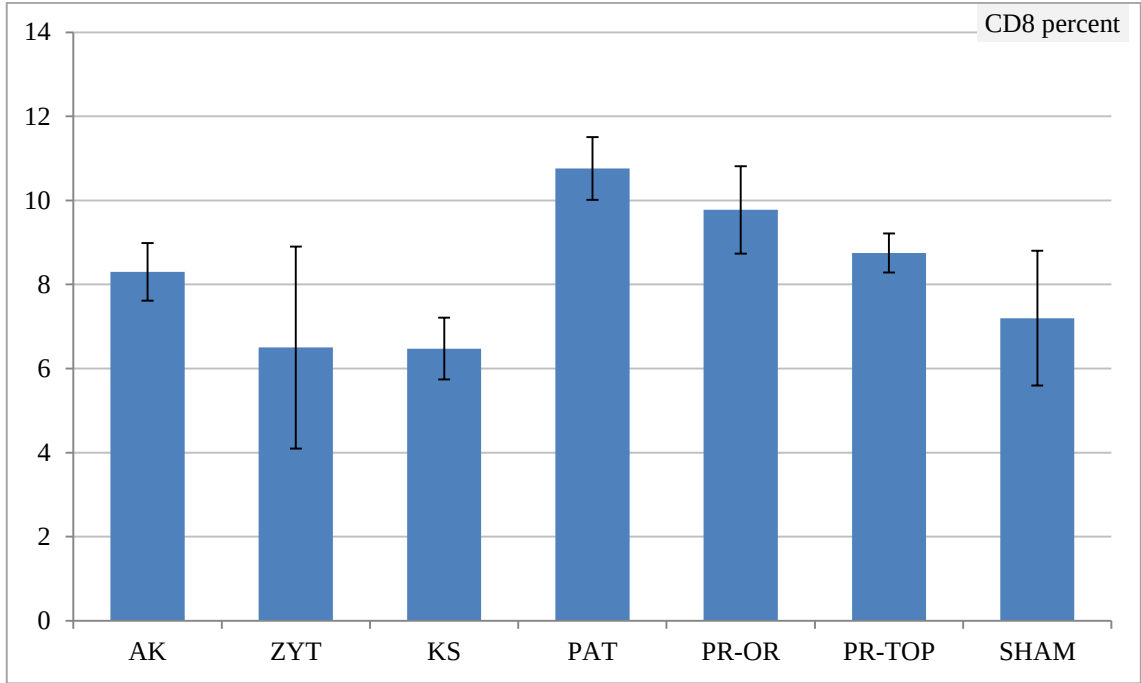
Tablo 18: T hücre dışında (CD3-) IL-17 üreten hücre düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,131					
KS	0,026	0,521				
PAT	0,016	0,796	0,633			
PR-OR	0,157	0,310	0,090	0,084		
PR-TOP	0,150	0,631	0,359	0,367	0,798	
SHAM	0,166	0,495	0,214	0,318	0,459	0,772

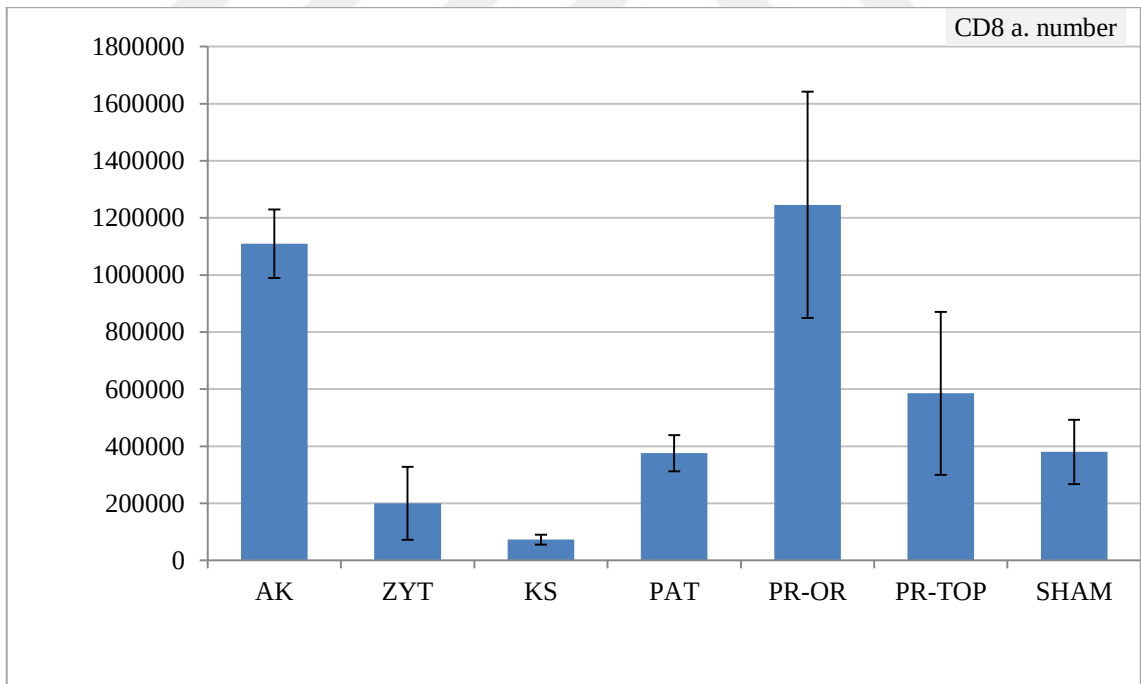
4.3.5. CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyi

Çalışma sonunda, CD8+ hücre (CD3+, CD4-) düzeyi yüzde olarak incelendiğinde PAT grubunda AK grubuna göre anlamlı artış bulundu ($p<0.05$, Grafik 15, Tablo 20).

Gruplar arasında CD8+ hücre (CD3+,CD4-) hücrelerin düzeyi absolut sayı olarak incelendiğinde diğer gruplardaki toplam hücre sayısının, AK grubuna göre genel olarak azaldığı belirlendi. Bu azalma, ZYT, KS, PAT ve Sham grubunda AK grubuna kıyasla anlamlı bulundu ($p<0.05$, Tablo 16). PR-OR grubunda diğer gruplara ve AK grubuna göre hücre sayısının daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.05$, Grafik 16, Tablo 21).



Grafik 15: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (yüzdelik)



Grafik 16: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası grafiksel analizi (hücre sayısı bazlı)

Tablo 19: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi
(yüzdelik)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,342					
KS	0,114	0,990				
PAT	0,041	0,062	0,005			
PR-OR	0,259	0,201	0,041	0,455		
PR-TOP	0,625	0,239	0,040	0,070	0,404	
SHAM	0,476	0,831	0,649	0,065	0,235	0,267

Tablo 20: CD8+ T hücre (CD3+, CD4-) düzeyinin gruplararası istatistiksel analizi
(hücre sayısı bazlı)

	AK	ZYT	KS	PAT	PR-OR	PR-TOP
ZYT	0,008					
KS	0,000	0,198				
PAT	0,001	0,222	0,005			
PR-OR	0,726	0,156	0,025	0,044		
PR-TOP	0,109	0,425	0,123	0,447	0,225	
SHAM	0,018	0,401	0,014	0,971	0,222	0,661

4.4. Histopatoloji Sonuçları

4.4.1. Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama

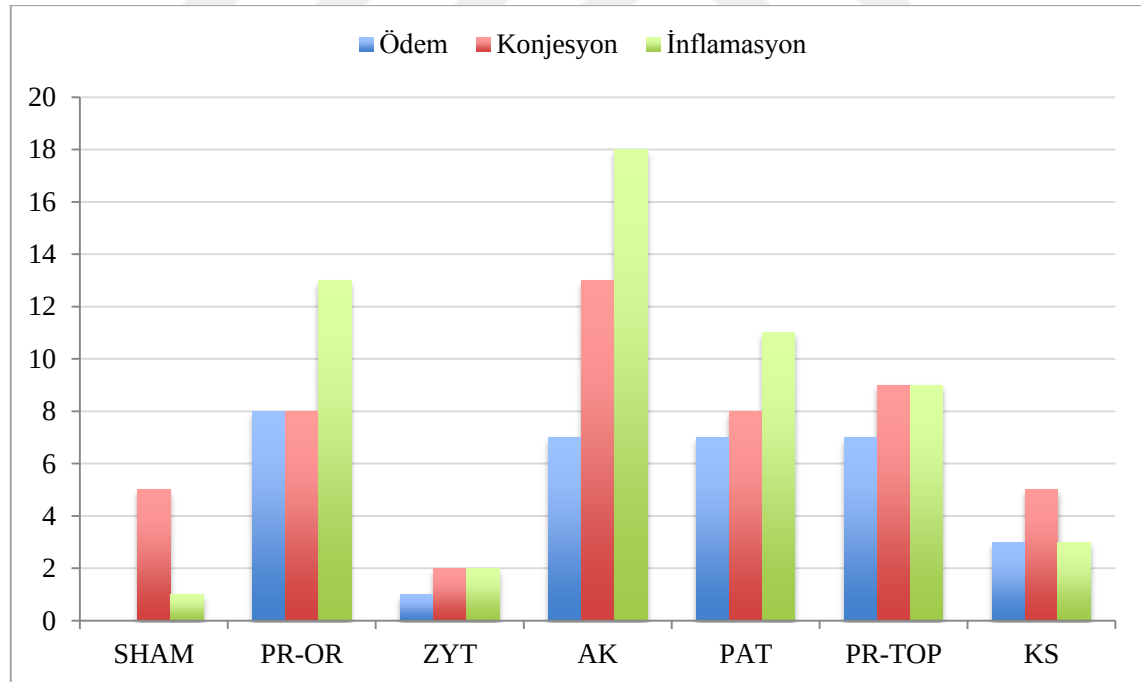
Tüm grup ratların semikantitatif histopatolojik değerlendirmesinde Hematoksilen-Eozin (H&E) boyamada konjonktiva örneklerinde, alerjik konjonktivit göstergelerinden ödem, konjesyon ve inflamatuvar hücre artışını (eozinofil infiltrasyonu) kapsayan inflamatuvar patolojiler ve immünohistokimyasal boyamalarda konjonktiva epitelinde NF-κB ekspresyonu incelendi.

H&E bulgularına göre, konjonktiva örneklerinde ödem bulgusu, KS, SHAM ve ZYT gruplarında gözlenmezken, diğer gruplarda hafif (+) düzeydeydi. Konjesyon tüm gruplarda hafif düzeyde bulundu. İnflamatuvar hücre artışı karşılaştırıldığında, PR-OR grubunda orta derecede (++); AK grubunda şiddetli derecede (+++), KS grubunda yok

denecek (-) düzeyde gözlemlendi (Tablo 22, Grafik 17). PR-TOP grubunda inflamatuvar hücre düzeyinin PR-OR grubuna göre daha azaldığı dikkat çekiciydi.

Tablo 21: Tüm deneysel grupların H&E boyama sonucu histopatolojik parametrelerinin skorları

	Ödem	Konjesyon	İnflamatuvar hücre
SHAM	-	+	-
PR-OR	+	+	++
ZYT	-	+	+
AK	+	+	+++
PT	+	+	+
PR-TOP	+	+	+
KS	-	+	-



Grafik 17: Tüm deneysel grupların konjonktivalarının histopatolojik parametre skorları

Tablo 22: Rat grupları histopatolojik parametrelerin ortalama değerleri ve standart sapmaları

	Ödem	Konjesyon	İnflamasyon
SHAM	0,0±0,0	1,0±0,0	0,2±0,4
PR-OR	1,0±0,0	1,0±0,0	1,6±0,9
ZYT	0,3±0,6	0,7±0,6	0,7±0,6
AK	0,8±0,4	1,4±0,5	2,0±0,5
PAT	0,8±0,4	0,9±0,3	1,2±0,8
PR-TOP	0,9±0,4	1,1±0,4	1,1±0,4
KS	0,3±0,7	0,6±0,5	0,3±0,5

Tablo 23: Rat gruplararası ödemin istatistiksel olarak karşılaştırılması

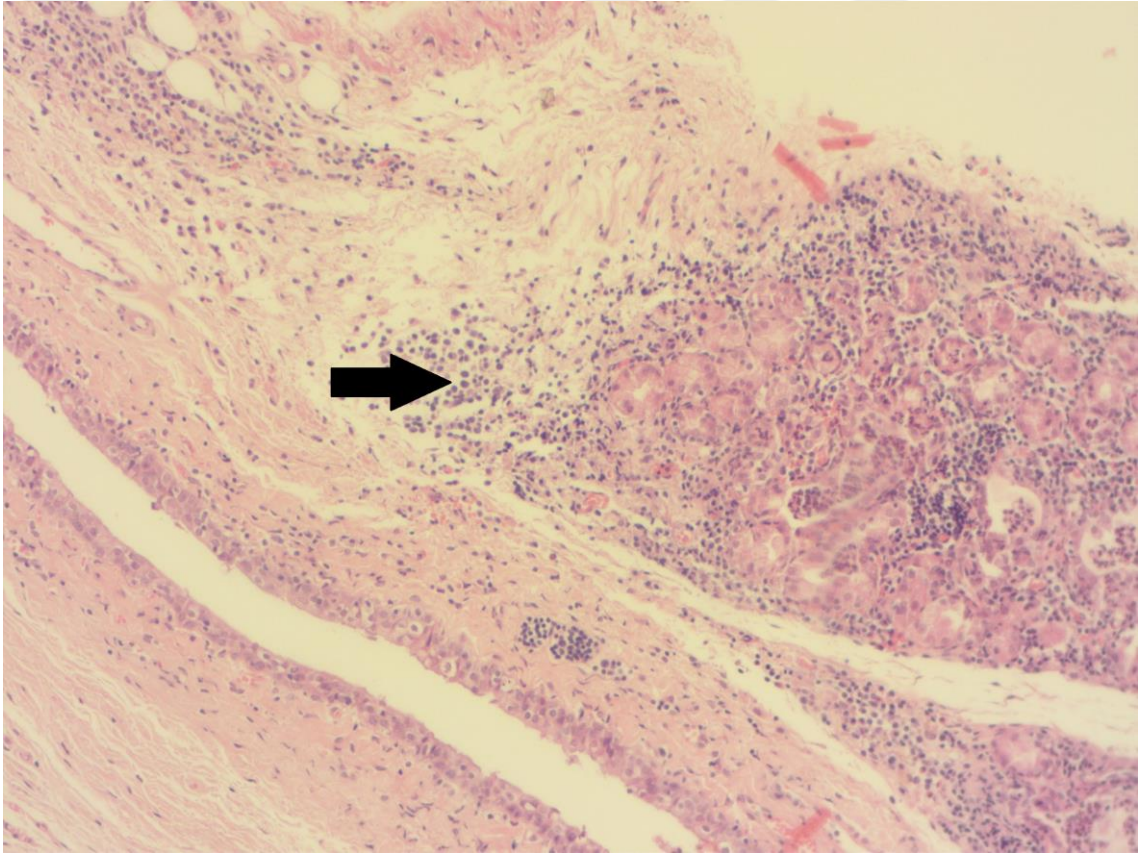
	SHAM	PR-OR	ZYT	AK	PAT	PR-TOP
PR-OR	0.0005					
ZYT	0.1967	0.0149				
AK	0.0072	0.1685	0.1757			
PAT	0.0072	0.1685	0.1757	1.000		
PR-TOP	0.0031	0.3173	0.0867	0.6106	0.6106	
KS	0.2740	0.0091	0.8077	0.0590	0.0590	0.0308

Tablo 24: Rat gruplararası konjesyonun istatistiksel olarak karşılaştırılması

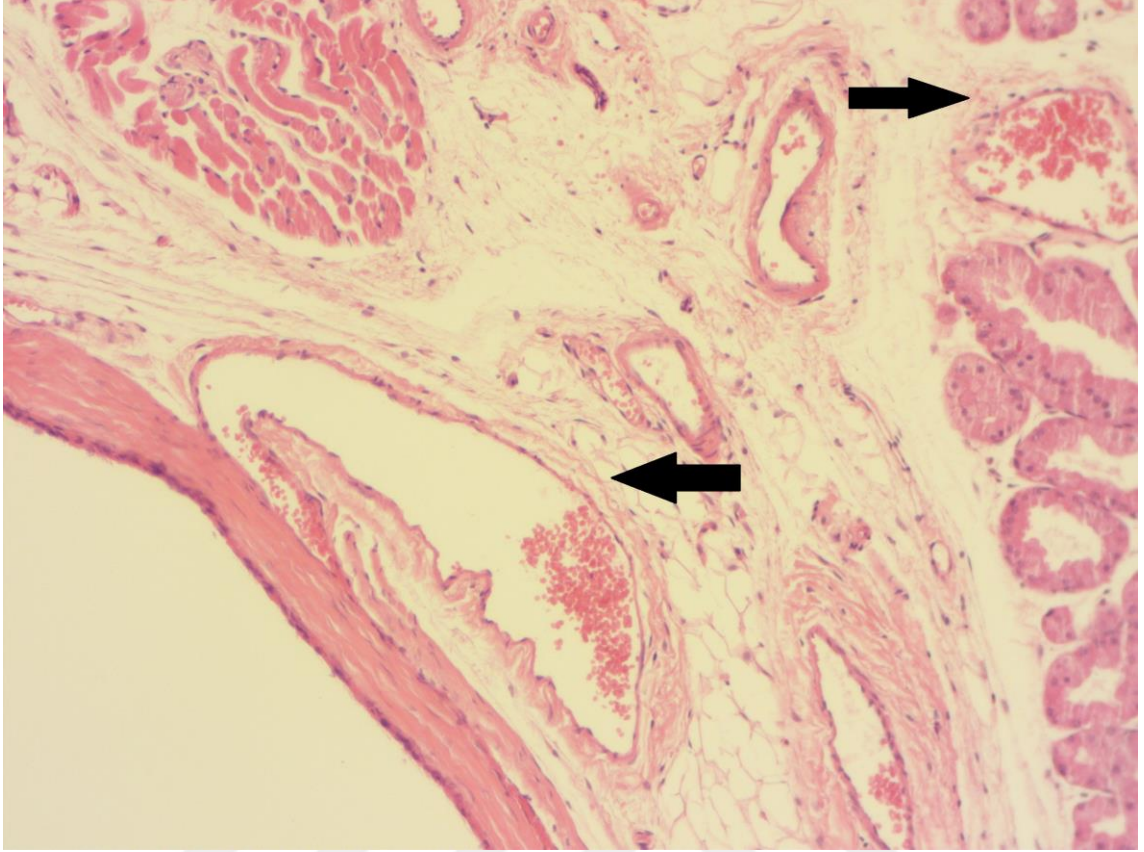
	SHAM	PR-OR	ZYT	K	PT	PR-TOP	KS
PR-OR	-						
ZYT	0.1967	0.1025					
AK	0.0892	0.0364	0.0731				
PAT	0.4561	0.3458	0.3918	0.0209			
PR-TOP	0.4292	0.3173	0.1301	0.1616	0.1693		
KS	0.0892	0.0364	0.7462	0.0060	0.1250	0.0257	

Tablo 25: : Rat gruplararası inflamasyonun istatistiksel olarak karşılaştırılması

	SHAM	PR-OR	ZYT	AK	PT	PR-TOP	KS
PR-OR	0.0061						
ZYT	0.2169	0.0969					
AK	0.0015	0.2102	0.0093				
PT	0.0329	0.5025	0.2786	0.0336			
PR-TOP	0.0050	0.2132	0.1301	0.0025	0.6222		
KS	0.6101	0.0030	0.3315	0.0003	0.0228	0.0047	



Resim 3: Konjunktiva epitelinde, bağ dokuda ve gözyaşı bezinde şiddetli inflamasyon alanları. Siyah ok; inflamatuvar hücreleri göstermektedir. (X10 HE)



Resim 4: Konjontktiva epitelinde HE boyanması. Siyah oklar şiddetli konjesyonun olduğu alanları göstermektedir. (X10 HE)

4.4.2. İmünohistokimyasal boyama ile NF- κ B ekspresyonu

NF- κ B, immün yanıtta yer alan, hücre proliferasyonuna ve apoptoza katılan yaygın bulunan enhancer bağlayıcı bir transkripsiyon faktörü olup 50 ve 65 kDa alt birimlerden (p50 ve p65) oluşur (115). p50 DNA'ya bağlanır, p65 ise transkripsiyonel aktivasyon yapar. p65, I κ B denen inhibitör sitoplazmik protein ailesine bağlı halde bulunur. Bu bağlanma, NF- κ B'nin çekirdeğe translokasyonunu ve dolayısıyla DNA'ya bağlanmasını engeller. I κ B, proteolizle regüle edilir ve yıkımı NF- κ B'nin serbest kalarak, örneğin transkripsiyonel aktivasyon yapar. NF- κ B ve AP1 gibi diğer transkripsiyon faktörleri aracılı hücresel yanıtlar, kanser kaşeksisinde önemli rol oynar (116).

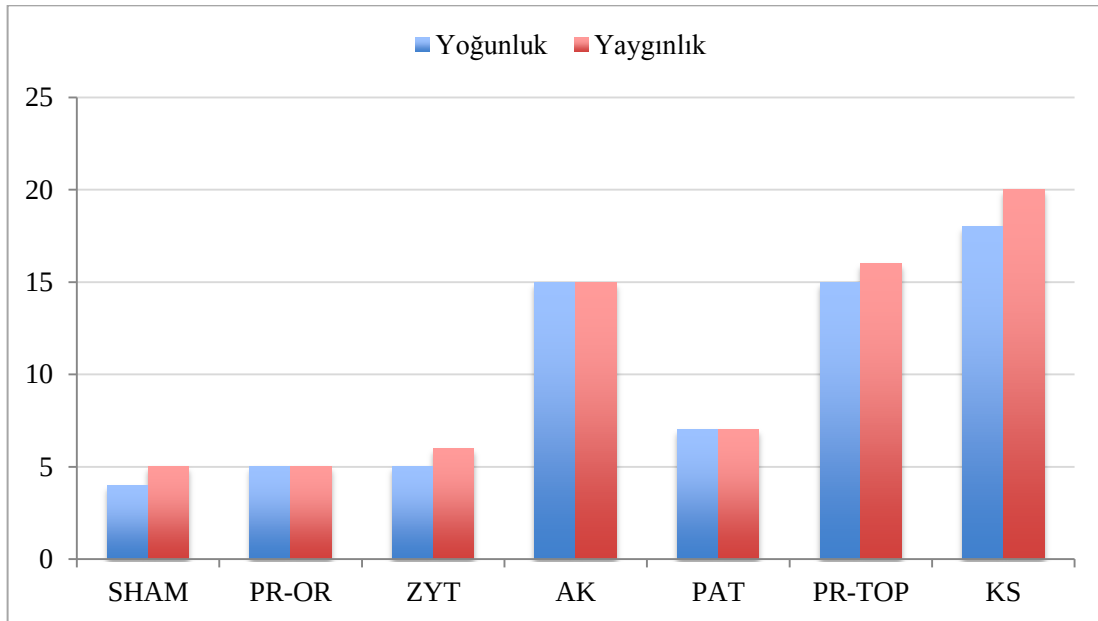
İnsan sitomegalovirüsü (HCMV) proteinleri, NF- κ B ile etkileşime girer. NF- κ B, HIV transkripsiyonunu tetiklemektedir, bu nedenle inhibe edilmesi yoluyla anti-HIV tedavisi

üzerine çalışmalar vardır. NF- κ B, astımlı insanların havayolu epitelinde aktive olarak bulunur (117).

Tüm rat grupların semikantitatif histopatolojik değerlendirmesinde immünohistokimyasal olarak NF- κ B ekspresyonu yoğunluğu ve yaygınlığı incelendiğinde AK grubuna göre Sham, PAT ve PR-OR grubunda istatistiksel olarak anlamlı zayıf belirlendi ($p < 0.05$). AK grubu ile ZYT, KS ve PR-TOP grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$) (Tablo 27).

Tablo 26: Tüm deneysel grupların NF- κ B ekspresyonunun yoğunluk ve yaygınlık parametrelerinin skorları

	Yoğunluk	Yaygınlık
SHAM	+	+
PR-OR	+	+
ZYT	++	++
AK	++	++
PAT	+	+
PR-TOP	++	++
KS	++	++



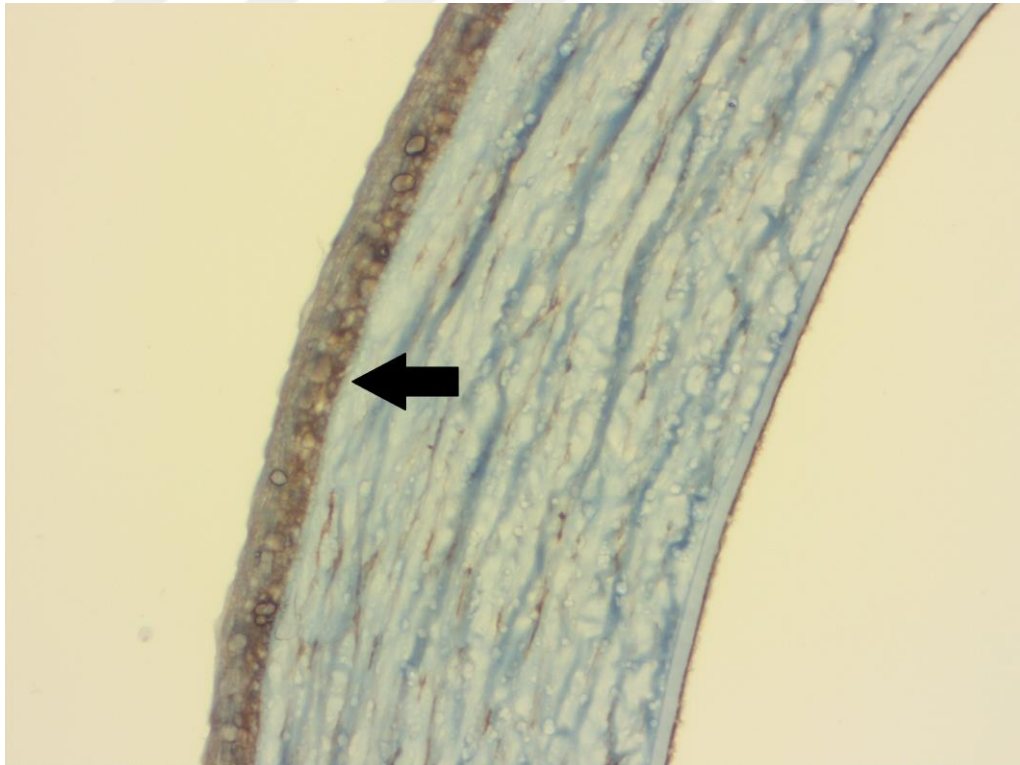
Grafik 18: NF- κ B ekspresyonunun yoğunluk ve yaygınlık olarak incelenmesi

Tablo 27: Rat gruplararası NF- κ B yoğunluğunun istatistiksel olarak karşılaştırılması

	SHAM	PR-OR	ZYT	AK	PT	PR-TOP	KS
PR-OR	0.5104						
ZYT	0.0583	0.0660					
AK	0.0139	0.0088	1.000				
PT	0.8263	0.7148	0.1179	0.0228			
PR-TOP	0.0031	0.0030	0.4468	0.3268	0.0070		
KS	0.0027	0.0020	0.3302	0.1763	0.0042	0.5623	

Tablo 28: Rat gruplararası NF- κ B yaygınlığının istatistiksel olarak karşılaştırılması

	SHAM	PR-OR	ZYT	AK	PT	PR-TOP	KS
PR-OR	0.3397						
ZYT	0.1501	0.0534					
AK	0.0736	0.0088	0.5271				
PT	0.5675	0.7148	0.0821	0.0228			
PR-TOP	0.0434	0.0063	1.000	0.3243	0.0121		
KS	0.0255	0.0034	0.6936	0.1130	0.0054	0.5374	



Resim 5: Konjunktiva epitelinde NF- κ B immünohistokimyasal boyanma. Siyah ok konjunktiva epitelinde NF- κ B ile şiddetli nükleer boyanma alanlarını göstermektedir. (X20 NF- κ B)

5. TARTIŞMA

Alerjik hastalıklar, prevalansının hızla artmasıyla, küresel bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Göz hastalıkları kliniklerinde en fazla karşılaşılan hastalıklardan olup, gözde kızarma, kaşınma, sulanma ve kapak şişliği şikayetleri ile karakterizedir (83, 84, 85, 86).

Konjonktiva hava kaynaklı alerjenlere maruziyetinin fazlalığı ile alerjik inflamasyonun en sık görüldüğü mukazal yüzeydir. Alerjiye sebep olan yüzlerce faktörler incelendiğinde, hava kirliliği, polenler, evcil hayvanlar, genetik, erken çocukluk döneminde alerjene maruziyet başı çekmektedir (87). Populasyonun çoğunun tedaviye ihtiyacı olmasıyla tedavi maliyetleri giderek artmaktadır (88).

Oküler alerji atotik keratokonjonktivitte olduğu gibi görme kaybına neden olan ağır formlarla da karşımıza çıkmaktadır, Alerjik konjonktivit, mevsimsel (MAK), perenial (PAK), vernal (VKK) ve atopik keratokonjonktiviti (AKK) içeren kapsayıcı bir tanımlamadır. Bazı ortak özelliklerine rağmen, AKK ve VKK klinik ve patofizyolojik özellikler açısından MAK ve PAK'tan oldukça farklıdır (89). Ayrıca kontak lens ve oküler protez kullanımı ile ilişkili dev papiller konjonktivit (DPK) oküler alerjik gruplarından biri olarak kabul edilmesine rağmen gerçek alerjik bir hastalık olarak değerlendirilmemelidir. DPK, kontak lens birimlerinde takip ve tedavisi yapılan kronik oküler mikro-travma ilişkili hastalıklardandır (90, 104).

Alerjik konjonktivit tanısı primer olarak klinik tanı ile konmaktadır. Tanıyı destekleyen laboratuvar testleri de mevcuttur (91). Spesifik alerjenlere yönelik in-vivo deri testleri ve klinikte sıkça kullanılan spesifik alerjene karşı IgE antikorlarının tespit edildiği in-vitro serolojik testler de bulunmaktadır. Alerji testleri, dış ve iç faktörlerin ayırıcı tanısında ve dolayısıyla tedavi rejiminin seçiminde yardımcı olmaktadır (92).

Alerjik konjonktivit tedavisi, çevre kontrollü ve korunma (alerjenden uzak durma), farmakoterapi ve immunoterapi olmak üzere üç aşamadan oluşur. En önemli tedavi prensibini semptomları tetikleyen alerjenden korunmak amacıyla yapılan çevre kontrolü oluşturur. Farmakoterapi ve immunoterapi çevre kontrolünün sağlanamadığı durumlarda devreye girer.

Farmakoterapinin temel taşlarını, antihistaminikler, çok etkili antialerjik ajanlar ve mast hücre stabilizatörleri oluşturmaktadır. Örneğin, antihistaminikler geri dönüşümlü olarak histamin reseptörlerini bloke ederek kısa bir süreliğine kızarma ve kaşıntı semptomlarını azaltır. Fakat prostaglandin ve lökotrien gibi diğer proinflatuar medyatörleri etkilemez. Etki süresinin kısa olmasıyla pozoloji arttırıldığında ise gözde iritasyona sebep olmaktadır (93). Antihistaminik ve dekonjenstan kombinasyonu günde dört kez kullanım ile daha etkili olduğu gösterilmiştir (94). Dekonjenstanlar vazokonstriktör etkileriyle kızarıklığı azaltmalarına rağmen damlatma anında yanma hissi, midriazis, rebound hiperemi ve kronik kullanımla konjontivitis medikamentoza gibi yan etkileri ile karşımıza çıkarlar (94). Bu yüzden kısa süreli rahatlama amacıyla uygundur ve dar açılı glokom hastalarında kullanımları önerilmez.

Mast hücre stabilizatörleri hücre içine kalsiyum girişini artırarak mebran akışkanlığını azaltırlar ve böylelikle mast hücre degranilasyonunu azaltıp histamin ve diğer kemotaktik faktörlerin salınımını önlerler. Bu yüzden profilaktik kullanımları gerekmektedir. Dezavantajı, hastaların zayıf kompliyans göstermeleridir.

Son yıllarda olopatadin, ketotifen, azalastin, epinastin ve bepostatin gibi multimodel (histamin reseptörü, antagonistik etki, mast hücre stabilizasyonu ve eosinofilik infiltrasyonun inhibisyonu) antialerjik ajanlar tanımlanmıştır (95). Bahsedilen bu ilaçlar inflamasyonu yeteri kadar kontrol altına almakta başarılı olamayınca, non-steroid anti-inflatuvar ilaçlar tedaviye eklenmiştir (NSAIDs) (96).

Kortikosteroidler, oküler alerjinin ağır formlarında hala en etkili farmakolojik ajan olarak kullanılmaktadır. İmmünsüpresif ve antiproliferatif etkileriyle T-lenfositlerinin Th2-lenfositlerine dönüşümünü engellemektedir. Fakat, göz içi basıncını artırması, yara iyileşmesini geciktirmesi, sekonder enfeksiyonlara yatkınlık ve katarakt oluşumu gibi yan etkileri nedeniyle kısa süreli kullanımı uygundur.

İmmünoterapi son çalışmalarda alerjik rinit semptomlarını hafifletmekte öne çıksa da oküler etkinliği ispatlanmıştır (97, 98).

Alerjen spesifik immünoterapi, alerjene karşı spesifik IgE ile karakterize alerjik rinokonjontivite de etkin tedavilerdendir. Bu tedavinin amacı spesifik alerjene klinik olarak toleransı artırmaktır (99).

Tedavinin kendisi verilen alerjene bağılı olarak sistemik reaksiyon oluşturabilir (100, 101). Geleneksel olarak immünoterapi ciltaltı verililiş yoluyla bilinirken sublingual (oral) immünoterapi (SLIT) popülarite kazanmaktadır. SLIT oküler alerji semptomlarını rahatlatmakta, ileri araştırmalara ihtiyaç duymaktadır. Nazal semptomlara daha iyi cevap verdiğı belirtilse de oküler araştırmalar değerini korumaktadır (102, 103).

Tedavide kullanılan ilaçların yan etkileri (gözde kuruluk, irritasyon, antikolinerjik etki , steroidlerin uzun süreli kullanımında ortaya çıkan istenmeyen etkiler) maliyeti yüksek yeni tedavi rejimenleri, alerjik hastalıklarda yeni tedavi modalitelerinin araştırlmasına zemin hazırlamıştır. Tedavide esas olan maliyeti düşük, kolay uygulanabilir, herkes tarafından ulaşılabılır, yan etki profili minimum, yaşıam kalitesini artıracak, kesin çözüm sunan yöntemi bulmaktır. Mevcut tedavi yöntemleri göz önüne alındığında yeni tedavi stratejileri geliştirme ihtiyacından bahsedilebilir.

Oküler alerjik hastalıklar, alerjik rinit, atopik dermatit, astım gibi diğer alerjik hastalıklarla birliktelik gösterebilen karmaşıık patofizyolojisi ile dikkat çekmektedir. Ayrıca, oküler alerjinin alt tiplerin birbirinden farklı patofizyolojik ve immünolojik komponenti bulunmaktadır. Dünya genelinde gittikçe artan insidansı ile hastalık immünotopogenezin daha iyi anlaşılmass ve yeni tedavi modalitelerinin keşfedilmesi ihtiyacı, deneysel hayvan modelleri üzerinde çalışmayı kaçınılmaz kılmıştır. Bu amaçla fare, rat, guinea pig, tavşan veya kobay gibi hayvan modelleri literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ratlar, ortam koşullarına dayanıklı ve elde edilmesi kolaydır hayvanlardır. Ratlarda yüksek miktarlarda ilaç dozları gerektirmez ve maliyeti daha düşüktür. Serum eliza ve histopatolojik çalışmalara daha uygun, ilaç uygulaması daha kolaydır. Bu nedenlerden ötürü literatürde ratlar alerjik konjonktivit çalışmasında tercih edilmiştir ve biz de bu nedenlerle çalışmamızda alerjik konjonktivit modeli olarak ratları tercih ettik (5, 105).

Araştırmalara sırasında, alerjik konjonktivit modeli oluşturmak ve bazı ilaçların etkilerini araştırmak için ovalbumin (OVA), Japon sedir ağacı poleni, compound 48-80 ragweed, kedi kepeği antijeni gibi çeşitli alerjenler intraperitoneal, topikal yollarla uygulanmıştır. İn vivo modellemelerde; uygun hayvan türünde insana en benzer hastalık modelinin oluşturulması, deneylerin standart şartlarda gerçekleştirilmesi, serolojik ve histopatolojik çalışmalara imkân sağlaması temel noktaları oluşturmaktadır (5).

Literatürde OVA, daha sık tercih edilirken, adjuvan olarak alüminyum hidroksit ve serum fizyolojikten oluşturulan solüsyon kullanılmıştır.

Bilak ve ark ratlarda AK modeli oluştururken, 100 mg solusyon içinde 100 mikrogram ovalbumin ve 20 mg Al(OH)_3 içeren solusyonu intraperitoneal (i.p.) olarak, 10 mikrolitre topikal ovalbumini (PBS içinde 100 mg/mL konsantrasyonda) son ilaç uygulamasından bir saat önce vermiştir (106, 107, 108).

Shakta Mani ve ark, ratlarda AK modelini oluşturmak için Minami ve ark.'nın modelini kullanmıştır. Birinci gün, ovalbumin (1 mg), alum (2 mg) ve complete Freund's adjuvantı (0.1 ml) içeren 0.6 ml serum fizyolojik (0.9% NaCl) çözeltisini rat footpade enjekte ederek, oluşturmaya başlamıştır. Beş gün sonra ovalbumin (0.5 mg) içeren 1 ml SF i(0.9% NaCl) sırtlarından on farklı yerden subkutan yolla enjekte etmiştir. Daha sonra lokal sensitizasyon için, 15. ve 30. Günler arası hergün konjonktivaya ovalbumin içeren SF (0.9% NaCl; 10 µl/site) damlatmıştır (109, 110).

Chung ve ark, farelerde AK modelini OVA ve Al(OH)_3 içeren SF i 0. ve 7. gün i.p. olarak vermiştir. 14. ve 17. günlerde konjonktivaya topikal OVA (250 mikrolitre) içeren PBS damlatmıştır (111-113).

Histopatolojik ve semptom skorlaması için, Lee ve arkadaşlarının 2015 yılında yayınlanan çalışmalarında tarif edilen skorlama sistemi kullanıldı (114).

Biz de OVA ile sensitize ettiğimiz ratlarda 1, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 ve 29. günlerde bu yöntemle alerjik konjonktivit semptom skorlaması yaptık. Deney bitimi grupların total semptom skorlarının hesaplanması sonucunda AK grubunda ilk topikal uygulamada alerji bulguları hafif düzeyde başladı. Takip eden günlerdeki uygulamada ise alerjik konjonktivit bulguları bu grupta şiddetlenerek arttı. Diğer gruplarda ise muayene bulgularının AK grubuna göre daha hafif, birbirleri ile benzer seyrettiği izlendi. ZYT grubunda (kontrol pozitif) alerji semptomlarının bir miktar hafiflediği ancak tedavi grubuna göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Sham grubunda ise çalışma boyunca herhangi bir semptom görülmedi. Sonuç olarak PR-OR ve PR-TOP grubunda KS grubuna benzer şekilde semptomlarda iyileşme gözlemlendi.

Alerjik konjonktivitte değişiklikleri incelemeye yönelik yapılan deneysel çalışmalarında, histopatolojik değişiklikler incelenmiş ve üzerinde araştırma yapılan maddeyi incelemeye yönelik immünohistokimyasal boyalar kullanılmıştır. Bilak ve

arkadaşları ratlarda deneysel AK modeli oluşturmuş ve AK grubu ile Siklosopin grubunu ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mast hücre sayısı ve konjonktiva epitel yapısını inceleyerek kıyaslamıştır. AK grubunda histopatolojik skorlama sonuçlarını siklosporin grubuna göre daha yüksek ve tedavi gruplarının sonuçlarını benzer bulmuştur (106).

H&E bulgularına göre, ödemin ZYT grubunda KS grubu kadar azalmış olduğu görüldü. Konjesyon tüm gruplarda hafif düzeyde bulundu. İnflamatuvar hücre düzeyinin ise KS grubunda yok denecek kadar baskılandığı ve PR-TOP grubunda, PR-OR grubuna göre daha fazla azaldığı dikkat çekiciydi.

NF- κ B (transkripsiyon faktör kompleksi) bir çok stokinin adezyon moleküllerinin ve proinflamatuvar proteinlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde görevlidir. NF- κ B ekspresyonu astımlı hastaların havayolu epitelinde ve alerjenle sensitize edilen farelerin ciğerlerinde yüksek bulunmuştur (118,119,120,121). NF- κ B aktivasyonu inhibe edildiğinde inflamatuvar hücre göçünün ve alerjik inflamasyona bağlı havayolu cevabını azalttığı gösterilmiştir (122,123,124). Havayolu epitelinde NF- κ B inhibisyonunun astımın ciddiyetini azaltabileceği üzerinde durulmaktadır.

İmünohistokimyasal boyama ile NF- κ B ekspresyonunun yoğunluğu ve yaygınlığı incelendiğinde AK grubuna göre sham, PAT ve PR-OR grubunda istatistiksel olarak anlamlı zayıf immünoreaksiyon belirlendi. AK grubu ile ZYT, KS ve PR-TOP grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı. PR-OR grubunda PR-TOP a göre daha zayıf immünoreaksiyon dikkat çekiciydi.

Flowsitometrik olarak IL-4 ve IL-17 üreten adaptif hücre düzeyi yüzde olarak incelendiğinde anlamlı fark bulunamazken, hücre sayısı olarak incelendiğinde ise, sham ve AK grubu arasında anlamlı fark olması immünizasyonun oluştuğunu göstermiştir. Her analizde PR-OR grubunda hücre sayısının, AK grubu hariç PR-TOP ve diğer gruplara göre anlamlı olduğu bulunmuştur. Bu da PR-OR grubunda hücre sayısı baskılanmadan antialerjik etkinliğin ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmektedir.

Alerjik konjonktivit tedavisinde karşılaşılan istenmeyen etkiler, yeni tedavi arayışlarını gündeme getirmektedir. Alerjik konjonktivit modeli oluşturmak ve bazı ilaçların etkilerini araştırmak için çok sayıda hayvan deneyleri yapılmış ve bazı maddelerin AK tedavisinde etkinliği hayvan deneylerinde değişik doz ve sürelerde denenmiştir.

Propolis bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından çeşitli bitki kaynaklarından toplanan reçine tarzında yapışkan bir maddedir. Propolis yörelere göre farklılaşan biyolojik yapısıyla immünmodülatör, antiinflamatuvar, antioksidant, antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antiparazitik aktiviteleriyle birçok çalışmada araştırma konusu olmuştur. (Sforcin et al., 2000, 2001; Gekker et al., 2005; Orsi et al., 2005,2006a,b; Freitas et al., 2006; Búfalo et al., 2009b,c).

Propolis ile ilgili araştırmaların en başında propolisin kimyasal bileşim iile ilgili makaleler çok azdı. Bazı makalelerin özeti olmadığı ve bazıları da belli dillerde yazılmıştı. (Bulgarca vb.) sonraları dünyanın birçok yerinde elde edilen propolis örnekleri analiz edildi ve bazı örnekler birbiriyle kıyaslandı. Örneğin Bankova ve arkadaşları(1995) Brezilya propolisinini analizini yaptı. Kujumgiev ve arkadaşları (1999) Bulgaristan, Arnavutluk, Mısır gibi lkelerin propolislerini inceledi. Banskota ve arkadaşları (2000) Brezilya, Peru, Çin, Hollanda propolisinini bileşimini inceledi. Veloz ve arkadaşları (2015) Şili'nin bir bölgesinde 2008, 2010 ve 2011 yılları bahar aylarında toplanan propolis örneklerini karşılaştırdı.

Propolisin çözündürülmesinde etanol , biyolojik aktif komponentlerce zengin içeriğini koruyabildiği en sık kullanılan çözücüdür. (Pietra ve arkadaşları 2002) . bir kaç bileşen suda çözülebilmektedir. Bu bileşenlerin az olmasına rağmen bazı bakterisidal ve fungusidal etkileri gösterilmiştir. Medikal ve gıda teknolojisinde genellikle etanol ve aköz ekstraktlar kullanılmaktadır. Glikol ekstraktı birçok kozmetik uygulamada kullanılmaktadır. Geleneksel yumuşatılmış ekstrakt ,ultrason aracılı ekstrakt ve mikrodalga yardımcı ekstrakt etkinlikleri karşılaştırmak üzere incelenmiştir. Ultrason yardımcı ekstraktın ekstraksiyon zamanı selektivite ve ürün elde edilmesinde en etkili metot olduğu gösterilmiştir.(Truşeva ve arkadaşları, 2007). Çalışmamızda su,alkol,kimyasal madde kullanılmadan yeni bir teknik olan propolisin zeytinyağda çözündürülmesiyle oluşan propolis özütü kullanılmıştır. Zeytinyağlı propolis özütü Erciyes Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarında Prof. Dr. Sibel Silici'nin öncülüğünde üretilen patentli bir üründür.

Antimikrobiyal etki yıllarca geniş bir şekilde literatürde incelenmiştir (Kujumgiev ve ark., 1999, Sforcin ve ark., 2000, Orsi ve ark., 2006). Fosquiera ve ark. (2008). HIV

pozitif hastalarda görülen periodontit ile ilişkili (Staf. Aureus, Candida albicans Pseudomonas aeruginoza) mikroorganizmalara karşı propolisin etkisini inceledi. Sonuç olarak oral kavitede yan etki yapmaksızın biyofilin tabakasına karşı tatmin edici sonuçlar buldu.

Orsi ve ark. (2012) propolisin bakteri duvarının antibiyotiklere rezistansını azaltarak antibiyotiklerle sinerjistik etkisini gösterdi.

Boisard ve ark. (2015) patojenik insanda patojenik mantarlara karşı fransız propolis öztünün antifungal aktivitesini inceledi. C. albicans ve C. glabrata ya karşı antifungal aktivitenin, yüksel flavonoid içeriğiyle koreli olduğunu gösterdi. Capoci ve ark. (2015) vulvovajinal candidiasisli hastalarda propolisin tedaviye yardımcı olabileceğini vurguladı.

Propolisin antitümör özelliği apoptozisi indüklemesi, hücre döngüsüne etkisi, matriks metallo proteinazların inhibisyonu antianjiyogenez etkisi metastaz ve invazyonu önlemesiyle ortaya konmuştur.(Sforcin 2011, Watanebe 2011, Chan 2013, Patel 2016).

Propolisin immünmodulator etkisini Washio ve ark. araştırmış, farelerde yaptığı çalışmada NF-KB aktivasyonu aracılığı ile miyoblastlarda kemokin ve sitokin ekspresyonunu arttırdığını göstermiştir.

Chan ve ark. (2013) yaptığı çalışmada propolis CAPE ve artepilin C nin T lenfositleri üzerinde immünsüpresif etkisi olduğunu belirtmiştir. Propolisin proinflamatuvar antiinflamatuvar etkilerinin kullanılan propolis özüne, konsantrasyonuna, alınma süresine, deneysel şartlara ve birçok faktöre bağlı olarak değişebileceği vurgulanmış ve klinik pratikte propolisin etkinliğine ilişkin çok az şey bilindiği vurgulanmaktadır. (Sforcin,2016). Çalışmamızda zeytinyağlı propolisin oküler alerjide etkinliğini göstermek istedik.

Brezilya propolisinin insan, sıçan ve farede kullanımı sonrasında yan etkiye rastlanmamıştır (79, 82). Propolis insanda 70mg/gün konsantrasyonunda kullanımı güvenli bulunmuştur. Fakat propolise karşı kontakt dermatit alerji vakaları özellikle arıcılıkla uğraşanlarda bildirilmiştir (83, 84). Rajpara ve arkadaşları son yirmi yılda karşılaşılan kontakt dermatit vakalarının artan instancesını propolisin kozmetik ve farmasötik preperatlarına bağlamıştır.

Propolis ve alerji ile ilgili literatürde birkaç makale bulunmaktadır. Shinmei ve arkadaşları Brezilya propolisinin farelerde oluşturulan deneysel alerjik rinit modelinde burun akıntısı ve kaşıntısı üzerine etkisini araştırmıştır. Propolisin alerjik rinit semptomlarını histamin salınımını inhibe ederek azalttığını vurgulamıştır. Khayyal ve arkadaşları (2003), %13 oranında propolis içeren sıvı ekstraktı iki ay boyunca günde bir kez hafif ve orta şiddette astımı olan hastalarda denemiştir. Propolisle tedavi edilen bu hastalarda gece nöbetlerinin sıklığının ve şiddetinin azaldığını göstermiştir ve bu sonucu prostaglandin, lökotrien, pro-inflamatuvar stokinlerin (TNF- α , IL-6, IL-8) miktarının azalmasına ve IL-10 düzeyinin artmasına bağlamıştır.

Jung ve arkadaşları (2008), propolis bileşenlerinden CAPE'nin (10 mg/kg/gün) astım patogeneğinde önemli bir yeri olan oksidatif stresi azalttığını göstermiştir.

Literatürde deneysel olarak oluşturulan alerjik konjonktivit modelinde propolisin etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Bu çalışmada OVA ile alerjik konjonktivit modeli geliştirilen ratlarda Propolis'nin sistemik (gavaj yolu) ve topikal uygulamaları ile alerjik konjonktivitteki rolü araştırılmak istenmiştir. Araştırma sonuçları fizik muayene, serolojik ve patolojik incelemeler olarak dört bölümde ele alındı. Gözleme dayalı ve kalitatif bir yöntem olan fizik muayene bulguları çalışma sonunda tüm propolis ve kortikosteroid gruplarında AK ve ZYT gruplarına göre belirgin olarak azaldığı gözlemlendi. Histopatolojik çalışmada H&E bulgularında PR-TOP grubunda inflamatuvar hücrelerin PR-OR grubuna göre daha fazla baskılandığı görüldü. Ödem ve inflamatuvar hücre sayısının en iyi KS grubunda baskılandığı bulundu. İmmünohistokimyasal olarak NF- κ B ekspresyonu yoğunluğu ve yaygınlığı incelendiğinde AK grubuna göre PR-OR grubunda istatistiksel olarak anlamlı zayıf belirlenirken PR-TOP grubunda anlamlı fark bulunamadı. Flowsitometrik olarak IL-4 ve IL-17 üreten adaptif hücre düzeyi, hücre sayısı olarak incelendiğinde ise her analizde PR-OR grubunda hücre sayısının, AK grubu hariç PR-TOP ve diğer gruplara göre anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuçlar, Propolisin gavaj yoluyla antialerjik ve antiinflamatuvar etkisinin hücre düzeyini azaltmadan immunregulasyonla ortaya çıkardığını düşündürmektedir.

Propolis bal arıları (*Apis mellifera* L.) tarafından çeşitli bitki kaynaklarından toplanan reçine tarzında yapışkan bir maddedir. İnsan vücudunda sentezlenemediğinden besin

takviyesi ile alınabilecek bir maddedir. Mucizevi besin olarak yüzyıllardır bilinen propolis tüketiminin önemi , çalışmamızda antialerjik etkilerinin gösterilmesi ile birkez daha vurgulanmıştır.Alerji patogeneğinde, immunregulasyon bozukluğu ile giden karmaşık olaylar dizisi araştırılırken, propolisin özellikle atopik ve risk faktörü olan bireylerde çocukluk çağından itibaren oral tüketiminin önemini mevcut çalışmamız sayesinde gösterdiğimizi düşünmekteyiz. Çalışmamızın propolisin alerjik konjonktivit tedavisinde etkisini gösteren ilk çalışma olması nedeniyle, propolisin-okuler alerji ilişkisini anlamak adına literatüre önemli katkı sağlayacağına inanıyoruz. Gelecekte propolis ve okuler alerji ilişkisi yapılacak yeni çalışmalarla zenginleştirilirse, alerjik konjonktivit yeni tedavi arayışlarına katkı sağlayabilir. Propolisin alerjik konjonktivitli hastalar üzerinde etkisinin araştırıldığı klinik çalışmalara ihtiyacın varlığı şüphesizdir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda deneysel olarak alerjik konjonktivitt modeli oluşturulan ratlarda gavaj ve topikal damla yoluyla uygulanan propolisin tedavi edici etkisi olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonu bulgularımızda;

1. Çalışma boyunca tüm grupların konjonktival semptom skorları değerlendirildiğinde, AK grubu hariç diğer gruplarda iyileşme gözlemlendi.
2. H&E bulgularına göre, ödemin ZYT grubunda KS grubu kadar azalmış olduğu görüldü. .Konjesyon tüm gruplarda hafif düzeyde bulundu. İnflamatuvar hücre düzeyinin ise KS grubunda yok denecek kadar baskılandığı ve PR-TOP grubunda, PR-OR grubuna göre daha fazla azaldığı gözlemlendi.
3. İmmünohistokimyasal olarak NF-κB ekspresyonu yoğunluğu ve yaygınlığı incelendiğinde, AK grubuna göre Sham, PAT ve PR-OR grubunda istatistiksel olarak anlamlı zayıf belirlendiği, AK grubu ile ZYT, KS ve PR-TOP grubu kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadığı görüldü.
4. Flowsitometrik olarak IL-4 ve IL-17 üreten adaptif hücre düzeyi yüzde olarak incelendiğinde anlamlı fark bulunamazken, hücre sayısı olarak incelendiğinde ise, her analizde PR-OR grubunda hücre sayısının, AK grubu hariç PR-TOP ve diğer gruplara göre anlamlı olduğu bulunmuştur.Bu da PR-OR grubunda hücre sayısı baskılanmadan antialerjik etkinliğin ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmektedir.

Bu bulgulardan yola çıkılarak şu sonuçlara varılmıştır;

1. Propolisin hem topikal hem gavaj yoluyla uygulanmasının OVA uygulaması sonrasında oluşan alerjik konjonktivit tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur.
2. Propolisin gavaj yoluyla uygulanmasının, hücre sayısını koruyarak immunmodulator etkisi olduğu gösterilmiştir.
3. Propolis tüketiminin çocukluk çağından itibaren teşvik edilmesinin önemi bir kez daha vurgulanmıştır.
4. Gelecekte propolis ve okuler alerji ilişkisi yapılacak yeni çalışmalarla konabilir ve alerjik konjonktivit yeni tedavi arayışlarına katkı sağlayabilir.
5. Bu sebeple, propolisin alerjik konjonktivitli hastalar üzerinde etkisinin araştırıldığı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

1. Bielory BP, O'Brien TP, Bielory L. Management of seasonal allergic conjunctivitis: guide to therapy. *Acta Ophthalmol.* 2012; 90:399-407.
2. Pitt AD, Smith AF, Lindsell L, Voon LW, Rose PW, Bron AJ. Economic and quality of life impact of seasonal allergic conjunctivitis in Oxfordshire. *Ophthalmic Epidemiol.* 2004; 11:17-33.
3. Rosario N, Bielory L. Epidemiology of allergic conjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011; 11:471-476.
4. Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. *Journal of ethnopharmacology.* 2007. 113: 1-14.
5. Groneberg DA, Bielory L, Fischer A, et al. Animal models of allergic and inflammatory conjunctivitis. *Allergy.* 2003; 58:1101–1113.
6. Güneş A. Konjonktiva hastalıkları. 2015. Derman Tıbbi Yayıncılık. DOI: 10.4328/DERMAN.3734
7. Kracher JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea.* St Luis: Mosby; 1997;1;3-27
8. Thoft RA, Friend J. Ocular surface evaluation. in Francois J, Brown SI, Itoi M, Editors: *Proceedings of the Symposium of the International Society for Corneal Research (Doc ophthalmol Proc series 20)* Junk, The Netherlands, 1980, The Hague
9. Baum J. A histochemical study of corneal respiratory enzymes. *Arch Ophthalmol* 1963; 70:59
10. Records RE. The Conjunctiva and lacrimal system. In Tsman W, Jeager EA, Editors; *Duane's Foundations of clinical ophthalmology*, Philadelphia, 1994, JB Lipincott.
11. Shapiro MS, Friend J, Thoft RA. Corneal reepithelialization from conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;21:35
12. Thoft RA, Friend J. Biochemical transformation of regenerating ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977;16:14-20

13. Spencer WH, Zimmerman LE. Conjunctiva. In Ophthalmic pathology, Philadelphia: WB Saunders; 1985.
14. Kılıçturgay K. İmmünolojinin gelişimi. In; İmmünoloji. K Kılıçturgay (ed). Güneş ve Nobel Tıp Kitabevleri, Bursa, pp2, 1997.
15. Leung DYM, Allergic immune response. In; Allergy, asthma, and immunology from infancy to adulthood. CW Bierman, DS Pearlman, GG Shapiro, WW Busse (Eds). 3th ed. WB Saunders Co, Philadelphia, pp68, 1996.
16. Mohapatra SS, Lockey RF. Allergens. In; Current Review of allergic diseases. MA Kaliner (Ed). 1st. Ed, Current Med Inc., Philadelphia, pp.52, 1999.
17. Singh K, Axelrod S, Bielory L. The epidemiology of ocular and nasal allergy in the United States, 1988-1994. J Allergy Clin Immunol. 2010; 126:778-783.
18. Wuthrich B, Brignoli R, Canevascini M. Epidemiological survey in hay fever patients: symptom prevalence and severity and influence on patient management. Schweiz Med Wochenschr. 1998; 128:139-143.
19. Butrus S, Portela R. Ocular allergy: diagnosis and treatment. Ophthalmol Clin North Am. 2005; 18:485-492, v.
20. Belfort R, Marbeck P, Hsu CC, Freitas D. Epidemiological study of 134 subjects with allergic conjunctivitis. Acta Ophthalmol Scand Suppl. 2000:38-40.
21. McGill JI, Holgate ST, Church MK, Anderson DF, Bacon A. Allergic eye disease mechanisms. Br J Ophthalmol. 1998; 82:1203-1214.
22. Allansmith MR, Ross RN. Ocular allergy. Clin Allergy. 1988; 18:1-13.
23. Kari O, Saari KM. Updates in the treatment of ocular allergies. J Asthma Allergy. 2010; 3:149-158.
24. Bonini S, Bonini S, Lambiase A, Marchi S, Pasqualetti P, Zuccaro O, et al. Vernal keratoconjunctivitis revisited: a case series of 195 patients with long-term followup. Ophthalmology. 2000; 107:1157-1163.
25. Bielory L. Ocular allergy overview. Immunol Allergy Clin North Am. 2008; 28:1-23.

26. Allansmith MR, Baird RS, Greiner JV. Vernal conjunctivitis and contact lens-associated giant papillary conjunctivitis compared and contrasted. *Am J Ophthalmol.* 1979; 87:544-555.
27. Bremond-Gignac D, Donadieu J, Leonardi A, Pouliquen P, Doan S, Chiambarretta F, et al. Prevalence of vernal keratoconjunctivitis: a rare disease? *Br J Ophthalmol.* 2008; 92:1097-1102.
28. Buckley RJ. Long-term experience with sodium cromoglycate in the management of vernal keratoconjunctivitis. In Pepys J, Edward AM, editor: *The mast cell*, London, Pitman Medical. 1980.
29. Esposito S, Fior G, Mori A, Osnaghi S, Ghiglioni D. An Update on the Therapeutic Approach to Vernal Keratoconjunctivitis. *Paediatr Drugs.* 2016; 18:347-355.
30. Jones BR. Vernal keratitis. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 1961; 81:215-28.
31. De Smedt S, Wildner G, Kestelyn P. Vernal keratoconjunctivitis: an update. *Br J Ophthalmol.* 2013; 97:9-14.
32. Hogan MJ. Atopic keratoconjunctivitis. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1952; 50:265-281.
33. Garrity JA, Liesegang TJ. Ocular complications of atopic dermatitis. *Can J Ophthalmol.* 1984; 19:21-24.
34. Friedlander MH. Conjunctivitis of allergic origin: Clinical presentation and differential diagnosis. *Surv Ophthalmol.* 1993; 38(suppl):105-114.
35. Allansmith MR, Ross RN. Giant papillary conjunctivitis. *Int Ophthalmol Clin.* 1988; 28:309-316.
36. Christophe Baudouin MD. Allergic reaction to topical eye drops. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology.* 2005; 5:459-463.
37. Beauchamp GR, Gillette TE, Friendly DS. Phlyctenular keratoconjunctivitis. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1981; 18:22-28.

38. Ostler HB, Lanier JD. Phlyctenular keratoconjunctivitis with special reference to the staphylococcal type. Transactions of the Pacific Coast Oto- Ophthalmologic Society Annual Meeting. 1974; 55:237-252.
39. Ackerman S, Smith LM, Gomes PJ. Ocular itch associated with allergic conjunctivitis: latest evidence and clinical management. Ther Adv Chronic Dis. 2016; 7:52-67.
40. Bilkhu PS, Wolffsohn JS, Naroo SA, Robertson L, Kennedy R. Effectiveness of nonpharmacologic treatments for acute seasonal allergic conjunctivitis. Ophthalmology. 2014; 121:72-78.
41. Spector SL, Raizman MB. Conjunctivitis medicamentosa. J Allergy Clin Immunol. 1994; 94: 134-136.
42. Castillo M, Scott NW, Mustafa MZ, Mustafa MS, Azuara-Blanco A. Cochrane Topical antihistamines and mast cell stabilizers for treating seasonal and perennial allergic conjunctivitis. Database Syst Rev. 2015; 6:CD009566
43. Williams J, Kennedy K, Gow J, Torkildsen G, Abelson M, Gomes P, et al. Prolonged effectiveness of bepotastine besilate ophthalmic solution for the treatment of ocular symptoms of allergic conjunctivitis. J Ocul Pharmacol Ther. 2011; 27:385–393.
44. Santos C, Huang A, Abelson M, Foster C, Friedlaender M, McCulley J. Efficacy of lodoxamide 0.1% ophthalmic solution in resolving corneal epitheliopathy associated with vernal keratoconjunctivitis. Am J Ophthalmol. 1994; 117:488-497.
45. El Hennawi M. A double blind placebo controlled group comparative study of ophthalmic sodium cromoglycate and nedocromil sodium in the treatment of vernal keratoconjunctivitis. Br J Ophthalmol. 1994; 78:365-369.
46. Nizami RM. Treatment of ragweed allergic conjunctivitis with 2% cromolyn solution in unit doses. Ann Allergy. 1981; 47:5-7.
47. Chigbu DI, Coyne AM. Update and clinical utility of alcaftadine ophthalmic solution 0.25% in the treatment of allergic conjunctivitis. Clin Ophthalmol. 2015; 9:1215-1225.

48. Greiner JV, Michaelson C, McWhirter CL, Shams NB. Single dose of ketotifen fumarate .025% vs 2 weeks of cromolyn sodium 4% for allergic conjunctivitis. *Adv Ther.* 2002; 19:185-193.
49. Saban DR, Calder V, Kuo CH, Reyes NJ, Dartt DA, Ono SJ, et al. New twists to an old story: novel concepts in the pathogenesis of allergic eye disease. *Curr Eye Res.* 20013; 38:317-330.
50. Kim SJ, Flach AJ, Jampol LM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in ophthalmology. *Surv Ophthalmol.* 2010; 55:108-133.
51. Gallois-Bernos A, Thurmond R. Alcaftadine, a new antihistamine with combined antagonist activity at histamine H1, H2, and H4 receptors. *J Recept Ligand Channel Res.* 2012; 5:9-20.
52. Schleimer RP. Effects of glucocorticosteroids on inflammatory cells relevant to their therapeutic applications in asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1990; 141:S59-69.
53. Barney N, Graziano F. Allergic and immunologic diseases of the eye. Middleton's *Allergy: Principles and Practice.* Vol. 2. St. Louis, MO: Mosby 2013
54. Erdinest N, Solomon A. Topical immunomodulators in the management of allergic eye diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2014; 14:457-463.
55. Wu MM, Yau GS, Lee JW, Wong AL, Tam VTY, Yuen CYF. Retrospective review on the use of topical cyclosporine 0.05% for paediatric allergic conjunctivitis in Hong Kong Chinese. *Scientific World Journal.* 2014; 2014:396987.
56. Leonardi A. The central role of conjunctival mast cells in the pathogenesis of ocular allergy. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2002; 2:325-331.
57. Ebihara N, Ohashi Y, Uchio E, Okamoto S, Kumagai N, Shoji J. et al. Large prospective observational study of novel cyclosporine 0.1% aqueous ophthalmic solution in the treatment of severe allergic conjunctivitis. *A. J Ocul Pharmacol Ther.* 2009; 25:365-372.

58. Tam PM, Young AL, Cheng LL, Lam PT (2010) Topical tacrolimus 0.03% monotherapy for vernal keratoconjunctivitis--case series. *Br J Ophthalmol* 94: 1405-1406.
59. Ousler GW 3rd, Workman DA, Torkildsen GL. An open-label, investigator-masked, crossover study of the ocular drying effects of two antihistamines, topical epinastine and systemic loratadine, in adult volunteers with seasonal allergic conjunctivitis. *Clin Ther.* 2007; 29:611.
60. Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce GP, Marchesi E, Canonica GW. Protective effect of loratadine on specific conjunctival provocation test. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* 1991; 96:344-347.
61. Leonardi A. Emerging drugs for ocular allergy. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2005; 10:505-520.
62. Anzaar F, Gallagher MJ, Bhat P, Arif M, Farooqui S, Stephen FC. Use of systemic T-lymphocyte signal transduction inhibitors in the treatment of atopic keratoconjunctivitis. *Cornea.* 2008; 27:884-888.
63. Hoang-Xuan T, Prisant O, Hannouche D, Robin H. Systemic cyclosporine A in severe atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology.* 1997; 104:1300- 1305.
64. Gokhale NS, Samant R, Sharma V. Oral cyclosporine therapy for refractory severe vernal keratoconjunctivitis. *Indian J Ophthalmol.* 2012; 60:220-223.
65. Noon L. Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911; 1:1572- 1573.
66. Durham SR. Mechanisms of immunotherapy. *Drugs Today (Barc).* 2008; 44 Suppl B:93-94.
67. Adkinson NF Jr. Desensitization for drug hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 122:581-582.
68. Burks AW, Calderon MA, Casale T, Cox L, Demoly P, Jutel M, et al. Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/European Academy of Allergy and Clinical Immunology/ PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131:1288. e3–1296.e3.

69. Maloney J, Durham S, Skoner D, Dahl R, Bufe A, Bernstein D, et al. Safety of sublingual immunotherapy Timothy grass tablet in subjects with allergic rhinitis with or without conjunctivitis and history of asthma. *Allergy*. 2015; 70:302-309.
70. Tabatabaian F, Casale TB. Selection of patients for sublingual immunotherapy (SLIT) versus subcutaneous immunotherapy (SCIT). *Allergy Asthma Proc*. 2015; 36:100-104.
71. Creticos PS, Maloney J, Bernstein DI. Randomized controlled trial of ragweed allergy immunotherapy tablet in North American and European adults. *J Allergy Clin Immunol*. 2013; 131:1342–1349.
72. Cox LS, Casale TB, Nayak AS, Bernstein DI, Creticos PS, Ambroisine L, et al. Clinical efficacy of 300IR 5-grass pollen sublingual tablet in a US study: the importance of allergen-specific serum IgE. *J Allergy Clin Immunol*. 2012; 130:1327-1334.
73. Nolte H, Maloney J, Nelson HS, Bernstein DI, Lu S, Li Z, et al. Onset and dose-related efficacy of house dust mite sublingual immunotherapy tablets in an environmental exposure chamber. *J Allergy Clin Immunol*. 2015; 135:1494–1501.
74. Kubaisi B, Samra KA, Syeda S, et al. Ocular Allergy: an Updated Review. *J Allergy Immunol* 2017; 1:002.
75. Hultsch T, Kapp A, Spergel J. Immunomodulation and safety of topical calcineurin inhibitors for the treatment of atopic dermatitis. *Dermatology*. 2005; 211:174-187.
76. Callen J, Chamlin S, Eichenfield LF, Ellis C, Girardi M, Goldfarb M, et al. A systematic review of the safety of topical therapies for atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2007; 156:203-221.
77. Cook BA, Warshaw EM. Role of topical calcineurin inhibitors in the treatment of seborrheic dermatitis: a review of pathophysiology, safety, and efficacy. *Am J Clin Dermatol*. 2009; 10:103-118.
78. Day I, Lin AN. Use of pimecrolimus cream in disorders other than atopic dermatitis. *J Cutan Med Surg*. 2008; 12:17-26.

79. Mensing CO, Mensing CH, Mensing H. Treatment with pimecrolimus cream 1% clears irritant dermatitis of the periocular region, face and neck. *Int J Dermatol.* 2008; 47:960-964.
80. Kumova, U., A. Korkmaz, B. C. Avcı ve G. Ceyran (2002), Önemli Bir Arı Ürünü: Propolis. *Uludağ Bee Journal* May 2002.
81. Saban, DR., et al. (2013), New Twists to an Old Story: Novel Conceptes in the Pathogenesis of Allergic Eye Diseases, *Current Eye Research.* Vol. 38 (3).
82. Silici, S. (2008). Farklı Botanik Orijine Sahip Propolis Örneklerinde Biyolojik olarak Aktif Bileşiklerin Belirlenmesi. *EÜFBE Dergisi* 24 (1-2), 120-128.
83. Mantelli F, Calder VL, Bonini S. The anti-inflammatory effects of therapies for ocular allergy. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2013; 29:786–793.
84. Bielory L, Meltzer EO, Nichols KK, Melton R, Thomas RK, Bartlett JD. An algorithm for the management of allergic conjunctivitis. *Allergy Asthma Proc.* 2013;34:408–420.
85. Verlato G, Corsico A, Villani S, Cerveri I, Migliore E, Accordini S, Carolei A, Piccioni P, Bugiani M, Lo Cascio V, Marinoni A, Poli A, de Marco R: Is the prevalence of adult asthma and allergic rhinitis still increasing. Results of an Italian study. *J Allergy Clin Immunol* 2003, 111:1232–1238.
86. Maziak W, Behrens T, Brasky TM, Duhme H, Rzehak P, Weiland SK, Keil U: Are asthma and allergies in children and adolescents increasing. Results from ISAAC phase I and phase III surveys in Munster, Germany. *Allergy* 2003, 58:572–579.
87. Leonardi S, del Giudice Miraglia M, La Rosa M, Bellanti JA: Atopic disease, immune system, and the environment. *Allergy Asthma Proc* 2007, 28(4):410–417.
88. Friedlander MH: Ocular Allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011, 11(5):477–482.
89. Bielory L, Frohman L: Allergic and immunologic disorders of the eye. *J Allergy Clin Immunol* 1992, 86:1–20.

90. Leonardi A, Motterle L, Bortolotti M: Allergy and the eye. *Clin Exp Immunol* 2008, 153:17–21.
91. Rothman JS, Raizman MB, Friedlaender MH: Seasonal and perennial allergic conjunctivitis. In *Cornea. Fundamentals, diagnosis, and management*. 3rd edition. Edited by Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. StLouis: Mosby Elsevier; 2011:570–571.
92. Friedlander MH: Ocular Allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011, 11(5):477–482.
93. Leonardi S, Marchese G, Marseglia GL, La Rosa M: Montelukast in allergic diseases beyond asthma. *Allergy Asthma Proc* 2007, 28(3):287–291.
94. Abelson MB, Paradis A, George MA, Smith LM, Maguire L, Burns R: Effects of Vasocon-A in the allergen challenge model of acute allergic conjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 1990, 108:520–524.
95. Mishra GP, Tamboli V, Jawla J, Mitra AK: Recent patents and emerging therapeutics in the treatment of allergic conjunctivitis. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 2011, 5:26–36.
96. Kari O, Saari KM: Updates in the treatment of ocular allergies. *J Asthma Allergy* 2010, 3:149–158
97. Noon L, Cantab BC: Prophylactic inoculation against hay fever. *Lancet* 1911, 1:1572–1574.
98. Durham SR, Walker SM, Varga EM, Jacobson MR, O'Brien F, Noble W, Till SJ, Hamid QA, Nouri-Aria KT: Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 1999, 341:468–475.
99. Broide DH: Immunomodulation of allergic disease. *Annu Rev Med* 2009, 60:279–291.
100. Walker SM, Varney VA, Gaga M, Jacobson MR, Durham SR: Grass pollen immunotherapy: efficacy and safety during a 4-year follow-up study. *Allergy* 1995, 50:405–413.

101. Moller C, Juto P, Dreborg S, Bjorksten B: Blood lymphocyte proliferation response to pollen extract as a monitor of immunotherapy. *Allergy* 1984, 39:291–296.
102. La Rosa M, Lionetti E, Leonardi S, Salpietro A, Bianchi L, Salpietro C, Miraglia Del Giudice M, Ciprandi G, Marseglia GL: Specific immunotherapy in children: the evidence. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011, 24(4 Suppl):69–78.
103. Donovan JP, Buckeridge DL, Briscoe MP, Clark RH, Day JH: Efficacy of immunotherapy to ragweed antigen tested by controlled antigen exposure. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996, 77:74–80.
104. La Rosa et al. *Italian Journal of Pediatrics* 2013, 39:18
105. Wagner JG, Harkema JR. Rodent models of allergic rhinitis: relevance to human pathophysiology. *Current allergy and asthma reports*. 2007;7:134-140.
106. Semsettin, Bilak, Emre Sinan, and Vardi Nigar. "Comparison of the Effects of Topical Cyclosporine A 0.05%, Cyclosporine A 2%, Epinastine Hydrochloride 0.05%, and Prednisolone Acetate 1% on Allergic Inflammation in an Experimental Allergic Conjunctivitis Model." *Cornea* 32.11 (2013): 1465-1469.
107. Fukushima A, Yoshida H, Iwamoto H, et al. The role of cellular immunity both in the induction and effector phases of experimental allergic blepharoconjunctivitis (EAC) in rats. *Exp Eye Res*. 1997;65:631–637.
108. Yoshida O, Yoshida H, Iwamoto H, et al. Genetic background determines the nature of immune responses and experimental immune-mediated blepharoconjunctivitis (EC). *Curr Eye Res*. 1999;18:117–124.
109. Shakta Mani et al. Effect of fucithalamic and sofinox eye drops on experimental allergic conjunctivitis in rats *Int Pharmacol*, 2014, 6, 458.
110. Minami K, Chiaki K. A chronic model for evaluating the itching associated with allergic conjunctivitis in rats. *Int Pharmacol* 2004;4: 101-8.
111. Shoji J, Sakimoto T, Muromoto K, Inada N, Sawa M, Ra C. Comparison of topical dexamethasone and topical FK506 treatment for the experimental allergic conjunctivitis model in Balb/c mice. *Jpn J Ophthalmol* 2005; 49:205–10.

112. Chung SH, Nam KH, Kweon MN. Staphylococcus aureus accelerates an experimental allergic conjunctivitis by Toll-like receptor 2-dependent manner. Clin Immunol 2009; 131:170–7.
113. Chung ve ark Toll-like receptor for signalling attenuates experimental allergic conjunctivitis Clin exp Immuno 2011.
114. Lee HS, Hos D, Blanco T, et al. Involvement of corneal lymphangiogenesis in a mouse model of allergic eye disease. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015; 56:3140–3148.
115. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology. Second edition. Canada: Elsevier 2007; 85-104.
116. Bakkar N, Guttridge DC. NF-kappaB signaling: A tale of two pathways in skeletal myogenesis. Physiological Reviews 2010 April, 90(2): 495-511.
117. Marshall EE, Geballe AP . Multifaceted evasion of the interferon response by cytomegalovirus. Journal of Interferon and Cytokine Research 2009 September, 29(9): 609- 619.
118. Bureau F, Delhalle S, Bonizzi G, Fievez L, Dogne S, Kirschvink N, Vanderplasschen A, Merville MP, Bours V, Lekeux P: Mechanisms of persistent NF-kappa B activity in the bronchi of an animal model of asthma. J Immunol. 2000;165:5822–5830.
119.] Cheng DS, Han W, Chen SM, Sherrill TP, Chont M, Park GY, Sheller JR, Polosukhin VV, Christman JW, Yull FE, Blackwell TS: Airway epithelium controls lung inflammation and injury through the NF-kappa B pathway. J Immunol. 2007;178:6504–6513.
120. Gagliardo R, Chanez P, Mathieu M, Bruno A, Costanzo G, Gougat C, Vachier I, Bousquet J, Bon- signore G, Vignola AM: Persistent activation of nuclear factor-kappaB signaling pathway in severe uncontrolled asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2003;168:1190–1198.
121. Lilly CM, Tateno H, Oguma T, Israel E, Sonna LA: Effects of allergen challenge on airway epithelial cell gene expression. Am J Respir Crit Care Med. 2005;171:579–586.

122. Poynter ME, Irvin CG, Janssen-Heininger YM: Rapid activation of nuclear factor-kappaB in airway epithelium in a murine model of allergic airway inflammation. *Am J Pathol.* 2002;160:1325–1334.
123. Birrell MA, Hardaker E, Wong S, McCluskie K, Catley M, De AJ, Newton R, Haj-Yahia S, Pun KT, Watts CJ, Shaw RJ, Savage TJ, Belvisi MG: Ikappa-B kinase-2 inhibitor blocks inflammation in human airway smooth muscle and a rat model of asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:962– 971.
124. Catley MC, Chivers JE, Holden NS, Barnes PJ, Newton R: Validation of IKK beta as therapeutic target in airway inflammatory disease by adenoviral-mediated delivery of dominant-negative IKK beta to pulmonary epithelial cells. *Br J Pharmacol.* 2005;145:114–122.

Tarih: .../.../2017

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
KAYSERİ EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
TEZ DEĞERLENDİRME FORMU
ADI SOYADI : Fatma Bağcı **UZMANLIK DALI:** Göz Hastalıkları
TEZİN ADI: Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Alerjik Konjonktivitte Propolisin Etkisi

- 1-Sayfa Sayısı: 100
2- Tablo Sayısı: 29
3- Şekil Sayısı: 5
4- Grafik sayısı: 18
5- Resim sayısı: 5
6- İstatistik Sayısı:
7- Literatür Sayısı ve Faydalanma Durumu: 124
8- Yazı Tertibi:
9- Konuyu Anlatma ve Konuya Hâkimiyet:
10- İncelemenin Bilimsel Bakımdan Tutumu:
11- Orijinal Olup Olmadığı:

SONUÇ:

TEZ DEĞERLENDİRME JÜRİSİ

Üye

Üye

Üye

ONAY

Baştabip

İmza-Mühür