

## Mevsimsel Allerjik Konjonktivitte Olopatadin Hidroklorid Tedavisinin Gözyaşı IL-4 Ve IL-5 Düzeylerine Etkisi\*

Nuray Akyol (\*), Fatih Ulaş (\*\*), Ahmet Gödekmerdan (\*\*\*), Tamer Demir (\*\*\*\*)

### ÖZET

**Amaç:** Tip I aşırı duyarlılık cevabı yanında TH-2 hücrelerinin rol aldığı inflamatuvar cevap da kronik allerjik göz hastalıklarının patogeneğinde rol oynayabilir. TH-2 hücreler, IgE sentezinde önemli rol oynayan sitokinlerden IL-4 ve IL-5 salgırlarlar. Bu çalışmanın amacı bu iki sitokinin mevsimsel allerjik konjonktivit patogeneindeki rolünü belirlemek; ayrıca H-1 reseptör inhibisyonu yoluyla antiallerjik etkisini gösteren Olopatadinin bu sitokinlerin gözyaşı düzeylerine, klinik semptom ve bulgulara etkisini araştırmaktı.

**Yöntem:** Mevsimsel allerjik konjonktivitli hastalarla sağlıklı bireylerden kapiller tüp ile toplanan gözyaşı örneklerinde IL-4 ve IL-5'in gözyaşı düzeyleri sandviç ELISA yöntemi ile ölçüldü. Ölçümler Olopatadin ile 21 günlük tedavi sonrasında tekrarlandı. Ayrıca tedavi grubunda tedavi öncesi ve sonrası semptomlar ve bulgular karşılaştırıldı, olopatadin ile ilgili yan etkiler soruşturuldu.

**Bulgular:** Mevsimsel allerjik konjonktivitli hastalarda tedavi öncesi ve sonrası IL-4 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti ( $p<0.001$  ve  $p<0.01$ ). Tedavi grubunda IL-4 düzeyleri, tedavi sonrasında tedavi öncesine göre anlamlı olarak azalmıştı ( $p<0.05$ ). IL-5 seviyeleri tüm olgularda belirlenemeyen düzeylerdeydi. Semptom ve bulgularda da benzer şekilde, tedavi sonrası dönemde düzelme izlendi; fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.01$  ve  $p<0.05$ ). Ancak semptom ve bulgu skorlarının kontrol grubu düzeylerine inmediği görüldü. Olopatadin ile ilgili yan etki veya intolerans saptanmadı.

**Sonuç:** IL-4 mevsimsel allerjik konjonktivit patogeneğinde önemli rol oynarken, IL-5 in rolü olmadığı sonucuna varıldı. Ayrıca olopatadinin allerjik konjonktivit tedavisinde etkin, yan etkiye neden olmayan, iyi tolere edilebilen bir ajan olduğu sonucuna varıldı. Ancak, IL-4 düzeyleriyle semptom ve bulgu skorlarının kontrol grubu düzeylerine inmemesi nedeniyle, olopatadinin mutlak mast hücre stabilizasyonu yapamadığı veya IL-4'ün salınımının kısmen de olsa histamin dışı nedenlerle olabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Mevsimsel Allerjik Konjonktivit, IL-4, IL-5, Olopatadin

(\*) Prof Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, Elazığ

(\*\*) Uzman Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, Elazığ

(\*\*\*) Doç. Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji AD, Elazığ

(\*\*\*\*) Yrd. Doç. Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, Elazığ

\* Bu çalışma XIII. Afro-Asian Oftalmoloji kongresinde (İstanbul-2004) poster olarak sunulmuştur.

Yazışma adresi: Prof Dr. Nuray Akyol, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, Elazığ E-posta: nakoyl@firat.edu.tr

Mecmuaya Geliş Tarihi: 02.12.2004

Kabul Tarihi: 10.02.2005

## SUMMARY

### The Effects of Olopatadine Hydrochloride Treatment to the Tear Levels of IL-4 and IL-5 in Seasonal Allergic Conjunctivitis

**Purpose:** The inflammatory response including TH-2 cells seems to be an additional mechanism to the type I hypersensitivity reaction in the pathogenesis of allergic conjunctival diseases. TH-2 cells produce the cytokines IL-4 and IL-5 which play important roles in production of IgE. The aim of this study is to determine the roles of these two cytokines in the pathogenesis of seasonal allergic conjunctivitis. It is also aimed to determine the effects of Olopatadine, an anti-allergic agent which inhibits mast cell mediator release and H1 receptor activity, on the tear levels of these two cytokines and the severity of the clinical symptom and the signs.

**Methods:** Tear levels of IL-4 and IL-5 were measured by sandwich ELISA kit in thirteen healthy subjects and thirteen patients with seasonal allergic conjunctivitis; before and after 21 days treatment of olopatadine. Capillary tubes have been used to collect tears for the measurement of titers of IL-4 and IL-5. Treatment group was also evaluated for the signs and symptoms of the allergic conjunctivitis, side effects of the olopatadine.

**Results:** Tear levels of IL-4 in patients with seasonal allergic conjunctivitis before and after the olopatadine treatment were significantly higher than those in controls ( $p < 0,001$  and  $p < 0,01$ , respectively). In the treatment group, tear level of IL-4 after the treatment was significantly lower than before the treatment IL-4 level ( $p < 0,05$ ). IL-5 level was under the detectable level in all samples. Clinical improvement of the signs and symptoms in the treatment group was significant, but scores did not reach to control level ( $p < 0,05$  and  $p < 0,01$ , respectively). Side effect or intolerance to olopatadine were not observed.

**Conclusion:** IL-4 plays a critical role in the pathogenesis of seasonal allergic conjunctivitis but IL-5 does not. IL-4, sign and symptom levels in the treatment group have not been decreased to the control levels, that is why we concluded olopatadine might not absolutely stabilize mast cells or some factors other than histamine might co-induce IL-4 secretion.

**Key Words:** Seasonal Allergic Conjunctivitis, IL-4, IL-5, Olopatadine

## GİRİŞ

Allerjik konjonktivit sık karşılaşılan bir patolojidir ve dört klinik formda kendini gösterir; mevsimsel veya yıl boyu süren allerjik konjonktivit, vernal keratokonjonktivit, atopik keratokonjonktivit, dev papiller konjonktivit, kontakt oküler allerji (1). Allerjenlerin atmosferde yoğun olduğu sıcak ve kuru bölgelerde gözlenen ve mevsimsel bir profil izleyen mevsimsel allerjik konjonktivit, oküler allerji olgularının yaklaşık %50'sini oluşturur (2). Allerjik konjonktivitli hastalar geniş bir semptom ve klinik bulgu yelpazesi gösterirler. Ortak bulgular arasında; bilateral kırmızı, kaşıntılı gözler, sulu yada kıvamlı sekresyon, şiddetli vakalarda tarsal konjonktivanın papiller hipertrofisi sayılabilir (2).

Allerjik hastalıklarda allerjenle temas sonrası üretilen immunoglobulin (Ig) E antikorları, doku mast hücrelerine ve dolaşımdaki bazofillere seçici olarak bağlanarak degranülasyonu tetikler. Salınan vazodilatasyon, vasküler permeabilite artışı, lökosit kemotaksisi ve yüzey irritasyonu gibi etkilere neden olur (2). Akut reaksiyonu izleyen geç evre cevabından ise bölge-

de biriken inflamatuvar hücreler (eozinofiller ve monositler) ve immünokompetan hücreler (T-lenfositler) sorumludur. Eozinofiller ve monositler Ig E reseptörleri oluşturarak allerjenle etkileşime girebilirler. T-lenfositler ise spesifik allerjenleri tanırlar ve sitokinleri üretirler. Bu lokal hücrel aktivasyon, özellikle sürekli allerjenle karşılaşılan durumlarda kronik inflamasyon süreci ve uzun süreli semptomlar ile sonuçlanır (1,2).

Mast hücreleri, akut allerjik reaksiyonlarda IgE'ye afinitesi yüksek reseptör ekspresyonu ile allerjen temasına hızla yanıt verirler. Sayıları allerjik konjonktivitin akut döneminde konjonktiva epitel ve stromasında belirgin olarak artar ( $200000/\text{mm}^3$ 'ten fazla). Ayrıca hastaların gözyaşında histamin, platelet aktive edici faktör (PAF), lökotrien (LT)-C4 gibi mast hücre medyatörleri seviyesi de artar (3). Mast hücreleriyle bazofillerin sitoplazmik granüllerinde depolanan bir vazodilatasyon peptit olan histamin etkisini histamin reseptörlerine bağlanarak gösterir (4). Üç farklı histamin reseptöründen birincisi (H1) artmış vasküler geçirgenlik, vazodilatasyon, kaşıntı hissi, ağrı ve bronşial düz kas kontraksiyonu gibi allerjik reaksiyonlardan sorumludur (4). Histaminin konjonktiva

fibroblast kültüründe interlökin (IL)-1, IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin sentezini artırdığı bildirilmiştir (4).

Mast hücre degranülasyonunun neden olduğu konjonktival inflamasyonun, histaminerjik ve histaminerjik olmayan iki bileşeni mevcuttur. H1 reseptör blokajı tek başına mast hücre degranülasyonu sonrası salınan medyatörlerin etkisini ortadan kaldırmaz. Mast hücreleri tarafından sentezlenen IL-4, IL-5, IL-6 ve tümör nekroz faktör (TNF)- $\alpha$  gibi sitokinler konjonktivadaki geç allerjik reaksiyonunun gelişiminden sorumludur; bunların en önemli etkilerinden biri dokuya eozinofil göçünü sağlamaktır (5).

Antikor yapımı B lenfositlerinin antijenle stimülasyonuna bağımlı olsa da, IgE sentezi T ve B lenfositlerinin kooperasyonunu gerektirir. CD4+ T lenfositleri (TH), sitokin üretimi paternine göre IL-2 ve interferon (IF)- $\gamma$  sentezleyen TH-1 hücreleri ile, IL-4, IL-5 ve IL-6 sentezleyen TH-2 hücreleri şeklinde iki gruba ayrılır; oküler allerjide TH-2 hücre aktivitesi daha baskındır (6-9). TH-2 lenfositleri, sentezlediği IL-4 ve IL-13 ile IgE yapımını, IL-5 ile dokuda eozinofillerinin toplanmasını, aktivasyonunu ve yaşam süresini artırurlar (10).

IgE ve eozinofillerin rol oynadığı inflamatuvar reaksiyonlarda kritik rol oynayan IL-4'ün primer hücrel kaynaklı TH-2 lenfositlerdir; ancak lokal etkili bu sitokin bazofiller, mast hücreleri, monositler, makrofajlar, nötrofiller, B-hücreleri ve kemik iliği stroma hücreleri tarafından da sentezlenir (11). IL-4 B lenfositlerinin IgE üretimi açısından aktivasyonunu sağlar, T hücreleri üzerinde büyüme ve differensiyasyon faktörü olarak rol oynar. Vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM)-1'in ekspresyonunu indükleyerek endoteli eozinofillere hazırlar ve IL-3 ile birlikte mast hücre proliferasyonunu uyarır (6,11). IL-5 ise TH-2 lenfositler, aktive mast hücreleri ve eozinofiller tarafından üretilir. B-lenfositlerin çoğalmasında ve IgA tipi antikorların sentezini hem tek başına, hem de IL-2 ve IL-4 ile kombine olarak hızlandırır. Bir başka etkisi eozinofillerin yapımını, büyümesini ve differensiyasyonunu uyarmak ve matür eozinofilleri helmintleri öldürecek şekilde aktive etmektir. Eozinofillerin lokal infiltrasyonunu gösteren şiddetli oküler allerji tiplerinde (atopik keratokonjonktivit, vernal keratokonjonktivit) konjonktiva biyopsilerinde IL-3, IL-4, IL-5 mRNA'larının varlığı bildirilmiştir (7).

Allerjik konjonktivit tedavisinde ilk terapötik yaklaşım, eğer saptanabiliyorsa, tetikleyici allerjiden kaçınmaya yönelik önlemler alınmasıdır (12). Farmakolojik tedavi ise farklı medyatörler üzerinde etkili terapötik grupların kombine edilmesinden ibarettir ve çoğunlukla topikal preparatlardan oluşur. En yaygın olarak kullanılan iki grup antihistaminikler ve mast hücre stabilizatör-

leridir. İki tip H1 reseptör antagonisti grubundan birinci kuşak ilaçlar (klorfeniramin hidroklorid vb), antikolinergik etkileri yüzünden akomodasyon sorunları yaratabilirler. İkinci kuşak ilaçlarda (astemizol, setrizin, feksofenadin, loratidin ve terfenadin gibi) ise bu etkiler minimaldir; ayrıca mast hücre stabilizasyonu (astemizol, loratidin, ketotifen ve terfenadin), PAF antagonizmi (ketotifen), eozinofil migrasyonu inhibisyonu (setrizin, loratidin ve terfenadin) ve epitel hücrelerinde adezyon moleküllü ekspresyonunun inhibisyonu (loratidin) gibi, H1 antagonizmasına dayanmayan etkileri yüzünden ek terapötik avantajlar sağlayabilirler (13).

Mast hücre stabilizatörleri allerjene akut reaksiyonu ve kronik allerjik inflamasyonu inhibe ederler (14,15). Sodyum kromoglikatın muhtemel etki mekanizması siklik adenosin monofosfat (cAMP) fosfodiesteraz enzimini inhibe ederek hücre içi cAMP seviyesini artırıp mast hücre membranından kalsiyum transportunu etkilemesidir (16). Lodoksamid tromethamin, histamin ve lökotrien salınımını ve eozinofil kemotaksisini inhibe eden bir mast hücre stabilizatördür (17). Spaglutamik asid mast hücre stabilizasyonu yanında lökositlerden LTB4 yapımını ve kompleman sisteminin in vitro aktivasyonunu inhibe eder (18).

Olopatadin hidroklorid [(z)-11[13-(dimethylamino)propylidene]-6, 11-dihydrodibenz-[b,e] oxepine-2 acetic acid hydrochloride] mast hücre medyatör salınımını önleyen ve histamin H1 reseptör blokajı yapan bir ajandır (19,20). H1 reseptörü üzerine selektif etkisi yüzünden yan etki potansiyeli düşüktür (21). Etkinliği erken dönemde histamin salınımının azalmasına ve fonksiyonel H1 reseptör antagonizmasına, geç dönemde ise mast hücre stabilizasyonu ile azalmış inflamatuvar medyatör salınımına bağlıdır (22). Olopatadin konjonktival mast hücrelerinden TNF- $\alpha$  salınımını ve bu yolla ICAM (intercellüler hücre adezyon molekülü)-1'in upregülasyonunu azaltır. Bu mekanizma, ajanın uzun süren klinik etkisinden sorumlu tutulmaktadır (22-23).

Bu çalışmanın temel amacı, keratopati geliştirmeyen mevsimsel allerjik konjonktivitli homojen bir hasta grubunda gözyaşı IL-4 ve IL-5 düzeylerini belirlemek ve bu sitokinlerin patogenezdaki rolünü irdelemektir. Ek olarak, olopatadin oftalmik solüsyonun allerjik konjonktivit semptom ve bulgularıyla gözyaşı IL-4 ve IL-5 düzeyleri üzerine etkisinin belirlenmesi, böylece sitokin regülasyonunun tedavideki öneminin vurgulanması da amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu prospektif çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları polikliniğine başvuran mevsimsel

alerjik konjonktivitli 13 hasta ile 13 sağlıklı birey üzerinde yapıldı. Araştırma için gözyaşı toplanmadan önce, 18 yaş altındaki deneklerin ebeveynlerinden, 18 yaş üzerindeki deneklerin ise kendilerinden bilgilendirilmiş onam alınarak bölgesel etik komiteye sunuldu ve onayı alındı.

Çalışmaya en azından son iki yıldır mevsimsel alerjik konjonktivit atağı hikayesi olan hastalar dahil edildi. Alerjik konjonktivit dışında bir göz patolojisi olan, geçirilmiş cerrahi hikayesi bulunan ve son bir ay içinde topikal veya sistemik steroidlerle diğer topikal anti-alerjik-antiinflamatuvar ajanları kullanan hastalar çalışma dışında bırakıldı. Kontrol grubu olarak refraksiyon kusuru dışında oküler patolojisi, allerji veya atopi hikayesi olmayan, topikal veya sistemik steroid ve topikal oküler medikasyon kullanmayan sağlıklı denekler seçildi. Tüm hastalara gözlerinde kaşıntı, sulanma, fotofobi, yabancı cisim hissi semptomlarının olup olmadığı soruldu, önceki atak ve ilaç kullanımı hikayeleri araştırıldı. Tüm denekler, kapak çevirmeyi de içeren tam bir göz muayenesiyle konjonktiva hiperemisi, kemozis, akıntı, papilla, kornea ve limbus tutulumu bulguları açısından değerlendirildi. Her hasta için 4 majör semptom (kaşıntı, sulanma, fotofobi, yabancı cisim hissi) ve 6 majör bulgu (konjonktiva hiperemisi, kemozis, sekresyon, papilla, kornea ve limbus tutulumu) için klinik skorlar belirlendi. Her bir parametre için skorlama 0-yok; 1-hafif; 2-orta; 3-şiddetli olacak şekilde 0 ile 3 arasında yapıldı. Hastalardan olopatadin %0,1 (Patanol®, Alcon Laboratories Inc. Fort Worth, Texas, USA) göz damlasını 12 saat arayla günde iki kez kullanmaları ve ilaç ile ilgili olduğunu düşündükleri istenmeyen etkileri bildirmeleri istendi. Gözyaşı örnekleri tedavi öncesi ve 21 günlük olopatadin tedavisi sonrası olmak üzere alerjik konjonktivitli hastalardan ve kontrol grubu deneklerden alındı.

Gözyaşı toplamak için 75µl'lik hematokrit tüpleri (Haematokrit-Kapillaren, Hirschmann Laborgerate, Germany) kullanıldı. Hematokrit tüpleri lateral kantus kenarına yerleştirildi ve inferior gözyaşı menisküsünden gözyaşı toplanarak yeterli hacime ulaşıncaya kadar (150 µl) mikrosantrifüj tüplerine boşaltıldı. Bu esnada dokuların travmatize edilmemesine çalışıldı. Örnekler hava geçirmeyen mikrosantrifüj tüplerinde IL düzeyleri çalışılncaya kadar -20°C'de saklandı (24). Gözyaşı IL-4 ve IL-5 düzeyleri sandviç tip ELISA kiti olan IL-4 (PeliKine™ human IL-4 ELISA kit, Central Laboratory of The Netherlands, Amsterdam, The Netherlands) ve IL-5(Bio Source International Immunoassay kit, Bio Source International Inc., Camarillo, California, USA) kitleri ile belirlendi. Üreticilerin önerdiği prosedürlerde hiçbir modifikasyon yapılmaksızın optik absorbans değerleri 450 nm'de mikro ELISA otomatik okuyucusundan (model

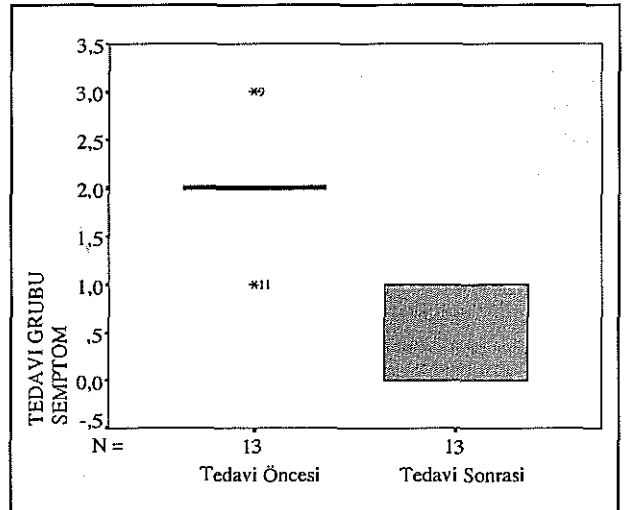
ELX 800: Bio Tek Instruments, Inc. USA) okundu. Sırası ile IL-4 ve IL-5 için belirlenebilme alt limiti 0,5pg/ml ve 4pg/ml idi. IL-4 ve IL-5 seviyeleri için belirlenme limitinin altında kalan konsantrasyon değerleri sıfır olarak kabul edildi. Tüm örnekler kodlanarak, tek kör olarak çalışıldı. Çalışmanın istatistikleri SPSS for Windows v.10.0 ile yapıldı. Tedavi ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U, grup içi karşılaştırmalarda ise Wilcoxon Signed Ranks testleri kullanıldı. 0,05'in altındaki p değerleri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Kontrol grubu yaş ortalaması 17.08±1.15, alerjik konjonktivitli grubun yaş ortalaması 16.23±4.90 olup, her iki grupta da 10 erkek, 3 kadın olmak üzere (%76.92 ve %23.08) toplam 13 denek mevcuttu.

Alerjik konjonktivit semptom (kaşıntı, sulanma, fotofobi, yabancı cisim hissi) ve bulgularındaki (konjonktivita eritemi, kemozis, akıntı, papilla, limbus ve kornea tutulumu) düzelmeler tedavinin üçüncü haftasının sonunda değerlendirildi. Alerjik konjonktivitli hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası semptomlara ait klinik skorlar şekil 1'de izlenmektedir. Ortalama tedavi öncesi skor 1.92±0.49 iken, tedavi sonrası semptomlar düzelerek, klinik skor 0.31±0.48 düzeylerine indi. Bu parametre açısından tedavi öncesi ve sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,01). Alerjik konjonktivitli hastalarda tedavi öncesi bulgulara ait klinik skor 1.85±0.38 iken, tedavi sonrası klinik skor 1.46±0.66 düzeylerindedi (şekil-2) ve bu parametre açısından da tedavi öncesi ve sonrası arasında istatistik-

Şekil 1. Tedavi grubu, tedavi öncesi ve sonrası semptomlara ait klinik skor



sel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,05$ ). Hastaların hiçbirinde olopatadin tedavisinden kaynaklanan yan etki veya ilaç intoleransı rapor edilmedi.

Kontrol grubunda ortalama IL-4 seviyesi  $4.69\pm 3.94$  pg/ml (0-9.0) idi. Allerjik konjonktivitli hastalarda ortalama IL-4 seviyesi tedavi öncesi  $16.6\pm 2.24$  pg/ml (14.9-22.3), tedavi sonrası  $9.52\pm 2.82$  pg/ml (5.9-13.6) olarak ölçüldü (Şekil-3). Allerjik konjonktivitli hastalarda tedavi öncesi IL-4 düzeyleri, kontrol grubu IL-4 düzeylerinden anlamlı olarak yüksekti ( $p<0,001$ ). Allerjik konjonktivitli hastalarda tedavi öncesi ve sonrası IL-4 düzeyleri karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ( $p<0,05$ ). Tedavi grubunda ilaç uygulaması sonrası görülen IL-4 düzeylerindeki bu azalmaya rağmen, allerjik konjonktivitli hastalarda tedavi sonrası IL-4 düzeyleri ile kontrol grubu IL-4 seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark devam etmekteydi ( $p<0,01$ ).

Kontrol grubundan ve allerjik konjonktivitli hastalardan tedavi öncesi ve sonrası alınan gözyaşı örneklerinde IL-5 seviyesi belirlenemeyen düzeylerdeydi.

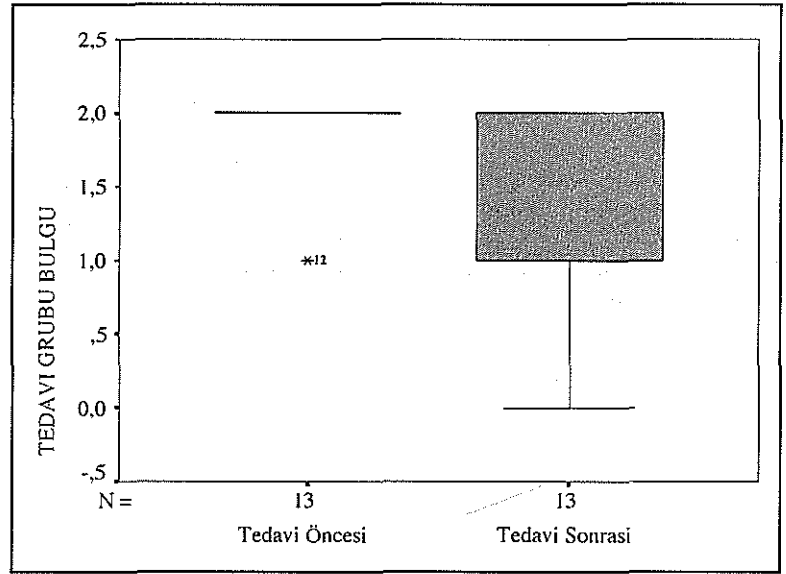
## TARTIŞMA

Allerjik konjonktivitte allerjene maruz kalınması, dakikalar içinde mast hücre degranülasyonu ve bununla ilişkili bir dizi olayın başlamasına neden olur. Bu zincir, histamin gibi daha önceden sentezlenmiş medyatörlerin salınımı şeklinde erken faz ile, prostaglandinlerle IL-4, IL-5, IL-6 ve tümör nekroz faktör (TNF)- $\alpha$  gibi inflamatuvar medyatörlerin sentezini ve salgılanmasını içeren geç faz reaksiyonlarından oluşur (5,25). Mast hücrelerinden salınan medyatörler, çevre dokulardan kemoatraktan maddelerin salınımına ve hücre infiltrasyonun yol açarak inflamasyonun idamesinde önemli rol oynarlar (22). Bu nedenle oküler allerji tedavisinde mast hücre stabilizatörleri kullanılabilir (26). İnsan konjonktiva mast hücre stabilizatör etkisiyle Olopatadin daha önce sentezlenip depolanan veya yeni sentezlenen medyatörlerin salınımı konusunda selektif davranmaz; histamin salınımının %90'ını inhibe eder, (19,21) Olopatadin bunun yanında mast hücrelerinden TNF $\alpha$  salınımını da inhibe eder; bu etkinin ilacın al-

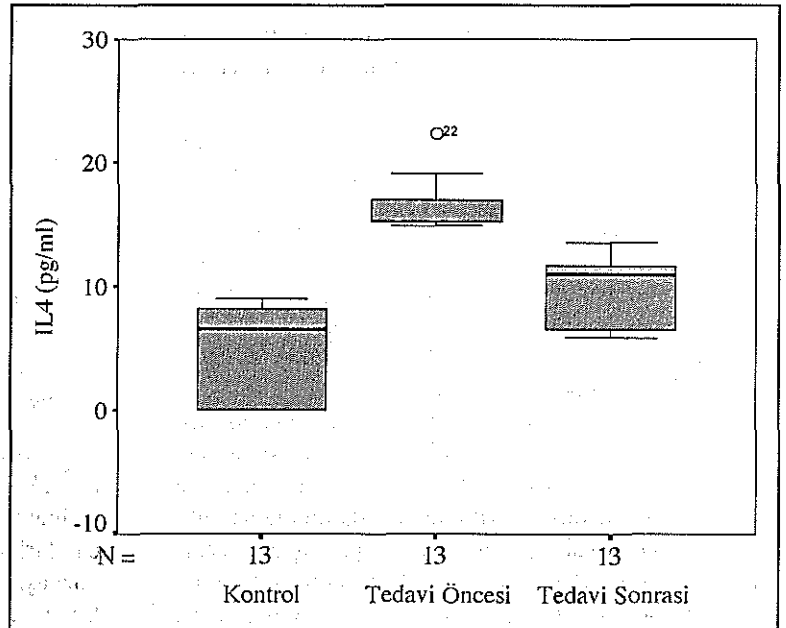
lerjik konjonktivitte kronik inflamasyonu sınırlayıcı etkisinden kısmen sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (22).

Allerjik hastalıkların primer medyatörü olarak tanımlanan histaminin, öteden beri bilinen hiperemi, ödem, sekresyonlarda artış ve pruritojenik etkileri yanında (27), insan konjonktiva epiteli hücrelerinden proinflamatuvar sitokin sentez ve salınımını uyardığının anlaşıl-

Şekil 2. Tedavi grubu, tedavi öncesi ve sonrası bulgulara ait klinik skor



Şekil 3. Kontrol ve tedavi grubu tedavi öncesi ve sonrası dönemlerde IL-4 düzeyi



ması bu allerjik hastalıkların ilaçla tedavisinde yeni bir hedef oluşturmuştur (13,28). Birinci jenerasyon antihistaminikler bu cevabı yeterince baskılamazken, yeni jenerasyon antihistaminikler (emedastin, olopatadin ve levokabastin gibi) sitokin inhibisyonu ile klinik etkinlik bakımından daha üstün bir etki göstermektedirler. (28,29). Bu durum olopatadinin bir insan konjonktiva mast hücre degranülasyon inhibitörü ve antihistaminik olarak, H<sub>1</sub> reseptör affinitesinden beklenenden daha yüksek klinik etkinlik açıklamalarından biri olabilir; çünkü olopatadin histaminin uyardığı sitokin salınımını, H<sub>1</sub> reseptör affinitesinden beklenenden 10 kat daha fazla düzeyde önlemektedir (28). Olopatadinin etkinliğinin, H<sub>1</sub> reseptör affinitesi çok daha yüksek bir antihistaminik ketotifene yakın olduğu gösterilmiştir (30). Olopatadinin H<sub>2</sub> reseptörlerine gösterdiği afinite diğer antihistaminiklerden fazladır (21); ancak H<sub>2</sub> reseptör antagonistlerinin allerjik konjonktivit üzerine herhangi bir etkisi gösterilememiştir (31). Bizim çalışmamızda da olopatadinin hastaların tümünde kaşıntı, sulanma, batma hissi ve konjonktiva hiperemisi gibi histamin salınımından kaynaklanan problemleri azalttığı, ancak ortadan kaldırmadığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda IL-4 düzeyi saptamamızın en önemli nedeni IL-4'ün tip I hipersensitivitede anahtar sitokin olmasıdır. IgE üretiminin IL-4'ün indükleyici etkisi ile gerçekleştiği ve anti-IL-4 antiserumu ile baskılandığı in vivo ve in vitro şartlarda gösterilmiştir (32). IL-4, B lenfositlerinin IgE üreten plazma hücrelerine dönüşümünü uyarır, T hücrelerinin proliferasyonunu ve monosit aktivasyonunu indükler, mast hücre proliferasyon ve diferansiasyonunda rol alır (32,33). Mevsimsel allerjik konjonktivitte IL-4 muhtemelen mast hücrelerinden salınmaktadır, çünkü konjonktivaya lökosit infiltrasyonu gösterilememiştir (34). Atopik keratokonjonktivit ve vernal keratokonjonktivit hastalarında ise gözyaşı IL-4 salınımının temel olarak TH hücrelerinden olduğunu düşündüren kanıtlar vardır (35). Allerjik konjonktivitli hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırıldığı bir çalışmada iki grup arasında IL-4 düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmıştır, gözyaşı IL-4 düzeyleri kontrol grubunda serum düzeylerine benzerken, allerjik konjonktivitli hastalarda serum düzeylerinin üzerinde bulunmuştur; bu bulgu allerjik reaksiyonun lokal olarak oküler yüzeyde gerçekleştiği ihtimalini desteklemektedir (24). Aynı çalışmayla, atopik keratokonjonktivit hastalarında gözyaşı IL-4 seviyesinin hastalığın ciddiyeti ile korelasyon gösterdiği de bildirilmiştir (24). Bizim çalışmamızda da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yükselmiş tedavi öncesi IL-4 düzeyleri saptanmıştır. Üç haftalık olopatadin tedavisi sonrası belirlenen IL-4 düzeyleri tedavi öncesine göre anlamlı olarak azalmış, ancak

kontrol grubu seviyelerine inmemiştir. Semptom ve bulgulara ait skorlarda da tedavi öncesi dönem ile karşılaştırıldığında anlamlı düzelmeler saptanmıştır. Bu durum üç haftalık olopatadin tedavisinin IL-4 düzeyleri, semptomlar ve bulgular üzerine etkinliğini ortaya koymaktadır. Ancak kontrol grubuna göre hala farklı olan parametreler ya tedavi süresinin ya da etkinliğinin yeterli olmadığını düşündürmektedir.

IL-5 eozinofillerle bazofiller üzerinde etkili bir T-hücre sitokindir; atopik keratokonjonktivit ve vernal keratokonjonktivit gibi proliferatif keratokonjonktivitlerde, mevsimsel allerjik konjonktivitli ve kontrol grubu hastalarına göre artmış gözyaşı IL-5 düzeyleri saptanmıştır (4,24). Gözyaşı IL-5 düzeyi proliferatif oküler hastalıklarda klinik durumu belirlemek ve proliferatif olmayan allerjik hastalıklardan ayırmak için kullanılabilir (24). Bizim çalışmamız da bu bulguyu desteklemektedir; çalışmamızdaki proliferatif olmayan allerjik konjonktivitli hastaların ve kontrol grubundaki gözlerin tedavi öncesi ve sonrası IL-5 düzeyleri sıfır olarak saptanmıştır. Ancak, Uchio ve arkadaşlarının aynı gözyaşı toplama yöntemi ve IL-5 kitleri ile yapılan çalışmasında kontrol ve allerjik hasta grubunda düşük de olsa IL-5 düzeylerinin saptanması; bizim çalışmamızda ise hem kontrol grubu hem de allerjik konjonktivitli grupta IL-5'in belirlenebilme limitinin altında olması aydınlatamadığımız bir çelişkidir (24).

Birçok allerjik hastalıkta IgE artışı ve eozinofiliye, artmış IL-4 ve IL-5 düzeyleri de eşlik eder; çünkü IL-5 üretimi ve eozinofilik differansiasyon IL-4 tarafından artırılmaktadır (36). Fonksiyonel ve yapısal çalışmalar da IL-4 ve IL-5'in koordine regülasyonu konsepti varlığını desteklemektedir. Diğer yandan, primer bağışıklık eksikliği sendromu ve psöriyaziste selektif olarak IL-4 üretiminde problem varken, IL-5 ve diğer sitokinlerin üretiminin normal olduğu bildirilmiştir (37,38). In vitro ve in vivo bazı parazitik infestasyonlarda ise, IL-2 tarafından selektif olarak indüklenmiş IL-5 üretimi rapor edilmiştir (39,40). Yani IL-4 ve IL-5'in koordine regülasyonunun izlendiği hastalıkların yanı sıra, IL-4 ve IL-5'in dissosiyasyon regülasyonu saptanan hastalıklar da vardır (39). Bizim sonuçlarımız da, olgu sayısı yeterli olmakla birlikte, mevsimsel allerjik konjonktivitte IL-4 ve IL-5'in dissosiyasyon regülasyonu olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda olduğu gibi kapiller tüp kullanılarak alınan gözyaşı, uyarılmış gözyaşı olarak kabul edilmekte ve protein konsantrasyonunun bazal gözyaşından farklı olduğu bilinmektedir (41). Bu yöntemle, diğer gözyaşı proteinleri yanında, sitokinlerin konsantrasyonlarının da dilusyona bağlı olarak daha düşük olduğu göz-

terilmiş ve sitokin konsantrasyonları yerine sitokin oranlarının (TH-2 / TH-1 sitokin oranı gibi) analizinin daha güvenilir sonuçlar verebileceği öne sürülmüştür (41,42). Biz çalışmamızda daha kolay olması ve literatürde de sıklıkla tercih edilen yöntem olması nedeniyle uyarılmış gözyaşı alma yöntemini kullandık. Bu çalışmada, belirlenemeyen aralıkta saptanan IL-5 düzeyleri, non-proliferatif bir keratokonjonktivit olan mevsimsel allerjik konjonktivitte beklenen düşük IL-5 aktivitesine bağlı olabileceği gibi, uyarılmış gözyaşındaki dilusyona da bağlı olabilir. Ancak IL-4 düzeylerinin bu dilusyona rağmen kontrol grubuna göre yüksek olarak saptanması allerjik konjonktivit hastalarında IL-4'ün patogeneze IL-5 den daha fazla rol oynadığını düşündürmektedir. Allerjik konjonktivitte IL-5 seviyesi ve eozinofilik aktivitede düşüklük olabileceğini düşündüren bir diğer klinik durum ise bu hastalarda kornea tutulumunun neredeyse hiç gözlenmemesidir.

Olopatadinin konjonktiva, episklara ve siliyer cisim gibi tüm vasküler yataklarda hiperemiyi azalttığı bildirilmiştir (43). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da hastalarda konjonktival hiperemi bulgusunda azalma izlenmiştir. Literatürde olopatadinle ilgili herhangi bir yan etki veya irritasyon rapor edilmemiştir (20,44). Olopatadinin sahip olduğu geniş güvenlik marjı, mast hücre stabilizatör etkisini gösterdiğinden çok daha yüksek dozlarda hücre toksisitesine neden olması ve adrenerjik, dopaminergik ya da muskarinik reseptörlerle etkileşim göstermemesi ile açıklanmaktadır (19,21,43). Bizim çalışmamızda da hastalar olopatadin kullanımı ile ilgili irritasyon veya intolerans bildirmemişlerdir.

Bu çalışma IL-4'ün mevsimsel allerjik konjonktivit patogenezinde önemli rol oynayan bir TH-2 hücre sitokini olduğunu doğrulamaktadır. IL-5 ise muhtemelen bu hastalığın patogenezinde rol almamaktadır. Allerjik konjonktivit tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir terapötik ajan olan olopatadin, IL-4 düzeylerini kontrol grubu düzeylerine kadar düşürememiş, bulgu ve semptomlar da tam olarak düzelmemiştir. Kısıtlı olgu sayısına rağmen, bu çalışma olopatadinin mutlak mast hücre stabilizasyonu yapamadığını veya IL-4'ün salınımının kısmen de olsa histamin dışı nedenlerle olabileceğini düşündürmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Stahl JL, Cook EB, Barney NP, Graziano FM: Pathophysiology of ocular allergy: the roles of conjunctival mast cells and epithelial cells. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2002 Jul; 2(4): 332-9
2. Leonardi A: Pathophysiology of allergic conjunctivitis. *Acta Ophthalmol Scand Suppl* 1993; 228: 21-23
3. Irani AM, Butrus SI, Tabbara KF, Schwartz LB: Human conjunctival mast cells. Distribution of MCT and MCTC in vernal conjunctivitis and giant papillary conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 34-40
4. Leonardi A: Role of histamine in allergic conjunctivitis. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 78: 18-21
5. Church MK, McGill JL: Human ocular mast cells. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2(5): 419-422
6. Trocme SD, Aldave AJ: The eye and the eosinophil. *Surv Ophthalmol* 1994; 39 (3): 241-252
7. Metz DP, Hingorani M, Calder VL, Buckley RJ, Lightman SL: T-cell cytokines in chronic allergic eye disease. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 817-824
8. Fujishima H, Shimazaki J, Takeuchi T, Saito I, Tsuboto K: Interleukin-4 and IgE in Seasonal Allergic Conjunctivitis. *Ophthalmologica* 1996; 210: 325- 328
9. Fujishima H, Saito I, Takeuchi T, Shinozaki N, Tsuboto K: Characterization of cytokine mRNA transcripts in conjunctival cells in patients with allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 1350-1357
10. Romagnani S: Biology of human TH1 and TH2 cells. *J Clin Immunol* 1995; 15: 121-127
11. Roitt I, Brostoff J, Male D(editors). Cytokines and cytokine receptors. Immunology. 6. Baskı, Barcelona. Mosby, 2001; 119-129
12. Stock EL, Pendleton RB: Pharmacological treatment of ocular allergic diseases. *Int Ophthalmol Clin* 1993; 33: 47-58
13. Simons FER, Simons KJ: The pharmacology and use of H1-receptor-antagonist drugs. *New Engl J Med* 1994; 330: 1663-1670
14. Friedlaender MH: Management of ocular allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995; 75: 212-222
15. Lightman S: Therapeutic considerations: symptoms, cells and mediators. *Allergy* 1995; 50 (21 Suppl). 10-13
16. Buckley RJ: Vernal keratoconjunctivitis. *Int Ophthalmol Clin* 1988; 28: 303-308
17. Cerqueti PM, Ricca V, Tosca MA, Buscaglia S, Ciprandi G: Lodoxamide treatment of allergic conjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol* 1994; 105: 185-189
18. Denis D, Bloch-Michel E, Verin P, Sebastiani A, Tazartes M, Helleboid L, et al: Treatment of common ocular allergic disorders. a comparison of lodoxamide and NAAGA. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 1135-1138
19. Yanni JM, Stephens DJ, Miller ST, Weimer LK, Graff G, Parnell D, et al: The in vitro and in vivo ocular pharmacology of olopatadine (AL-4943A), an effective anti-allergic/ antihistaminic agent. *J Ocular Pharmacol* 1996; 12: 389-400
20. Aguilar AJ: Comparative study of clinical efficacy and tolerance in seasonal allergic conjunctivitis management with 0.1% olopatadine hydrochloride versus 0.05% ketotifen fumarate. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 78: 52-55
21. Sharif NA, Xu SX, Miller ST, Gamache DA, Yanni JM, Characterization of the ocular antiallergic and antihista-

- minic effects of olopatadine (AL-4943A), a novel drug for treating ocular allergic disease. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278: 1252-1261
22. Cook EB, Stahl JL, Barney NP, Graziano FM: Olopatadine inhibits TFN $\alpha$  release from human conjunctival mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000; 84: 504-508
  23. Cook EB, Stahl JL, Barney NP, Graziano FM: Olopatadine inhibits anti-immunoglobulin E-stimulated conjunctival mast cell upregulation of ICAM-1 expression on conjunctival epithelial cells. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001 Nov.87(5).424-9
  24. Uchio E, Ono Y, Ikezawa Z, Ohno S: Tear levels of interferon- $\gamma$ , interleukin (IL)- 2, IL-4 and IL-5 in patients with vernal keratoconjunctivitis, atopic keratoconjunctivitis and allergic conjunctivitis. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 103-109
  25. Leonardi A: The central role of conjunctival mast cells in the pathogenesis of ocular allergy. *Curr Allergy Asthma Rep* 2002 Jul. 2(4). 325-331
  26. Abelson MB, Schaefer K: Conjunctivitis of allergic origin: Immunologic mechanisms and current approaches to therapy. *Surv Ophthalmol* 1993; 38: 115-132
  27. Friedlander MH: Ocular allergy. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF, Adkinson NF, Yunginger JW (editors). *Allergy: Principles and practice*. 2. Baski, St Louis. Mosby, 1988; 1469-1480
  28. Yanni JM, Weimer LK, Sharif NA, Xu SX, Daniel A, Gamache DA, Spellman JM. Inhibition of histamine-induced human conjunctival epithelial cell responses by ocular allergy drugs. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 643-647
  29. Weimer LK, Gamache DA, Yanni JM: Histamine stimulated cytokine secretion from human conjunctival epithelial cells: inhibition by the histamine H1 antagonist emedastine. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 115: 288-293
  30. Woodward DF, Ledgard SE, Nieves AL: Conjunctival immediate hypersensitivity: Re-evaluation of histamine involvement in the vasopermeability response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 57- 63
  31. Prete GD, Maggi E, Parronchi P, Chretien I, Tiri A, Macchia D, et al: IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 1988; 140: 4193-4198
  32. Anderson DF, Zhang S, Bradding P, McGill JI, Holgate ST, Roche WR: The relative contribution of mast cell subsets to conjunctival TH2-like cytokines. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 995-1001
  33. Anderson DF, Macleod JDA, Baddeley SM, Bacon AS, McGill JI, Holgate ST: Seasonal allergic conjunctivitis is accompanied by increased mast cell numbers in the absence of leukocyte infiltration. *Clin Exp Allergy* 1997; 27: 1060-1066
  34. Foster CS, Rice BA, Dutt JE: Immunopathology of atopic keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* 1991; 98: 1190-1196
  35. Kopf M, Le Gros G, Bachmann M, Lamers MC, Bluethmann H, Kohler G: Disruption of the murine IL-4 gene blocks Th2 cytokine responses. *Nature* 1993; 362: 245-248
  36. Bacchetta R, de Waal Malefijt R, Yssel H, Abrams J, de Vries JE, Spits H, Roncarolo MG: Host-reactive CD4+ and CD8+ T cell clones isolated from a human chimera produce IL-5, IL-2, IFN-gamma and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor but not IL-4. *J Immunol* 1990; 144: 902-908
  37. Mosmann TR, Schumacher JH, Street NF, Budd R, O'Garra A, Fong TA, et al: Diversity of cytokine synthesis and function of mouse CD4+ T cells. *Immunol Rev* 1991; 123: 209-229
  38. Bohjanen PR, Okajima M, Hodes RJ: Differential regulation of interleukin 4 and interleukin 5 gene expression: A comparison of T-cell gene induction by anti-CD3 antibody or by exogenous lymphokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 5383- 5387
  39. Cheever AW, Finkleman FD, Caspar P, Heiny S, Macedonia JG, Sher A: Treatment with anti-IL-2 antibodies reduces hepatic pathology and eosinophilia in *Schistosoma mansoni*-infected mice while selectively inhibiting T cell IL-5 production. *J Immunol* 1992; 148: 3244- 3248
  40. Cook EB, Stahl JL, Lowe L, Chen R, Morgan E, Wilson J, et al: Simultaneous measurement of six cytokines in a single sample of human tears using microparticlebased flow cytometry: allergics vs non-allergics. *J Immunological Methods* 2001; 254: 109-118
  41. Nakamura Y, Sotozono C, Kinoshita S: Inflammatory cytokines in normal human tears. *Curr Eye Res* 1998; 17: 673-676
  42. Deschenes J, Discepolo M, Abelson M: Comparative evaluation of olopatadine ophthalmic solution (0.1%) versus ketorolac ophthalmic solution (0.5%) using the provocative antigen challenge model. *Acta Ophthalmol Scand* 1999; 77: 47-52
  43. Artal MN, Luna JD, Discepolo M: A forced choice comfort study of olopatadine hydrochloride 0.1% versus ketotifen fumarate 0.05%. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 78: 64-65