

Vernal keratokonjonktivitte gözyaşı interlökin-16 düzeyleri

Tear levels of IL-16 in vernal keratoconjunctivitis

Onur Çatak¹, Orhan Aydemir², Bilal Üstündağ³

ÖZET

Amaç: Vernal keratokonjonktivit genellikle atopik öyküye sahip çocuklarda ve genç erişkinlerde gözlenir. Bu çalışmada vernal konjonktivitli hastalarda gözyaşı İnterlökin-16 (IL-16) düzeyini incelenmesi amaçlandı.

Yöntemler: Vernal konjonktivitli 20 hasta ile 10 sağlıklı bireyden gözyaşı örnekleri alındı. Örnekler hematokrit tüpleri topikal anestezi damlatılmaksızın lateral kantus kenarına yerleştirilerek alındı. Gözyaşı IL-16 düzeyleri ELISA yöntemi ile incelendi.

Bulgular: Vernal keratokonjonktivit grubunda IL-16 düzeyleri (514±135 pg/ml) kontrol grubuna göre (358±139 pg/ml) anlamlı derecede yüksek bulundu (p=0,04).

Sonuç: Çalışma sonuçları IL-16'nın vernal keratokonjonktivit patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: İnterlökin-16, vernal keratokonjonktivit, enzim bağlı immün assay

ABSTRACT

Objective: Vernal keratoconjunctivitis is more common in children and young adults having an atopic background. The aim of the present study was to determine the interleukin-16 (IL-16) levels in tear fluids of patients with vernal keratoconjunctivitis (VKC).

Methods: Tear fluid samples were collected from 20 patients with VKC and 10 healthy subjects. Tear fluid samples were collected with microcapillary tubes for hematocrit at the lateral canthus of patients in the supine position without any anesthesia. Tear levels of IL-16 were measured by ELISA kit.

Results: The mean levels of IL-16 among the patients (514±135 pg/ml) was significantly higher than among controls (358±139 pg/ml) (p=0.04).

Conclusions: These results considered that IL-16 have significant effect on the pathogenetic process of vernal keratoconjunctivitis.

Key words: Interleukin-16, vernal keratoconjunctivitis, enzyme-linked immunosorbent assay

GİRİŞ

Alerjik göz hastalıkları ile klinik uygulamada sık karşılaşılmaktadır. Dünya nüfusunun %15-17'si alerji sorunu yaşamaktadır. Oküler tutulum ise bunların üçte birini oluşturur. Vernal Keratokonjonktivit (VKC) kronik, bilateral, mevsimsel, tarsal ve/veya bulber konjonktivayı tutabilen oküler yüzeyin alerjik inflamasyonudur. 150 yıl önce 'konjonktiva lenfatika' olarak oftalmik literatürde yer almıştır. Hastalık alerjik kökene sahip olmasına rağmen uzun sürelidir. Patogenezi ve etiyojisi tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır [1].

İnterlökin-16 (IL-16) 1982'de T hücre kemoatraktanı olarak tanımlanmıştır [2]. CD8+ T hücreleri, histamin ve serotonin gibi vazoaaktif aminler, antijenler ve mitojenlere cevaben IL-16 salgılar. Mitojen ve spesifik antijen uyarısı ile CD4+ T hücrelerinin de IL-16 üretimi ve salgıladığı gösterilmiştir [3].

VKC bulunan hastalarda astım, rinit, egzema, ürtiker gibi alerjik hastalık aile öyküsü %49 oranında pozitif bulunmuştur. Alerjen spesifik IgE antikor varlığı olarak tanımlanan atopi, VKC hastaları arasında ortak bulgudur. VKC'lilerin üçte biri multipl atopik hastalığa sahiptir [4].

¹ Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Bölümü, Elazığ, Türkiye

² Fırat Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

³ Fırat Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Yazışma Adresi /Correspondence: Onur Çatak,

Elazığ Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Bölümü Elazığ, Türkiye Email: dronurcatatak@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 17.11.2012, Kabul Tarihi / Accepted: 02.05.2013

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2013, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

Astım, IL-16 yapımı ile direkt ilişkilendirilen ilk hastalıktır [5]. Antijen inhalasyonuna cevaben aktive mast hücrelerinden salınan histaminin stimülasyonu sonucu epitelden IL-16 salındığı düşünülmektedir [6].

Bu çalışmada vernal konjonktivitte ve sağlıklı insanlarda gözyaşı IL-16 seviyelerine bakılarak hastalığın patogenezindeki muhtemel rolünün incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEMLER

Çalışmaya Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları polikliniğine Haziran 2009 ve Haziran 2010 tarihleri arasında başvuran ve vernal konjonktivit tanısı konan 20 olgu ile 10 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Araştırma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu onayı ile birlikte, gözyaşı toplanmadan önce, 18 yaş altındaki deneklerin ebeveynlerine, 18 yaş üzerindeki deneklerin ise kendilerine çalışma ile ilgili açıklama yapılarak imzalı onayları alınmıştır.

Çalışmaya en azından son iki yıldan beri vernal konjonktivit öyküsü olan hastalar dahil edildi. Ancak son bir ay içinde topikal veya sistemik steroidlerle diğer topikal antialerjik-antiinflamatuvar ajanları kullanan, vernal konjonktivit dışında bir göz patolojisi olan veya geçirilmiş göz cerrahi hikayesi bulunan olgular çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak allerji veya atopi hikâyesi olmayan, astım vb. alerjik hastalığı bulunmayan, topikal veya sistemik steroid ve topikal oküler ilaç tedavisi kullanmayan sağlıklı bireyler seçildi.

Gözyaşı toplamak için 75 µl'lik hematokrit tüpleri (Haemotokrit-Kapillaren, Hirschmann Laborgerate, Germany) kullanıldı. Hematokrit tüpleri kornea ve konjonktiva travmatize edilmemeye çalışılarak lateral kantus kenarına yerleştirildi ve inferior gözyaşı menisküsünden gözyaşı toplanarak yeterli hacime ulaşana kadar (100 µl) mikrosantrifüj tüplerine boşaltıldı. Örnekler hava geçirmeyen mikrosantrifüj tüplerinde sitokin düzeyleri çalışılncaya kadar ortalama 6 ay -80 °C 'de saklandı. Gözyaşı IL-16 düzeyleri sandviç tip ELISA kiti olan IL-16 (Cusabio Biotech Co., Ltd Human IL-16 ELISA Kit, Wuhan, Hubei Province, P.R. China) kiti ile belirlendi. Üreticilerin önerdiği prosedürlerde hiçbir modifikasyon yapılmaksızın optik absorbans değerleri 450 nm'de mikro ELISA otomatik okuyucu-

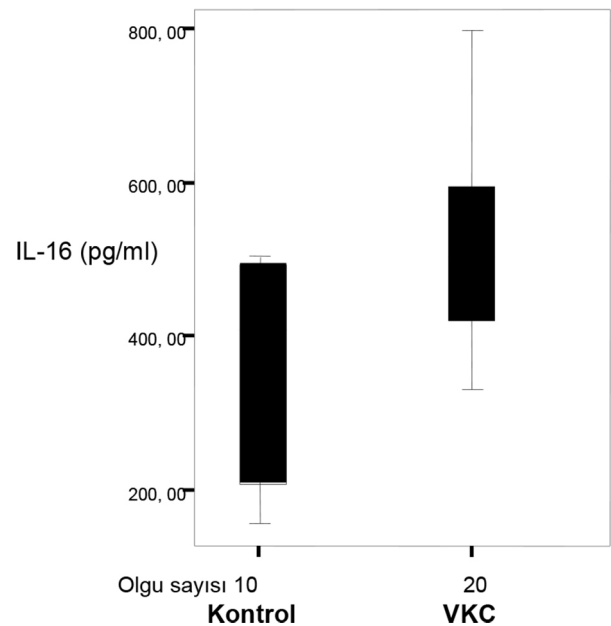
sundan (model ELX 800: Bio Tek Instruments, Inc. USA) okundu. IL-16 için belirlenebilme alt limiti 31,2 pg/ml idi. IL-16 seviyeleri için belirlenme limitinin altında kalan konsantrasyon değeri sıfır olarak kabul edildi. Tüm örnekler kodlanarak, tek kör olarak çalışıldı.

Çalışmanın istatistikleri SPSS 17.0 programı ile yapıldı. Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U Testi uygulandı. İstatistiksel farklılık için p 0,05'in altındaki değerler anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Vernal konjonktivit grubu 13 erkek (%65) ve 7 (%35) kadın olmak üzere toplam 20 kişiden, kontrol grubu ise 7 (%70) erkek, 3 (%30) kadın olmak üzere toplam 10 kişiden oluşmaktaydı. Kontrol grubu yaş ortalaması 16,32±3,90, vernal konjonktivitli grubun yaş ortalaması 14,35±5,1 yıl idi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından fark yoktu (p>0,05).

Ortalama IL-16 seviyesi kontrol grubunda 357,81±138,86 pg/ml, vernal konjonktivitli hastalarda ise 514,38±134,54 pg/ml olarak tespit edildi (Şekil 1). Vernal konjonktivitli hastalardaki ortalama gözyaşı IL-16 seviyeleri, kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,04).



Şekil 1. Kontrol ve VKC hastalarının gözyaşı IL-16 düzeyleri

TARTIŞMA

Allerjik olayların en sık görüldüğü organlardan birisi gözdür. Gözdeki allerjik reaksiyonlar atopik dermatit, anjioödem, ürtiker gibi sistemik allerjik hastalığın bir parçası olarak veya sadece gözde ortaya çıkan allerjik reaksiyonlar şeklinde görülebilmektedir [7].

Oküler allerjik hastalıklarda konjonktiva mast hücrelerinin aktivasyonu ile birlikte daha önce üretilmiş ve yeni üretilen medyatörlerin salınımı önemli bir basamaktır. Mast hücreleri normalde konjonktivada substansiya propria içindedir ve çoğunluğu granüllerinde triptaz ve kinaz içeren bağ doku tipinde mast hücreleridir. Fakat VKC'de mukozal tipte mast hücrelerinin arttığı gösterilmiştir [8]. Mast hücre aktivasyonu oküler allerji gelişimde merkezi bir rol oynar ve mast hücre medyatörleri allerjik konjonktivitli hastaların gözyaşında saptanabilirler [9].

İnterlökin-16, allerjik reaksiyonlarda ve gecikmiş tip hipersensitivitede rolü olduğu ileri sürülen bir sitokindir. CD4+ T lenfositler için kemoatraktandır [10]. İlk olarak 80 kd prekürsör pro-IL-16 olarak sentezlenir. Temel olarak dalak, lenf nodu, timus gibi lenfoid organlarda hem CD4+ hem de CD8+ T lenfositlerden sentezlenir [11-14]. Önce CD8+ T hücreleri tarafından üretildiği tespit edilmiş, ardından eozinofiller, mast hücreleri, epitelyal hücreler, CD4+ T hücreleri ve dendritik hücreler tarafından salgılandığı gösterilmiştir [15-19].

CD4+ T hücre tutulumu ile giden allerjik astım, romatoid artrit, multipl skleroz gibi hastalıklarda kritik rol oynadığı tespit edilmiştir [20-25]. İnflamasyon sahasına CD4+ T hücresi infiltrasyonu ve aktivasyonunda önemli rol oynayan proinflamatuvar ve immünoregülatuvar molekül olarak kabul edilmektedir. CD8+ T hücreleri, histamin ve serotonin gibi vazoaaktif aminler, antijenler ve mitojenlere cevaben IL-16 salgılar [3].

Yapılan bir çalışmada sensitize farelerde IL-16'ya karşı oluşturulmuş nötralize monoklonal antikor tedavisiyle gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonunun büyük oranda azaldığı gösterilmiştir. Th1 hücreleri ve CD4+ T hücreleri aracılığı ile gerçekleşen gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonunda IL-16'nın kemoatraktan özelliği ile katkıda bulunduğu öne sürülmüştür [26].

Bu çalışmamızda, vernal konjonktivitli hasta grubunda gözyaşı IL-16 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,05$). Bu sonuç bize VKC patogenezinde IL-16'nın da rolü olduğunu düşündürmektedir.

Astım, IL-16 yapımı ile direkt ilişkilendirilen ilk hastalıktır [5]. Astımlı hastalarda bronkoalveolar lavaj sıvısında kontrol grubuna göre yüksek düzeyde IL-16 bulunduğu gözlenmiştir [27]. Diğer bir çalışmada CD4+ T lenfositlerle havayolu epiteline IL-16 protein ve mRNA miktarının yüksek korelasyon gösterdiği izlenmiştir [22]. Antijen inhalasyonuna cevaben aktive mast hücrelerinden salınan histaminin stimülasyonu sonucu epitelyumdan IL-16 salındığı düşünülmektedir [6].

Mast hücreleri, T lenfositler ve eozinofillere ek olarak epitel hücrelerinin de allerjik inflamasyonda önemli bir sitokin kaynağı olduğu bilinmektedir [28,29]. Ancak IL-16'nın, hem immün hücreler ve hem de epitelden sentezlenmesi bu sitokinin gözyaşındaki muhtemel kaynağını belirlemeyi güçleştirmektedir. Bu kaynaklar konjonktival folliküllerdeki lenfositler olabilir. Konjonktival epitelyal hücreler ya da inflamasyonda rol alan diğer mononükleer hücrelerden birlikte salgılanması da muhtemeldir.

Yaptığımız çalışma, IL-16'nın vernal konjonktivitin patogenezindeki karmaşık sürece katkısı olduğu tezini güçlendirmektedir. Hasta ve kontrol sayısının az olması ise bu çalışmanın eksik yönleridir.

Bu sitokine yönelik önümüzdeki süreçte spesifik antikörlerle insan çalışmaları yapılarak inflamasyondaki rolü üzerinde daha detaylı bilgilere ulaşılabılır. Moleküler immünolojide ilerleyen çalışmalarla beraber IL-16'ya yönelik daha geniş çaplı araştırmalarla vernal konjonktivite tedavisinde daha iyi tedavi stratejileri sağlanacağı düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Kumar S. Vernal keratoconjunctivitis: A major review. *Acta Ophthalmol* 2009;87:133-147.
2. Center DM, Cruikshank WW. Modulation of lymphocyte migration by human lymphokines. Identification and characterization of chemoattractant activity for lymphocytes from mitogen-stimulated mononuclear cells. *J. Immunol* 1982;128:2563-2568.
3. Wu D.M.H, Zhang Y, Parada N.A, et al. Processing and release of interleukin-16 from CD4+ but not CD8+ T cells is activation dependent. *J Immunol* 1999;162:1287-1293.

4. Bonini S, Bonini S, Lambiase A, et al. Vernal keratoconjunctivitis revisited. A case series of 195 patients with long-term follow up. *Ophthalmology* 2000;107:1157-1163.
5. Bellini A, Yoshimura H, Vitori E, Marini M, Mattoli SJ. Bronchial epithelial cells of patients with asthma release chemoattractant factors for T lymphocytes. *J. Allergy Clin Immunol* 1993;92:412-424.
6. Cruikshank W.W, Kornfeld H, and Center DM. Interleukin-16 *J Leukoc Biol* 2000;67:757-766.
7. Tomaç N. Allerjik Konjonktivitler. *T Klin J Med Sci* 2004;24:396-410.
8. Irani AMA, Butrus SI, Tabbora KF, Schwartz LB. Human conjunktival mast cells: distribution of MCt and MCtc in vernal conjunctivitis and giant papillary conjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 1990;86:34-40
9. Leonardi A. The central role of conjunctival mast cells in the pathogenesis of ocular allergy. *Curr Allergy Astma Rep* 2002;2:325-331.
10. Center DM, Kornfeld H, Cruikshank W.W. Interleukin 16 and its functions as a CD4 ligand. *Immunol Today*1996;17:476-481.
11. Baier M, Bannert N, Werner A, et al. Molecular cloning, sequence, expression, and processing of the interleukin 16 precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:5273-5277.
12. Keane J, Nicoll J, Kim S, et al. Conservation of structure and function between human and murine IL-16. *J Immunol* 1998;160:5945-5954.
13. Chupp GL, Wright EA, Wu D, et al. Tissue and T cell distribution of precursor and mature IL-16. *J Immunol* 1998;161:3114-3119.
14. Wu DM, Zhang Y, Parada NA, et al. Processing and release of IL-16 from CD4+ but not CD8+ T cells is activation dependent. *J Immunol* 1999;162:1287-1293.
15. Hessel EM, Cruikshank WW, Van Ark I, et al. Involvement of IL-16 in the induction of airway hyper-responsiveness and up-regulation of IgE in a murine model of allergic asthma. *J Immunol* 1998;160:2998-3005.
16. Laberge S, Cruikshank WW, Kornfeld H, Center DM. Histamine-induced secretion of lymphocyte chemoattractant factor from CD8+ T cells is independent of transcription and translation. Evidence for constitutive protein synthesis and storage. *J Immunol* 1995;155:2902-2910.
17. Laberge S, Cruikshank WW, Beer DJ, Center DM. Secretion of IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) from serotonin stimulated CD8+ T cells in vitro. *J Immunol* 1996;156:310-315.
18. Lim KG, Wan HC, Bozza PT. Human eosinophils elaborate the lymphocyte chemoattractants. IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) and RANTES. *J Immunol* 1996;156:2566-2570.
19. Rumsaeng V, Cruikshank WW, Foster B, et al. Human mast cells produce the CD4+ T lymphocyte chemoattractant factor, IL-16. *J Immunol* 1997;159:2904-2910.
20. Cruikshank WW, Long A, Tarpy RE, et al. Early identification of interleukin-16 (lymphocyte chemoattractant factor) and macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP1 alpha) in bronchoalveolar lavage fluid of antigen-challenged asthmatics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:738-747.
21. Center DM, Kornfeld H, Wu MJ, et al. Cytokine binding to CD4+ inflammatory cells: implications for asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:59-62.
22. Laberge S, Ernst P, Ghaffar O, et al. Increased expression of interleukin-16 in bronchial mucosa of subjects with atopic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:193-202.
23. Franz JK, Kolb SA, Hummel KM, et al. Interleukin-16, produced by synovial fibroblasts, mediates chemoattraction for CD4+ T lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 1998;28:2661-2671.
24. Biddison WE, Taub DD, Cruikshank WW, et al. Chemokine and matrix metalloproteinase secretion by myelin proteolipid protein-specific CD8+ T cells: potential roles in inflammation. *J Immunol* 1997;158:3046-3053.
25. Schluesener HJ, Seid K, Kretzschmar J, Meyermann R. Leukocyte chemotactic factor, a natural ligand to CD4+, is expressed by lymphocytes and microglial cells of the MS plaque. *J Neurosci Res* 1996;44:606-611.
26. Yoshimoto T, Wang CR, Yoneto T, et al. Role of IL-16 in delayed-type hypersensitivity reaction. *Blood* 2000;95:2869-2874.
27. Cruikshank W.W, Long A, Tarpy R, et al. Early identification of IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) and macrophage inflammatory protein 1a (MIP1a) in bronchoalveolar lavage fluid of antigen challenged asthmatics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;13:738-747.
28. Hingorani M, Calder VL, Buckley RJ, Lightman SL. The role of conjunctival epithelial cells in chronic ocular allergic disease. *Exp Eye Res* 1998;67:491-500.
29. Bradding P, Feather IH, Wilson S, et al. Immunolocalisation of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitis subject. *J Immunol* 1993;151:3853-3865.