



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL POSTERİOR ÜVEİT MODELİNDE DENEKLERE
UYGULANAN TOFASİTİNİB TEDAVİSİNİN ÜVEİT BULGULARININ
GİDERİLMESİ ÜZERİNE ETKİNLİK VE GÜVENİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. BERRU YARGI

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2020



T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DENEYSEL POSTERİOR ÜVEİT MODELİNDE DENEKLERE
UYGULANAN TOFASİTİNİB TEDAVİSİNİN ÜVEİT BULGULARININ
GİDERİLMESİ ÜZERİNE ETKİNLİK VE GÜVENİLİRLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. BERRU YARGI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. HANDE ÇELİKER ATABERK

İSTANBUL 2020

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmamda kıymetli bilgi ve tecrübelerini paylaşan, sadece akademik anlamda değil, hayatımın her alanında bana birbirinden güzel kapılar açan, beni de kızlarından biri olarak gören, her daim yanımda olduğunu hissettiğim tez danışmanım **Doç. Dr. Hande Çeliker Ataberk**'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin fikir aşamasında ve sonuçların değerlendirilmesinde kıymetli katkıları olan **Prof. Dr. Haner Direskeneli**'ye, tezimin sadece Tıbbi Biyoloji Departmanı ile ilgili ayağında değil, her aşamasında destek veren **Dr. Öğr. Üyesi Can Erzik**'e ve **Dr. İrem Peker Eyüboğlu**'na, Histoloji ve Embriyoloji Departmanı'ndan sayın hocalarım **Prof. Dr. Şule Çetinel**'e ve **Dr. Öğr. Üyesi Özlem Tuğçe Kaya**'ya değerli emekleri ve bana yeni ufuklar açtıkları için teşekkür ederim.

Sayın tez danışmanım **Doç. Dr. Hande Çeliker Ataberk** ve **Prof. Dr. Haner Direskeneli**'nin vasıtası ile tanıştığım, beni Münih Üniversitesi Göz Kliniği İmmünoloji Departmanı'nda misafir eden ve tezimin metodolojisini oluşturmam için önemli deneyim ve görüşlerini benimle paylaşan **Prof. Dr. Gerhild Wildner**, **Prof. Dr. Stephan Thureau** ve **Dr. Maria Diedrichs-Möhring**'e şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince tecrübelerinden faydalandığım, asistanı olmaktan onur duyduğum sayın hocam **Prof. Dr. Haluk Kazakoğlu**'na, bilgi ve görüşleriyle bana çok şey katan, tezim konusunda beni yüreklendiren sayın hocam **Prof. Dr. Ayşe Ebru Toker**'e, değerli bilgi ve tecrübeleri ile bana mesleki anlamda değer katan, desteklerini esirgemeyen sayın hocam **Prof. Dr. Özlem Şahin**'e, asistanlık eğitimim süresince benimle kıymetli tecrübelerini paylaşan sayın hocalarım **Doç. Dr. Eren Çerman**'a, **Doç. Dr. Muhsin Eraslan**'a ve **Doç. Dr. Semra Akkaya Turhan**'a, teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım **Uzm. Dr. Volkan Dericioğlu**'na, **Uzm. Dr. Aslan Aykut**'a, **Uzm. Dr. Mehmet Orkun Sevik**'e, **Uzm. Dr. Esra**

Biberoğlu Çelik'e , asistan arkadaşlarıma ve Marmara Göz ailesine mensup tüm ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni yetiştiren ve bugünlere gelmemi sağlayan, her zaman destekçim olan canım annem **Müjgan Yargı** ve babam **Kemal Yargı**'ya, kardeşim **Ecz. Batuhan Yargı**'ya ve sadece bu süreçte değil, hayatıma girdiği andan beri sevgi, sabır ve özveri ile yanımda olan müstakbel eşim **Uzm. Dr. Gökhan Özkoçak**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak yürüttüğüm 100040 nolu tez çalışmamın bütçesinin bir kısmını karşılayan BAPKO'ya destekleri için teşekkür ederim.

Aralık, 2020

Dr. Berru YARGI

ÖZET

Non-infeksiyöz üveitler (NİÜ), tedavisiz kaldığında inflamasyon nedeni ile ciddi görme kaybına sebep olabilen bir hastalıktır. Bu nedenle yeni tedavi alternatifleri için deneysel modeller elzemdir.

Mevcut çalışmada, NİÜ'e benzer bir panüveit yapan ve Behçet üveiti (BÜ) patofizyolojinde önemli rol oynayan retinal S-antijen (RSA) ile indüklenen deneysel üveit modeli oluşturulması ve oluşturulan bu modelde küçük molekül inhibitörü tofasitinibin oral kullanımının üveit bulgularının giderilmesi üzerine olan etkinliğinin ve güvenilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Denekler, 19 adet Wistar sıçandan oluşmuştur. On beş adet sıçan, subkutan 15 µg/sıçan RSA uygulanarak immünize edilerek her bir üveit grubunda beş denek olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır (hasta kontrol/sham kontrol/tedavi grubu). İki sıçan sağlıklı kontrol grubuna dahil edilmiş, kalan 2 sıçana ise tofasitinib güvenliğini test etmek için sadece tofasitinib verilerek deney sonunda retinal kesitleri histolojik olarak incelenmiştir. Üveit oluşumu ve tofasitinib etkinliği, direkt kalpten alınan kanda ELISA testi ile sitokin düzeylerinin saptanmasıyla konfirme edilmiştir.

Wistar sıçanlarda klinik ve histolojik skor ile %100 üveit geliştiği gösterilmiştir (**p<0.001**). Oral tofasitinib tedavisinin de klinik üveit bulgularının başlangıcını geciktirdiği, klinik ve histolojik skoru azalttığı saptanmıştır, ancak histolojik skordaki azalma beklenen düzeyde bulunmamıştır (p değerleri; 0.393, 0.089). Tofasitinib tedavisinin IL-17 başta olmak üzere (**p=0.023**), sitokin düzeylerini azaltarak inflamasyonu baskıladığı saptanmıştır.

Tofasitinib BÜ'nin tedavisinde etkin ve güvenilir bir alternatif olabilir.

Anahtar Kelimeler: Deneysel Otoimmün Üveit, Behçet üveiti, Wistar sıçan, IL-6, IL-10, IL-15, IL-17, IL-23, IFN γ , Tofasitinib.

ABSTRACT

Non-infectious uveitis (NIU) is a disease, which can cause severe vision loss due to inflammation when left untreated. Therefore, experimental models are essential for new treatment alternatives.

In the present study, it was aimed to create an experimental uveitis model induced by retinal S-antigen (RSA), which causes panuveitis that is similar to NIU and plays an important role in the pathophysiology of Behcet uveitis (BU), and to investigate the efficacy and reliability of oral use of small molecule inhibitor tofacitinib in this model.

The subjects consisted of 19 Wistar rats. Fifteen rats were immunized by subcutaneous administration of 15 µg / rat RSA and divided into 3 groups (healthy control / sham control / treatment group) with five subjects in each uveitis group. Two rats were included in the healthy control group, and the remaining 2 rats were given only tofacitinib to test the safety of tofacitinib, and retinal sections were examined histologically at the end of the experiment. Uveitis formation and tofacitinib activity were confirmed by the determination of cytokine levels by ELISA test in blood taken directly from the heart.

It has been observed to develop 100% uveitis with clinical and histological score in Wistar rats (**p<0.001**). Oral tofacitinib treatment was also determined to delay the onset of clinical uveitis findings and decrease the clinical and histological score, however the decrease in histological score was not at the expected level (p values; 0.393, 0.089). Tofacitinib treatment was discovered to suppress inflammation by decreasing cytokine levels, primarily in IL-17 (**p = 0.023**).

Tofacitinib can be an effective and reliable alternative in the treatment of BU.

Keywords: Experimental Autoimmune Uveitis, Behçet uveitis, Wistar rat, IL-6, IL-10, IL-15, IL-17, IL-23, IFN γ , Tofacitinib.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Uvea Anatomisi	3
2.1.1.İris.....	3
2.1.2.Siliyer cisim.....	4
2.1.3.Koroid.....	5
2.2.Temel İmmünoloji.....	5
2.3.Oküler İmmünoloji	12
2.3.1.İntraoküler İnflamasyonda Antijen Taklit Mekanizması ...	14
2.4.Deneysel Üveit Modelleri.....	15
2.4.1.Endotoksin ile indüklenen üveit (EIÜ).....	16
2.4.2.Melanin ile indüklenen üveit (MIÜ)	16
2.4.3.Lensin indüklediği üveit (LIÜ).....	17
2.4.4.Deneysel otoimmün üveit (DOIÜ).....	18
2.5.Üveitte hücrel immünitenin rolü	27
2.6.Üveitler.....	34
2.6.1.Epidemiyoloji.....	34
2.6.2.Sınıflandırma	35
2.6.3.Tedavi.....	40
2.7.Tofasitinib	48
2.7.1.Kimyasal-fiziksel özellikleri	52
2.7.2.Farmakolojik özellikleri	53
2.7.3.Tofasitinib ve üveit.....	55
3. GEREÇ VE YÖNTEM	57
3.1.Denekler ve Gruplar	57
3.1.1.Sağlıklı kontrol grubu (üveit-/tedavi-)	61
3.1.2.Hasta kontrol grubu (üveit+/tedavi-)	61
3.1.3.Sham kontrol grubu (üveit+/salin+)	61
3.1.4.Tedavi grubu (üveit+/Tofasitinib+)	61
3.2.DOİÜ İndüklenmesi	63
3.2.1.İmmünizasyon solüsyonunun hazırlanması.....	63
3.2.2.PDSAg/CFA karışımının deneklere uygulanması.....	68
3.3.Tedavi Uygulanması	69
3.3.1.Tofasitinib solüsyonunun hazırlanması	69
3.4.Klinik skorlama.....	69
3.5.Deneklerin Sakrifikasyonu	71
3.6.İmmünolojik Değerlendirme	72
3.7.Gözlerin Enükleasyonu.....	77

3.8.Kriyo-kesitlerin Alınması, Boyanması ve Fotoğraflanması	79
3.9.Histolojik Skarlama	80
3.10.İstatistiksel Analiz	82
4. BULGULAR	84
4.1.Klinik Skarlama	85
4.2.Histolojik Skarlama	91
4.3.Üveitte Tartı Değişimi.....	101
4.4.Plazma Sitokin Düzeyleri	102
4.4.1.Kafeslerin sitokin düzeyine etkisi	103
4.4.2.Gavaj işleminin sitokin düzeylerine etkisi	103
4.4.3.İmmünizasyonun sitokin düzeylerine etkisi	104
4.4.4.Tofasitinib tedavisinin üveitte sitokin düzeylerine etkisi ..	105
4.4.5.Üveitte sitokin düzeylerinin cinsiyet ile ilişkisi.....	108
4.5.Üveitte Sitokin Düzeylerinin Histolojik Skor ile İlişkisi.....	109
4.6.Sitokinlerin Birbirleri ile İlişkisi.....	111
5. TARTIŞMA	111
6. SONUÇ.....	127
7. KAYNAKLAR	129

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	: Alopesi areata
ACAID	: Ön kamara ile ilgili immün sapma
AD	: Atopik dermatit
AH	: Aköz hümör
AMPK	: Adenozin Monfosfat ile aktive Protein Kinaz
ARI	: Aldo Redüktaz İnhibitörü
ARVO	: Association for research in vision and ophthalmology
AS	: Ankilozan spondilit
ASH	: Antijen sunucu hücre
BH	: Behçet hastalığı
BN	: Brown Norway
BÜ	: Behçet üveiti
cAMP	: siklik Adenozin monofosfat
CD	: Cluster of differentiations
CFA	: Complete Freund Adjuvant
DEHAMER	: Deney hayvanları araştırma merkezi
DH	: Dendritik hücre
DHODH	: Dihidroorotat Dehidrojenaz
DMARDs	: Hastalık modifiye edici ajanlar
DNT	: Dış nükleer tabaka
DOİÜ	: Deneysel otoimmün üveit
EİÜ	: Endotoksin ile indüklenen üveit
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
EULAR	: European League Against Rheumatism
FDA	: Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
FFA	: Fundus floresein anjiografi
FRT	: Fotoreseptör tabakası
GHT	: Gangliyon hücre tabakası
GM-CSF	: Granülosit Makrofaj Koloni Stimülan Faktör
H-E	: Hematoksilen ve Eozin boyası
HLA	: İnsan lökosit antijen
İBH	: İnflamatuar bağırsak hastalığı
IFN	: İnterferon
IL	: İnterlökin
İNT	: İç nükleer tabaka
IRBP	: interfotoreseptör bağlayan protein
IUSG	: Uluslararası Üveit Çalışma Grubu
JAK	: Janus kinaz
JİA	: Juvenil idiyopatik artrit
KAB	: Kan aköz bariyeri
Kİ	: Kemik iliği
KMÖ	: Kistoid makula ödemi
KonA	: Konkavalin A
KRB	: Kan retina bariyeri

LİÜ	: Lensin indüklediği üveit
LN	: Lenf Nodu
LPS	: Lipopolisakkarid
M	
MHC	: Majör histokompatibilite kompleksi
MİÜ	: Melanin ile indüklenen üveit
MICA	: MHC sınıf I ilişkili gen
MS	: Multiple skleroz
mTOR	: Rapamisinin memeli hedefi
NİÜ	: Non-infeksiyöz üveit
O.C.T.	: Optimal cutting temprature
OKT	: Optik koherens tomografi
NK	: Doğal öldürücü hücreler
NO	: Nitrik oksit
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PDE4	: Fosfodiesteraz E4
PDSAg	: Peptit derive S Antijen
PEG	: Polietilenglikol
PPD	: Saflaştırılmış Protein Türevi
PsA	: Psöriatik artrit
PTK	: Protein tirozin kinaz
R/L	: Right (Sağ)/Left (Sol)
RA	: Romatoid artrit
RPE	: Retina pigment epiteli
RSA	: Retinal S Antijen
S1P	: Sfingozin-1-fosfat
STAT	: Sinyal çevirici ve transkripsiyon aktivatörü
SUN	: Standardization of uveitis nomenclature
TCR	: T hücre reseptörü
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
Th	: Yardımcı T hücresi
TNF	: Tümör nekroz faktör
Treg	: Regülatör T hücresi
TYK	: Tirozin kinaz
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VKH	: Vogt Koyanagi Harada

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Sitokinlerin etkileştikleri JAK/STAT tipleri, kaynak hücreler ve temel fonksiyonları.
Tablo 2.	Deneyssel ve klinik ön üveit karşılaştırması.
Tablo 3.	Oküler doku ile immünize edilen deneklerde üveit gelişme insidansı.
Tablo 4.	DOIÜ modelinde kullanılan üveitojenik ajanların genel özellikleri.
Tablo 5.	Farklı RSA'ların sırasıyla peptit pozisyonları, aminoasit sekansları ve DOIÜ oluşturan minimal dozları.
Tablo 6.	RSA ile indüklenen DOIÜ modelinin farklı sıçan cinslerindeki özellikleri.
Tablo 7.	DOIÜ modelinde sıçanlar için oluşturulan klinik/histolojik skorlama.
Tablo 8.	Wistar sıçanlarda oluşturulan DOIÜ modelinde günlere göre retinal hasarın özellikleri.
Tablo 9.	CD4+ Th kültürüne anti-IFN- γ , anti-IL-4 ve IL-23 eklenmesi durumunda sitokinlerin durumu.
Tablo 10.	Üveti patogeneğinde rol alan sitokinler.
Tablo 11.	Türkiye'de üveitlerin demografik ve klinik özellikleri.
Tablo 12.	IUSG (Uluslararası Üveit Çalışma Grubu) Üveit Sınıflandırması.
Tablo 13.	NIÜ tedavisi için klinikte kullanımda olan biyolojik dışı konvansiyonel ajanların temel özellikleri.
Tablo 14.	Birinci ve ikinci jenerasyon JAKinib'ler, hedef JAK kombinasyonları, molekül ağırlıkları ve endike olduğu hastalıklar.
Tablo 15.	Çalışmaya dahil edilen grupların özellikleri.
Tablo 16.	Çalışmaya dahil edilen sitokinlerin çalışma planındaki rolleri.
Tablo 17.	Çalışmada incelenen gruplardaki gözlerin özellikleri.
Tablo 18.	Üveit gruplarının üveit klinik bulgularının başlama günü açısından karşılaştırması.
Tablo 19.	Tedavi grubunun, hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile üveit klinik bulgularının başlama günü açısından karşılaştırması.
Tablo 20.	Üveit gelişen gruplarda kaydedilen günlük klinik skorlar.
Tablo 21.	Üveit oluşturulan gözlerde üveit başlama gününe cinsiyetin etkisi.
Tablo 22.	Hasta kontrol ve sham kontrol grupları arasında histolojik skor dağılımı.
Tablo 23.	Sağlıklı kontrol grubu ile tüm üveit gruplarının histolojik skor dağılımı açısından karşılaştırılması.
Tablo 24.	Tedavi grubunun, hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile histolojik skor dağılımı açısından karşılaştırması.
Tablo 25.	Üveit oluşturulan tüm gruplarında cinsiyetin histolojik skor dağılımına etkisi.
Tablo 26.	Üveit geliştirilen gözlerin histolojik skor dağılımına taraf etkisi.
Tablo 27.	Üveit gelişen/gelişmeyen sıçanların başlangıç/takip/final tartımlarına ve tartı değişimlerine üveitin etkisi.
Tablo 28.	Gavaj işleminin sitokin düzeylerine etkisi.
Tablo 29.	Üveiti gelişiminin sitokin düzeylerine etkisi.
Tablo 30.	Üveitte tofasitinib tedavisinin sitokin düzeylerine etkisi.

- Tablo 31. Histolojik skora göre Hafif/Ağır üveit alt grupların sitokin düzeylerinin dağılımı.
- Tablo 32. Tofasitinibin oküler inflamasyon üzerine etkileri ile ilgili yapılmış prelinik/linik alışmalar.



ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1. Uvea.
- Şekil 2. Timusta gelişen santral tolerans mekanizması
- Şekil 3. Antijene karşı T lenfosit yanıtları.
- Şekil 4. JAKinib etki mekanizması, şematik.
- Şekil 5. ACAID mekanizması/göz-dalak aksı.
- Şekil 6. DOIÜ/NİÜ’de intraoküler inflamasyon mekanizması, şematik gösterimi.
- Şekil 7. Oral tolerans mekanizmasının şematik gösterimi
- Şekil 8. Sitokinlerin plastisite özelliği.
- Şekil 9. Deneysel otoimmün üveit modelinde CD4+ T lenfosit farklılaşması.
- Şekil 10. IL-2’nin T lenfositleri ile ilişkisi.
- Şekil 11. CD 4+ T hücrelerinin farklılaşmasının şematik gösterimi.
- Şekil 12. Yeni DMARD sınıflandırması.
- Şekil 13. Kliniğimizde uygulanan Behçet üveiti tedavi algoritması
- Şekil 14. JAKinib’lerin tarihsel gelişimi.
- Şekil 15. JAKinib’lerin farklı JAK kombinasyonlarına etkisi ve ilişkili inflamatuvar hastalıklar, şematik gösterimi.
- Şekil 16. Tofasitinib etki mekanizması ve Th yolakları üzerine etkisi
- Şekil 17. Adenozin trifosfat ve tofasitinib yapısı.
- Şekil 18. Tofasitinib yarı ömrü ve etki süresi.
- Şekil 19. Çalışmaya başlarken sıçanlara yapılan işlemler.
- Şekil 20. Tüm gruplara uygulanan işlemler, şematik gösterimi.
- Şekil 21. Sıçanlara gavaj ile tofasitinib verilmesi
- Şekil 22. İmmünizasyonda kullanılan solüsyonlar.
- Şekil 23. PDSAg/CFA solüsyonunun hazırlanması.
- Şekil 24. Kuru buzda muhafaza edilen PDSAg/CFA karışımının hazırlanması.
- Şekil 25. PDSAg/CFA karışımının hazırlanması.
- Şekil 26. DOIÜ modeli oluşturmak için enjekte edilecek karışımının hazırlanması.
- Şekil 27. PDSAg/CFA karışımının sıçanlara uygulanması.
- Şekil 28. Günlük takip formu.
- Şekil 29. Klinik skorlamada kullanılan Lewis sıçanlara ait ön segment şemaları ve farklı skorlar.
- Şekil 30. Yüksek doz anestetik maddedinin intraperitonel verilmesi ile sıçanların sakrifikasyonu.
- Şekil 31. Direkt kalpten kan alınması ve plazmanın ayrılması.
- Şekil 32. ELISA testi aşamaları.
- Şekil 33. Enükleasyon için hazırlanan mantar plaklar.
- Şekil 34. Enükleasyon işlemi ve globun dondurulma aşamaları.
- Şekil 35. Dondurulan globlardan kriyotom yardımı ile kesit alınması ve ışık mikroskobu ile kesitlerin kontrolü.
- Şekil 36. H-E ile hazırlanan kesitlerin dijital kamera eklentisi olan ışık mikroskobunda incelenmesi ve fotoğraflanması.
- Şekil 37. Histolojik skorlamada kullanılan Lewis sıçanlara ait histolojik preparatlar ve farklı skorlar.

- Şekil 38. Örneklem sayısı için kullanılan formül.
- Şekil 39. Farklı klinik skorlardan ön segment görünümeleri.
- Şekil 40. İlk üveit bulgusunun saptanmasından (23. gün) sakrifikasyon gününe (35. gün) kadar günlük klinik skorların gruplar arasındaki dağılımını gösteren grafikler.
- Şekil 41. Günlük klinik skor değişimi.
- Şekil 42. Sırasıyla skor 0, 0.5, 1, 2, 3 ve 4'e ait temsili mikrograflar
- Şekil 43. Sağlıklı kontrol grubuna ait kesitler.
- Şekil 44. İmmünize edilen sıçanlara ait temsili mikrograflar.
- Şekil 45. Retinal hasarın diffüz karakterde olduğunu gösteren aynı göze ait farklı kesitler
- Şekil 46. Gruplar arası histolojik skor dağılımı.
- Şekil 47. Sadece oral tofasitinib tedavisi olan sıçana ait temsili mikrograf.
- Şekil 48. Cinsiyetler arasında histolojik skor dağılımı.
- Şekil 49. Aynı sıçana ait sağ ve sol gözün histolojik skorları birbiri ile kıyaslanması.
- Şekil 50. Üveit gelişen ve gelişmeyen sıçanlarda tartı değişimi.
- Şekil 51. IL-23 absorban değerleri ve konsantrasyon eğrisi.
- Şekil 52. Tofasitinib tedavisinin üveit gelişiminde sitokin düzeylerine etkisi.
- Şekil 53. Gruplar arasında sitokin düzeylerinin ve IL-17/ IFN- γ oranının dağılımı.
- Şekil 54. Histolojik skor şiddetine göre sitokin düzeyi dağılımı.
- Şekil 55. Üveit gelişimi ve üveitte tofasitinib tedavisinin sitokin düzeylerine ve histolojik skora etkisi.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Uvea gözün pigmentli ve damarlı orta tabakası olup; anatomik olarak iris, siliyer cisim ve koroid dokularını tanımlamakta, inflamasyonuna ise "üveit" denmektedir. Bununla birlikte bu terim günümüzde sadece uveal dokuları değil aynı zamanda komşuluğunda bulunan yapıları da tutan birçok intraoküler inflamasyon formunu tanımlamak için kullanılmaktadır (1, 2).

Tedavi edilmemiş üveit vakalarında oküler inflamasyonun yıkıcı etkisi yüksektir. Üveit; kistoid maküla ödemi (KMÖ), katarakt, glokom, siklitik membran, retinal ödem, hipotoni, perforasyon hatta körlük gibi ciddi sekellere neden olabilir. İnflamasyonun göz dokularında meydana getirdiği değişiklikler görmeyi etkileyerek, görme düzeyinin kalıcı olarak azalmasıyla sonuçlanabilir. Ciddi görme kayıplarının %5-10'u üveit nedenli iken, üveit hastalarının %35'ten fazlasında legal körlük gelişmektedir (3). Gelişmekte olan ülkelerde geri dönüşümsüz körlüklerin %25'inden üveit/üveit nedenli komplikasyonlar sorumludur (3-5). Bu nedenle hastalığın patofizyolojisinin aydınlatılması ve etkin tedavi yöntemlerinin bulunması elzemdir. Ancak tedavisiz bırakıldığında ciddi ve geri dönüşümsüz görme kayıplarına yol açabileceğinden yeni tedavi alternatiflerinin test edilmesi için deneysel üveit modellerine ihtiyaç vardır.

Deneysel üveit modelleri, üveit patogenezinin anlaşılması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadırlar. Deneysel otoimmün üveit modeli (DOİÜ), klinik ve histolojik açıdan insanlarda görülen non-infeksiyöz üveitlerle (NİÜ) birebir aynı olmasa da benzerlik göstermektedir. DOİÜ oluşturmak için önerilen pek çok ajan tanımlanmıştır; en sık kullanılanlar retinal S-antijen (RSA) ve interfotoreseptör bağlayan proteindir (IRBP) (6-8). RSA, Behçet üveiti (BÜ) patogenezinde de yer almaktadır (9-11).

Deneysel üveit modelleri üzerine daha önce yapılan çalışmalarda üveit patogenezinde T hücre aktivitesinin; özellikle de yardımcı T hücrelerden Th1/17 aktivasyonu ve JAK/STAT yolağının etkin olduğu gösterilmiştir. JAK/STAT yolağının inhibisyonu ile DOİÜ modelinde oluşan intraoküler inflamasyonun

azaldığı bildirilmiştir (7, 12-14). Behçet hastalığının (BH) patogenezinde de bu yolağın aktif olduğu bilinmektedir (15-17).

BH ve buna bağlı BÜ ülkemizde endemik olan bir hastalık olup; ciddi görme kaybı, iş gücü kaybı ve direkt/indirekt mali yük oluşturan bir hastalık grubudur. En önemli maliyet kaynağı ise ilaç giderleri olup hastaların genelde çoklu ajan kullanması bu yükü arttırmaktadır (18). Günümüzde BÜ tedavisinde basamaklı olarak sistemik steroid, sitotoksik ajanlar ve antimetabolit ajanlar kullanılmaktadır (19, 20). Tedaviye dirençli üveit olgularında ise biyolojik ajanlar kullanılmaktadır (21). Ancak kullanım şekli ve yan etki profili değerlendirildiğinde BÜ’nde yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır. (22-24).

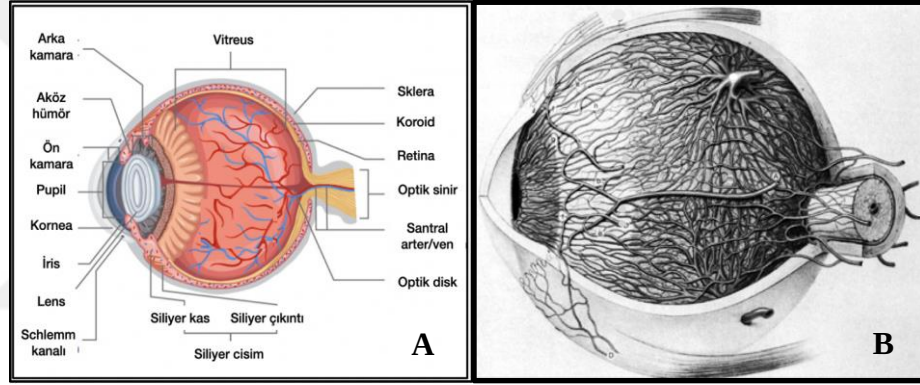
Tofasitinib (Xelijanz[®], Pfizer, Inc., New York City, NY) özellikle JAK3 olmak üzere sırasıyla JAK2 ve 1 üzerine de etkili küçük molekül inhibitörüdür. Tüm JAK tiplerini değişen oranlarda inhibe ettiği için pek çok sitokinin (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-15, IL-21, IL-27, IFN I-II, TNF- α) düzeyini azalttığı gösterilmiştir (25-27). Daha önce yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda farklı dozlarda verilen tofasitinibin anti-inflamatuar etkinliği ve güvenilirliği gösterilmiştir (27, 28). JAK/STAT inhibisyonu ile etkinlik gösteren tofasitinib, oral alım kolaylığı ve düşük yan etki profili nedeni ile otoimmün hastalıkların (Romatoid artrit (RA) başta olmak üzere psöriatik artrit (PsA), inflammatuar bağırsak hastalığı (İBH), juvenil idiyopatik artrit (JİA) ve atopik dermatitte (AD)) tedavisinde ön plana çıkmaktadır (23, 25, 28-30). Ayrıca Ankilozan Spondilit’te (AS) Faz 2 çalışmalarda etkinliği ve güvenilirliği gösterilmiştir (31). Literatürde refraktör üveit/skleritte kullanımı ile ilgili olgu sunumu bildirilmiştir (32). Ayrıca JİA ilişkili üveit üzerine etkinliğini gösteren olgu serisi mevcuttur (33). Deneysel kuru göz hayvan modelinde ve DOİÜ modelinde inflamasyonun azaltılmasında tofasitinibin topikal kullanımı etkin ve güvenilir bulunmuştur (34-36). Literatürde oral tofasitinibin üveit patogenezi üzerine olan etkisini gösteren histolojik bir veri bulunmamaktadır.

Yapılan bu çalışma ile DOİÜ modeli oluşturulması ve oral tofasitinib tedavisinin otoimmün üveit üzerine etkinliğinin ve güvenilirliğinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uvea Anatomisi

Uvea kelimesi, üzüm anlamına gelen Latince uva kelimesinden gelir. Romalı anatomist Galen (MS. 129-216) tarafından, beyaz sklera soyulduğunda görülen oldukça damarlı tabaka üzüme benzetilmiştir. Gözün kanlanmasını sağlayan iris, siliyer cisim ve koroid dokularından meydana gelir (1, 37) (Şekil 1)



Şekil 1. Uvea. A) Göz şematik gösterimi; B) Uveal damarlar (37).

2.1.1. İris

Uveal dokunun en önde yer alan kısmı olup; vasküler stromadan meydana gelir. Kornea ile lens arasında yer alır. Yaklaşık 21 mm çapında ince, kontraktıl ve pigmentli yapıdadır. Kanlanması oftalmik arterin ön ve uzun arka siliyer damarlarından sağlanır. Yüzey yapısı girintili-çıkıntılıdır. İris stroması küçük arter çemberini içeren iris kolareti ile; pupiller ve siliyer olmak üzere iki bölgeye ayrılır. Pupiller bölge sfinkter ve dilatör kasını içermektedir. Sfinkter pupilla kası; pupiller kenara komşu, 1 mm genişlikte bir düz kas demeti olup derin stromada serbest olarak

bulunur. Aydınlık, konverjans ve uyku ile uyarılan bu kas, parasempatik innervasyon alır. Dilatatör pupilla kası ise, nöroepitel kökenli miyoepiteliyal hücrelerden oluşur. Karanlık ve sempatik aktivasyon ile uyarılan innervasyon, servikal sempatik gangliyonundan gelen miyelinsiz sempatik liflerle sağlanır. İris göze giren ışık miktarını ayarlama yeteneğine sahiptir. Pupilla çapı, 1-8 mm arasında değişebilmekte ve bu sayede retinaya düşen ışık miktarını 16 kat değiştirerek görsel adaptasyona katkıda bulunmaktadır. İrisin ön yüzeyinin düzensizliğine rağmen arka yüzeyi düzdür. Burada bulunan yoğun pigment hücreler, iki tabaka şeklinde dizilir ve siliyer cismin pigmente ve pigmente olmayan hücre tabakalarıyla devam ederler.

2.1.2. Siliyer cisim

Siliyer cisim, koroidin öne doğru üçgen şekilli uzantısı olup sklera, vitreus, lens ve arka kamara ile komşuluk gösterir. Parmaksı çıkıntıları olan pars plikata ön, düz pars plana arka yerleşimlidir. Pars plikata 2 mm genişlikte ve ışınsal dizilmiş yetmiş kadar siliyer çıkıntıdan oluşur. Lens zonüllerinin büyük bir bölümü buraya tutunmaktadır. Siliyer çıkıntılar orta kattaki damarsal siliyer stroma ve bunu çevreleyen iki sıra halinde dizilmiş dışta pigmentli, içte ise aköz hümör (AH) üretiminden sorumlu, kan-aköz bariyerini (KAB) oluşturan pigmentsiz siliyer epitel ile kaplıdır. Pars plana ise, pars plikata ile ora serata arasında uzanan 4 mm genişliğinde bir zondur. İç katı, kübik epitel hücreleri, dış katı ise vitreusun ana maddesi olan asit mukopolisakkariti salgılayan pigmentsiz epitel hücrelerinden oluşur. Siliyer kaslar; skleraya paralel uzanan ve skleral mahmuza tutunan longitudinal demetler, ışınsal seyreden radial demetler ve pupillaya paralel seyreden sirküler demetlerden oluşmuştur. Siliyer kasların %97'si akomodasyonda görev alır, lensin kırıcılık indeksi üzerine etkilidir.

2.1.3. Koroid

Koroid, uveanın en arkada, nöroretina ile sklera arasında yer alan parçasıdır. Ora seratadan optik sinire kadar uzanır. Makrofaj, lenfosit, mast hücresi ile plazma hücresi gibi immün sistem hücrelerini içeren ince bir bağ dokusundan meydana gelir. Kalınlığı değişkendir; ora seratada 0.1 mm iken optik sinire yaklaştıkça 0.22 mm'ye ulaşır. Koroid, vücudun en fazla kan dolaşımına sahip dokusudur. Göze gelen kanın % 85'i koroidi beslemektedir. Gözde en fazla metabolik aktiviteye sahip olan retina dış katlarının oksijenasyonunu, beslenmesini ve ısı regülasyonunu sağlar. Koroid, içte koriokapillaris, ortada küçük çapta damarlardan oluşan Sattler tabakası, dışta ise büyük çapta damarlardan oluşan Haller tabakası olmak üzere üç tabakadan meydana gelir. Koroidden kaynaklanan ve foveayı besleyen siliyoretinal arter toplumun %18-32'sinde bulunur. Koroidin venöz drenajı sayıları 4-7 arasındaki vorteks venleri ile sağlanır.

2.2. Temel İmmünoloji

İmmün sistem, patojenik mikroorganizmalar yanında infeksiyöz olmayan yabancı maddelere karşı savunma amacıyla, hücreler, moleküller ve organlarca oluşturulmuş kompleks bir yapıya sahiptir (38, 39).

İmmün hücreler, kemik iliğindeki (Kİ) kök hücrelerden kaynaklanıp kan ve lenfoid dolaşıma katılırlar. Özelleşmiş lenfoid organlarda olgunlaşıp dokulara yerleşirler. Bu hücreler, mikroçevrelerinde diğer hücrelerle etkileşen karakteristik yüzey moleküllerini (CD- cluster of differentiations) eksprese ederler (38, 39).

Temel olarak yabancı maddelere karşı immün cevap; doğal ve kazanılmış olmak üzere iki tip immünite ile sağlanmaktadır. Bu iki komponent birbiri ile sıkı bir ilişki içinde çalışmaktadır (38, 39).

Doğal immün sistem; önceden oluşmuş olan proteinler ve hücrelerden oluşmakta olup, yabancı antijene karşı antijenden bağımsız olarak gelişen ilk

cevaptır. Monosit, makrofaj, dendritik hücre (DH), doğal öldürücü hücre (NK), eozinofil, bazofil, nötrofil ve mast hücrelerini içeren değişik tipte hücreler aracılığı ile sağlanır. Doğal immünite evrimsel olarak korunmuştur (38, 39).

Eğer mikroorganizmalar/yabancı antijenler doğal immün yanıtı kurtulmayı başırırsa; savunmanın ikinci aşaması olan kazanılmış immünite devreye girer (38, 39).

DH'ler doğal ve kazanılmış immün sistem arasındaki bağlantıyı sağlayan en önemli hücreler olup başlıca görevleri T hücrelerine antijen sunmaktır. Antijen sunan hücreler (ASH) protein antijenleri majör histokompatibilite kompleksi (MHC) ile T lenfositlere sunar. MHC, 6. kromozomda bulunan HLA (insan lökosit antijeni) genleri tarafından kodlanan bir proteindir (MHC I HLA-A, HLA-B ve HLA-C olmak üzere üç tipe, MHC II ise HLA-DP, HLA-DQ ve HLA-DR olmak üzere üç tipe ayrılır) (38-42).

Kazanılmış immün sistem yüksek omurgalılara ait bir özellik olup evrimsel olarak doğal immüniteden daha yeni bir yapıya sahiptir ve özgüllük, hafıza değişimi, özelleşme ve tolerans gibi önemli özellikleri vardır. Bu immünite T ve B hücrelerinden oluşan iki önemli hücre tipi ile sağlanır. Bu lenfositler Kİ'de geliştikten sonra T lenfositleri timusta olgunlaşırken, B lenfositleri Kİ ve payer plaklarında olgunlaşır. T lenfositler hücrel immüniteyi, B lenfositler ise humöral immüniteyi sağlar (40, 41).

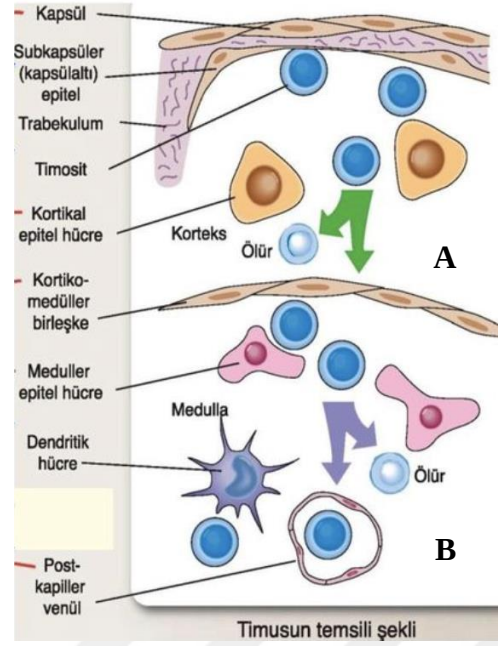
T hücre aktivasyonu T hücre reseptör (TCR) komplekslerinin antijen sunan hücre yüzeyindeki MHC molekülü ile sunulan antijenik peptidleri tanınması ile başlar. CD4+ T hücreler, MHC sınıf II molekülüne gömülü peptid antijenleri tanırken; CD8+ T hücreler, MHC sınıf I ile kompleks yapmış peptidleri tanır (40, 41).

CD8+ hücrelerin temel fonksiyonu antijen taşıyan hedef hücrelerin lizisidir; timustan çıkışta sitotoksik T hücrelerine farklılaşmaya programlanmıştır. CD4+ hücreler, fagositlerin ve diğer lenfositlerin aktivasyonunda önemli rol oynayan çok sayıda yüzey molekülü ekspres ederler ve bir çok sitokin salgırlar. CD4+ efektör T hücrelerin farklı alt tipleri, ürettiği sitokinlerin tipine dayanılarak ayrılır. Farklılaşmayı antijenin tipi, T hücresi-antijen ilişkisi, T hücresinin olgunluk evresi ve ASH'nin doğası belirler. CD4+ efektör T hücrelerin farklı alt tipleri, ürettiği

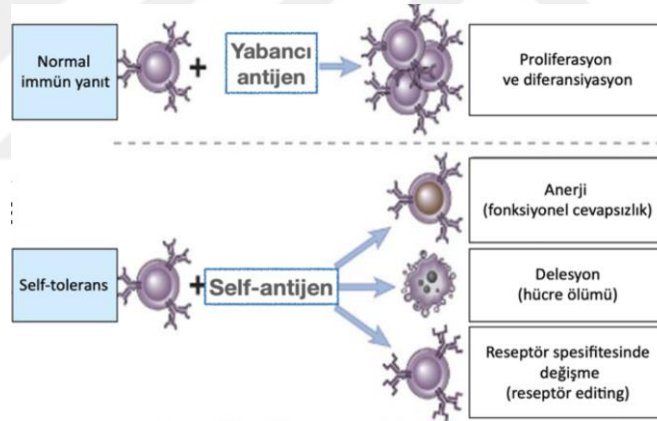
sitokinlerin tipine dayanılarak ayrılır. Yardımcı T hücresi 1 (Th1), Th2, Th9, Th17, Th22, düzenleyici T hücresi (Treg) (40, 41).

Hümöral immün sistem hücresi B lenfositleri, fetal hayatta karaciğerde, daha sonra Kİ'de üretilir (timusa uğramaz). B lenfositleri antijeni yüzeyel immünglobülinleri vasıtasıyla tanır ve tanıdığı protein antijenleri Th lenfositlerine sunar. T lenfositler ile aktive olduktan sonra plazma hücrelerine farklılaşarak antikor oluştururlar (38, 39).

Organizmanın savunma gücünü oluşturan immün sistem normal şartlarda, dışarıdan gelebilecek her türlü yabancıya, kendinden olmayan (non-self) her türlü antijene karşı kendisini proliferasyon ve differansiasyon (farklılaşma) yoluyla savunurken; bireyin kendine ait (self) antijenlerine karşı bir reaksiyon göstermemektedir. İmmünolojik bu yanıtsızlık durumuna “immün tolerans” denmektedir. İmmün toleransın ortaya çıkması için immün sistem hücrelerinin (özellikle T ve B lenfositlerin) self-antijenlere karşı immün yanıt oluşturmamayı öğrenmesi gerekir. Timus ve Kİ'de oluşan toleransa santral tolerans, daha sonra periferde gelişen toleransa ise periferik tolerans denir. Santral tolerans mekanizmasında; timusta TCR'lerini kazanan T lenfositlerin MHC I ve II ile bağlanmaları sağlanır. MHC ile bağlanma göstermeyen T lenfositleri apoptoza uğratılır ve bu olaya pozitif seçim adı verilir. Aynı zamanda T lenfositlerinin CD4+ ve CD8+ diye ayrımı da bu şekilde gerçekleşmiş olur. Pozitif seçimden geçen lenfositler timustaki self reaktif antijenle etkileşim gösterirse bu durumda da apoptoza gönderilirler ve bu olaya ise negatif seçim adı verilir (Şekil 2). B lenfositleri timusa uğramaz. Self reaktif B lenfositleri dalakta uzaklaştırılır. Periferik tolerans; timusta santral toleranstan kaçan hücrelere karşı farklı moleküler mekanizmalar ile anerji (fonksiyonel cevapsızlık), delesyon (hücre ölümü) ve reseptör spesifitesinde değişme ile gelişmektedir. Antijen ile karşılaşan T lenfositinin farklı yanıtları Şekil 3'te gösterilmiştir (40).



Şekil 2. Timusta gelişen santral tolerans mekanizması. A) Pozitif seçim; B) Negatif seçim



Şekil 3. Antijene karşı T lenfosit yanıtları (40).

İmmün cevabı yeterli bir konakta, patojen bir dokunun immüniteyi uyarmadığı anatomik bölgeler, immünolojik olarak ayrıcalıklı bölgeler (göz, testis ve santral sinir sistemi) olup, anatomik bariyer bulundurduğundan normal şartlarda lenfositlerle karşılaşmaz ve kendilerine karşı tolerans geliştirmezler (41).

Doğal ve kazanılmış immünitede yer alan hücrelerin immün fonksiyonlarını sağlayan, peptid ve glikoprotein yapıda moleküller sitokinlerdir. Biyolojik fonksiyonlarını, gen aktivasyon/baskılanma ile gösterirler. Köken aldıkları hücelere göre monokin (monosit/makrofaj), lenfokin (lenfosit), interlökin (lökosit) olarak

adlandırılırlar. Sitokinler mesajlarını reseptöre bağlandıktan sonra protein tirozin kinazlar (PTK) olarak adlandırılan enzimlerin aracılık ettiği bir fosforilasyon mekanizması yoluyla iletirler. Bu şekilde hücre büyümesi, migrasyonu ve farklılaşması gibi çeşitli fizyolojik süreçleri düzenlerler. 500'den fazla PTK tanımlanmıştır. Sitokin reseptörlerin bazıları kendileri kinaz iken (reseptör kinaz), bazıları hücre içi kinazlarla bağlantılıdır (non-reseptör/sitozolik kinaz) (43, 44).

Janus Kinaz (JAK), hücrelerin sitoplazmasında yer alan, non-reseptör PTK ailesi üyesidir. Sitokinlerin hücre yüzey reseptörlerine bağlanmasıyla aktive olan intraselüler enzimler olup, aktive olduklarında özellikle inflamatuvar yanıtı düzenlerler. JAK yolağı 4 adet JAK proteininden oluşur; JAK1, JAK2, JAK3 ve TYK2 (tirozin kinaz 2) (25, 43-46). JAK'lar ikili/üçlü kombinasyonlar oluşturmakta ve oluşan her bir kombinasyon farklı moleküllerin sinyalizasyonunda görev almaktadır. Örneğin JAK1/3 kombinasyonu sıklıkla inflamatuvar yollarda, JAK1/2 kombinasyonu lösemi, lenfoma gibi miyeloproliferatif malignitelerde rol oynar (27, 45, 47, 48).

Sitokininin reseptörüne bağlanmasını takiben, aktive olmuş JAK, kendisine bağlı sinyal çevirici ve transkripsiyon aktivatörünü (STAT) fosforile eder, STAT da dimerize (çift oluşturmak) olarak hücre çekirdeğinde gen transkripsiyonunu aktive eder (43-47). İnsanda 7 STAT ailesi tanımlanmıştır (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STAT6). Sitokinler JAK'lar üzerinden farklı STAT'ları aktive ederek T hücre farklılaşmasını regüle ederler (25, 43-47, 49). JAK/STAT üzerinden biyolojik aktivitelerini gösteren sitokinlerin etkileşime girdikleri JAK/STAT tipleri, kaynaklandıkları hücreler ve temel fonksiyonları Tablo 1'de özetlenmiştir.

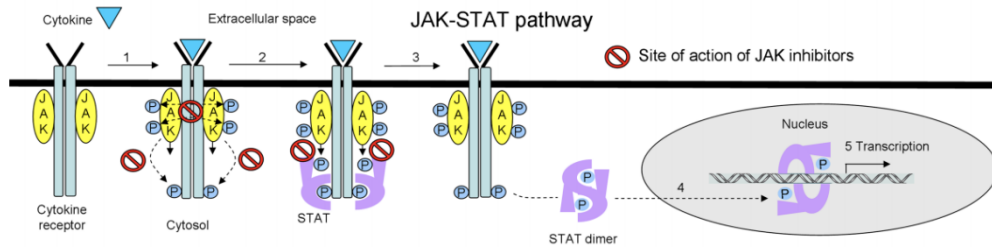
Tablo 1. Sitokinlerin etkileştikleri JAK/STAT tipleri, kaynak hücreler ve temel fonksiyonları (27, 41, 45, 47, 48, 50). (*): IL-1 JAK/STAT üzerinden fonksiyon göstermemektedir; (**): IL-17 JAK/STAT üzerinden fonksiyon göstermemekte ancak JAK/STAT üzerinden düzenlenmektedir (IL-6 ve IL-23 tarafından).

Sitokin	JAK	pSTAT	Kaynak	Fonksiyon
IL-1*	-	-	T lenfosit, monosit, makrofaj	Proinflatuar sitokin aktivasyonu
IL-2	1/3	3+5	Th1	Otokrin hücre proliferasyonu, T ve B lenfosit aktivasyonu
IL-3	2	3+5+6	Th2	Hematopoez
IL-4	1/3	6	Th2, mast hücresi	Th2 artışı. B lenfositlerin çoğalması, Th1 aktivasyonunun inhibisyonu
IL-5	2	3+5+6	Th2	B lenfositlerin farklılaşması
IL-6	1/2/TYK2	1+3+5	Th2, monosit, makrofaj, endotel hücresi	Karaciğerde akut faz reaktanlarının sentezi, <u>Th17 farklılaşması</u> , B lenfosit proliferasyonu
IL-7	1/3	3+5	Fibroblast, Kİ stromal hücresi	İmmatür lenfoid progenitör
IL-10	1/2/TYK2	1+3+5	Th2, Treg, B lenfosit, makrofaj	Th1 inhibisyonu, Antijen sunan hücre (Makrofaj vb) inhibisyonu, B lenfosit proliferasyonu
IL-11	1/2/TYK2	1+3	Kİ stromal hücresi	Megakaryosit maturasyonunu
IL-12	2/TYK2	4	Makrofaj, DH	NK ve Th1 aktivasyonu
IL-13	panJAK	6	Th2	İmmün sistemi baskılayıcı etki
IL-15	1/3	3+5	Makrofaj	NK büyüme faktörü
IL-17A*	-	-	Th17, NK	Proinflatuar sitokin aktivasyonu
IL-17F*	-	-	Th17, NK	Proinflatuar sitokin aktivasyonu
IL-19	1/2/TYK2	3	Monosit, keratinosit	Bilinmiyor
IL-20	1/2/TYK2	3	Monosit, keratinosit	Cilt bütünlüğü
IL-21	1/3	1+3+5	T ve B lenfosit, özellikle Th17	Hücre proliferasyon düzenlenmesi

Sitokin	JAK	pSTAT	Kaynak	Fonksiyon
IL-22	1/2/TYK2	1+3+5	Th17, Th22, NK	Yara iyileşmesi
IL-23	2/TYK2	3+4	Monosit, DH	<u>Patojenik Th17 farklılaşması</u>
IL-26	1/2/TYK2	1+3	Th17, epitel hücresi	Epitel hücre düzenlenmesi
IL-27	1/2	1+3	DH, makrofaj	Th1 farklılaşmasının aktivasyonu, Th17 farklılaşması inhibisyonu
IL-35	1/2	1+4	Treg	Th17 inhibisyonu
IFN- α/β	1/2	2+4+5	T hücresi, NK, fibroblast	Antiviral proteinlerin sentezi
IFN- γ	1/TYK2	1	Th, NK, monosit	Makrofaj ve NK hücrelerinin aktivasyonu, MHC I ve II sentezinin uyarılması. Th2 inhibisyonu

IL: İnterlökin, JAK: Janus kinaz, pSTAT: fosforilize sinyal çevirici ve transkripsiyon aktivatörü, Th: Yardımcı T hücresi, Treg: düzenleyici T hücresi, IFN: İnterferon, Kİ: Kemik iliği, NK: Doğal öldürücü hücre, MHC: Majör histokompatibilite kompleksi. DH: Dendritik hücre.

İnflamasyonda oldukça önemli rol oynayan sitokin/JAK/STAT yolağını JAK üzerinden bloke eden JAK inhibitörleri (JAKinib) tanımlanmıştır. JAKinib'lerin ortak özelliği ATP ile yarışmalı inhibisyona girerek işlev göstermeleridir. Sitokin üzerinden etki eden ajanlara göre bir ileri basamağa etki ederek daha fazla sitokini etkilerler (25, 44-47, 51) (Şekil 4).



Şekil 4. JAKinib etki mekanizması, şematik (45).

2.3. Oküler İmmünoloji

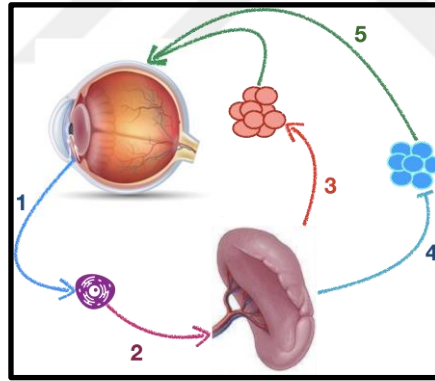
Göz oküler yüzey nedeni ile dış çevreden gelen patojenlere, koroid nedeni ile de kan kaynaklı patojenlere açıktır ancak immün ayrıcalıklı yapısı sayesinde anatomik ve fonksiyonel bütünlüğü korunmaktadır.

Oküler immün ayrıcalık mekanizmalarının varlığını ilk olarak 1870’li yıllarda Van Dooremaal, vücutta immün sistem tarafından reddedilen çeşitli doku greftlerinin ve tümör hücrelerinin, ön kamaraya yerleştirildiğinde reddedilmediği bildirerek göstermiş ancak nedenini tanımlayamamıştır (52-54). 1948 yılında Sir Peter Medawar bu durumu “oküler immün ayrıcalık” olarak adlandırmıştır. Medawar’a göre; kan-doku bariyerinin varlığı ve lenfatik drenajın yokluğu ‘immün ayrıcalık’ yaratır (55-57). Ancak gözün alenfatik olması nedeniyle olan ‘immün ayrıcalık’ hipotezi hatalıdır; uvea-skleral yol, servikal lenf nodları ile ilişkilidir; Yücel ve ark.’nın çalışmasında siliyer cisimden servikal lenf noduna drenaj fotoakustik görüntüleme ile gösterilmiştir (58). Günümüzde ‘immün ayrıcalık’ yaratan mekanizmalar; pasif ve aktif mekanizmalar olarak ikiye ayrılabilir. Pasif mekanizma daha önce Medawar’ın da bildirdiği KAB ve kan-retina bariyeri (KRB) iken, aktif mekanizma daha önemli bir role sahip olan immünolojik yadsıma, göz kaynaklı antijenlere karşı çevresel tolerans ve intraoküler immünsupresif mikroçevre olarak sıralanabilir (53, 56, 57, 59);

İmmünolojik yadsıma: Parankimal hücrelerde MHC I ve II moleküllerinin az miktarda ekspresyonu ve T hücrelerini uyarma kabiliyetlerinin az olmasına bağlı olarak gözden kaynaklanan antijenlerin immünojenitesi düşüktür. Ayrıca iriste, retinal mikrogliya ve Müller hücrelerinde de MHC II molekülleri bulunmamaktadır (53, 56, 57, 59). Yani göze ulaşan yabancı bir antijenin immün sisteme iletimi immünolojik yadsıma mekanizmaları ile önlenmeye çalışılır.

Çevresel tolerans: Ön kamaraya gelen bir antijen, iris makrofajları tarafından farkedilip fagosite edilir. ASH özelliği olan bu makrofajlar, trabeküler ağdan sistemik dolaşıma katılır ve lenfoid bir organ olan dalağa ulaşırlar. Gözü ‘immün ayrıcalık’ doku yapan en önemli mekanizma olan ön kamara ile ilgili immün sapma (Anterior Chamber Associated Immune Deviation-ACAID) terimi ilk defa 1980’li yıllarda Niederkorn, Streilein ve Shadduck grubu tarafından kullanılmıştır (60). Bu

mekanizma ile göz kaynaklı (iriste yerleşik makrofaj) ASH, trabeküler ağ üzerinden Schlemm kanalı yoluyla kan dolaşımına geçerek dalağa ulaşır ve burada ACAID mekanizmasına özgü özel bir hücre grubu olan Treg aktivasyonuna neden olurlar. Treg sekonder lenfoid organlarda, T hücrelerinin Th1 efektör hücrelerine farklılaşmasını ve aktivasyonunu baskımlarken, göz dahil perifer organlarda Th1 aracılı immüniteyi baskımlarlar. ACAID gelişmesini sağlayan asıl unsur, yabancı antijenin göz kaynaklı ASH tarafından sunulmasıdır. Aynı patojen göz kaynaklı ASH yerine dolaşımdaki ASH tarafından sunulduğunda ACAID mekanizması gelişmemekte ve Treg yönünde bir cevap oluşmamaktadır (53, 56, 57, 59, 61) (Şekil 5). Yani immünolojik yadsımadan kurtulan yabancı antijen bu sefer de dalak tarafından görmezden gelinmektedir. ACAID mekanizması zamana bağılı olarak gelişir ve antijen sunulduktan sonra en az 4 gün göz ve dalağın varlığını gerektirir; ACAID oluşumunda göz-dalak aksını gösteren bir çalışmada, antijen verildikten sonraki ilk 3 gün içerisinde göz ya da dalağın alınmasının ACAID yanıtının oluşmasını engellediği gösterilmiştir (59).



Şekil 5. ACAID mekanizması/göz-dalak aksı. 1) Göz kaynaklı ASH, trabeküler ağdan Schlemm kanalı ile sistemik dolaşıma katılır. 2) ASH, dalağa ulaşır. 3) Treg artar. 4) Özellikle Th1 olmak üzere diğer T hücreleri baskılanır. 5) ACAID ile düzenlenen aktive T hücreleri KAB ve KRB'ini aşar, ancak Treg ön planda olduğu için oluşan immün yanıt düşüktür.

Lokal intraoküler immünsupresif mikroçevre: Pasif mekanizmaların aşıldığı, immünolojik yadsıma ve çevresel tolerans mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumda aktif mekanizmalardan 'immünsupresif mikroçevre' devreye girer. Gözde aktif olarak doğal ve kazanılmış immün yanıt hücreleri ile mediyatörlerini

baskılayacak hem çözünür hem hücre zarına bağlı immünomodulator moleküller bulunur. Bu immünsupresif mikroçevrenin oluşturulmasında; AH'de çözünür halde bulunan immünsupresif sitokinler, nöropeptidler ve kompleman inhibitörleri gibi biyolojik faktörler (dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$), melanosit stimulan hormon, vazoaktif intestinal peptid, trombospondin, makrofaj migratuar inhibitor faktör), oküler parankimal hücrelerin yüzey reseptörlerindeki CD95 (Fas), membran asosiye inhibitör kompleksi (CD55, CD59, CD46) ve iris pigment epitel hücrelerinin eksprese ettiği CD86 önemlidir. Sonuçta oküler mikroçevre, efektör T hücre fonksiyonunu baskılamaktadır (53, 56, 57, 59). Ön kamara; normal şartlarda B lenfosit, eozinofil içermemekte; nadir T lenfosit ve mast hücre izlenmektedir. Vitreus; kandan anatomik izolasyonu ve elektrostatik olarak yüklü proteinleri bağlayabilme özelliği nedeniyle bir antijen deposu işlevi görür. Arka uveanın immünolojik özellikleri ön uveada olduğu kadar iyi bilinmemektedir. Retinanın tüm katları arasında dağılmış olan mikrogliya hücreleri uyarılar karşısında hem fiziksel özelliklerini değiştirme, hem de göç etme yetenekleri ile iyi bir ASH yeteneğine sahiptirler. Retina pigment epiteli (RPE), MHC II moleküllerini içermesi T hücreleri ile etkileşime girebildiklerini düşündürmektedir (59).

2.3.1. İntraoküler İnflamasyonda Antijen Taklit Mekanizması

Pasif oküler immün ayrıcalık mekanizmaları (KAB ve KRB) sayesinde tetikleyici bir faktör yokluğunda T lenfositler göze ait antijenler ile karşılaşmaz ve periferik tolerans geliştiremezler. Ancak aynı kökenli dokuyu yapısal olarak taklit eden bir mikrobiyal bileşen ile tesadüfen karşılaşan T lenfositler, gözdeki antijenlere karşı aktive edilebilirler (7). Oluşan bu çapraz reaksiyona 'antijen taklit' mekanizması denilmekte ve NİÜ gibi otoimmün hastalıkları açıklamak için sıklıkla kullanılmaktadır (40, 62-65)

'Antijen taklit' mekanizmasına göre; NİÜ gelişiminde; naif T hücreleri oküler antijene yapısal olarak benzeyen bir antijen ile karşılaştığında, bu antijene karşı aktive olurlar. Non-aktive T lenfositler KAB ve KRB'ini geçemezken, aktive T

lenfositler bu bariyerleri aşarak intraoküler alana geçer, çapraz reaksiyon ile oküler dokuya saldırırlar. ‘Antijen taklit’ mekanizmasında dalağa oküler antijene benzer yapıdaki antijeni sunan hücre göz kaynaklı değil, sistemik kaynaklıdır. Bu nedenle daha önce açıklanan ACAID mekanizması gelişmez, özellikle Th1 ve Th17’nin baskın olduğu hücresel bir yanıt oluşur (53, 56, 57, 59, 62). Gelişen inflamasyona bağlı olarak KAB ve KRB hasarı daha da artar ve T lenfosit ile gözdeki doku antijeni direkt olarak karşılaşır; lökosit infiltrasyonu ve inflamatuvar mediyatör salınımı sonucunda daha fazla hücrenin kemotaksisi ile inflamasyon şiddetlenir (59, 62).

2.4. Deneysel Üveit Modelleri

Intraoküler inflamasyonun iç içe geçmiş pek çok farklı mekanizma üzerinden ilerlemesi nedeniyle hastalığın değişik formlarının patogenezinin ve tedavi yaklaşımlarının anlaşılması için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. İnsan üveitlerine paralel hayvan modelleri oluşturulmaya çalışılsa da hiçbir hayvan modeli insan üveiti ile birebir örtüşmez. Oluşturulan bu modeller üveit patogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesine, etkinlik ve güvenilirliğinin test edilmesine olanak sağlar (7-9, 62, 66, 67).

Deneysel üveit modellerinde; kobay, tavşan, fare ve sıçan kullanılabilir. Günümüzde yaygın olarak fare ve sıçan tercih edilmektedir. Tavşan gözü insan gözüne benzer bir büyüklükte olduğu için görüntüleme, örnek alma ve ilaç uygulama gibi manipülasyonlara elverişlidir. Özellikle göz içi implant için idealdir. Ancak immünogenetik yapısı hakkında bilgi birikimi fazla olmadığından immünolojik mekanizmalarla ilgili yapılan çalışmalar için uygun değildir. Fare modelleri genetik yapılarına müdahale edilebilmesi nedeniyle genellikle temel biyolojik mekanizmalarla ilgili çalışmalarda tercih edilmekte ancak göz boyutları oldukça küçük olduğu için göze işlem yapmak güçtür. Yapılan çalışmalar farede deneysel üveit modelinde sıçanlara göre immünizasyon için gereken antijen dozunun daha yüksek, ön segment bulgularının daha silik, hastalığın geç başlangıçlı ve retinal tutulumun fokal olduğunu ortaya koymuştur. Sıçan gözü ise tavşandan daha küçük,

fareden daha büyüktür ve belirli manipölasyonlara imkan sağlayabilmektedir. Sıçanların elde edilmeleri ve bakımları daha kolaydır ancak yeterli miktarda vitreus ve hümör aköz örneği almak tavşana göre güçtür ve intravitreal enjeksiyon yaparken oldukça büyük olan lense zarar verme riski vardır. Deneysel üveit modelinde tutulumun diffüz olması retinal hasarın değerlendirilmesini kolaylaştırmaktadır. Manöplasyonlara izin verecek büyüklükte göz boyutu, bakım ve temin kolaylığı, deneysel otoimmün üveit modelinde diffüz retinal tutulum göstermesi ve hakkında immünogenetik bilgi birikiminin iyi olması nedeniyle sıçanlar özellikle deneysel otoimmün üveit modelinde ideal denek olarak bildirilmektedir (8-10, 68-72).

2.4.1. Endotoksin ile indüklenen üveit (EİÜ)

Endotoksinle indüklenen üveit; deney hayvanına subletal dozda lipopolisakkaridin (LPS) ayak tabanından, intraperitoneal/intravitreal olarak verilmesiyle genelde enjeksiyondan 24 saat sonra pik yapan, göze lokalize inflamatuvar cevapla karakterize, otoimmün olmayan akut fakat geçici-kısa süreli bir üveit modelidir (7, 67). EİÜ bir akut üveit modelidir ve bu hastalığın hem patofizyolojisini hem de potansiyel tedavisini araştıran çalışmalarda kullanılmaktadır (73). Arka segmenti de etkileyebilse de primer olarak ön segmette oluşmaktadır.. EİÜ modeli, üveitte aktive olan sitokin, adezyon molekülleri, kemotaktik faktörler ve bunların farmakolojik inhibitörlerinin araştırılması için kullanışlıdır ancak üveitin kısa süreli olması modelin dezavantajıdır (73, 74).

2.4.2. Melanin ile indüklenen üveit (MİÜ)

Öncelikli hedefi uveal yapılar olup, retinayı etkilemez. EİÜ gibi ön üveit tablosudur ancak MİÜ tekrarlayıcı karakterdedir ve insandaki üveite daha fazla benzemektedir (73) (Tablo 2). Sıçanların, üveitojenik melanin proteinleri (RPE ya da iris/siliyer cisimden elde edilen melanin) ile immünize edilmesi ile MİÜ tablosu

oluşturulabilir. İmmünizasyondan iki hafta sonra sıçanlarda ön üveit gelişir, 6. haftada geriler. MİÜ’de insan ön üveitlerindeki gibi hiperemi, miyozis, flare ve AH’de hücreler izlenir. Histolojik olarak ön ve arka kamarada eksuda ve inflamatuvar hücreler izlenir. MİÜ’in T hücre bağımlı bir hastalık olduğu; CD4+ T hücre aracılı inflamatuvar yanıt sonucu; IL-2, IFN- γ , IL-12, TNF- α ve nitrik oksit (NO) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salındığı izlenmiştir (73, 75). İnsanlardaki idiyopatik ön üveitlerin otoimmün kökenli olduğu düşünülmektedir ve MİÜ bu hastalığın mekanizmasının anlaşılmasında yararlı bir model gibi görünmektedir (67, 76, 77).

Tablo 2. DeneySEL ve klinik ön üveit karşılaştırması (73).

Özellikler	EİÜ	MİÜ	AÖÜ
Süre	<1 hafta	4 hafta	6 hafta
Tekrarlama	-	Spontan	Spontan
Cinsiyet	Erkeklerde daha ciddi	Fark yok	Erkeklerde daha sık
Yaş	Genç hayvan	Tüm yaşlar	Erişkinde daha sık

EİÜ: Endotoksin ile indüklenen üveit, MİÜ: Melanin ile indüklenen üveit, AÖÜ: Akut ön üveit.

2.4.3. Lensin indüklediği üveit (LİÜ)

Lense bağlı üveitler, öncesinde lens proteini+ Complete Freund’s Adjuvant (CFA) kompleksinin subkutan verilmesini takiben lens kapsülünün hasarlanmasına bağlı büyük miktarda lens proteininin immün sistemle karşılaşp reaksiyon oluşturmasıyla başlar (travmatik intraoküler yaralanmalar). Ortaya çıkan inflamatuvar reaksiyonun lens proteinine otoimmün cevap olarak meydana geldiği düşünülmektedir. Hayvanlardaki hastalık antijen-antikor kompleksi ve komplemanı içeren bir tip 3 reaksiyonu tarafından uyarılmaktadır (77, 78).

2.4.4. Deneysel otoimmün üveit (DOİÜ)

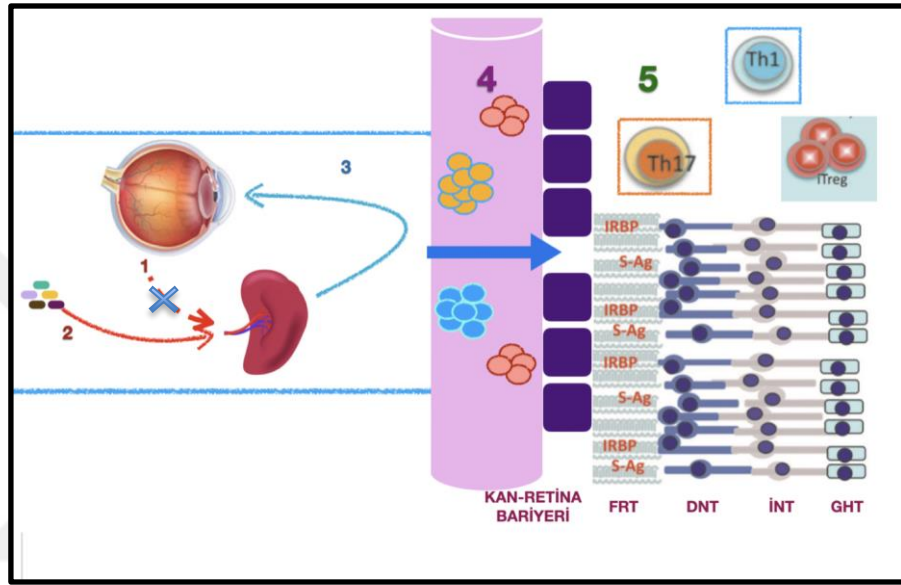
DOİÜ modeli T hücre aracılı, organ spesifik otoimmün bir modeldir. Retinal antijenler ile immünizasyon sonrası nöral retina ve ilgili dokuları hedef alan bir panüveit tablosu gelişir (7, 8). Otoimmün göz hastalıkları için DOİÜ modeli, en sık kullanılan model olup birebir aynı olmasa da insanda görülen NİÜ'lere benzerlik gösterdiği için yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine imkan sağlamaktadır (7, 9, 67, 75, 77, 79).

DOİÜ modelinde, NİÜ'leri açıklamak için sıklıkla kullanılan 'antijen taklit' mekanizması kullanılmaktadır; daha önce açıklandığı gibi gözdeki antijenlere karşı periferik tolerans gelişmemiş olması nedeniyle oküler antijen göz kaynaklı olmayan, dolaşımdaki ASH'lerce immün sisteme sunulduğunda, bu antijene karşı T lenfositler aktive olur, böylece KAB ve KRB'ini aşarak, intraoküler inflamasyonu başlatırlar. (7, 40, 65).

DOİÜ/NİÜ'lerde intraoküler inflamasyon mekanizması aşağıda özetlenmiş olup bu mekanizma Şekil 6'da (1-5 basamakları) şematik olarak gösterilmiştir;

- 1- Göze yabancı bir antijen geldiğinde; göz kaynaklı ASH ile başlayan ACAID aksı, NİÜ/DOİÜ modelinde çalışmamaktadır.
- 2- DOİÜ'te retinal antijen verilmesi ile, NİÜ'te ise gözdeki doku antijenini taklit eden bir uyaran gelmesi ile, naif T hücrelerinde daha önce kendisine karşı tolerans gelişmemiş oküler antijene karşı immün bir yanıt oluşur (antijen taklit mekanizması-DOİÜ'te verilen retinal antijene, NİÜ'te ise antijeni taklit eden moleküle karşı immün cevap).
- 3- Dalağa sunulan bu antijenlere karşı T hücre yanıtı gelişir. NİÜ/DOİÜ modelinde oluşan yanıt Th1/Th17 ağırlıklıdır.
- 4- Normal şartlarda dolaşımdaki non-aktive T hücreler, KAB ve KRB'ini aşamaz ancak Madde 2'de anlatılan mekanizmalarla oküler antijene karşı aktive olan T hücreleri bariyerleri geçerek fotoreseptör tabakadan (FRT) başlayan inflamatuvar bir yanıt oluşturur.
- 5- İntraoküler Th1, Th17 ve Treg dengesi inflamasyona bağlı hasarı ve hastalığın kliniğini belirler. Bu denge NİÜ/DOİÜ modellerinde Th1/Th17 yönünde bozulmaktadır (7, 23, 62, 80). DOİÜ geliştirilen farelerin KI'de

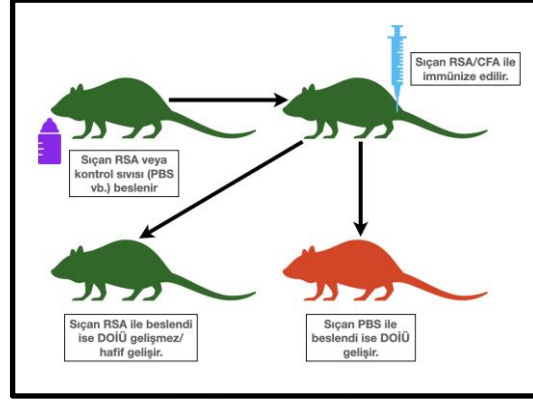
IL-17 (+), IFN- γ (+) ve hem IL-17 hem IFN- γ (+) CD4⁺ T hücrelerinin eksprese olduğu ve bu Kİ hücreleri naif fareye transfer edildiğinde, bu farelerde de DOİÜ geliştiği bildirilmiştir (13). Yapılan çalışmalar üveit gelişiminde hem Th1 hem de Th17 yolağının etkin olduğunu gösterse de Th17 sitokini IL-17, Th1 sitokini IFN- γ 'dan daha ön plandadır (7, 62, 66, 67, 81, 82).



Şekil 6. DOİÜ/NİÜ'de intraoküler inflamasyon mekanizması, şematik gösterimi. Metin içinde 1-5 için açıklama yapılmıştır. Th1 (mavi), Th17 (sarı), Treg (kırmızı). S-Ag: S Antijen, IRBP: İnterfotoreseptör bağlayıcı protein (S-Ag ve IRBP, retianş antijenlerdir), FRT: Fotoreseptör tabakası, DNT: Dış nükleer tabaka, İNT: İç nükleer tabaka, GHT: Ganglion hücre tabakası.

T hücrelerinin immün tolerans mekanizmalarından periferik immün toleransın NİÜ ya da DOİÜ gelişimindeki rolü; beslenme yolu ile oküler antijen alan deneklerde immünizasyon sonrası üveit geliştirilememesi ile gösterilmiştir. Oküler antijenler oral yolla immün sisteme sunulduğunda T lenfositlerin retinal antijene toleranslı hale gelmesine 'oral tolerans' denmektedir. Yapılan çalışmada sıçanların bir kısmı oküler bir antijen olan RSA ile, bir kısmı PBS (Phosphate Buffered Saline) ile beslenmiş ve daha sonra RSA/CFA solüsyonu ile immünize edilmiştir. Daha önce PBS ile beslenen grupta DOİÜ bulguları izlenirken, RSA ile beslenen grupta üveit bulguları silik/yok şeklinde bildirilmiştir (6, 22) (Şekil 7). RSA'yı taklit eden B27PD

peptidin oral olarak verilmesi ile hem DOIÜ modelinde hem de 9 hasta ile gerçekleştirilen klinik çalışmada üveit bulguları gerilemiştir (63, 64).



Şekil 7. Oral tolerans mekanizmasının şematik gösterimi (6).

Farklı oküler antijenler ile farklı deneklerde DOIÜ modeli geliştirilebilir. Tarihsel olarak ilk DOIÜ modeli tavşanlarda ve sıçanlarda uveal doku verilerek, daha sonra farelerde retina ekstratı kullanılarak oluşturulmuştur; Kozak ve ark. ise RSA kullanarak sıçanlarda DOIÜ modeli oluşturmuşlardır (9, 67). İmmünizasyon için retina, uvea, lens, vitreus ve optik sinir ekstratları denenmiş; en etkili retina ekstratı bulunmuştur (83) (Tablo 3).

Tablo 3. Oküler doku ile immünize edilen deneklerde üveit gelişme insidansı (83). (*): kobay türü denek kullanılmıştır.

Kullanılan oküler doku	Üveit gelişen denek insidansı*
Retina	5/6
Uvea	6/8
Lens	1/6
Vitreus	1/5
Optik Sinir	0/5

Retina ekstratları ikiye ayrılır; çözünebilir (soluble, ‘S’) ve partikül (particulate, ‘P’). En sık kullanılan çözünebilir antijen; S-antijen, partiküllü antijen ise rodopsindir (10).

Aktive T lenfositlerin intraoküler göçü sonucunda ön segmenti, retina ve koroidi tutan bir panüveit tablosu gelişir (70, 84). Histolojik bulgular, klinik bulgulardan önce gelişir. Retinadaki harabiyet geri dönüşümsüzdür (10, 70, 71, 85). DOIÜ modeli farklı antijenlerle oluşturulabilir; RSA (arrestin) (85) dışında IRBP (86), rodopsin (87), opsin (88, 89), fosfodusun (90), rekovertin (89) ve konkavalin-A (KonA) (6) da üveitojenik diğer antijenlerdir (Tablo 4). En iyi tanımlananlar RSA (RSA'nın üveitojenik bir parçası olan Peptid derive S-Antijeni (PDSAg)) ve IRBP olup, aynı sıçan türünde birbirinden farklı özellikte panüveit tabloları oluşturabilmektedirler. İmmünizasyon yapılırken üveitojenik antijenin immünitesi CFA ile güçlendirilir (70).

Tablo 4. DOIÜ modelinde kullanılan üveitojenik ajanların genel özellikleri.

Antijen	Moleküler Ağırlık (kDa)	Açıklama
Retinal S Antijen (özellikle üveitojenik aa dizisi= PDSAg)	48	İntrasellüler fotoreseptör proteindir. Fotoaktif fosforilize rodopsine bağlanarak transdusin aracılı fosfodiesteraz aktivasyonunu önler. Retinada özellikle rod dış segmentinde, disk membranının her iki tarafında bulunur (10, 91).
İnterfotoreseptör Retinoid Bağlayıcı Protein	148	İnterfotoreseptör matrikste bulunur ve A vitamini türevlerinin fotoreseptör ve RPE arasında taşınmasına yardımcı olur (86).
Rodopsin ve Opsin	40	Rod görsel pigmentidir. Rodopsin opsinden daha patojeniktir (86-89).
Rekovertin	23	Kalsiyum bağlayıcı bir proteindir. Fotoreseptör hücrelerinde rodopsin kinazı inhibe ederek rodopsin fosforilasyonunu kontrol eder. Kanser ilişkili retinopatide hedef retinal antijendir (89).
Fosdusin	33	Çözünür sitozolik fotoreseptör proteindir ve retinada G protein aracılı sinyalleri düzenler (90).

DOIÜ modeli oluştururken kullanılacak üveitojenik ajan; subkutan yolla, tek doz olarak uygulanır. Kullanılan hayvana ve üveitojenik ajana bağlı olarak immünizasyondan 10 ila 21 gün sonra ön segmentte orta düzeyde ön üveit, katarakt, posterior sineşi; arka segmentte ise belirgin vaskülit, granülom, seröz dekolman ve

fotoreseptör kaybı gibi arka üveit bulguları görülür. Bulguların başlangıcı 2 aya kadar gecikebilir. Klinik olarak, hayvanlarda ilk olarak konjonktival hiperemi, iris damarlarında ve perikorneal damarlarda genişleme, ön ve arka sineşi gelişimi izlenir. Ağır vakalarda proptozis, hipopyon ve hifema dahi görülebilir. Başlangıç zamanı ve üveitin süresi; verilen antijen, antijen dozu, seçilen denek ve adjuvant ile değişir (8-10, 75, 77).

PDSAg ile indüklenen DOIÜ modelinde T lenfositler ve inflamatuvar hücreler esas olarak koriokapillaristen RPE'yi geçerek fotoreseptör tabakasını infiltre etmekte iken IRBP ile indüklenen DOIÜ modelinde inflamatuvar hücreler retinal damarlar aracılığı ile iç/dış pleksiform tabakalar ve ganglion hücre tabakasını tutar, IRBP ile immünizasyon sonrası bazı histolojik kesitlerde retina katlarında belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonuna karşın intakt FRT izlenebilir. RPE'nin koruyucu etkisinden dolayı PDSAg ile IRBP'den 2-3 gün sonra DOIÜ gelişimi beklenmektedir (70, 71, 92).

CFA, *Mycobacterium tuberculosis* basili içermekte ve immün cevabı Th1 ve Th1 kaynaklı IFN- γ üretimine kaydırmaktır (72, 93). IRBP'den peptit R14 (aminoasit (aa) 1169-1191) ve RSA'dan PDSAg (aa 341-354) antijenlerinin, CFA ile karışım haline getirilmiş karışımları yüksek üveitojenik olarak bildirilmiştir. Her iki peptit de panüveit tablosu yaratır. Daha önce yapılan çalışmalar göstermiştir ki; IRBP ile indüklenen DOIÜ modeli spontan, öngörülemeyen, senkronize olmayan bir panüveit oluştururken, PDSAg ile indüklenen DOIÜ modelinde monofazik ancak subklinik olarak kronik ve progresif bir panüveit tablosu oluşmaktadır ve insandaki BÜ ile benzerlik göstermektedir (9, 11, 92). Lewis sıçanlar ile yapılan çalışmalar ile bu durumun farklı T hücre yanıtları nedeni ile olduğu gösterilmiştir. Sıçan üveitlerinde majör inflamatuvar hücreler T hücreler olup bu hücrelerden salınan özellikle IL-17, IFN- γ ve IL-10 düzeylerindeki farklılıkların DOIÜ modelinin spontan-tekrarlayıcı ve monofazik olacağını belirlemektedir. IFN- γ Th1 yanıtının, IL-17 ise Th17 yanıtının göstergesidir. von Toerne ve ark. IRBP ile indüklenen spontan tekrarlayıcı üveitte özellikle IFN- γ düzeyinin, PDSAg ile indüklenen monofazik üveitte ise özellikle IL-17 düzeyinin yüksek olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca IL-10 düzeyi PDSAg/DOIÜ modelinde belirgin yüksektir. PDSAg ile indüklenen DOIÜ modelinde IL-6, IL-10 ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeylerinin IRBP ile indüklenen

DOIÜ modelinden daha yüksek olduğu gösterilmiştir. VEGF'e bağlı immünizasyondan 40 gün sonra neovaskülarizasyon gösterilmiştir (72, 92, 94-97).

2.4.4.1. Deneyssel otoimmün üveit modelinde RSA

RSA, gözde inflamatuvar reaksiyon geliştirme kapasitesi en yüksek antijendir. Retina ve pineal bezdeki total çözünebilir proteinin sırasıyla %0.5 ve %0.2'si olan bu intrasellüler fotoreseptör proteini, enjekte edildiğinde ciddi oküler ve pineal inflamasyona sebep olarak DOIÜ ve deneyssel otoimmün pinealitis denen durumlara sebep olur. RSA ile BÜ'ne benzer bir panüveit tablo olduğu bildirilmiştir (9-11, 91, 92). İnsanda RSA'ya immün yanıt; aktif hastalık durumunda, panüveit tablosunda, subakut/kronik durumlarda yüksek bulunmuştur (11, 77). Yapılan çalışmalarda üveitojenik özellikte farklı RSA bölgeleri tanımlanmıştır (9, 10, 77, 98) (Tablo 5).

Tablo 5. Farklı RSA'ların sırasıyla peptit pozisyonları, aminoasit sekansları ve DOIÜ oluşturan minimal dozları (9).

RSA	Peptit pozisyonu	Aminoasit sekansı	DOIÜ oluşturan minimal doz
Sığır S-Antijen	333-352 (339-352)	LTVSGLLGELTSSEVATEVP	0.5 µg
	343-362 (352-364)	TSSEVATEVPFRLMHPQPED	0.5 µg
İnsan S-Antijen	181-200	VQHAPLEMGPQPRAEATWQF	25 µg
	341-360 (343-356)	GFLGELTSSEVATEVPFRLM	5 µg
	351-370 (356-366)	VATEVPFRLMHPQPEDPAKE	50 µg

2.4.4.1.1. RSA ile deneyssel otoimmün üveit oluşma mekanizması

Subkutan olarak deneğe RSA verildiğinde, göz immün ayrıcalıklı bir doku olduğu için, kendisine immün tolerans gelişmemiş olan RSA'ya karşı T lenfosit cevabı oluşur. Ekstraoküler aktive T hücreleri; enjeksiyondan sonraki ilk 30 dakikada

iriste izlenmiş, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DOİÜ modelinde tüm retina segmentlerinde belirgin T hücresi gösterilmiştir. İlk T hücre göçü ile klinik olarak inflamatuvar hücre infiltrasyonun oftalmoskop ile görülebildiği zaman arasındaki dönem prodromal dönemdir. Thureau ve ark. DOİÜ modelinde prodromal dönemden sonra (ilk T lenfosit göçünden yaklaşık 3 gün sonra) gelişen ikinci T lenfosit göçü olduğunu; bu göçün ilk lenfositlerden salınan sitokinlerin dolaşımdan oküler dokuya çektiği inflamatuvar hücreler (granülosit, monosit) ile oluştuğunu göstermişlerdir (84).

2.4.4.1.2. RSA ile oluşturulan deneysel otoimmün üveit modelinde denek seçimi, RSA dozu ve immünizasyon şekli

DOİÜ modeli için günümüzde yaygın olarak fare ve sıçan kullanılmaktadır. En ideal denek sıçanlar olarak bildirilmiştir (8, 68, 72, 83). En duyarlı sıçan suşu Lewis cinsi sıçanlar olup, ‘inbred’ bir suştur. Onları ‘outbred’ bir suş olan Wistar cinsi sıçanlar izler. ‘*Outbred*’ genetiği bilinmeyen; ‘inbred’ ise genetiği bilinen anlamına gelmektedir. Genetik özellikleri birbirinden farklı ‘*outbred*’ sıçanların ana avantajı oldukça ucuz olmaları ve kolay üretilibilmeleridir, tek seferde çok sayıda yavru verebilirler. Aynı isimli ‘*outbred*’ hayvanların genetik yapıları üretildikleri laboratuvara göre farklılık göstermektedir. ‘Inbred’ suşların ise üretimi zor, temini maliyetlidir (8, 9, 77, 85, 86, 99-101) (Tablo 6).

Tablo 6. RSA ile indüklenen DOİÜ modelinin farklı sıçan cinslerindeki özellikleri (101).

Sıçan Cinsi/ RSA Dozu	Üveit %	Şiddeti	İnflamasyon Yeri
Lewis/25µg	100	Belirgin	P, I, J, K, R
Wistar/50µg	50	Hafif	P, I, J, K, R
Long Evans/50µg	40	Orta	P, I, J, K, R
Brown Norway/50µg	40	Minimal	P, J, R

P:Pars plana, I:İris ve siliyer cisim, J:Jukstapapiller koroid, K:Koroid, R:Retina.

Yapılan çalışmalar sonucunda; sıçan cinsiyeti ve yaşının (6 hafta- 8 ay) sonuçlar üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir (8, 9). Ancak gebelik ve enfeksiyon

durumlarında DOIÜ şiddetinin azaldığı, bunun gebelikte artmış TGF- β , enfeksiyonda ise artmış IFN- γ düzeylerine bağlı olduğu saptanmıştır (102, 103)

Üveitojenik ajanın uygulanma şekli subkutandır. Subkutan uygulama ile daha düşük dozda antijen ile immünizasyon sağlanabilmektedir. Enjeksiyon yeri için tanımlanan yerler ise; kuyruk tabanı, arka bacak ve ayak tabanıdır. Diğer iki yöntemin ayak tabanından üstün olduğu, daha önce klasik uygulama yolu olan ayak tabanından enjeksiyon sonucunda artritis gelişebildiği bildirilmiştir (104).

2.4.4.2. Deneyisel otoimmün üveit modelinde skorlama

DOIÜ modellerinde oluşturulan üveiti değerlendirmek için klinik ve histolojik skorlamalar geliştirilmiştir. Caspi ve ark.'nın sıçan ve fare için ayrı ayrı klinik ve histolojik skorlamaları mevcuttur (8, 9). Bu skorlama ile benzerlik gösterse de sıçanlar için en çok tercih edilen de Smet ve ark.'nın oluşturdukları skorlamadır (98) (Tablo 7). Bu skorlamada; klinik skorlama için iyi bir ışık kaynağı yeterlidir. Normal bir albino sıçanda iris yarı saydamdır ve ışığı yansıtır; kırmızı refle kolayca alınır. Üveitin ilk bulgusu konjonktival hiperemi, iris damarlarında genişleme ve kıvrımlanma olup daha sonra irisin lense yapışıklığı nedeni ile düzensiz pupil sınırları izlenir. Lökosit infiltrasyonu ve fibrin birikimi nedeni ile kırmızı refle giderek solar ve pupiller blok oluşabilir. İlerleyen dönemde proptosis, ön kamarada hemoraji ve perforasyon dahi gelişebilir (8, 10, 71).

DOIÜ modelinde hedef retinal doku olduğu için ön kamara bulguları yol gösterici olsa da kesin tanı histolojik inceleme ile konur. Sıçanlarda tutulum genelde diffüzdür. Histolojik hasar klinik bulgulardan önce başlar, daha ağır ve geri dönüşümsüzdür (9, 10, 70, 71). de Smet ve ark.'nın histolojik skorlama sisteminde PDSAg/DOIÜ modelinin karakteristik özelliğine uygun olarak FRT'dan iç retinal katlara ilerleyen inflamasyon temel alınmıştır. İç katmanlara ilerledikçe histolojik skor artmaktadır. Sıçanlarda inflamasyonun diffüz olduğu bilgisine dayanarak; retinal kesitte izlenen $\geq 1/4$ tutulum, tüm retina boyunca tutulum olarak kabul edilmiştir (98).

Tablo 7. DOIÜ modelinde sıçanlar için oluşturulan klinik/histolojik skorlama.(98).

Skor	Ön Segment Bulguları	Arka Segment Histolojik Bulguları
0	İnflamasyon yokluğu	İnflamasyon yokluğu
0.5	Minimal iridosiklit, konjonktival hiperemi, genişlemiş iris damarları ve bulanık ön kamara nedeni ile hafif puslu kırmızı refle alınması	Minimal inflamasyon, retina yapısı intakt, fotoreseptör tabakada $\leq 1/4$ kayıp
1	Orta derecede iridosiklit, iris düzensiz, peripupiller infiltrasyon, puslu kırmızı refle	Fotoreseptör tabakada $\geq 1/4$ kayıp, vitreusta monosit infiltrasyonu
2	Belirgin iridosiklit, posterior sineşi ve fibrin nedeni ile pupiller blok, altta minimal hipopyon	Dış nükleer tabakada $\geq 1/4$ kayıp, küçük eksüdatif retina dekolmanı
3	Kırmızı refle alınması ve belirgin hipopyon varlığı	İç nükleer tabakada $\geq 1/4$ kayıp, büyük eksüdatif RD, neovaskülarizasyon
4	Ön kamarada hemoraji olsun/olmasın panoftalmi, korneal neovaskülarizasyon, belirgin proptozis	$\geq 1/4$ tam kat retinal hasar

Uygun histolojik inceleme için enükleasyon, sakrifikasyondan sonra 15dk. içinde yapılmalıdır. Aksi takdirde otoliz, sonuçları etkileyerek yanlış yorumlamalara sebep olacaktır. İnflamasyonla daha fragil hale geldiği için enükleasyon işlemi globa bası uygulanmadan gerçekleştirilmeli, glob perioküler dokulardan ve optik sinirden ayrılmalıdır. Retinal kesitler pupil-optik sinir aksından alınmalıdır (8).

Son yıllarda non-invazif, gerçek zamanlı yöntemler (Optik Koherans Tomografi (OKT), Fundus Floresein Anjiyografi (FFA), Konfokal Lazer Oftalmoskopi, dijital görüntüleme ve Elektoretinografi) ile deneysel üveit modelleri sınıflandırılabilir (9, 105-108).

2.4.4.3. Wistar sıçanlarda deneysel otoimmün üveit modelinin özellikleri

Lewis sıçanlardan sonra en duyarlı sıçan cinsi olan Wistar sıçanların PDSAg ile immünizasyonu ile izlenen histolojik verileri Lewis sıçanlar ile paralel bulunmuştur (100, 109).

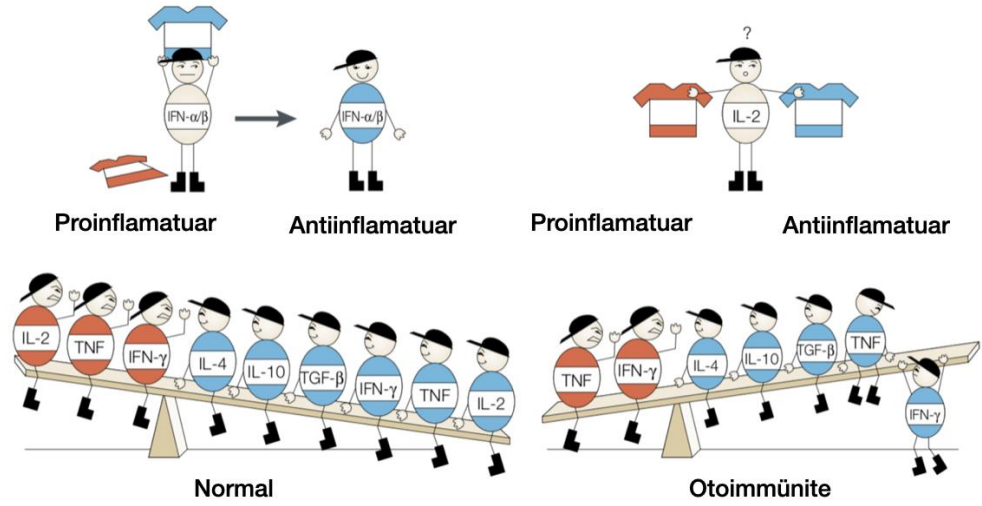
Marak ve ark.'nın 36 albino Wistar sıçan ile yaptıkları çalışmada RSA ile immünizasyon sonrası 10, 12, 14, 16, 18 ve 21'inci günlerde 6'şar sıçan kurbanı kurbanı edilmiş ve histolojik özellikleri incelenmiştir. 16. günden itibaren inflamasyonun başladığı, belirgin tutulumun 21. günde olduğu bildirilmiştir (101) (Tablo 8). Benzer şekilde Djeraba ve ark. da 21. günde histolojik değişim geliştiğini bildirmişlerdir (109).

Tablo 8. Wistar sıçanlarda oluşturulan RSA/DOIÜ modelinde günlere göre retinal hasarın özellikleri (101).

Sakrifikasyon Günü	İnflamasyon Yeri
16	Pars plana
18	Pars plana, jukstapapiller koroid, periferik retinit, hafif iridosiklit
21	Belirgin iridosiklit, retinal perivaskülitin eşlik ettiği retinit, dış nükleer tabaka yıkımı

2.5. Üveitte hücresel immünitenin rolü

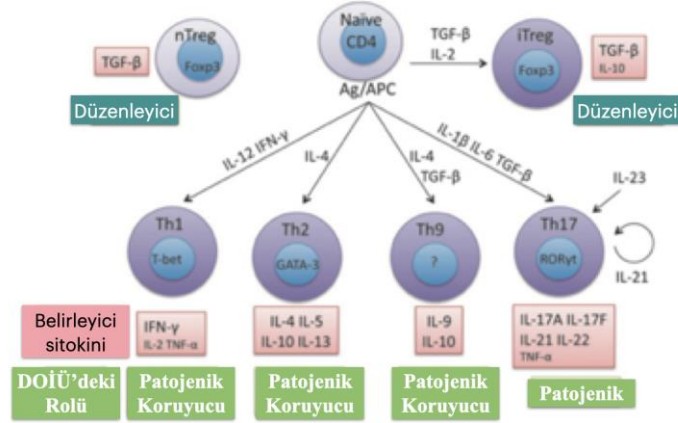
Üveitte rol oynayan başlıca hücre grubu olan T lenfositler, ürettikleri sitokinler üzerinden biyolojik fonksiyon göstermektedirler. Proinflamatuvar/antiinflamatuvar sitokin görüşünün doğru olmadığı; sitokinlerin plasitisite özelliği olduğu düşünülmektedir. Aynı sitokin hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özellik gösterebilir. İnflamatuvar durumlarda dengeyi proinflamatuvar yönde bozan, sitokin karakter değiştirmesidir (43, 50, 110, 111) (Şekil 8).



Şekil 8. Sitokinlerin plastisite özelliği. Otoimmünite durumunda antiinflatuar sitokin karakter değiştirilerek mensup olduğu gruba ihanet ettiği izlenmektedir (110).

Sitokinler gözde kornea epitel, stroma hücreleri, lens epitel hücresi, siliyer cisim epitel hücresi, retina pigment epitel ve Müller hücresi tarafından üretilmektedir. Sitokinlerin regülasyonu üveit patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Klinik çalışmalarda aktif üveitli hastaların AH ve serumlarında farklı sitokinlerin arttığı tespit edilmiştir (112). Klinikte tespit edilen sitokinlerin fonksiyonları deneysel modeller üzerinde yapılan araştırmalar ile araştırılmaktadır, ancak hala sitokinler hakkındaki bilinmeyenler oldukça fazladır (7, 110).

CD4⁺ T hücrelerinden farklılaşan Th yollarının DOİÜ modelinde izlenen rolleri aşağıdaki şemada özetlenmiştir (50, 80, 113, 114) (Şekil 9).



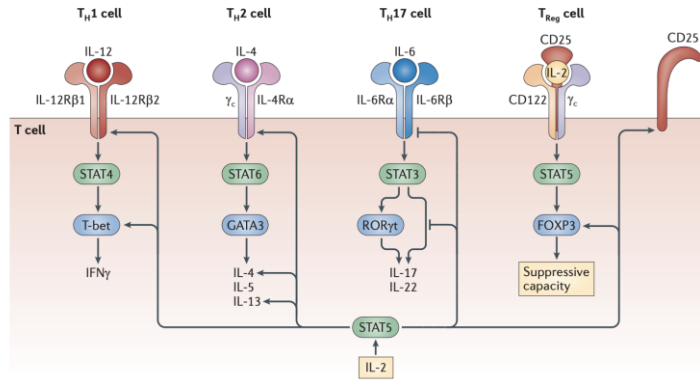
Şekil 9. DOİÜ'nde CD4+ T lenfosit farklılaşması (80).

2.5.1.1. Th1

Th1 hücrelerinin otoimmün hastalıklarda rolü kanıtlanmış olup bu hücrelerden üretilen anahtar sitokinler olan IFN-γ ve IL-2'nin kanda hastalık aktivitesiyle ilişkili olarak arttığı gösterilmiştir (50, 112, 115-117).

Lacombe ve ark.'nın 23 üveit hastası ile 16 kontrol hastasının serum ve AH sitokin düzeylerini karşılaştırdıkları çalışmada IFN-γ'nın ve IL-2'nin serum ve AH'de yüksek konsantrasyonda bulunduğu, IFN-γ'nın özellikle serumda, IL-2'nin ise AH'de yüksek olduğu ve IFN-γ düzeyinin görme prognozu ile negatif korele olduğu bulunmuştur (112). Klinik çalışmalarda BÜ dahil olmak üzere endojen üveitlerin genelinde serum/AH'de yüksek IFN-γ düzeyi bildirilmiştir (117, 118).

IL-2, T hücre proliferasyonunda, farklılaşması ve aktivasyonunda anahtar rol oynayan bir sitokindir (50). Özellikle Treg düzenlenmesinde ve oto-reaktif T hücrelerinin ölümünde oldukça önemlidir. İn vivo/in vitro çalışmalarda etkinliğinin STAT5 üzerinden olduğu gösterilmiştir. Otoimmün inflamatuvar hastalıklarda anahtar rol oynayan Th17/IL-17 yolağı STAT5/STAT3 etkileşimi üzerinden negatif düzenlenmektedir. IL-2 (-) farelerde yaygın otoimmün hastalık geliştiği ve bunun IL-17 artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (119, 120) (Şekil 10).



Şekil 10. IL-2'nin T lenfositleri ile ilişkisi (120).

Pek çok otoimmün ve kronik inflamatuvar hastalıkta rol alan, β zinciri ile IL-2'ye benzer özellikler gösteren ancak daha az toksik bir immünmodülatör sitokin olarak tanımlanan IL-15, Th1 ve Th17 tarafından üretilmektedir. Etkinliğini JAK1/3 ve STAT3/5 üzerinden gösterir (23, 121). Çalışmalarda BÜ'nde daha belirgin olmak üzere NİÜ durumunda serum/AH IL-15 düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (117, 118, 122-124).

2.5.1.2. Th17

Th17, esas olarak IL-17 salgılayan bir hücre grubu olup TGF- β , IL-1 β , IL-6, IL-21, IL-23 gibi proinflamatuvar sitokinler etkisiyle farklılaşmaktadır. Esas olarak IL-17A, IL-17F, IL-26 sentezleyen Th17'ler, Th22 gibi IL-22 ve Th1 gibi IFN- γ da salgılayabilir (50). Yapılan çalışmalar otoimmün hastalıkların patogeneğinde IL-17 üreten hücrelerin anahtar rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca çeşitli otoimmün hayvan modelleri de bu bulguları desteklemiştir (80-82). Th17 hücreleri ve bununla ilişkili sitokinlerin önemli rol oynadığı otoimmün hastalıklar; SLE, psöriazis, RA, multiple skleroz (MS), İBH ve astım olarak sıralanabilir (125, 126).

IL-17, 20-30 kDa ağırlığında glikolize hemodimerlerden oluşmaktadır. Tanımlayıcı sitokini IL-17A olmak üzere; IL-17A, B, C, D, E ve F alt tipleri tanımlanmıştır (50, 127, 128). Çalışmalarda, sıklıkla IL-17A, IL-17E (IL-25) ve IL-17F değerlendirilmiştir. IL-17A ve IL-17F yakın gen lokuslarında yer alıp ortak aminoasit sekanslarına sahiptirler; IL-17A, otoimmünite, inflamasyon ve tümörlerin gelişiminde rol oynar, üveit ile daha ilişkili bulunmuştur (80, 126, 127).

IL-23, kendine özgü bir p19 alt ünitesi ve IL-12 ile ortak p40 alt ünitesi içerir. IL-12'ye benzer şekilde CD4+ T hücreleri tarafından IFN- γ üretimine neden olur ancak yapısal benzerliğine rağmen, naif T hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşmasında rol oynamaz (50, 66, 80, 129-132). Otoimmün bir üveit olan BH'da da IL-17'nin, bu sitokini üreten Th17 hücrelerinin ve bu hücrelerin gelişiminde önemli rol oynayan IL-23'ün rolleri ve davranışları günümüzde hala araştırılmaktadır (16, 133). Birdshot korioretinopatisi, VKH, HLA-B27 ve BÜ gibi tip ayrımı yapmaksızın NİÜ'lerde ayrıca toksoplazma retinitinde ve viral retinitlerde de yüksek IL-17 düzeyleri (AH/serum) tespit edilmiştir (116, 118, 134-140). IL-23, Th17 hücrelerinin genişlemesini ve hayatta kalmasını desteklemek için esansiyeldir. IL-23 yokluğunda, Th17 yine aktive olmakta ancak patojenik değil homeostatik fonksiyonlar göstermektedir. IL-23 yokluğunda TGF- β dominansı ile düzenleyici IL-17 üretimi ön plandadır (50, 66, 80, 119, 125, 129, 141). IL-23/STAT3/IL-17 aksı tanımlanmış olup; patojenik IL-17; IL-23'ün IL-23R'ye bağlanması ve buna bağlı olarak STAT3 yolağının aktive olması ile üretilmekte, bu yolak otoimmün hastalıklarda önemli rol oynamaktadır (126, 128-130). IL-23/IL-17 yolunun psoriasis, RA, MS ve İBH'taki rolüne dair kanıtlar mevcuttur (130).

IL-6 (-) ve IL-23 (-) farelerde DOIÜ geliştirildiğinde, hasta kontrol grubu ile benzer IFN- γ düzeyleri tespit edilmesine karşın düşük IL-17 düzeyleri ve bununla korele daha düşük histolojik skorlar bildirmişlerdir (142).

Klinikte karşılaşılan üveit olguları incelendiğinde ise üveitte serum, AH ve vitrözde farklı IL-23 düzeyleri bildirilmiştir. Serumda artmış IL-23 seviyeleri bildirilirken (136, 139, 143, 144), Abu El-Asrar ve ark. AH'de tespit edememiştir (145). Posterior üveitli hastalardan alınan vitröz örnekler üzerinde yapılan bir çalışmada ise vitrözde artmış IL-23 bildirmiştir (146).

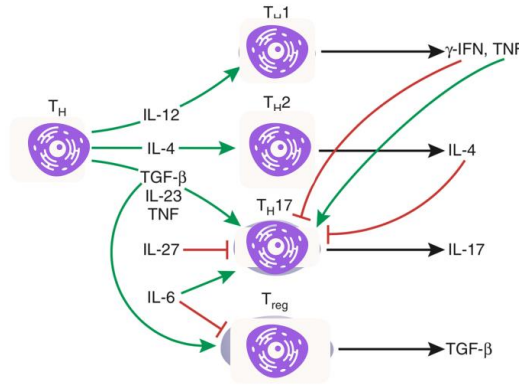
Son çalışmalarda doku hasarını açıklamada Th1/Th2 karşıtlığı yerini Th1/Th17 karşıtlığına bırakmaktadır. IL-17 ve IFN- γ birbirini baskılar. Th1 ve Th2 sitokinleri bloke edildiğinde Th17'den IL-17 üretiminin arttığı gösterilmiştir. IFN- γ ve IL-4, Th17'den IL-17 üretimini inhibe ederken; IL-17 de IFN- γ 'yı inhibe etmektedir (81, 125, 128, 129, 147). İnsan üveit tablosundaki sitokin değişimlerini, DOIÜ modeli ile konfirme eden bir çalışmada üveit tablosunda Th17/IL-17'nin artmış olduğu, retina ganglion ve fotoreseptör hücrelerinden eksprese edilen Th1/IL-

27'nin Th1/IFN- γ indüksiyonu ile Th17 proliferasyonunun inhibe ettiği gösterilmiştir. Sonuç olarak Th1 aktivasyonunun Th17'yi bloke ederek üveit bulgularını hafifletici etkisi olabilir (47, 80, 82, 148). Park ve ark. Th17 farklılaşmasını in vivo ve in vitro olarak araştırdıkları çalışmada, IFN- γ , IL-4, IL-23 ve IL-17 ilişkisini incelemiştir (125, 129) (Tablo 9, Şekil 11).

Tablo 9. CD4+ Th kültürüne anti-IFN- γ , anti-IL-4 ve IL-23 eklenmesi durumunda sitokinlerin durumu (125).

anti-IFN- γ	IFN- γ ↓ IL-4 ↑ IL-17 ↑
anti-IFN- γ + anti-IL-4	IFN- γ ↓↓ IL-4 ↓ IL-17 ↑↑
anti-IFN- γ + anti-IL-4 + IL-23	IFN- γ ↓↓↓ IL-4 ↓↓ IL-17 ↑↑↑

IFN: İnterferon, IL: İnterlökin.



Şekil 11. CD 4+ T hücrelerinin farklılaşmasının şematik gösterimi (129). Kırmızı oklar supresyon, yeşil oklar stimülasyon anlamına gelmektedir.

Ustekinumab (Stelara®, Janssen, Beerse, Belgium); IL-12/23'ün p40 alt ünitesine bağlanarak etki eden bir monoklonal antikor olup IL-12 üzerinden Th1 yolağına, IL-23 üzerinden ise Th17 yolağına etki etmektedir. 2009 yılında psöriazis için FDA onayı almıştır (23, 149). Keino ve ark.'nın yaptıkları deneysel çalışmada IL-12/23 inhibitörü ile tedavi edilen deneklerde serumda IL-12 p40 alt ünitesinin azaldığı; Th1 sitokini IFN- γ 'nın düzeyi değişmezken IL-17'nin azaldığı ve DOIÜ bulgularında klinik ve histolojik olarak iyileşme sağlandığı gösterilmiştir (150). İki

adet Faz 2 çalışma ile üveit üzerine etkinliği araştırılmaktadır (NCT02911116, NCT02648581).

IL-26 da Th17 ilişkili sitokinler arasındadır. Düzenleyici işlevi vardır. JAK1/STAT3 yolağı üzerinden üretilen IL-26, BH dışında İBH ve psöriaziste de yüksek gösterilmiştir. BH'da IL-17 ve IL-23 salınımını arttırırken, anti-inflamatuar etkili IL-10 ve TGF- β 'yi ise azaltmaktadır. Yapılan çalışmalarda BH'nın aktivitesi ve ciddiyeti ile korele olduğu gösterilmiştir (15, 50).

IL-17 antikorunun etkinliği DOİÜ modelinde gösterilmiş olup, sekukinumabın klinik sonuçları üzerine yapılan Faz 3 çalışmalarda (INSURE, ENDURE ve SHIELD) etkinlik gösterilemediğinden çalışmalar erken sonlandırılmıştır. Bu çalışmalarda ilaç subkutan olarak uygulanmıştır (82, 141, 151). Oysa intravenöz uygulamada psöriazis, RA ve NİÜ üzerine etkin olarak bildirilmiştir (152). Letko ve ark.'nın intravenöz/subkutan uygulamadaki etkinliği karşılaştırdığı klinik çalışmada da intravenöz uygulama daha etkin bulunmuştur (153).

Aşağıda üveit patogenezinin sorumlu tutulan sitokinler; üretildiği hücreler, DOİÜ ve klinik üveitte aldıkları roller bakımından özetlenmiştir (Tablo 10).

Tablo 10. Üveti patogenezinde rol alan sitokinler (50, 80, 154).

Sitokin	Üretildiği Hücre	DOİÜ modelindeki rolü	Üveitteki Yeri
IL-1	Mo, Mø, T	Proinflamatuvar	Anti-IL1, anakinra <u>BH</u> tedavisinde etkin
IL-2	T	T hücre differansiasyonu	Üveitte AH ve serumda artmış sitokin düzeyi, anti-IL2Ra tedavisi
IL-4	Th2, mast hücresi	Koruyucu	<u>BH</u> serumda artmış sitokin düzeyi
IL-6	Mo, Mø, T, endotel hücre	Proinflamatuvar, Th17 indüksiyonu	Üveitte vitreus, AH ve serumda artmış sitokin düzeyi
IL-10	Mø, Th2, Treg, B	Koruyucu	Üveitte AH ve serumda artmış sitokin düzeyi
IL-12	Mø, DH	Erken evrede koruyucu, geç evrede Th1 indüksiyonu	<u>BH</u> 'da serumda azalmış sitokin düzeyi
IL-17A	Th17, NK	Patojenik	<u>BH</u> ve VKH'da serumda artmış sitokin düzeyi
IL-21	Th17	-	VKH'da serumda artmış sitokin düzeyi

Sitokin	Üretildiği Hücre	DOİÜ modelindeki rolü	Üveitteki Yeri
IL-22	Th17, Th22, NK	Koruyucu	Artmış ekspresyon
IL-23	Mo, ASH	Th17 differansiasyonu, Patojenik	<u>BH</u> ve VKH'da serumda artmış sitokin düzeyi
IL-27	Mo, ASH	Th17 baskılanması, Patojenik	-
TGF- β	Mo, Treg	Treg ve Th17 indüksiyonu, Koruyucu	Üveitte AH'de azalmış sitokin düzeyi
TNF- α	Mo, T	Proinflamatuvar, Patojenik	<u>BH</u> 'da serumda artmış sitokin düzeyi ve anti- TNF- α tedavisi
IFN- γ	Mo, Th1, NK	Erken evrede koruyucu, geç evrede patojenik	<u>BH</u> ve VKH'da AH'de artmış sitokin düzeyi

Mø: Makrofaj, Mo: Monosit, NK: Doğal öldürücü hücre, DH: Dendrit hücre, ASH: Antijen sunucu hücre, BH: Behçet hastalığı, VKH: Vogt-Koyanagi-Harada, AH: Aköz hümör, IL: İnterlökin, TNF: Tümör nekroz faktör.

2.6. Üveitler

Üveit; travma, ilaç, enfeksiyon ya da otoimmünite nedenli olabilir. Vakaların %48 ila 70'i ise idiyopatiktir (3, 79). Benzer yapılar ve/veya aminoasit sekansları nedeniyle iki (veya daha fazla) farklı antijen arasındaki benzerliğe dayanan "antijenik taklit" kavramının, gözde otoimmün reaksiyonların başlatılmasının ve NİÜ'nün nedeni olduğuna inanılmaktadır (64, 70).

2.6.1. Epidemiyoloji

Üveit ve üveite bağlı komplikasyonlar yasal körlüklerin %10-25'inden sorumludur. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, üveit insidansı ve prevalansı dünya üzerinde coğrafik lokasyonlar arasında değişiklik göstermektedir. İnsidans açısından kadın/erkek farkı yoktur. Üveit genellikle 20-50 yaş grubunu etkilemekte, ilerleyen yaşla beraber hem insidansı hem de prevelansı artmaktadır (3, 4, 79). En sık

görülen tip ön üveittir. Bunu arka üveit, panüveit ve son olarak da orta üveit takip eder (3, 4, 79, 155, 156) (Tablo 11).

Tablo 11. Türkiye’de üveitlerin demografik ve klinik özellikleri.

	Kazokoğlu ve ark. (155)	Yalçındağ ve ark. (156)
Metod	8 merkez 761 hasta/1187 göz 2004 yılı	33 merkez 4863 hasta/6967 göz 2008-2011 yılları arası
Ortalama yaş	35.5	36.6
Cinsiyet dağılımı E:K	%51 erkek, %49 kadın 1.04:1	%51.3 erkek, %48.7 kadın 1.05:1
Ön üveit	%52.5	%44.3
Orta üveit	%6.7	%9.1
Arka üveit	%12,7	%19.9
Panüveit	%28.1	%26.7

2.6.2. Sınıflandırma

Üveit; anatomik lokalizasyon, klinik seyir, etiyoloji ve histolojik görünümüne göre sınıflandırılmaktadır. Günümüzde Uluslararası Üveit Çalışma Grubu’nun (IUSG) 2005 yılında yayınladığı terminoloji, skorum ve sınıflandırma şemaları kullanılmaktadır. Literatürde en sık inflamasyonun yerleştiği anatomik bölgeye göre yapılan sınıflandırma tercih edilir (1) (Tablo 12)

Tablo 12. IUSG (Uluslararası Üveit Çalışma Grubu) Anatomik Üveit Sınıflandırması (1).

Tip	Primer İnflamasyon Alanı	Tutulan Yapılar
Ön Üveit	Ön kamara	İritis, ön siklit, iridosiklit
Orta Üveit	Vitreus	Pars planit, arka siklit, hiyalit
Arka Üveit	Retina/Koroid	Koroidit, korloretinit, retinokoroidit, retinit/nöroretinit
Panüveit	Ön kamara, vitreus, retina/koroid	

2.6.2.1. Ön üveit

Primer tutulum yeri iris ve siliyer cisimdir. İnflamasyon ön kamaraya sınırlı ise iritis, lens arkası alanda ön vitreusa yayılmış ise iridosiklit, korneadan kaynaklanıp ikincil olarak ön kamara tutulmuşsa keratoüveit, sklera ve uveal yapılar tutulduysa skleroüveit olarak isimlendirilir (1, 157, 158). Akut anterior üveit en sık görülen formudur. Batı ülkelerinde %75-90 oranında görülürken, Asya popülasyonunda üveitlerin %25-50'sini teşkil eder (158). Başlıca semptomları ön kamarada hücre ve AH'de uçuşmaya bağlı bulanık görme, özellikle limbusu çevreleyen kızarıklık, sulanma, fotofobi ve ağrıdır (4, 157, 158).

2.6.2.2. Orta üveit

Temel olarak retina ve koroidin uç perifer noktaları ile siliyer cismin arka kısmını tutan üveit tipidir. İnflamasyon vitreusta belirgin olup; ön segment, retina, optik disk gibi yapılar da tabloya eşlik edebilir (158). Orta üveit olguları %85.8 çift taraflı, %28.5 sistemik bir hastalıkla birlikte görülmektedir (2). Bu tabloya eşlik eden sistemik hastalıklar; sarkoidoz, Lyme hastalığı, multiple skleroz (MS), bağ dokusu hastalıkları, sifiliz, tüberküloz ve Whipple hastalığı olarak sıralanabilir (1, 159). Hastalar tipik olarak görmede azalma ve uçuşan noktalar görme (floaters) yakınmasıyla başvurur, bazen de ağrı, kızarıklık ve fotofobiden yakınır. İnflamasyonun şiddetine bağlı olarak vitritis izlenir ve orta üveitin etiyolojisi bilinmeyen ve pediatrik hasta grubunda daha sık görülen formu olan pars planitte daha belirgin olmak üzere vitreustaki inflamatuvar hücreler pars plana bölgesinde kar tanesi (snowball) denilen şekilde birikebilir, hastalığın ilerleyen döneminde bu hücrelerin sayısı ve boyutu artarak periferik retina ve pars planada beyaz, tüysü, kar benzeri bir bant görünümü alır (snowbank). Periferik venüllerde periflebitik değişiklikler, pars planada fibrovasküler membranlar ve KMÖ görülebilir (4, 157-159).

2.6.2.3. Arka üveit

Arka üveitler, vitreus tabanının arka sınırının gerisinde yerleşmiş inflamasyonla karakterizedir. Arka üveitlerde vitreal, koroidal, retinokoroidal ve korioretinal inflamasyon bulguları ortaya çıkar. Vitreusta; hücre, floaters, opasiteler ve sıklıkla arka vitreus dekolmanı görülebilir. Bazı hastalarda arka hyaloid üzerinde inflamatuvar hücre kümeleri izlenir. Koroidte sarı veya grimsi renkte yama tarzında, nispeten sınırları belirgin lezyonlarla karakterize koroidit gelişebilir. Bu alanlar inflamasyon inaktive olduğunda pigmente sınırlı koryoretinal atrofi sahaları olarak izlenir. Retinada sınırları keskin olmayan, beyaz ve bulanık görülen inflamatuvar odaklarla karakterize retinit odakları izlenebilir. Retinal vaskülit tablosunda venler arterlere kıyasla daha sık tutulmaktadır. Semptomları arasında ağrı, kızarıklık, fotofobi, sinek uçuşması ve ciddi görme azalması yer almaktadır (1, 4, 158).

2.6.2.4. Panüveit

Panüveitler baskın bir inflamasyon bölgesi olmadan tüm uveal dokuların tutulduğu; ön, orta ve arka üveitin tüm semptomlarını gösterebilen ve gelişen komplikasyonlar nedeni ile kalıcı görme kaybı ile sonuçlanabilen kötü prognozlu bir tablodur (155, 156) Tüm üveitler arasında panüveitlerin görülme insidansı %0.8-38 arasında değişmektedir (1, 158). BH'nın en ciddi komplikasyonlarından olan oküler tutulum panüveit şeklinde olup, ciddi bir morbidite nedenidir (18). Kazakoğlu ve ark. panüveitlerin %51.3'ünün BÜ nedeni olduğunu bildirmişlerdir (155).

2.6.2.4.1. Behçet Üveiti

BH, esas olarak oral / genital ülserler, deri lezyonları ve üveit ile kendini gösteren, tıkaçıcı-nekrotizan vaskülit ile karakterize, multisistemik bir hastalıktır (160). BH ilk olarak Ord. Prof. Dr. Hulusi Behçet (1889-1948) tarafından ayrı bir klinik antite olarak tanımlanmıştır (161). 'İpek Yolu' olarak bilinen coğrafyada

daha sık görülmektedir. Prevelansı 100.000’de 20-420 olup, en yüksek prevalans Türkiye’den bildirilmiştir (162, 163). Türkiyede BÜ tüm üveit sebepleri arasında ilk sırada olup, Kazokoğlu ve ark. (155) ön, arka ve panüveit sebepleri arasında ilk sırada BÜ’ni saptamışlardır. Benzer şekilde Yalçındağ ve ark. (156) da %33 oran ile en sık üveit sebebi olarak BH’nı bildirmişlerdir. BH için Uluslararası Çalışma Grubu tanı kriterleri, yaygın kabul görmekte; rekürren oral aft bulgusuna; rekürren genital ülser/skar, cilt lezyonları (eritema nodozum, papülopüstüler lezyonlar, akneiform nodüler lezyonlar, akneiform lezyonlar), paterji test pozitifliği ve oküler tutulum (ön veya arka üveit, vitreusta hücre, retinal vaskülit) bulgularından en az 2 tanesinin eşlik etmesi ile BH tanısı konulmaktadır (164). Oküler doku, BH’da majör tutulan dokulardandır. Behçet hastalarının % 50’den fazlasında ve özellikle erkeklerde %70-90’a varabilen oranlarda göz tutulumu bildirilmiştir. Göz tutulumu daha çok Japon ve Türk Behçet hastalarında görülür. Literatürde erkek, kadın oranı 2.1:1 şeklinde olup erkeklerde daha sık, erken başlangıçlı ve kötü seyirli olduğu bildirilmiştir (162, 163, 165). Çeliker ve ark.’nın 32 Behçet hastasının 54 gözünü dahil ettikleri çalışmada ise erkeklerdeki bu kötü seyrin, erkeklerdeki oküler tutulum başlangıcının daha genç yaşlarda olması ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (166). Oküler tutulum, hastaların % 80’inde bilateral olup; tekrarlayan, granülomatöz olmayan panüveit ve retinal vaskülit ile karakterizedir (165, 167). Sıklıkla panüveit (%50-93) gelişen olgularda ön, orta, arka üveite ait pek çok semptom izlenebilir (168). Arka segment tutulumunda görme ile ilişkili ciddi komplikasyonlar daha sık olup retinal vaskülit ve vitrit en sık görülen bulgulardır (%89). Okluzif retinal vaskülit BÜ için oldukça tipiktir. Okluzif retinal vaskülitte sekonder retinal ven/arter tıkanıklığı, retinal iskemi, retinal neovaskülarizasyon gibi komplikasyonlar gelişebilir (165, 167). Kalıcı görme kaybının en yaygın nedenleri makülopati ve optik atrofidir. Son dönem BÜ; optik atrofi, hayalet damarlar, diffüz retinal atrofi, pigmenter değişiklikler ve maküler skar ile karakterizedir. Arka segment tutulumu kötü bir görsel prognozla ilişkilendirilmesi nedeni ile erken ve agresif sistemik tedavi için önemli bir endikasyondur (165, 169, 170).

Etkin tedavi için BH’nin immünopatogenik özellikleri tanımlanmaya çalışılmaktadır. Nötrofil aktivasyonu, hücrel ve humöral immünite, antijen taklit mekanizması, genetik faktörler, RSA’ya karşı otoantijen gibi faktörlerin

patogenezdeki yeri araştırılmaktadır (171). Genetik olarak MHC I alt tipi olan HLA-B5, özellikle de HLA-B51, BH ile ilişkili bulunmuştur (172). İkinci derecede sorumlu tutulan gen ise HLA-B51 genine yakın komşulukta olan MICA (MHC sınıf I ilişkili gen) olup; HLAB5 ve TNF- α ile ilişkili bulunmuştur (173). HLA-B molekülü ile RSA'nın 342-355 aa dizisi (PDSA_g) arasındaki benzerlik de dikkat çekicidir. BH'nda RSA'ya karşı immün yanıt geliştiği bildirilmiştir (11, 174).

Tulunay ve ark. BH'da JAK1/STAT3 sinyal yolu üzerinden Th1/Th17 sitokinlerinin serum ve dokuda ekspresyonunun arttığını bildirmiştir (16). Puccetti ve ark. da benzer şekilde BH'da Th17 ve ilişkili sitokinlerin gen ekspresyonunun arttığını göstermiştir (17). BH'da Th17/Th1 oranı artmakta olup, özellikle üveiti olan hastalarda daha yüksektir (111, 175).

Deneyssel ve klinik çalışmalar ile BÜ'nde sitokin mekanizması aydınlatılmaya çalışılmaktadır; BÜ de dahil olmak üzere NİÜ olgularında IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-18, IL-22, IL23, TNF- α ve IFN- γ gibi sitokin düzeylerinin AH, vitreus ve serumda farklı düzeylerde artışı bildirilmiştir (16, 112, 115-118, 139, 167, 176, 177).

Anti-inflamatuar etkinlik gösteren Th2 sitokini IL-10'un lokal uygulamasının deneyssel EİÜ ve DOİÜ modellerinde inflamasyonu azaltıcı olduğu gösterilmiştir (178-180). IL-10 düzeyi aktif BÜ'nde düşük olup yapılan çalışmalarda BH ve IL-10 polimorfizmi ilişkili bulunmuştur. Hastalık ile ilişkili IL-10 varyantının, anti-inflamatuar sitokinlerin düşük ekspresyonuna sebep olarak inflamasyona yatkın bir durum oluşturduğu düşünülmüştür (181, 182). Klinikte BÜ ve Behçet dışı endojen üveiti olan hastaların serum ve AH IL-10 düzeyleri değerlendiren pek çok çalışma mevcuttur. Bunlardan bir kısmı düşük sitokin düzeyleri bildirirken (117, 140), bir kısmı ise yüksek sitokin düzeyleri bildirmişlerdir (112, 115, 116, 118, 183). Çalışmalarda serum ve AH düzeyleri arasında fark vardır; Takase ve ark. AH'de, Lacombe ve ark. ise serumda yüksek sitokin düzeyi bildirmişlerdir (112, 115).

IL-6 non-spesifik bir akut faz reaktanı olup tip ayrımı olmaksızın üveitte artmıştır. BH'da da, aktivasyon ile korele olarak serum/AH düzeyi yüksek olarak bildirilmiştir (50, 80, 113, 116, 176, 184-186).

2.6.3. Tedavi

Üveitte tedavinin amacı; akut inflamasyonu bastırmak, doku hasarını sınırlamak/önlemek, komplikasyonları önlemek, rekürrensleri azaltmak/önlemek ve potansiyel görme keskinliğini korumaktır (21, 167, 187).

Enfeksiyöz üveitlerin tedavisinin temelinde öncelikle etkene yönelik ilaçlar yer alırken, NİÜ’lerde ise kortikosteroidler (KS) ve immün sistem üzerine etkili ilaçlar kullanılmaktadır. Tedavi uygulamaları lokal ve sistemik olarak iki farklı yolla yapılmaktadır. Lokal olarak; midriyazis ve siklopleji oluşturan damlalar ve subkonjunktival, perioküler, retrobulber, intravitreal KS enjeksiyonu uygulanabilir (188). Ayrıca hayvan ve klinik çalışmalarda Metotreksat (MTX), Sirolimus, Siklosporin A (CsA) ve anti-TNF- α ’nın intravitreal formları etkin bulunmuştur (189).

Günümüzde uygulanan tedavi algoritmaları ‘basamaklı tedavi’ şeklindedir. Ancak kullanılan ajanların çoğunun kullanımı ‘endikasyon dışı’dır, sistemik yan etkileri (karaciğer-böbrek toksisitesi, sitopeni vb.), enfeksiyon riskinde artış, teratojenite, parenteral kullanım zorluğu, yüksek maliyet gibi olumsuz faktörleri; hedefe yönelik, etkili ve güvenilir alternatif tedavi ajanlarına olan ihtiyacı doğurmuştur (113, 187, 189, 190).

2.6.3.1. Hastalık modifiye edici ajanlar (DMARD)

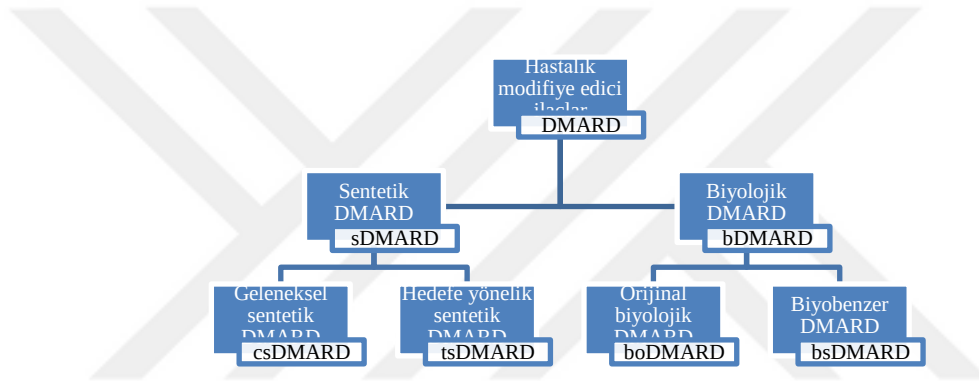
Romatolojide yoğun olarak kullanılan hastalık modifiye edici ajanlar (Disease-modifying anti-rheumatic drugs-DMARD) güncel üveit tedavisinde de kullanılmaktadırlar. Damar tutulumlu BÜ’nde tek başına KS tedavisi yeterli değildir; basamaklı olarak DMARD’ların tedaviye eklenmesi gerekir (4, 12, 21, 189, 191-194).

DMARD’lar sentetik ve biyolojik DMARD olarak iki gruba ayrılır (Şekil 12). Sentetikler kendi içinde ‘konvansiyonel’ ve ‘hedefe yönelik’ olarak, biyolojikler ise ‘orijinal’ ve ‘biyobenzer!’ olarak ikiye ayrılır. Bu kavramlar kısaca açıklanacak olursa (195);

- Geleneksel (Konvansiyonel) sentetik DMARD (csDMARD): Hastalık modifiye edici etkinliği tesadüfen bulunan ve tarihsel yolla tedavi

algoritmasına giren ajanlardır. Çoğunun hedef molekülü keşfedilmiştir ancak ilk kullanımları hedefe yönelik olmadığı için bu grupta yer almaktadırlar.

- Hedefe yönelik sentetik DMARD (tsDMARD): Bir hedefe yönelik, sentetik yollarla üretilen ajanlardır. Küçük molekül ağırlıklı inhibitörler (KMI) bu grupta yer alırlar.
- Orijinal biyolojik DMARD'lar (obDMARD)
- Biyobenzer DMARD'lar (bsDMARD): Ana bileşeni kopyalayarak elde edilen, ana bileşene benzer etkinlik ve güvenilirlikteki biyolojiklerdir.

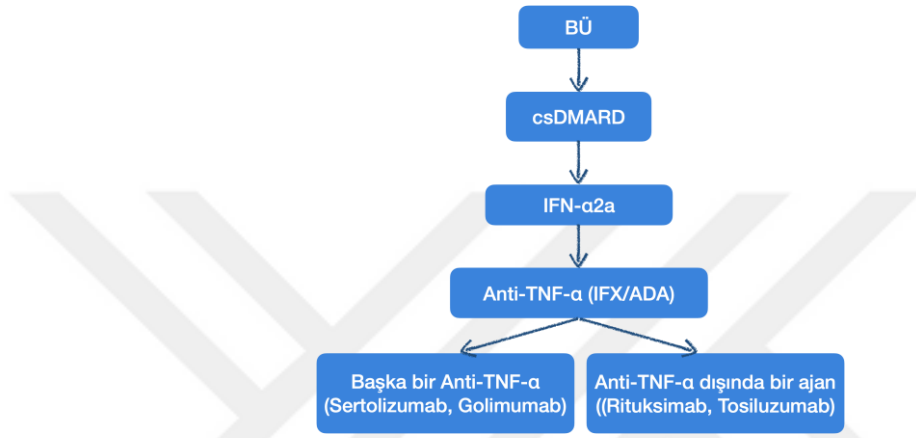


Şekil 12. Yeni DMARD sınıflandırması (195).

NİÜ'lerin tedavisinde kullanılmakta olan DMARD grubu ajanlar, bağışıklık sistemini genel olarak baskılamakta veya saptırmaktadırlar. Bu nedenle istenmeyen ciddi yan etkilere sebep olmaktadır. Son yıllarda araştırılan hedefe yönelik ajanlar, inflamatuvar süreçteki özgün molekülleri etkileyerek daha spesifik ve etkili bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmaktadırlar (80, 189, 191, 193-195).

BH'nda tedavi algoritması için yayınlanan EULAR (European League Against Rheumatism) önerilerinden ilk ikisi göz tutulumunu ilgilendirmektedir ve buna göre; arka segmenti ilgilendiren göz tutulumu olan BH'nda AZA ve KS tedavisi başlanması, şiddetli göz tutulumu olan (görmeyi 2 sıradan fazla azaltan ve/veya retina tutulumu olan) hastalarda AZA ile kombine CsA veya infliksimab (İFX) kullanılması veya alternatif olarak IFN tedavisi uygulanması önerilmektedir. Ancak her klinik kendi ülkelerinin sağlık sistemine uygun tedavi algoritmasına göre

basamaklı tedavi uygulamaktadır (187, 192, 196-198). Kliniğimizde BÜ olgularında uygulanan tedavi algoritması Şekil 13'te verilmiştir. Refrakter BÜ tedavisinde csDMARD'lar ile tedaviye başlanır, tedaviye yanıtızlık, yan etki profili, tedaviye uyum ve BH'nın sistemik tutulumu göz önünde bulundurularak csDMARD tedavisinden biyolojik ajanlara geçilmekte, yeri geldiğinde csDMARD ve biyolojik ajanlar kombine edilerek kullanılmaktadır (192).



Şekil 13. Kliniğimizde uygulanan Behçet üveiti tedavi algoritması. Tedavi yanıtızlığı durumunda bir alt basamağa geçilmekte ve kombinasyon tedavileri uygulanmaktadır (192). BÜ: Behçet üveiti, csDMARD: konvansiyonel sentetik DMARD, IFN: İnterferon, TNF: Tümör nekroz faktör, IFX: İnfliksimab, ADA: Adalimumab.

2.6.3.1.1. Antimetabolit ajanlar

AZA, MTX ve MMF antimetabolit ajanlar olarak sıralanabilir. Her üç ajan da BÜ dahil olmak üzere NİÜ tedavisinde başarılı bulunmuştur. Klinik çalışmalar yeterli olmasa da retrospektif serilerde antimetabolit ajanlar biribiriyle karşılaştırıldığında üç ajan da kullanılan KS dozunu <10mg'a düşürme açısından benzer etkinlikte olsa da; AZA'da yan etki diğer ajanlara oranla daha yüksek görülmüş, bu nedenle ilaç bırakma oranının daha yüksek olduğu, MMF'nin ise daha kısa sürede etki gösterdiği bildirilmiştir (193, 199). Yan etkilerden kaçınmak için kemoterapi ve radyoterapiye dirençli oküler lenfomada kullanımda olan, iyi tolere edilen ve retinaya toksik olmayan intravitreal MTX'ın; refrakter üveit ve üveitik KMÖ tedavisinde

uygulaması denenmiş ve başarılı sonuçlar bildirmiştir ancak rutin kullanım şekli değildir (186, 189, 191, 200, 201).

2.6.3.1.2. T hücre sinyal inhibitörleri

CsA, takrolimus ve sirolimus bu grupta yer alır. CsA ve takrolimus kalsinörin inhibitörüdür. T hücrelerinin lenfokin üretimini baskılayarak etki gösterir ve IL-2 gen transkripsiyonunu azaltır (21, 191).

CsA randomize klinik çalışmada 10 mg/kg/gün dozunda kullanıldığında BÜ'nde oldukça etkin bulunmuştur ancak doza bağlı sistemik hipertansiyon ve nefrotoksisite gibi yan etkileri mevcuttur.(21, 191). Sistemik yan etkilerden kaçınmak için intravitreal uygulaması, tekrarlayan üveiti olan atlarda denenmiş ancak etkin bulunmamıştır (202).

Takrolimusun yan etki profili CsA'dan düşük olup yapılan prospektif çalışmada kronik arka/orta üveitte CsA'ya benzer etkinlik göstermiştir. Nefrotoksisite yan etkisi nedeni ile takrolimus ve CsA ile birlikte kullanılmamalıdır (21, 191, 203). Takrolimusun intravitreal kullanımda etkin ve güvenilir olduğu ise hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (204, 205).

Sirolimus ise güçlü bir immünsüpresif, antianjiojenik ve anti-proliferatif ajan olup, NİÜ'lerde etkin gösterilse de gastrointestinal ve dermatolojik yan etkileri oldukça sıktır ve kullanımını kısıtlamaktadır (189, 206). Sistemik yan etki yaratmadan NİÜ'lerde sirolimustan faydalanmak için intravitreal/subkonjonktival uygulamasının değerlendirildiği SAVE çalışmasında; her iki uygulama yolu da etkin ve güvenilir olarak bildirilmiştir (207).

2.6.3.1.3. Alkilleyiciler

Alkilleyici ajanlar arasında siklofosfamid ve klorambusil sayılabilir. Bu ilaçlar sadece diğer ajanlar ile kontrol altına alınamayan üveitlerin tedavisinde kullanılırlar çünkü kanser olasılığını arttırabildiği bildirilmiştir. En çok BH, sempatik oftalmi, RA'ya bağlı nekrotizan skleritte tercih edilmektedirler (21, 191).

Günümüzde BÜ tedavisinde kullanılan konvansiyonel DMARD'lar Tablo 13'te özetlenmiştir.

Tablo 13. NİÜ tedavisi için klinikte kullanımda olan biyolojik dışı konvansiyonel ajanların temel özellikleri (191, 194, 208, 209).

Sınıf	Jenerik Adı	Etkin Mekanizma	Yan Etki
Anti metabolit	AZA	Pürin metabolizma inhibisyonu	Kİ supresyonu, gastrointestina, hepatotoksisite
	MTX	Dihidrofolat redüktaz inhibisyonu	Kİ supresyonu, saç dökülmesi, hepatotoksisite
	MMF	İnozin monofosfat dehidrogenaz inhibisyonu	İshal, bulantı, nötropeni, enfeksiyon
T hücre Sinyal İnhibitörü	CsA	T hücre fonksiyon inhibisyonu	Nefrotoksisite, tremor, hirsutizm, dişeti hiperplazisi, yüksek kan basıncı
	Takrolimus	T hücre fonksiyon inhibisyonu	Nefrotoksisite, yüksek kan basıncı, nörotoksisite, hepatit, diyabet
Alkilleyici	Klorambusil	Akilleyici nükleik asit	Kİ supresyonu, malignite, sterilite, enfeksiyon
	Siklofosfamid	Akilleyici nükleik asit	Kİ supresyonu, hemorajik sistit, malignite, sterilite, alopesi, enfeksiyon

AZA: Azatiyoprin, MTX: Metotreksat, MMF: Mikofenolat mofetil, CsA: Siklosporin A, Kİ: Kemik iliği.

2.6.3.1.4. Biyolojik ajanlar

2.6.3.1.4.1. İnterferon (IFN)

İmmunmodülatuar etkiyle T lenfosit ve NK hücrelerin aktivitesini artırarak yabancı antijenlerin uzaklaştırılmasını sağladığı düşünülmektedir. Antiviral, immünmodülatör ve antianjiojenik etkileri vardır (21).

IFN- α 2a ile tedavi edilen BÜ'nde inflamasyonda gerileme; Gueudry ve ark.'nın (210) çalışmasında %88, Kötter ve ark.'nın (211) çalışmasında %92, Tugal-Tutkun ve ark.'nın (212) çalışmasında %91, Çeliker ve ark.'nın (166) çalışmasında %93.7 olarak bildirilmiştir. Tüm bu çalışmalarda etkin ve güvenilir bulunmuştur. Albayrak ve ark.'nın çalışmasında da yine IFN- α 2a tedavisi ile remisyon sağlandığı ve konvansiyonel tedaviye göre Th17 ve ilişkili sitokinlerde azalma ve IL-10'da artma sağladığı bildirilmiştir (140). İmmünolojik ve toksik olmayan polietilen glikol (PEG) molekülünün eklenmesi ile oluşturulan pegile IFN (peg-IFN)'nin çözünürlüğü ve dağılımı IFN'den fazladır (213). Bu nedenle peg-IFN, IFN'den uzun ömürlü olup, haftada 1 şeklinde kullanılabilir (189, 211). İdame tedavide peg-IFN- α 2a ve peg-IFN- α 2b etkin ve güvenilir bulunmuştur. BÜ'nde ilgili endikasyonlar varlığında peg-IFN kliniğimizde kullanılmaktadır (214-216).

En sık yan etkisi grip benzeri semptomlar (ateş, artralji) ve dozdan bağımsız olarak enjeksiyon yerinde kızarıklık olarak bildirilmiştir. Diğer yan etkiler; lökopeni, KC enzim yüksekliği, alopesi, fibromiyalji, depresyon, otoantikor oluşumu olarak sayılabilir (166, 189, 210-212, 217). Yan etkinin görülmesi anti-IFN antikor gelişimi ihtimalini arttırmaktadır. Ayrıca IFN ilişkili retinopati daha sık hepatitli hastalarda olmak üzere BÜ olan hastalarda da bildirilmiştir (21, 218).

2.6.3.1.4.2. TNF α antagonistleri

TNF- α T lenfositlerden ve aktive makrofaj/monosit/nötrofil ve endotelial hücrelerden salınarak inflamasyonda rol oynar; sitokin aktivasyonu, adhezyon molekülü ve NO sentezi, granülom oluşumu gibi etkileri vardır (113, 189).

Deneyssel üveitli hayvan modellerinde TNF- α 'nın retinal doku hasarında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (113, 219). BH'nda, özellikle de hastalığın aktif döneminde hastaların serum ve/veya AH TNF- α düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (113, 117, 118, 220). BH aktif tutulumunda monosit ve T lenfositler yüksek miktarda TNF- α salgırlar. Ayrıca hastalığın aktif döneminde kanda TNF- α ile birlikte TNF- α reseptörlerinin de sayısı artmaktadır (21, 221).

TNF- α antagonisti monoklonal antikorların (İFX, adalimumab (ADA), golimumab ve sertolizumab) ve rekombinant füzyon proteininin (etanersept) üveitte etkinliği gösterilmiştir (187). Amerikan Üveit Derneği; İFX ve ADA'yı BÜ'deki

etkinliğinden dolayı birinci basamak immünmodülatör tedavi ve diğer üveitlerde ikinci basamak immünmodülatör tedavi olarak kullanılmasını tavsiye etmektedir (198). İFX (Remicade®) ile BÜ'nde yüksek başarı oranları bildirilmiş (222-224), BH'na bağlı akut panüveit tablosunda tek doz İFX hızlı bir iyileşme sağlamıştır (225). Bilinmeyen, inaktif tüberkülozu olan hastaların İFX tedavisi altında yaygın tüberküloz geliştirdiği bildirilmiştir (189). Yan etkilerinden kaçınmak için intravitreal kullanımı da test edilmiş ancak etkinlik süresi kısa bulunmuştur (226). ADA (Humira®) yalnız insan peptidlerini içeren rekombinant insan monoklonal Ig G1 antikorudur. ADA'nın uygulaması daha kolay (subkutan), hasta uyumu daha yüksek ve yan etki ihtimali daha düşüktür. İnsan monoklonal antikor yapısında olduğundan alerjik reaksiyonlar ve ilaca karşı antikor gelişimi görülmemektedir. Bu nedenle İFX'ten daha iyi bir alternatif olabilir (113, 187, 191, 221). ADA tedavisinin BÜ tedavisindeki etkinliğini gösteren çalışmalar mevcut olup İFX ile benzer etkinlik bildirilmiştir (227-233). Günümüzde TNF- α antagonisti monoklonal antikorlarından Avrupa ve Amerika'da onay alan tek ajan ADA'dır (187). Etanercept (Enbrel®) p75kD TNF- α reseptör ve insan IgG1 Fc parçasının şimerik füzyon proteinidir. Etkinliği İFX ve ADA'dan düşüktür. Dirençli BÜ'nde etkisi uzun süre devam etmese de faydalı olduğu bildirilmiştir (113, 191). Ancak diğer ajanlar ile kıyaslandığında etanercept ilişkili paradoksal oküler inflamasyon bildirimi oldukça fazladır. Bu nedenle günümüzde BÜ tedavisinde kullanılmamaktadır (234-238). Diğer ajanlara göre yüksek paradoksal üveit oranı, Etanercept'in diğer ajanlardan daha az stabil olması ve bağladığı TNF- α 'yı dolaşıma tekrar bırakarak yarı ömrünü uzatmasına bağlanabilir (238). Ayrıca günümüzde TNF- α antagonisti monoklonal antikorlarına dirençli BH, JİA ve AS'e bağlı üvetlerde ve idiyopatik retinal vaskülitte golimumab (Simponi®) (239-242) ve sertolizumab (Cimzia®) (242-244) da etkin bulunmuştur.

2.6.3.1.4.3. Diğer biyolojik ajanlar

2.6.3.1.4.3.1. Rituksimab (anti CD20 monoklonal antikor)

Rituksimab (Rituxan®), B hücrelerine özgün CD20 proteinine karşı geliştirilmiş fare/insan şimerik monoklonal antikorudur (113, 189). Oküler

adneksiyel lenfoma olgularında sistemik kullanımı ile ilgili başarılı sonuçlar bildirilmiştir (245, 246). KS ve immünmodülatör ilaçlara refraktör üveitin stabilizasyonu ve üveit ilişkili KMÖ'nün giderilmesinde etkin bulunmuştur (247-250).

2.6.3.1.4.3.2. Tosilizumab (IL-6 reseptör antikor)

IL-6 multifonksiyonel inflamatuvar bir sitokin olup TGF- β ile birlikte üveit patogeneğinde önemli rol oynayan patojenik Th17 farklılaşmasını indükler (113, 128, 185). DOİÜ modelinde sistemik fare-IL-6 reseptör antikor uygulanması ile Th17 gelişimini engelleyerek inflamasyonda gerileme bildirilmiştir (142, 251). Aktif intermediate ve arka üveit geçiren hastalarda vitreusta ve serumda yüksek IL-6 düzeyi gösterilmiştir (116, 142, 176, 184, 252, 253). Ayrıca yapılan çalışmalarda IL-6 inhibisyonunun BÜ'ne, JİA'ya bağlı refraktör üveitin kontrolünde etkili olduğu bulunmuştur (254-257). NİÜ'lerde tosilizumab kullanımının test edildiği çok merkezli bir klinik çalışma olan STOP-Üveit çalışması, NİÜ olan 37 hastada tosilizumabı iki farklı doz (4 mg/kg/ay ve 8 mg/kg/ay) olarak kullanarak ilacın güvenliğini, tolere edilebilirliğini ve etkinliğini değerlendirmiştir; sonuçlar tedavinin etkili ve kabul edilebilir bir güvenlik profili olduğu şeklindedir (258). Sistemik tosilizumab kullanımına bağlı paradoksal üveit olguları bildirilmiştir (258-260).

2.6.3.1.4.3.3. Anakinra (IL-1 blokörü)

IL-1 kronik inflamasyonda etkin bir sitokin olup aktif üveiti olan hastalarda ve deneysel üveit modellerinde konsantrasyonunun arttığı ve bloke edilmesi ile diğer tedavilere dirençli vakalarda dahi iyileşme olduğu bildirilmiştir (261-263). Anakinra ve kanakinumab BH'nda etkin bulunmuş ancak gevokizumab ile başarısız sonuçlar bildirilmiş, bu nedenle gevokizumab Avrupa pazarından çekilmiştir (187, 264-268).

2.7. Tofasitinib

Hedefe yönelik sentetik DMARD grubundan bir JAKinib'tir (195). 'Küçük moleküller' sınıfında (moleküler ağırlığı 900 Dalton'dan, boyutu 1nm'den az) olması nedeni ile sayılabilecek avantajları; hızlı bir şekilde hücre membranını geçebilmeleri ve böylece hücre içi yeterli konsantrasyona hızlı ulaşmaları, KAB'ni ve KRB'ni aşabilmeleri, oral biyoyararlanımlarının yüksek olmasıdır. İnflamasyonun daha erken basamaklarını inhibe ederek non-inflamatuvar etkinlik sağlarlar (25, 27, 51, 189, 190, 194).

Günümüzde pek çok sentetik JAKinib vardır (25, 44, 45, 51, 114, 190). JAKiniblerin tarihsel gelişimi 2000'lerin başında bir tirozin kinaz inhibitörü olan imatinibin onkoloji alanında kullanılması ile başlamıştır (269). Daha sonra myeloproliferatif hastalıklarda V617F mutasyonu/JAK2 ilişkisinin keşfedilmesi özellikle JAK1/2 üzerine etkili ruxsolitinibin geliştirilmesini sağlamıştır (270). Bunu 1. nesil JAKinib'ler takip etmiştir (51) (Şekil 14).



Şekil 14. JAKinib'lerin tarihsel gelişimi (51).

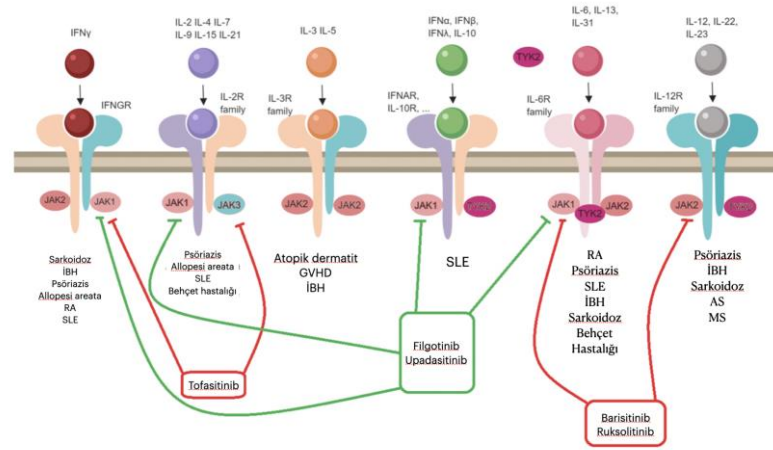
Tüm JAK'lara etkili birinci jenerasyon JAKinib'lerden sonra yan etkileri azaltmak ve istenilen tipe direkt etki sağlamak amacıyla selektif JAK tipine etkili ikinci jenerasyon JAKinib'ler geliştirilmiştir (25, 44, 45, 114) (Tablo 14, Şekil 15).

JAK izoformları arasında nokta mutasyonlar ile JAKinib'lere karşı, özellikle JAK2'ye, direnç gelişimi bildirilmiştir. Dirençten ikincil kinaz mutasyonu ve özellikle JAK/STAT yolağında fonksiyonel adaptasyon sorumludur (271). JAK/STAT yolağının fonksiyonel adaptasyonunda; bloke edilen JAK yerine diğer JAK'lar sinyalizasyonu üstlenir. Bu durum ilacın 2-4 hafta kullanılmaması ile geri dönüşümlüdür (272).

Tablo 14. Birinci ve ikinci jenerasyon JAKinib'ler, hedef JAK kombinasyonları, molekül ağırlıkları ve endike olduğu hastalıklar (25, 45, 47, 51, 114). (*): FDA onaylı, (**): JAK2 inhibisyonu ile etkili olabileceğini öne süren yayın mevcuttur (273).

JAKinib	Hedef JAK	Molekül ağırlığı (Dalton)	Endikasyon/Klinik Çalışma
Tofasitinib	JAK1/2/3	312.37	RA*, Psoriasis*, PsA*, UK*, AA*, AD*, JIA*, AS, SLE, AGVHD
Oklasitinib	JAK1/2	337.44	Köpekte alerjik dermatit
Barisitinib	JAK1/2	371.42	RA*, AD, Psoriasis, SLE, COVID-19**
Ruksolitinib	JAK1/2	306.37	Myelofibrozis*, PV*, Lösemi tipleri, solid organ tümörleri. RA, Psoriasis
Desermotinib	JAK3	392.38	RA, Psoriasis, UK
Pefisitininib	JAK3	326.39	RA, Psoriasis, UK
Filgotininib	JAK1/2	425.50	RA, Crohn Hastalığı, UK, AS, PsA
Fedratinib	JAK2	524.68	Myelofibrozis, PV, Primer trombositopeni
Momelitinib	JAK1/2	414.46	Myelofibrozis, PV
Lestaurtinib	JAK2	439.36	Myelofibrozis, Psoriasis, PV, Lösemi tipleri, MM
Gandotinib	JAK2	469.94	Myeloproliferatif Hastalıklar
Pakritininib	JAK2	472.58	Myelodisplastik Sendrom, Myelofibrozis, Lösemi tipleri
Upadasitinib	JAK1	380.37	RA*, PsA, AS, UK, Crohn Hastalığı, AD

RA:Romatoid Artrit, AA:Allopesi Areata, AD:Atopik Dermatik, AS:Ankilozan Spondilit, SLE:Sistemik Lupus Eritromatozus, UK:Ülseratif Kolit, AGVHD:Akut Graft Versus Host Disease, PV:Polisitemia Vera, MM:Multiple Myelom,



Şekil 15. JAKinib'lerin farklı JAK kombinasyonlarına etkisi ve ilişkili inflamatuvar hastalıklar, şematik gösterimi (274).

Tofasitinib öncelikle JAK3 inhibisyonu için üretilmek istenmiştir. Çünkü JAK3 non-immün organ ve dokuları minimal etkilemekte ve daha az yan etki yapacağı düşünülmektedir (46). Meyer ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise in vivo ve in vitro olarak tofasitinibin doza bağlı olarak antiinflamatuvar ve immünsupresif etkinliği gösterilmiş; non-selektif olarak belli oranlarda tüm JAK tiplerine etkisi olduğu bildirilmiştir. JAK inhibisyonu için gereken tofasitinib konsantrasyonunun yarısı (IC_{50}) JAK1, JAK2, JAK3 ve TYK2 için sırasıyla; 3.2 ± 1.4 , 4.1 ± 0.4 , 1.6 ± 0.2 ve 34 ± 6 nM aralığında bulunmuştur. Tofasitinib etkinliği şu şekilde sıralanabilir; $JAK3 > JAK1 > JAK2 > TYK2$ (48, 114).

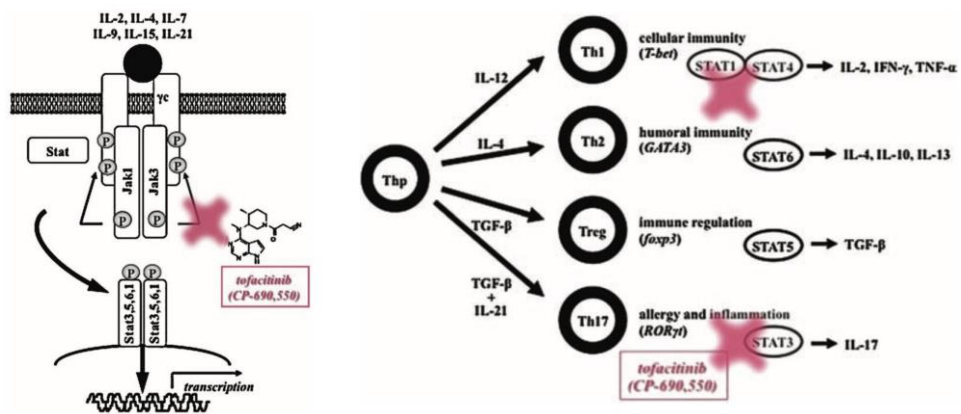
Tofasitinib, tüm diğer JAKinib'ler gibi ATP ile benzer yapıda olup hücre içine girerek JAK'ların kinaz bölgesindeki katalitik yarığa bağlanır; böylece JAK sinyal iletimi yolağını JAK fosforilasyonu noktasında değiştirerek, JAK'ın böylece STAT'ın aktivasyonunu da engeller. Bunun sonucunda, JAK'lar STAT'ları fosforile edemez, STAT'lar gen transkripsiyonunu aktive etmek üzere dimerize olamaz, hücre çekirdeğine doğru gidemezler, bu da proinflamatuvar sitokin üretiminin azalmasıyla sonuçlanır. Bu durum inflamatuvar yanıtı ve buna sekonder doku yıkımını engeller (26, 46).

İnflamasyonda önemli olan γ -zincirli sitokinlerin sinyalizasyonundan sorumlu olan JAK1/JAK3 kombinasyonu tofasitinibin temel hedefi olup, bu kombinasyon inflamasyon ve immün yanıtta önemli IL-6, IFN α ve IFN γ başta olmak

üzere pek çok sitokinin (IL-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-11, IL-15, IL-21, IL-27) hücre içine iletiminde önemlidir (25-27, 49, 114). Tofasitinibin sitokin dengesi üzerine olan etkisi ile ilgili çalışmaların sonuçlarına göre (49, 275-278) (Şekil 16);

- IL-2/STAT5 yolağını bloke ederek T hücre proliferasyonunu azaltır.
- JAK1/3 üzerinden γ -zincirli sitokinlerin üretimini bloke eder.
- Özellikle STAT1, tofasitinibe daha duyarlıdır. STAT1 üzerinden, IL-6, IL-12 ve IFN γ sinyalizasyonunu bozar; Th1 farklılaşmasını bloke eder.
- IL-4, Th2 farklılaşmasını JAK1/3 üzerinden gerçekleştirmektedir. JAK1/3'ü bloke ederek Th2 farklılaşmasını bloke eder.
- Th17 farklılaşmasında IL-6/ TGF- β /IL-23 önemli rol oynamaktadır. Tofasitinib, IL-6 ve IL-23 üzerinden Th17 farklılaşmasını bloke eder.
- STAT1, IL-10 gen ekspresyonunda negatif yönde regüle eder. Tofasitinib ile STAT1 bloke edilir ve IL-10 artar.
- IL-15 düzeyi azalır.

İnflamasyonda JAK3/STAT1,3,5,6 etkileşimi önemlidir. STAT1 ile Th1 üzerinden IFN- γ , STAT3 ile Th17 üzerinden IL-17, STAT5 ile TGF, STAT6 ile Th2 üzerinden IL-4 üretilir. Tofasitinib ile tüm bu sitokinlerin azalması ve özellikle IFN- γ ve IL-17 azalması ile inflamasyon kontrolü hedeflenmektedir (26).



Şekil 16. Tofasitinib etki mekanizması ve Th yolları üzerine etkisi (26).

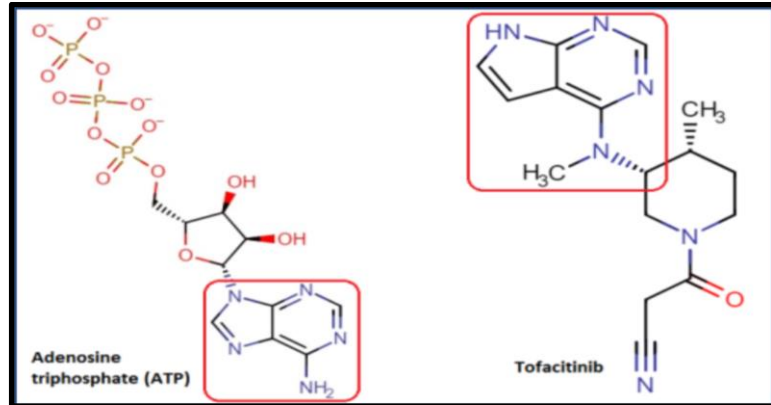
İn-vitro çalışmalarda CD4⁺ T hücre serilerine tofasitinib eklenmesi ile; lenfosit proliferasyonu azalır, IL-17 ve IFN- γ düzeyleri in vivo/in vitro azalırken,

IL-6 ve IL-8 düzeyleri in vitro değişmemiştir ancak in-vivo olarak IL-6 ve IL-8'in de azaldığı görülmüştür. Bu da tofasitinibin Th1/Th17 proliferasyonunu engelleyerek dolaylı olarak IL-6 ve IL-8 düzeylerinde azalmaya yol açtığını düşündürmektedir. Bu indirekt etki IL-2 üzerinden olabilir (26, 275, 276).

Dowty ve ark. çalışmasında; tofasitinib dozu ile JAK1/3/pSTAT5-aracılı IL-15, JAK1/2/ TYK2/pSTAT1-aracılı IL-6'nin CD8 T hücrelerinde düzeyi ve monositteki JAK2/2/pSTAT5-aracılı GM-CSF düzeyi arasındaki ilişkiyi hayvan artrit modelinde göstermişlerdir. Tofasitinib, JAK1 heterodimerlerine, JAK2 homodimerine göre daha çok etki etmiştir. Etkisi doz bağımlıdır (279).

2.7.1. Kimyasal-fiziksel özellikleri

Tofasitinibin yapısında bulunan deazapürin fonksiyonel grubu ile ATP'de bulunan pürin bazı birbirine benzerdir (Şekil 17). Bu benzerlik sayesinde tofasitinib, ATP bağlanma bölgesine geri dönüşümlü olarak bağlanır. ATP'nin bağlanamaması sonucunda JAK'lar aktive olamaz, sinyali çekirdeğe iletecek STAT'lar aktif hale gelemez (25, 27, 190).



Şekil 17. Adenozin trifosfat ve tofasitinib yapısı.

doz yarıya düşölerek günde 5mg olarak dölzenlenir (30, 283). Atılımı ise %80 ürün, %20 feçes ile gerçekteşir (280, 281).

Gölvenlik: tofasitinibin gölvenliğı diğler biyolojik ajanlara benzer gölrölnmektedir (284). Enfeksiyon riskinde artış (özellikle fırsatçı enfeksiyon ve herpes zoster), gastrointestinal sistemde perforasyon riskinde artış, karaciğler fonksiyon testi anormallikleri, klinik kullanımda hematolojik anomaliler (nötropeni, lenfopeni, trombositopeni), venöz tromboz, hiperlipidemi, serum kreatinin artışı konusunda hastalar izlenmelidir (27, 30, 51, 280, 283, 285, 286). Hiperlipidemi nedeni ile artan kardiyovasküler hastalık riski, ilacın inflamasyonu azaltıcı etkisi nedeni ile dengelenmektedir (51, 284).

Tofasitinib tedavisi alan hastalarda nötrofil sayısında düşmeye bağılı olarak bildirilen en yaygın yan etki enfeksiyon sıklığında artıştır (51, 283). En sık bildirilen enfeksiyonlar sırasıyla; % 4, % 3 ve % 2 sıklık ile üst solunum yolu enfeksiyonu, nazofarenjit ve idrar yolu enfeksiyonudur. Yan etki sıklığı doz ile artış göstermektedir (47, 282, 283, 285, 287). Bechman ve ark.'nın bildirdikleri meta-analiz sonuçlarına göre; klinikte kullanılan JAKinib'leri (tofasitinib, barisitinib, upadasitinib) kullanan hastalarda, plasebo grubuna göre daha sık ancak yine düşük oranda ciddi enfeksiyon (ölüm, hospitalizasyon, intravenöz antibiyotik kullanımı) gölrölümüştür. JAKinib ilişkili enfeksiyonlardan en karakteristik olanı VZV reaktivasyonu olup; plaseboya göre daha sık Herpes Zoster bildirilmiştir (en sık barisitinib) ancak ajanlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (288). Tofasitinib, yüksek dozlarda, özellikle kan serilerinin üretiminde görev alan JAK2 homodimerinin sinyalizasyonunu da inhibe ettiğı için anemi ve sitopenilere yol açabilmektedir. Doz arttıkça anemi gölrölme riski de artmaktadır (47, 51, 283, 285). Ancak bu oran oldukça düşük olup hastaların %8'inde gölrölür ve plasebo grupları ile anlamlı bir farklılık göstermemiştir (45). Lenfosit sayısı 500 hücre/mm³'ten az, mutlak nötrofil sayısı 1.000 hücre/mm³ veya 9g/dL'den düşük hemoglobin seviyesine sahip hastalarda tedaviye başlanmamalıdır. Tofasitinib ağır karaciğler yetmezliğı olan hastalarda kullanılmamalıdır (%70 karaciğerde metabolize olmaktadır.). Ek olarak, güçlü CYP3A4 indükleyicileriyle birlikte yapılan tedavi, ilaç etkileşimleri nedeni ile tofasitinibin klinik yanıtının kaybolmasına veya azalmasına neden olabileceğinden dikkatli olunmalıdır (47, 51, 283, 285).

Tofasitinib tedavisinin gebelik kategorisi C'dir. Tofasitinibin anne sütüne geçip geçmediği bilinmemektedir. Ciddi yan etki riski olasılığı nedeniyle hem anne hem de bebek için risk ve faydaların dikkatlice göz önünde bulundurularak karar verilmesi gerekir. Pediyatrik hastalarda ise güvenliği ve etkinliği henüz belirlenmemiştir (283).

Tofasitinib tedavisinde 65 yaş ve üstü hastalar için doz ayarlaması gerekmez ancak klinik çalışmalarda artmış bir enfeksiyon riski ve insidansı gözlemlendiğinden 65 yaş üstü hastaları tedavi ederken dikkatli olunmalıdır (51, 283).

2.7.3. Tofasitinib ve üveit

Tofasitinib (Xeljanz®, Pfizer, Inc., New York City, NY), 5/10 mg hemen salınan film kaplı tabletlerde 28/60/180'lik formlarda mevcuttur. Ayrıca uzamış salınımlı ve 11 mg etken madde içeren formu da vardır (Xelijanz Extended-ReHer). 5 mg tablet, 5 mg tofasitinib sitrat'a eşdeğerdir ve mikrokristalli selüloz, laktoz monohidrat, kroskarmeloz sodyum, magnezyum stearat, HPMC, titanyum dioksit, makrogol ve triasetin içerir (283).

Tofasitinib, RA için FDA ve Avrupa ilaç ajansı tarafından onaylıdır. Onun dışında pek çok immün aracılı durumda (JİA, AS, Psöriazis, PsA, İBH, vitiligo, AA, AD, transplant rejeksiyonu, SLE, Sjögren, MS, diyabetik nefropati, kardiyovasküler hastalıklar) umut verici bir tedavi seçeneğidir (51, 114, 283).

Tofasitinibin sistemik kullanımının üveit üzerine etkinliğini gösteren yayınlanmış herhangi bir deneysel çalışma mevcut olmamakla birlikte literatürde refraktör üveit/skleritte kullanımı ile ilgili olgu bildirimi, JİA ilişkili üveit ve KMÖ'ye olan etkisini gösteren olgu bildirimi ve JİA üzerine etkinliğini gösteren olgu serisi bildirilmiştir (32, 33, 274, 289). 'ClinicalTrials'ta yer alan 'İnflamatuvar Göz Hastalıklarında Tofasitinib' adlı Faz 2 çalışma, 5 hasta ile yapılmakta olup Aralık 2020'de sonlandırılacaktır (NCT03580343).

Tofasitinibin topikal uygulamada farklı dozajlarının, PDSAg/DOİÜ modeline olan etkisi sistemik CsA (20mg/kg) ile karşılaştırılmış; kontrol grubuna göre anlamlı olarak etkin iken inflamasyonu baskılamada CsA'dan üstün bulunmamıştır (36).

Kuru göz için topikal kullanımında etkinliği deneysel olarak gösterilmiştir (34, 35). Tofasitinib verilen grupta konjonktival TNF α , IL-23 ve IL-17A düzeylerinin azaldığı izlenmiştir (35). Klinik çalışmada ise CsA ve plaseboya karşı farklı dozlarda klinik olarak test edilmiş ve etkin bulunmuştur (290, 291).

Tofasitinib gibi birinci jenerasyon JAKinib olan barisitinib; müköz membran pemfigoid nedeni ile takipli hastada, MTX ve KS ile kombine kullanımda etkili olarak bildirilmiştir (292). Ayrıca pediatrik üveit üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma devam etmektedir (NCT04088409). İkinci jenerasyon JAKinib olan filgotinibin NİÜ tedavisi için Faz 2 plasebo-kontrollü çalışma da devam etmektedir (NCT03207815).

Günümüzde JAKinib'ler dışında da üveit üzerine etkinliği araştırılan KMI'ler mevcuttur. Örnek verilecek olursa; intraperitoneal uygulamada α -4 integrin inhibitörü (α -4-api) (293), Adenozin monofosfat ile aktive protein kinaz (AMPK) analog/aktivatörü (AICAR) (294, 295); intravenöz olarak STAT3 inhibitörü (ORLL NIH001, CQMU151/152) (296, 297); intravitreal ve/veya oral olarak aldoz redüktaz inhibitörü (ARI) (BF5m) (298), dihidroorotat dehidrojenaz (DHODH) inhibitörü (PP-001)) (299, 300), PDE4 inhibitörü (apremilast) (NCT00889421 2009-2014), mTOR inhibitörü (sirolimus) (206, 301), Sfingozin-1-P (S1P) antagonisti (fingolimod) (302) ve protein kinaz C inhibitörü (sotrastaurin) (303) sayılabilir. Tüm bu ajanlar farklı noktalar üzerinden etkinlikleri ile üveit tedavisinde etkili, hedefe yönelik tedavi alternatifi olmaya adaydır.

Yapılan bu çalışmada; temini ve bakımı kolay olan Wistar sıçanlar ile oluşturulabilen ve BÜ'ne benzer bir panüveit tablosu oluşan DOİÜ modeli tanımlanması ve bu modelde sistemik tofasitinib kullanımının inflamasyon bulgularının giderilmesi üzerine etkinliğinin ve güvenilirliğinin, histolojik veriler ve sitokin düzeyleri üzerinden gösterilmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız randomize çift kör plasebo kontrollü prospektif deneysel çalışma olarak planlandı. Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 06/05/2019 tarih ve 37.2019.mar protokollü izni ile Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji&Embriyoloji ve Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalları iş birliği ile Göz Hastalıkları Kliniği'nce gerçekleştirildi.

Çalışmada 19 adet albino Wistar sıçan kullanılmış olup çalışma sırasında, "Association for Research in Vision and Ophthalmology" (ARVO) organizasyonunun daha önce tanımladığı "Ofthalmik Araştırmalarda Hayvanların Kullanımı Bildirgesi"ne uygun hareket edildi.

Denekler Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (DEHAMER) Laboratuvarı'nda uygun beslenme şartlarından temin edildi ve çalışma süresince DEHAMER'de tutuldu.

Hayvanlar, kontrollü nem ve sıcaklık koşulları altında ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$) gıda ve su ad libitumu olan standart bir kafese yerleştirildi. Kafeslere hayvan refahı için üçten fazla sıçan konulmadı. Sıçanların bulunduğu oda, her 12 saatte bir otomatik olarak açılan ve kapatılan floresan lambalarla aydınlatıldı (sabah 7 ile akşam 7 arası).

3.1. Denekler ve Gruplar

Çalışmada 90-180 gr, 19 adet (10 dişi/9 erkek) 6 haftalık albino Wistar sıçan kullanıldı. Denekler randomize edilerek ve üveit gruplarında 5'er sıçan, Wistar sıçanların bazal sitokin değerlerini tespit edebilmek için kontrol grubunda 2 sıçan (1 dişi/1 erkek) olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

Salt Tofasitinib'in retinal doku üzerine olan etkisini gözlemleyebilmek ve güvenilirliğini değerlendirmek için 2 sıçana (1 dişi/1 erkek) ise sadece oral tofasitinib verildi (Tablo 15).

Tablo 15. Çalışmaya dahil edilen grupların özellikleri. (-): Uygulanmadı.

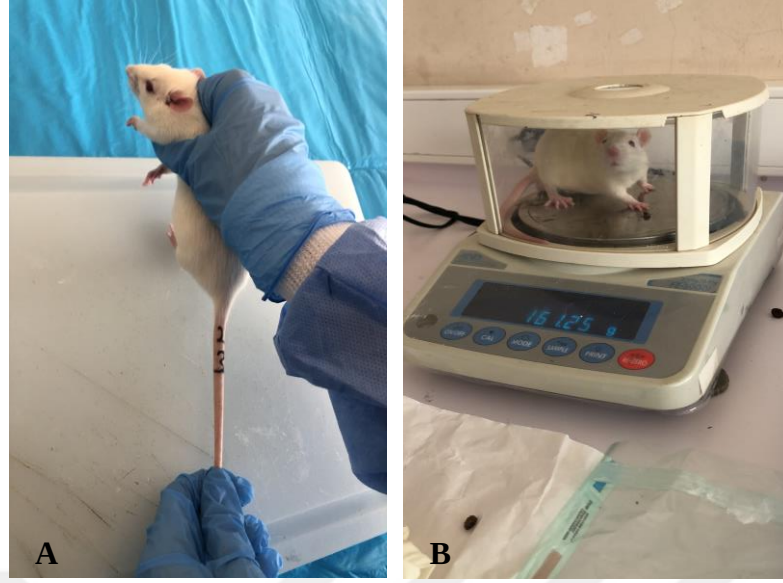
Grup Adı	Dişi sıçan sayısı	Erkek sıçan sayısı	İmmünizasyon	Gavaj
Sağlıklı kontrol	1	1	-	-
Hasta kontrol	3	2	PDSAg	-
Sham kontrol	2	3	PDSAg	Salin
Tedavi	3	2	PDSAg	Tofasitinib

PDSag: Peptid Derive S Antijen.

Cinsiyetlerine uygun olarak kafeslere alınıp, gruplarına göre kuyruklarından numaralandırma yapıldı. 8 kafesin 5'ine 2'ser, 3'üne 3'er sıçan konuldu. Aynı kafeste farklı gruptan sıçanlar olmasına dikkat edildi (Şekil 19A). Wistar cinsi sıçanlarda oluşturulan DOIÜ modelinde cinsiyetin etkisi ile ilgili veri olmadığı için her iki cinsiyetten sıçanlar gruplara homojen olarak dahil edilerek cinsiyete göre dağılım, tüm parametreler açısından değerlendirildi.

Üveit gelişiminin tartı üzerine olan etkisini gözlemlemek amacı ile; çalışma öncesinde, çalışmanın 14. gününde ve sakrifikasyondan 1 gün önce (34. gün) deneklerin vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildi (Şekil 19B).

Günlük olarak sıçanların davranış paternleri not edildi. Tüm müdahaleler aynı saatte aynı araştırmacı (B.Y.) tarafından gerçekleştirildi. Sıçanlarla ilişkili tüm işlemler cerrahi önlük ve eldiven ile uygulandı, sıçanların çevresel şartlardan etkilenme ihtimali minimumda tutulmaya çalışıldı.

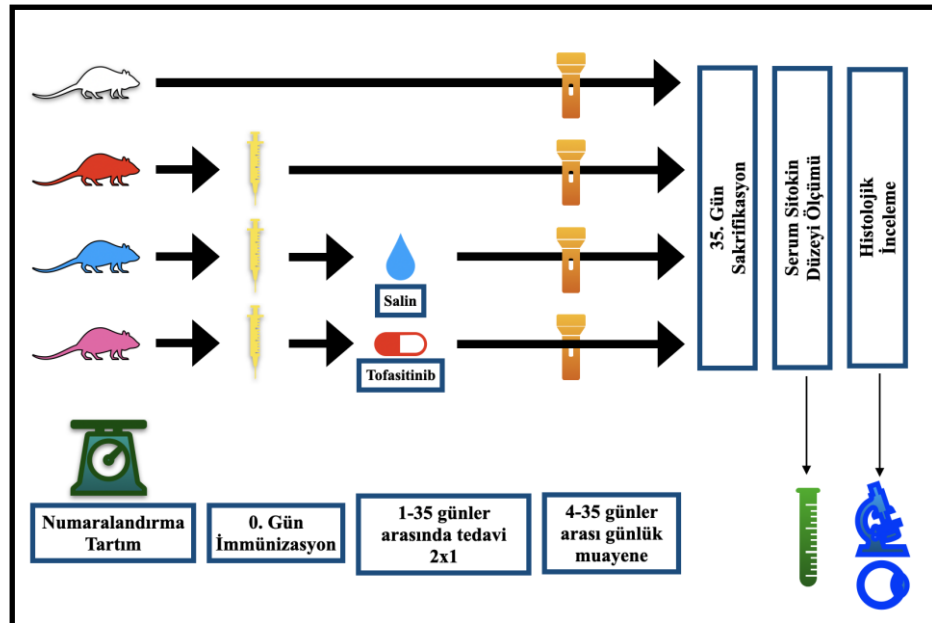


Şekil 19. Çalışmaya başlarken sıçanlara yapılan işlemler. A) Sıçanların kuyruklarından ilk olarak bulunduğu grup, ikinci olarak gruptaki sırası olmak üzere numaralandırılması; B) Sıçanların başlangıç tartımlarının alınması (daha sonra takip (14. gün) ve final tartımları da alındı).

Çalışmanın başladığı gün (0. gün) sağlıklı kontrol grubu dışındaki tüm sıçanların daha sonra açıklanacağı şekilde immünizasyonu yapıldı. Sıçanların günlük ön segment muayenesi aynı araştırmacı (B.Y.) tarafından daha önce tanımlanan klinik evrelere (91) uygun olarak dördüncü günden itibaren günlük olarak kaydedildi. Üveit evresi izlendikten sonra günlük olarak aynı araştırmacı (B.Y.) tarafından fotoğraflandı. Uygulanan akış şeması aşağıda belirtilmiştir (Şekil 20);

- 6 haftalık 19 adet sıçan seçilmesi
- Tüm sıçanların başlangıç tartılarının alınması, tartıları gruplar arasında dengeli olacak şekilde grupların belirlenmesi ve gruplarına uygun olarak kuyruktan numaralandırılması
- Dişi/erkek farkı gözeterek; farklı gruplardan sıçanlar aynı kafeste olacak şekilde; kafeslere minimum 2 maksimum 3 sıçan konulması
- Sağlıklı kontrol grubu hariç tüm sıçanların daha sonra açıklanacağı şekilde immünizasyonu (0. gün)
- Birinci günden itibaren gavaj yardımı ile sham kontrol grubuna serum fizyolojik (0.5cc), tedavi grubuna tofasitinib (0.5cc) verilmesi

- Dördüncü günden itibaren ışık kaynağı ile günlük muayene yapılarak klinik skorun kaydedilmesi
- Ondördüncü günde ve 35. günde takip ve final tartılarının alınması ve kaydedilmesi
- Otuzbeşinci günde daha sonra açıklanacağı şekilde sıçanların sakrifikasyonu
- Sakrifikasyonu takiben;
 - Kalpten kan alınıp santrifüj edilerek (15dk, 1000g) ayrılan plazma örneklerinden ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) testi ile belirlenen sitokinlerin plazma düzeylerinin saptanması
 - Enükleasyon yapılan globların kriyokesit alınmak üzere -80 ° C'de saklanıp, kriyotomda (Leica, CM1950) 8 µm'lik kesitler alınması, alınan kriyokesitlerin hematoksilin eosin (H-E) ile boyandıktan sonra fotoğraflanması
- Klinik skora, histolojik skora ve sitokin düzeylerinin kaydedilmesi



Şekil 20. Tüm gruplara uygulanan işlemler, şematik gösterimi.

3.1.1. Sağlıklı kontrol grubu (üveit-/tedavi-)

Bu gruptaki sıçanlarda üveit modeli oluşturulmadı. ‘*Outbred*’ bir suş olan Wistar sıçanlar ile ilgili bazal sitokin değerleri bilmediği için sağlıklı kontrol grubu oluşturulmuştur.

3.1.2. Hasta kontrol grubu (üveit+/tedavi-)

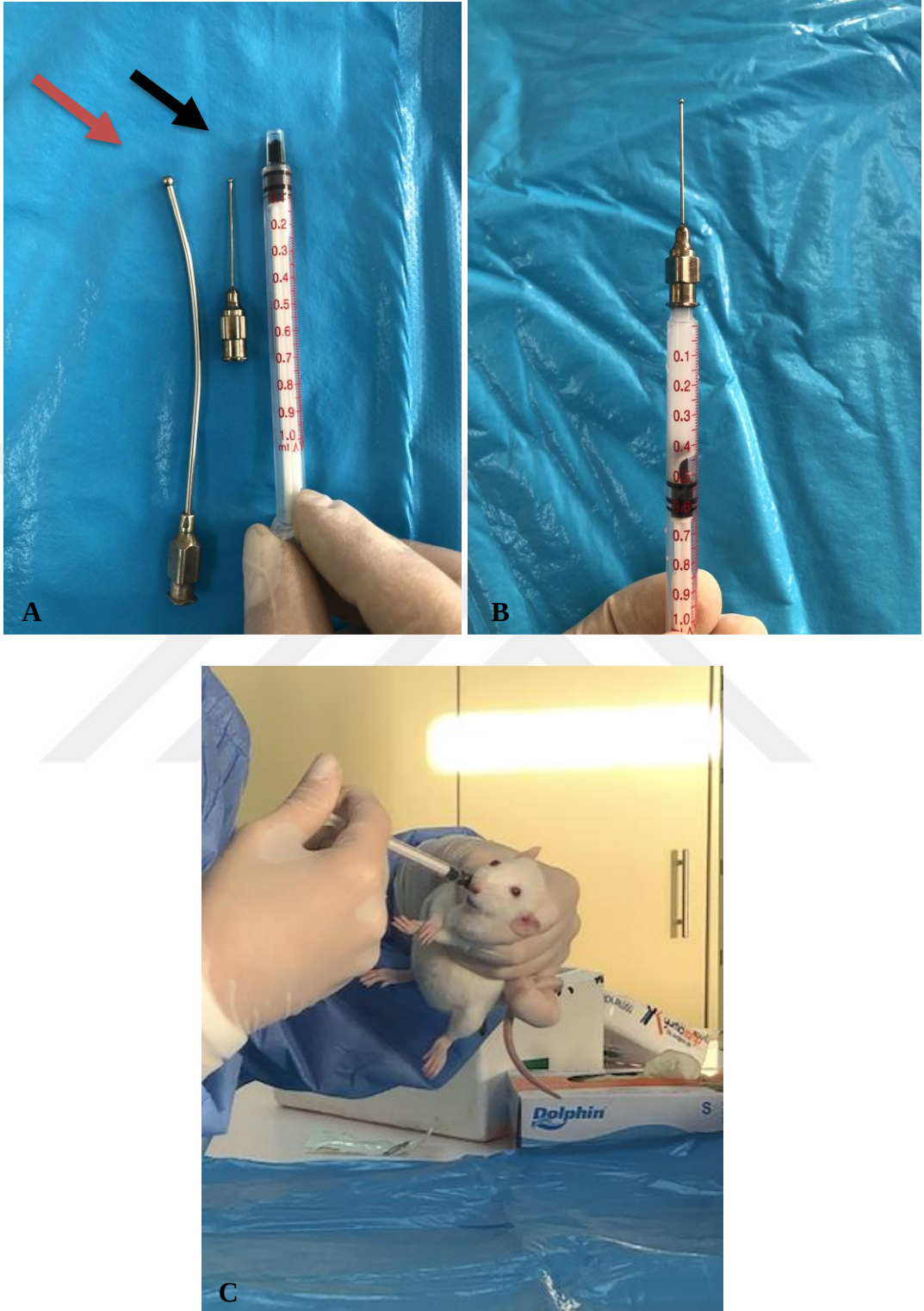
Bu gruptaki sıçanlarda üveit oluşturuldu ancak herhangi bir tedavi uygulanmadı.

3.1.3. Sham kontrol grubu (üveit+/salin+)

Sham kontrol grubundaki sıçanlara tedavinin uygulanma yolunun (gavaj) yaratacağı stresin, sonuçlar üzerine olası etkisini gözlemleyebilmek amacı ile aynı araştırmacı tarafından (B.Y.), 1. günden başlayarak hergün; günde 2 kez olacak şekilde gavaj ile salin (%0.9 izotonik) solüsyonu (0.5cc) verildi.

3.1.4. Tedavi grubu (üveit+/Tofasitinib+)

Tedavi grubundaki sıçanlara ise günde 2 kez olacak şekilde gavaj ile 5mg/kg tofasitinib solüsyonu (0.5cc) verildi (Şekil 21). RA’da FDA onayı olan tofasitinibin daha önceki çalışmalarda gösterilen etkin dozları dikkate alınarak çalışmadaki dozu 5mg/kg olarak 2x1 şeklinde tercih edildi (27, 285, 287, 288).



Şekil 21. Sıçanlara gavaj ile tofasitinib verilmesi. A-B) Sıçan boyutuna göre farklı boy metal gavajlar (kırmızı ve siyah oklar); C) Günlük olarak hazırlanan tofasitinib solüsyonunun metal gavaj yardımı ile sıçana uygulanması.

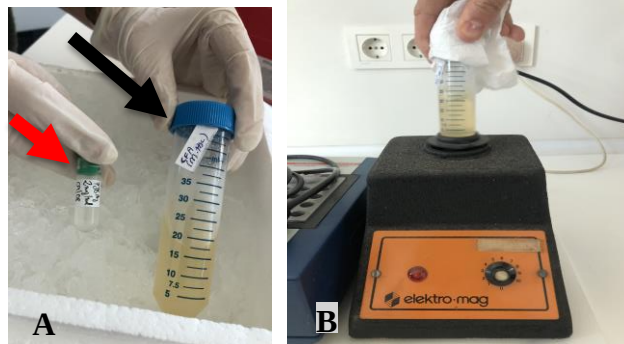
3.2. DOIÜ İndüklenmesi

İnsan RSA'dan derive edilmiş formu şeklinde PDSAg (aa: 341– 354, FLGELTSSEVATEV) kullanıldı. Deneklerin immünizasyonu, daha önce Wildner ve ark.'nın (299) tarif ettiği şekilde; her iki arka bacağı subkutan olarak (50µl/tafa) totalde 15 µg PDSAg ve *Mycobacterium tuberculosis* içeren CFA (H37RA-2.5 mg/mL (Becton-Dickinson Co., Heidelberg, Germany) ile hazırlanmış, 100µl karışım, 0.01ml/1ml sikonsuz steril enjektör (Inject-F 1ml, Braun®) ile uygulanması şeklinde gerçekleştirildi.

3.2.1. İmmünizasyon solüsyonunun hazırlanması

PDSAg (aa 341– 354) ve *Mycobacterium tuberculosis* içeren CFA (H37RA-2.5 mg/mL (Becton-Dickinson Co., Heidelberg, Germany)), karışım hazırlanmasında kullanılabana kadar -80°C'de muhafaza edildi.

İmmünizasyonun uygulanacağı gün +4°C'ye alınarak sıvı faza geçmeleri beklendi (Şekil 22A). Kullanılmadan önce CFA içerisinde bulunan *Mycobacterium tuberculosis*'in dağılması için vorteks (Elektro-mag) kullanıldı (basil tüpün altına çökme eğiliminde olduğu için öncesinde karıştırılması önerilmektedir) (Şekil 22B).



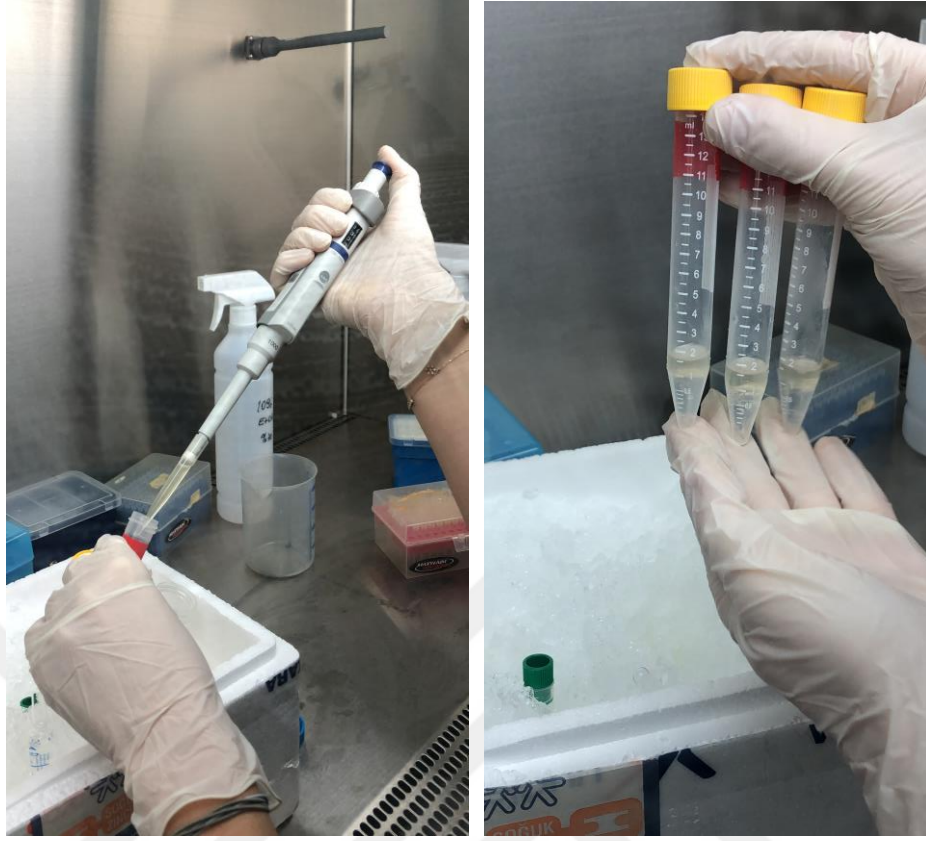
Şekil 22. İmmünizasyonda kullanılan solüsyonlar. A) Kuru buzda muhafaza edilen PDSAg (kırmızı ok) ve CFA (siyah ok) solüsyonları; B) CFA içerisindeki *Mycobacterium tuberculosis*'in dağılması için yapılan karıştırma işlemi.

İmmünizasyon yapılacak olan 15 sıçan için gereken solüsyon miktarı hesaplandı ve önerilen şekilde, %20 fazla sıçana uygun olacak şekilde hazırlandı (9) (Şekil 23). 15 sıçan için 18 sıçana uygun miktar hesaplandı. $18 \times 100 = 1800 \mu\text{l}$ solüsyon; 1: 1 oranında PDSAg:CFA için;

- $18 \times 15 = 270 \mu\text{g}$ PDSAg gerekmekte idi.
- Elimizdeki 2mg/ml PDSAg çözeltisinden $135 \mu\text{l}$ PDSAg çözeltisi alındı.
- $900 \mu\text{l}$ 'ye tamamlamak için $765 \mu\text{l}$ salin eklendi.
- $900 \mu\text{l}$ CFA ile karıştırıldı

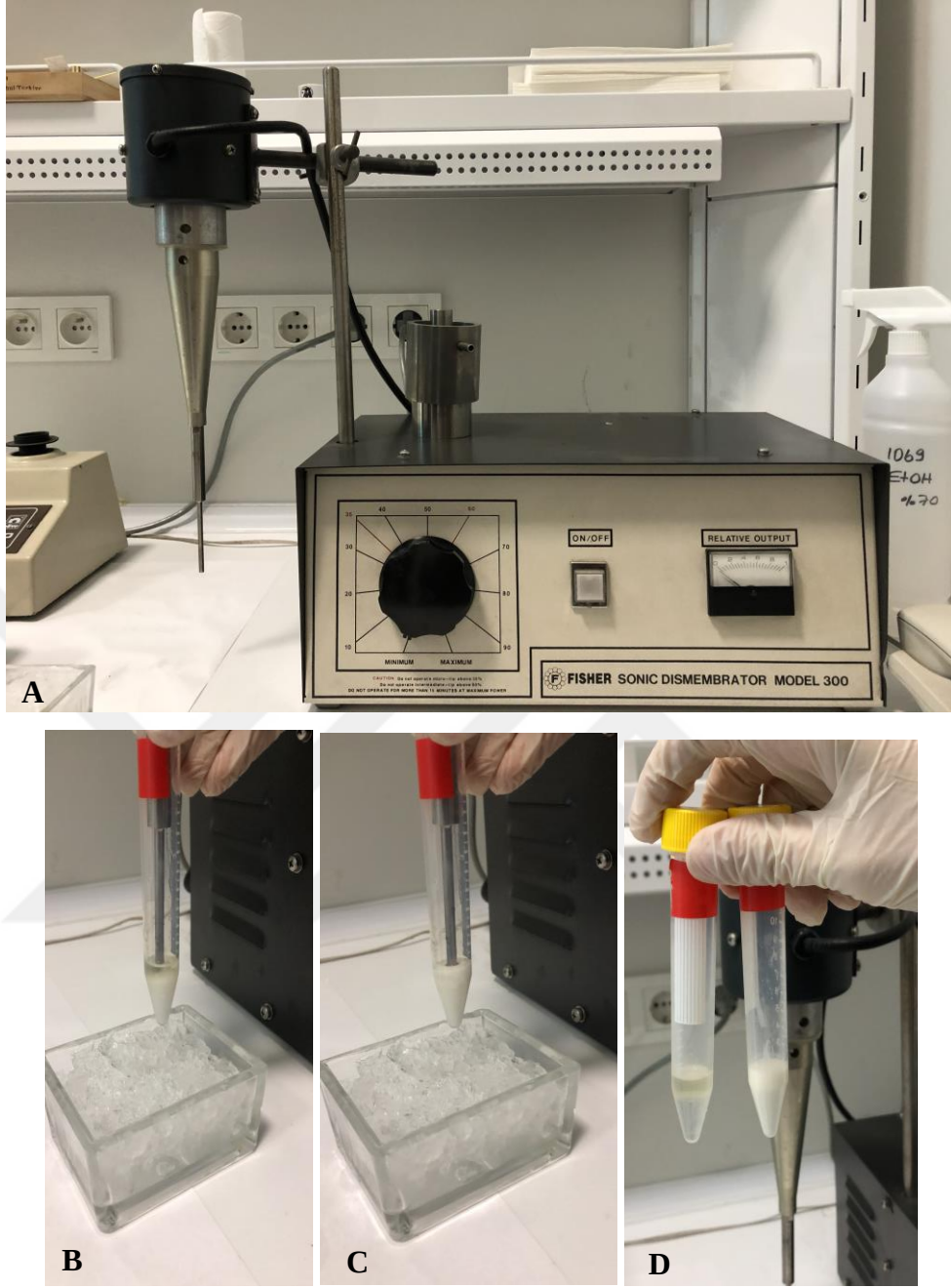
2ml'lik pipetler ile kabin içinde ve steril şartlarda hesaplanan miktarlar alınarak, ayrı ayrı 10cc'lik tüpe alındı.





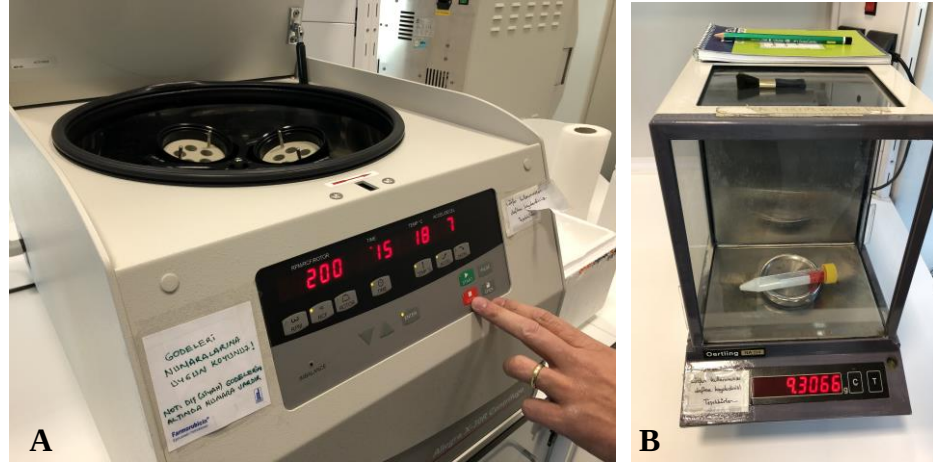
Şekil 23. PDSAg/CFA solüsyonunun hazırlanması.

Sıvı-lipit karışımı sağlanması için literatürde de stabil karışım için önerildiği gibi sonikatör (Fisher, model 300) kullanıldı (9). Kuru buz içinde bulunan karışım 20sn. sonikatörde karıştırıldı. Sonikatörün probu karışımın içinde dolaştırıldı ve süt kreması kıvamına gelmesi beklendi (Şekil 24).



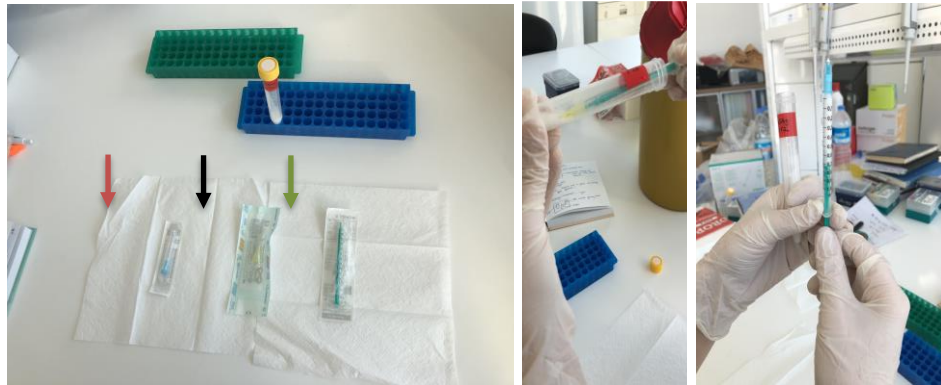
Şekil 24. Kuru buzda muhafaza edilen PDSAg/CFA karışımının hazırlanması. A) Sonikatör; B-C-D) Süt kreması fazına gelmesi.

Hazırlanan karışım 1dk. 200G (1000 rpm, H2000 rotor) ile santrifüj edildi. Eşdeğer ağırlıktaki karışım için hassas tartım yapıldı (Şekil 25).



Şekil 25. PDSAg/CFA karışımının hazırlanması. A) PDSAg/CFA karışımı santrifüj edilmesi; B) Hassas tartım yapılması.

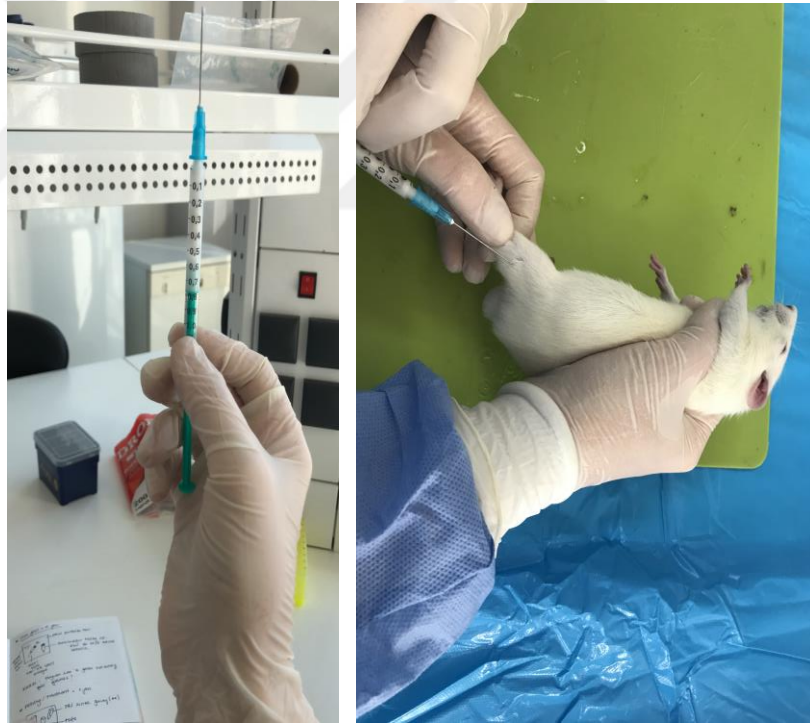
Hazırlanan karışım, 19G sarı uçlu enjektör yardımı ile 0.01ml/1ml sikonsuz steril enjektöre (Inject-F 1ml, Braun®), içinde hava kalmayacak şekilde çekildi, hava kabarcığı görülmesi halinde işlem en baştan tekrar edildi ve hava kalmadığından emin olundu. Hazırlanan karışım enjekte etmeye hazır hale getirildi. Karışımın içindeki CFA (lipit fazda) nedeni ile daha önce tarif edilen şekilde sikonsuz, cam enjektör tercih edildi (9) (Şekil 26). İmmünizasyon solüsyonunun hazırlanmasındaki tüm aşamalar aynı araştırmacı (B.Y.) tarafından gerçekleştirildi.



Şekil 26. DOİÜ modeli oluşturmak için enjekte edilecek karışımın hazırlanması. Mavi uç (kırmızı ok), 19G sarı uç (siyah ok) ve sikonsuz enjektör (yeşil ok).

3.2.2. PDSAg/CFA karışımının deneklere uygulanması

Hazırlanan silikon içermeyen enjektörler ve üveitojenik karışımı içeren tüp, deneklere uygulanmak üzere kuru buz ile DEHAMER'e taşındı. Daha önce gruplara ayrılan deneklerden immünizasyon uygulanacak olan hasta kontrol, sham kontrol ve tedavi grubuna her iki arka bacağa 50µl/taf olarak şekilde 23G mavi uçlu enjektör yardımı ile subkutan olarak totalde 100µl/sıçan üveitojenik karışım enjekte edildi. İşlem sırasında sıçanlara herhangi bir anestetik verilmesine ihtiyaç duyulmadı. İmmünizasyon sırasında bir araştırmacı sıçanı sabitlerken (B.Y.), diğer araştırmacı da belirlenen dozda karışımı subkutan olacak şekilde, tüm sıçanlara eşit dozlarda uyguladı (H.Ç.A.). İşlem sonrası sıçanlar olası ani allerji/yan etki açısından gözlendi, hiçbir sıçanda allerji/yan etki gelişmedi (Şekil 27).



Şekil 27. PDSAg/CFA karışımının sıçanlara uygulanması.

3.3. Tedavi Uygulanması

Sham kontrol grubu ve tedavi grubunun gavajlarına, immünizasyon işleminin stresinin denekleri etkilememesi amacı ile immünizasyondan bir gün sonra (1. gün) başlandı. Sham kontrol grubundaki sıçanlara, gavaj yardımı ile salin infüzyonu verilirken, tedavi grubundaki sıçanlara ise 5mg/kg dozunda tofasitinib solüsyonu 12 saat ara ile (sabah 07:00, akşam 19:00) günde 2 kez, aynı araştırmacı (B.Y.) tarafından verildi. Tofasitinib'in retina üzerine salt etkisini değerlendirmek için ise 2 sıçana tedavi grubu ile aynı şekilde 5mg/kg dozunda tofasitinib solüsyonu verildi.

Biyolojik sikluslarını bozmamak amacı ile tedaviler gündüz siklusunda uygulandı. İşlem için metal gavaj kullanıldı ve işlem sonrası denekler olası ani allerji/yan etki amacı ile izlendi. Herhangi bir allerji/yan etki gelişmedi. Prosedüre 35 gün boyunca devam edildi.

3.3.1. Tofasitinib solüsyonunun hazırlanması

Tofasitinib (Xeljanz[®], Pfizer, Inc., New York City, NY)'in 5 mg hemen salınan film kaplı 28'lik tablet formu Marmara Üniversitesi Romatoloji ABD'nden temin edildi. Bir tabletin içeriğinde 5mg eşdeğer tofasitinib sitrat mevcut olduğu bilgisi ile tablet, ilaç ezici ile toz haline getirildi. Tedavi uygulanacak olan deneklerin ağırlık ortalamalarına uygun olarak salin ile sulandırılarak tedavi çözeltisi günlük olarak aynı araştırmacı tarafından (B.Y.) hazırlandı. Homojen bir çözelti oluşturmak için çözelti vorteks (Electro-mag) ile karıştırıldı.

3.4. Klinik skorlama

Sıçanların gözleri 4. günden başlanarak deney bitimine kadar, günlük olarak kalem ışık ile günün aynı saatinde (akşam 18:00) aynı araştırmacı (B.Y.) tarafından

muayene edildi ve daha önce tarif edildiği gibi skorlanarak oluşturulan takip formuna kaydedildi (103) (Şekil 28).

Deney Adı:				Ratların Doğum Tarihi:				Deneyin Amacı:						
Başlangıç Tarihi:				Rat Sayısı:										
Rat Yaşı:														
Grup	Rat Numarası	Tarih	Gavaj (Tedavi)	Tarih	İmmünizasyon (Antijen)	Klinik Skor	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih	Tarih

Şekil 28. Günlük takip formu.

Klinik üveit skoru için sadece gözün ön segment bulgularını dikkate alan ve literatürde sıçan/DOIÜ modellerinde de sıklıkla kullanılan de Smet ve ark.'nın skorlaması tercih edilmiştir (98). Bu skorlamaya göre;

0 → İnflamasyon yokluğu

0.5 → Minimal iridosiklit, konjonktival hiperemi, genişlemiş iris damarları ve bulanık ön kamara nedeni ile puslu kırmızı refle alınması

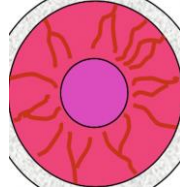
1 → Orta derecede iridosiklit, iris düzensiz, pupili çevreleyen infiltrasyon

2 → Belirgin iridosiklit, posterior sineşi ve fibrin nedeni ile pupiller blok

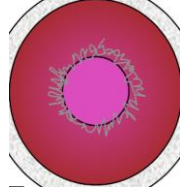
3 → Kırmızı refle alınması ve hipopiyon varlığı

4 → Korneal neovaskülarizasyon, ön kamarada hemoraji ve belirgin proptozis izlenmesi şeklinde sağ/sol göz ayrı ayrı günlük olarak değerlendirildi ve sonuçlar kaydedildi. Üveit bulguları izlendikten sonra ise deney protokolünün sonuna kadar

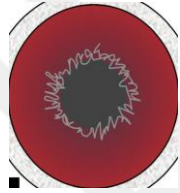
hergün fotoğraflandı (B.Y.). Aşağıda Prof. Dr. Gerhild Wildner*'in klinik sınıflandırma için kullandığı şematik çizimler yer almaktadır (Şekil 29).



Skor 0.5 → Genişlemiş iris damarları



Skor 1 → Peripupiller infiltrat



Skor 2 → Fibrin nedenli pupiller blok



Skor 3 → Hipopyon varlığı



Skor 4 → Hipopyon + Hemoraji varlığı

Şekil 29. Klinik skorlamada kullanılan Lewis sıçanlara ait ön segment şemaları ve farklı skorlar (G. Wildner).

(*): Prof. Dr. Gerhild Wildner, Münih Üniversitesi Göz Kliniği İmmünoloji Departmanı şefi olarak görev yapmaktadır.

3.5. Deneklerin Sakrifikasyonu

Denekler sakrifikasyon öncesindeki gün, sakrifikasyonun yapılacağı Marmara Üniversitesi Temel Tıp Bilimleri Anatomi Laboratuvarına transfer edildi. Sakrifikasyon işlemi için Amerikan Vetriner Tıp Derneği (AVMA)'nin önerilerine

uyuldu (304) Sakrifikasyon yüksek doz intraperitoneal anestetik verilerek (ketamin hidroksiklorid (100 mg/kg) ve ksilazin hidroksiklorid (5 mg/mL)) sağlandı. Ekstremitte çekme ve kuyruk kıştırma refleksleri takip edildi (Şekil 30).



Şekil 30. Yüksek doz anestetik maddedinin intraperitoneal verilmesi ile sıçanların sakrifikasyonu.

3.6. İmmünolojik Değerlendirme

Sitokin seçimi yapılırken göz önüne alınan faktörler Tablo 16’de özetlenmiştir.

Tablo 16. Çalışmaya dahil edilen sitokinlerin çalışma planındaki rolleri.

Sitokin	Üveit Gelişimi Aşamasındaki Hipotezler	Tofasitinib Tedavisinin Etkinliğini Göztermede Aşamasındaki Hipotezler
IL-6	Non-spesifik bir akut faz reaktanı olduğu için üveit durumunda inflamasyonu yansıtacağı düşünüldü.	JAK1/2/TYK2-STAT3/5 yolağını kullandığı için tofasitinib tedavisi ile fonksiyon gösteremeyerek IL-17 farklılaşmasında rol alamayacağı ve direkt/indirekt histolojik skorda azalma yaratcağı düşünüldü.
IL-10	Anti-inflamatuar etkinlikli Th2 yolağı sitokindir. Üveit durumunda inflamasyonu kompanse etmek için artacağı düşünüldü. Böylece üveitte Th2 grubu dolaylı olarak değerlendirildi.	JAK1/2/TYK2-STAT1/3/5 yolağını kullandığı için tofasitinib tedavisi ile fonksiyon gösteremeyeceği ve histolojik skorda artış yaratacağı düşünüldü.

Sitokin	Üveit Gelişimi Aşamasındaki Hipotezler	Tofasitinib Tedavisinin Etkinliğini Göztermede Aşamasındaki Hipotezler
IL-15	İnflamasyon durumunda arttığı bilinen immünmodülatör etkili bir sitokindir. Üveit durumunda artacağı düşünüldü.	Tofasitinibin asıl hedefi olan JAK1/3-STAT3/5 yolağını kullandığı için tofasitinib etkinliğini yansıtacağı düşünüldü.
IL-17	Üveit patogeneğinde Th1/Th17 karşıtlığı söz konusudur. Th17'yi temsil eden sitokin olarak üveit durumunda artacağı düşünüldü.	JAK/STAT yolağını kullanmasa da tofasitinib etkisi ile fonksiyon gösteremeyen IL-6 ve IL-23 nedeni ile patojenik özellik kazanamayacağı ve histolojik skorda azalma yaratacağı düşünüldü.
IL-23	İnflamasyon durumunda arttığı bilinen, hem Th1 hem Th17'den üretilen bir sitokindir. Üveit durumunda artacağı düşünüldü. Artışının IL-17 ile korele olması beklendi.	JAK2/TYK2-STAT3/4 yolağını kullandığı için tofasitinib tedavisi ile fonksiyon gösteremeyerek IL-17 farklılaşmasında rol alamayacağı ve direkt/indirekt histolojik skorda azalma yaratcağı düşünüldü.
IFN-γ	Üveit patogeneğinde Th1/Th17 karşıtlığı söz konusudur. Th1'i temsil eden sitokin olarak üveit durumunda artacağı düşünüldü.	JAK1/TYK2-STAT1 yolağını kullandığı için tofasitinib tedavisi ile fonksiyon gösteremeyerek histolojik skorda azalma yaratcağı düşünüldü.

Sakrifikasyon sonrası mediasten açıldı ve direkt kalpten alınan kan örnekleri denek numarasına göre kaydedildi ve santrifüj edilerek (15dk, 1000g) plazma ayrıldı. Ayrılan plazma örnekleri ELISA testi ile çalışılacakları zamana kadar -20°C'ye alındı. ELISA testleri için Bioassay Technology Laboratory (Shanghai Korain Biotech Co.) kit'leri kullanıldı, bu kitler sandviç ELISA tipinde kitler idi (Şekil 31).





Şekil 31. Direkt kalpten kan alınması ve plazmanın ayrılması. A) Sakrifikasyon sonrası mediasteninin açılması; B) Kalpten direkt kan alınması; C-F) Kan örneğinin santrifüj edilerek plazma elde edilmesi.

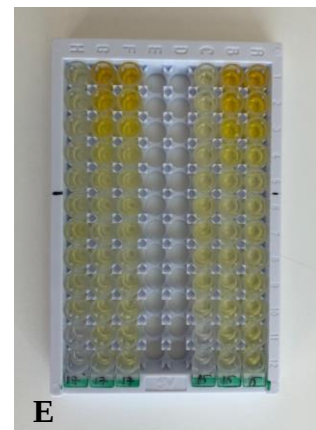
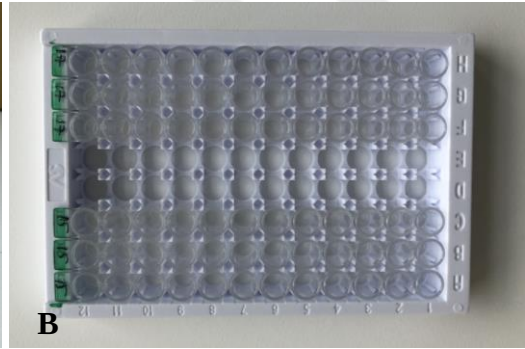
IL-6, IL-10, IL-15, IL-17, IL-23 ve IFN- γ düzeyleri kit kurallarına uyularak ELISA tekniği ile değerlendirildi. Sonuçlar IL-17 ve IL-10 için pg/mL, IL-6, IL-15; IL-23 ve IFN- γ için ise ng/L şeklinde verildi.

Kit içinden çıkan 96 kuyulu plate'ler ilgili proteine özgü monoklonal antikor ile kaplıydı. Çalışmaya başlamadan yarım saat önce tüm malzemeler oda sıcaklığına getirildi. Stok standart solüsyondan kit protokolüne uygun şekilde seri dilüsyonla 5 standart elde edildi. Her plate'te 2 blank, duplike şekilde çalışılacak 5 standart ve plazma örnekleri için kuyular belirlendi (Şekil 32).

1. Standartlardan her bir standart kuyucuğuna 50 μ L, çalışılacak plazma örneklerinden kuyulara 40 μ L eklendi. Örnek kuyularına plazmaya ek olarak 10 μ L IL-6, IL-10, IL-15, IL-17, IL-23 veya IFN- γ antikorları eklendi (kite özgül antikorlar).
2. Her bir standart ve örnek kuyusuna 50 μ L Streptavidin-HRP eklendi. Bu aşamaya kadar blank kuyularına herhangi bir solüsyon eklenmedi.

3. ELISA pleytinin üzeri kapatılıp +37°C'de 60 dakika inkübasyon yapıldıktan sonra kuyucuklar önerilen şekilde 5 kere yıkandı.
4. Her kuyuya 50 µL subtrat A solüsyonu ve ardından 50 µL subtrat B solüsyonu eklendi.
5. Plate kapatılıp karanlık ortamda +37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Kuyuların mavi renge döndükleri gözlemlenene kadar belli aralıklarla kontrol edildi.
6. Tüm kuyulara 50 µL Stop solüsyonu (asidik yapılı durdurma solüsyonu) eklendi, mavi rengin hemen sarıya döndüğü gözlemlendi ve 450 nm dalga boyunda Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) cihazında spektrofotometrik ölçüm yapıldı.
7. Fotometrik ölçüm sonrası kaydedilen değerler ile konsantrasyonu bilinen standart solüsyonlar için konsantrasyon eğrisi çizildi, bu eğrinin denkleminde yararlanılarak konsantrasyonu bilinmeyen örneklerin konsantrasyonu hesaplandı.

ELISA testi ile ilgili tüm prosedürler çift kör araştırmacılar (C.E., İ.P.) tarafından Tıbbi Biyoloji departmanında uygulandı.



Şekil 32. ELISA testi aşamaları. A) Kitin içerisinde bulunan solüsyonlar kullanım sırasına göre gösterilmektedir (Soldan sağa sıra ile; birincil antikor, Streptavidin-HRP, substrat A-B, Stop solüsyonu); B) Hazırladığımız plat'e konulan örnek, standart ve streptavidin-HRP sonucu elde edilen görüntü; C) Yıkamalar sonrasında eklenen kolorimetrik substrat solüsyonu sonucu Streptavidin-HRP kompleksinin renk değişim başlangıcı; D) 10 dakika inkübasyon sonucu renk değişiminin artışı; E) Stop solüsyonu eklendikten sonra ölçüme gidecek plate'in son hali.

3.7. Gözlerin Enükleasyonu

Enükleasyon işlemi için, metil bütan dolu tüpe girebilmesi için 2x2 cm boyutunda mantar plaklar hazırlandı. Küçük yuvarlak mantar plakaların bir tarafına deneğin numarası ve sağ göz için 'R/Right', sol göz için 'L/Left' yazıldı (Şekil 33). Plakanın yazılı olmayan yüzüne bir damla Tissue-Tek O.C.T.® konuldu.

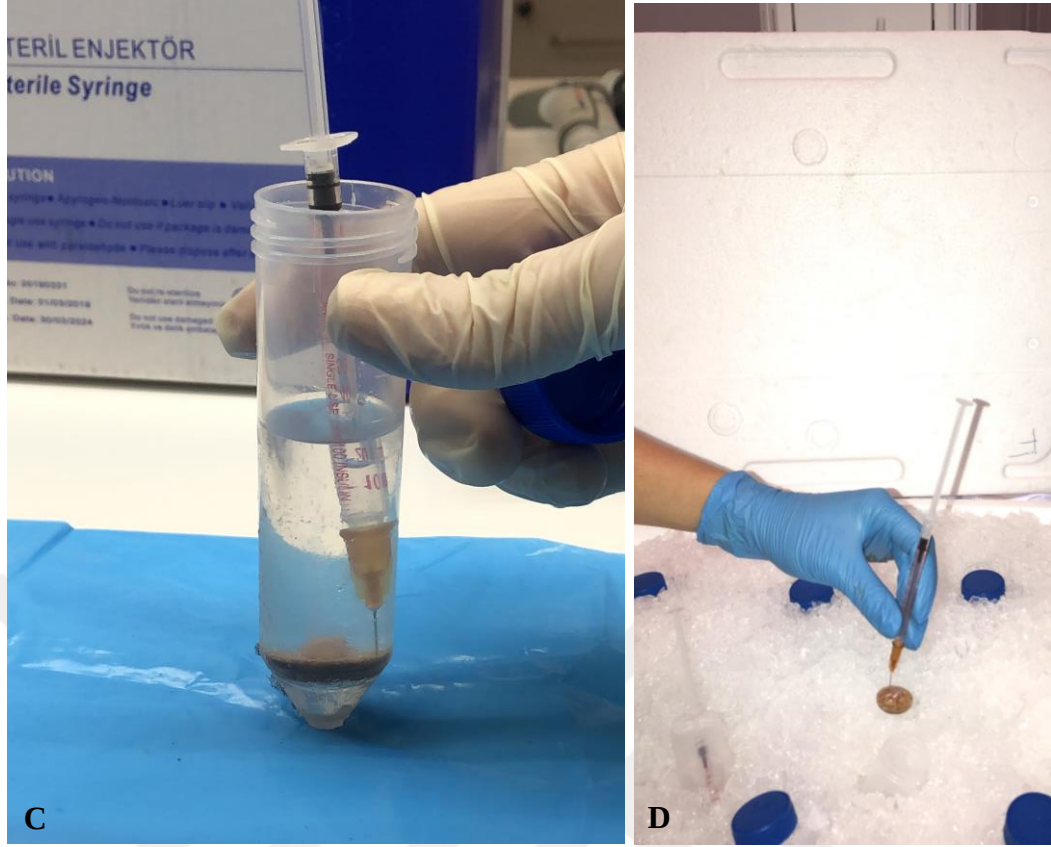


Şekil 33. Enükleasyon için hazırlanan mantar plaklar.

Göz kapakları, proptoze neden olmak için bir elin iki parmağı ile geri itildi. Göz küresi daha sonra konjonktiva, kaslar kesilerek yörüngeden çıkarıldı ve optik sinir göze zarar vermeden küçük, yuvarlak bir makasla kesildi. Tüm bu işlemler sırasında globa bası uygulanmadı ve dişsiz uçlu aletler kullanıldı. Optik sinirin

kesilme aşamasında glob direkt tutulmadan pensetin üzerine oturtuldu. Glob mantar plakanın önceden O.C.T.® ile hazırlanan yüzü üzerine yerleştirildi; tüm göz küresi O.C.T.® ile kaplanmadan önce mantar bir tüberkülin şırıngası ve kalın bir iğne ile sabitlenip başka bir tüberkülin şırıngası yardımı ile kornea laterale gelecek şekilde pozisyon verildi (kesit alınırken pupiller-optik aks tercih edilmektedir (305). Pozisyon verildikten sonra globların üzerleri Tissue-Tek O.C.T.® ile kaplandı. Hava kabarcığı kalmadığından emin olunup üzerinde glob olan mantar plak hemen metilbütan içine daldırıldı. Hava kabarcığı çıkmadığında göz tamamen donmuş kabul edilerek, tekrar kullanılıncaya kadar -80 ° C'ye alınarak saklandı (Şekil 34). Enükleasyon ve hemen akabinde gözün dondurma işlemleri aynı çalışmacı tarafından (B.Y.) gerçekleştirildi.



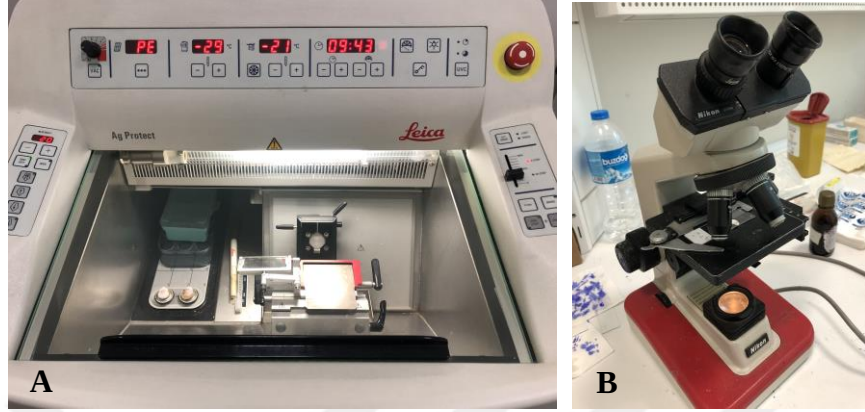


Şekil 34. Enükleasyon işlemi ve globun dondurulma aşamaları. A) Çevre dokulardan serbestleştirilen globun forseps ile tutularak optik sinirin kesilmesi; B) İğne ile sabitlenen mantar plakasının Tissue-Tek O.C.T.® olan yüzüne globun yerleştirilip yön verilmesi; C-D) Metilbütan ile dolu tüpe atılması (gaz çıkması bitene kadar beklendi).

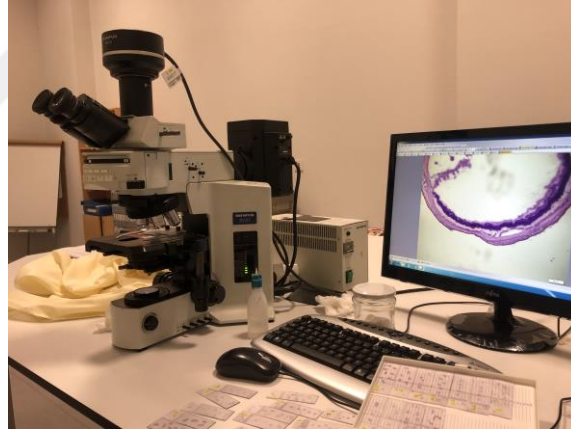
3.8. Kriyo-kesitlerin Alınması, Boyanması ve Fotoğraflanması

Sakrifiye edilen deneklerden alınan göz dokuları, kriyo kesitleri alınmak üzere -80°C’de saklandı. O.C.T ile tutuculara yapıştırılan gözlerden, iç sıcaklığı -20°C’ye ayarlanan kriyotom (Leica, CM1950) ile orta kısmından (ekvator) 8µm kalınlığında kriyo kesitler, kesitlerin lama yapışmasını sağlamak için Poli-L-lizin ile ön işleme tabi tutulan pozitif şarjlı lamlara alındı. Sadece Hematoksilen ile hızlı boyama yapılarak ışık mikroskopunda incelenen preperatlarda, kesit alınan bölgenin doğruluğu teyit edildi. Uygun bölgelerden alınan kesitler, H-E boyası ile boyanana kadar +4°C’de saklandı. H-E ile boyanan tüm kesitler dijital kamera eklentisi olan (Olympus DP72, Japonya) ışık mikroskopunda (Olympus BX-51, Japonya)

incelenerek fotoğraflandı (Şekil 35, 36). Kesit alma ve H-E ile boyama işlemleri Histoloji departmanında gerçekleştirildi.



Şekil 35. Dondurulan globlardan kriyotom yardımı ile kesit alınması ve ışık mikroskobu ile kesitlerin kontrolü. A) -20°C'ye ayarlı kriyotom; B) Alınan kesiti doğruluğunu tespit etmek için eş zamanlı ışık mikroskobunda kontrolü.



Şekil 36. H-E ile hazırlanan kesitlerin dijital kamera eklentisi olan ışık mikroskobunda incelenmesi ve fotoğraflanması.

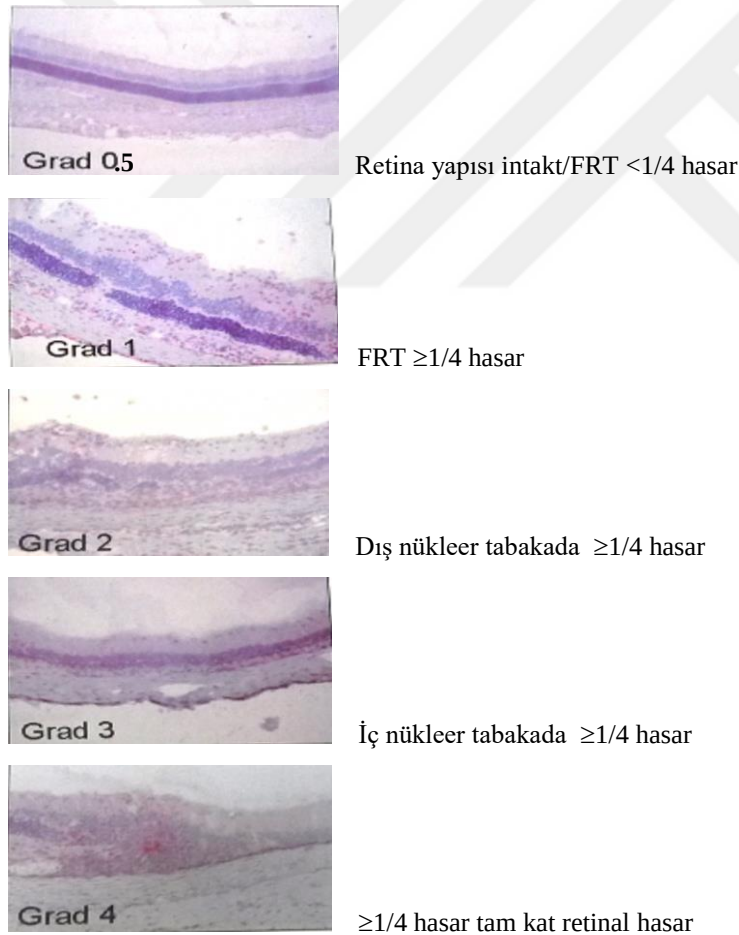
3.9. Histolojik Skorlama

Histolojik inceleme için sakrifiye edilen deneklerden enükleasyon ile elde edilen gözler daha önceden hazırlanmış, bir yüzünde Tissue-Tek O.C.T.® (Optimal-

cutting-temperature-Paesel and Lorey, Frankfurt/Main, Germany) bulunan disklerle konularak, -80°C’de muhafaza edilen metil bütana atılıp donduruldu ve kriyo-kesit alınımına kadar -80°C’de bekletildi.

Poly-L-Lysin ile hazırlanmış pozitif şarjlı lamlara alınan kriyo-kesitleri (8µm) hematoksilin ile boyanarak daha önce tarif edildiği gibi ışık mikroskopunda değerlendirilerek çift kör histolog (Ö.T.K.) tarafından skorlandı (98). Kısaca skor 0.5 fotoreseptör tabakasının %25 yıkımını tanımlarken, tamamen yapısının bozulması skor 4 olarak kaydedildi. Alınan kesitler fotoğraflandı.

Aşağıda Prof. Dr. Gerhild Wildner’in histolojik sınıflandırma için kullandığı örnek preparatlar yer almaktadır (Şekil 37). Skorlamada kullanılan hasar ifadesi mimari yapıda bozulmayı ifade etmektedir.



Şekil 37. Histolojik skorlamada kullanılan Lewis sıçanlara ait histolojik preparatlar ve farklı skorlar (Prof. Dr. G. Wildner).

3.10. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenleri tanımlamak için deskriptif istatistikler kullanılmıştır (ortalama, standart sapma, minimum, medyan, maksimum).

Bağımsız ve normal dağılıma uygunluk göstermeyen ikiden fazla değişkenin karşılaştırması Kruskal Wallis testi ile yapılmıştır. Bağımsız ve normal dağılıma uygunluk göstermeyen iki değişkenin karşılaştırması Mann-Whitney U testi ile yapılmıştır.

Bağımsız ve normal dağılıma uygunluk göstermeyen iki sürekli değişkenin korelasyonu Spearman's rho korelasyon testi ile yapılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0.05 olarak belirlenmiştir. Analizler MedCalc Statistical Software version 12.7.7 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2013) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Deney öncesi her bir gruptaki uygun göz sayısı (n) ve deney için gereken toplam göz sayısı (N) belirlerken inflamasyonun gösterilmesinde en kesin tanı yöntemi olarak bildirilen histolojik skora, çalışmada güvenilirlik açısından öncelikli parametre olarak belirlenmiştir (305). Daha önce IOVS (Investigative Ophthalmology&Visual Science) dergisinde yayınlanan Yadav ve ark.'nın 4'er Lewis sıçan ile yaptığı çalışma ile örneklem büyüklüğü hesaplanmıştır. Yadav ve ark. Lewis sıçanların birer gözünü (n=4) değerlendirerek; sıçanlarda oluşturulan DOIÜ modelinde, KMİ olan aldoz redüktaz inhibitörünün (ARI) üveit bulgularının giderilmesi üzerine olan etkisini histolojik skora ile test etmişlerdir. Çalışmanın etki boyutu 0.81, istatistiksel güvenilirliği %97.5'dir (306). Mevcut çalışmada ise; üveite daha az duyarlı olan Wistar sıçan tercih edildiği için denek sayısı Yadav ve ark.'dan daha fazla olacak şekilde, uzman görüşü alınarak ve 'kaynak denklemi' (resource equation) yöntemi kullanılarak denek sayısı hesaplandı (istatistiksel analiz için serbestlik derecesi minimum için 10, maksimum için 20 arasında olmalı, minimum değer yukarı, maksimum değer aşağı yuvarlanmalıdır) (307).

Çalışmada gözler ayrı ayrı değerlendirilecek olup; esas olarak üveitte tofasitinib tedavisinin histolojik skor üzerine etkisinin değerlendirilmesi hedeflenmekte idi. Buna göre her gruptaki minimum ve maksimum göz sayısı

hesaplandı (n =her bir gruptaki göz sayısı, k =karşılaştırılacak grup sayısı, N =toplam göz sayısı) (Şekil 38);

$\text{Minimum } n = 10/k + 1 \rightarrow n=10/3 + 1, n=3.3 \rightarrow 4, N=12$ $\text{Maximum } n = 20/k + 1 \rightarrow n=20/3 + 1, n=6.6 \rightarrow 6, N=18$

Şekil 38. Örneklem sayısı için kullanılan formül (307).

Toplam 12 ila 18 göz yani 6 ila 9 sıçan yeterli görülmüş; deney sırasındaki olası kayıplar göz önüne alınarak üveit gruplarda 5'er sıçanın 10 gözü olacak şekilde toplam 15 sıçan çalışmaya alındı.

4. BULGULAR

Randomize çift kör plasebo kontrollü deneysel çalışmada; üveit gelişimini değerlendirmek için sağlıklı kontrol grubu, tofasitinib tedavisi almayan hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile karşılaştırılırken; üveit durumunda tofasitinib tedavisinin etkinliğini değerlendirmek için ise tedavi grubu, tofasitinib tedavisi almayan hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile ayrı ayrı karşılaştırıldı.

Gavaj prosedürünün sonuçlara etkisini değerlendirmek için gavaj uygulanmayan hasta kontrol grubu ve gavaj ile salin verilen sham kontrol grubu karşılaştırıldı.

Üveitte tartı değişimini değerlendirmek için histolojik skora göre üveit gelişen ve gelişmeyen sıçanların tartı değişimleri karşılaştırıldı.

Cinsiyetin tüm parametrelere etkisini değerlendirmek amacı ile tüm parametreler cinsiyet dağılımı açısından grup içi değerlendirildi.

Sadece tofasitinib uygulanan bir dişi bir erkek sıçanda herhangi bir sistemik yan etki gözlenmedi, alınan retinal kesitler doğaldı. Bu sıçanlar istatistiksel herhangi bir değerlendirmeye alınmadı (Tablo 17).

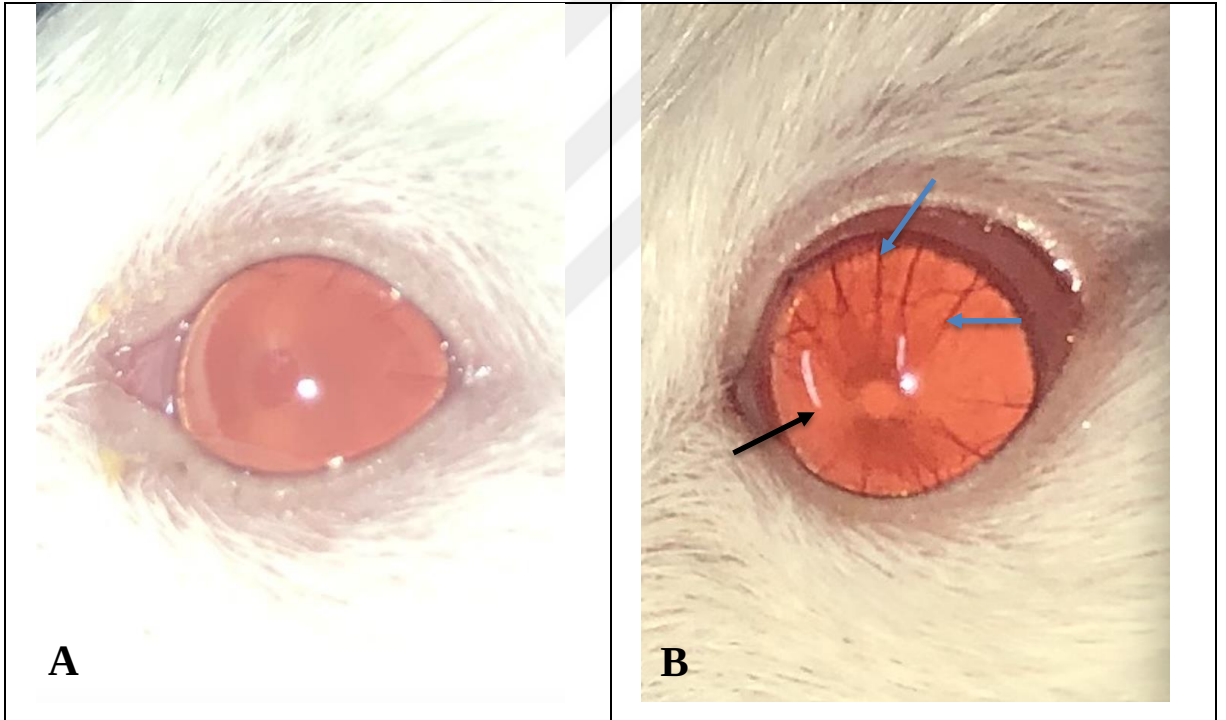
Tablo 17. Çalışmada incelenen gruplardaki gözlerin özellikleri.

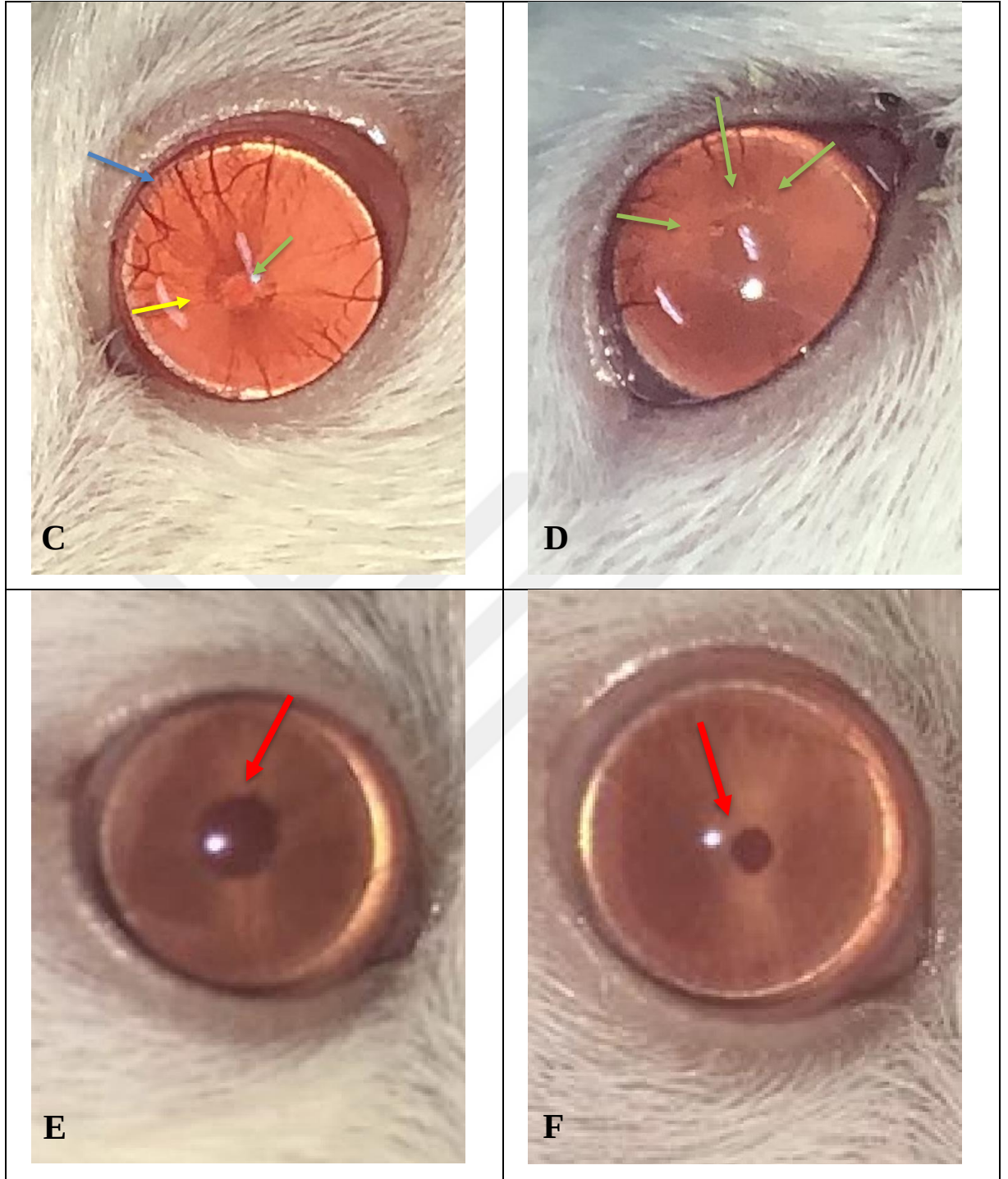
Grup Adı	Grup No	Dişi sıçan sayısı	Erkek sıçan sayısı	Toplam göz sayısı	İmmünizasyon	Tedavi	Özellik
Sağlıklı kontrol	1	1	1	4	-	-	Üveit – Tedavi- (Kontrol)
Hasta kontrol	2	3	2	10	PDSAg	-	Üveit + Tedavi -
Sham kontrol	3	2	3	10	PDSAg	Salin +	Üveit+ Salin+
Tedavi	4	3	2	10	PDSAg	Tofasitinib +	Üveit + Tofasitinib +

4.1. Klinik Skorlama

İmmünizasyon günü 0. gün kabul edilerek 4. günden itibaren deney sonlanana kadar günlük olarak kalem ışık ile ön segment muayenesi yapıldı. Sağlıklı kontrol grubunda üveit bulgusu izlenmezken, PDSAg ile immünize edilen tüm gruplarda %100 oranında klinik olarak saptanan üveit tablosu gelişti.

İlk üveit bulgusu iris damarlarında dilatasyon idi. Bulgular ilk olarak tofasitinib tedavisi almayan hasta kontrol ve sham kontrol gruplarında saptandı (23. gün). Üveit gelişen hiçbir grupta klinik skor 3 (hipopyon) ve 4 (hifema) gelişmedi (Şekil 39).





Şekil 39. Farklı klinik skordardan ön segment görünüşleri. A) Klinik skor=0, iris damarları doğal ve refle alınıyor; B) Klinik skor=0.5, iris damarları genişlemiş (mavi oklar) ancak pupil düzenli ve infiltrat yok (siyah ok); C-D) Klinik skor=1, iris damarları genişlemiş (mavi ok), peripupiller alanda infiltratlar izlenmekte (yeşil oklar) ve buna bağlı pupil düzensiz (sarı ok); E-F) Klinik skor=2, refle alnamıyor, pupiller blok (kırmızı oklar).

Üveit gelişen tüm sıçanların ön segment bulgularının başlama günleri karşılaştırıldığında; tofasitinib tedavisinin üveit başlama zamanını istatistiksel anlamlı derecede geciktirdiği görüldü. İlk üveit bulgularının görülme zamanı; hasta kontrol grubundaki tüm sıçanlarda 23. gün iken sham kontrol grubunda ortalama 25.2 ± 2.1 gün, tedavi grubunda 27.8 ± 2.6 gün idi. Gruplar arasında tofasitinib tedavisi ile üveit başlama gününün istatistiksel anlamlı geciktiği saptandı ($p < 0.001$) (Tablo 18, 19).

Tablo 18. Üveit gruplarının üveit klinik bulgularının başlama günü açısından karşılaştırması.

	Hasta kontrol grubu n=10	Sham kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10	
Üveit başlama günü	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	23±0 23 (23-23)	25.2±2.1 25 (23-29)	27.8±2.6 27 (25-32)	<0.001

Kruskal Wallis test p

n: Göz Sayısı, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Maks: Maksimum.

Tablo 19. Tedavi grubunun, hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile üveit klinik bulgularının başlama günü açısından karşılaştırması.

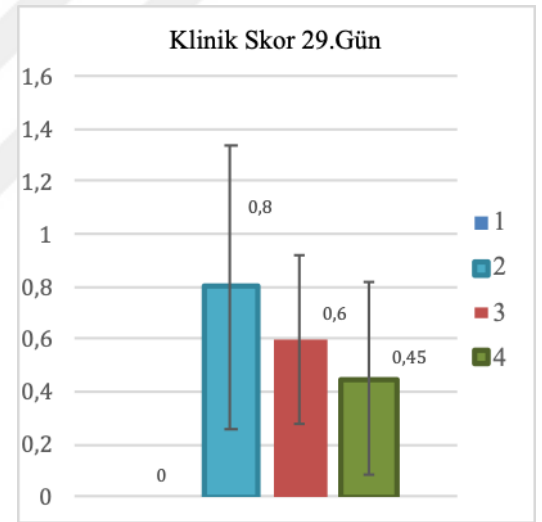
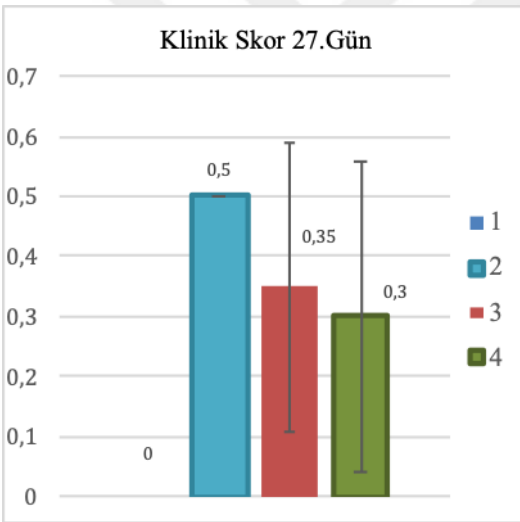
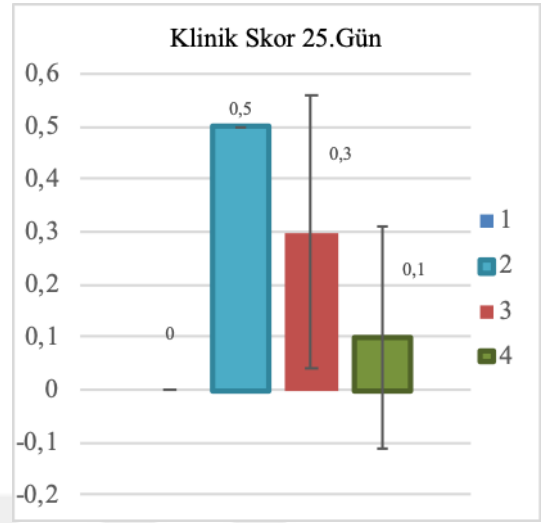
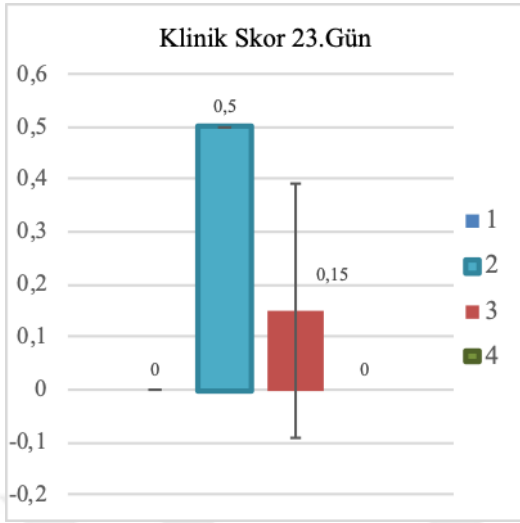
	Hasta kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10	
Üveit başlama günü	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	23±0 23 (23-23)	27.8±2.6 27 (25-32)	<0.001
	Sham kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10	
Üveit başlama günü	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	25.2±2.1 25 (23-29)	27.8±2.6 27 (25-32)	0.029

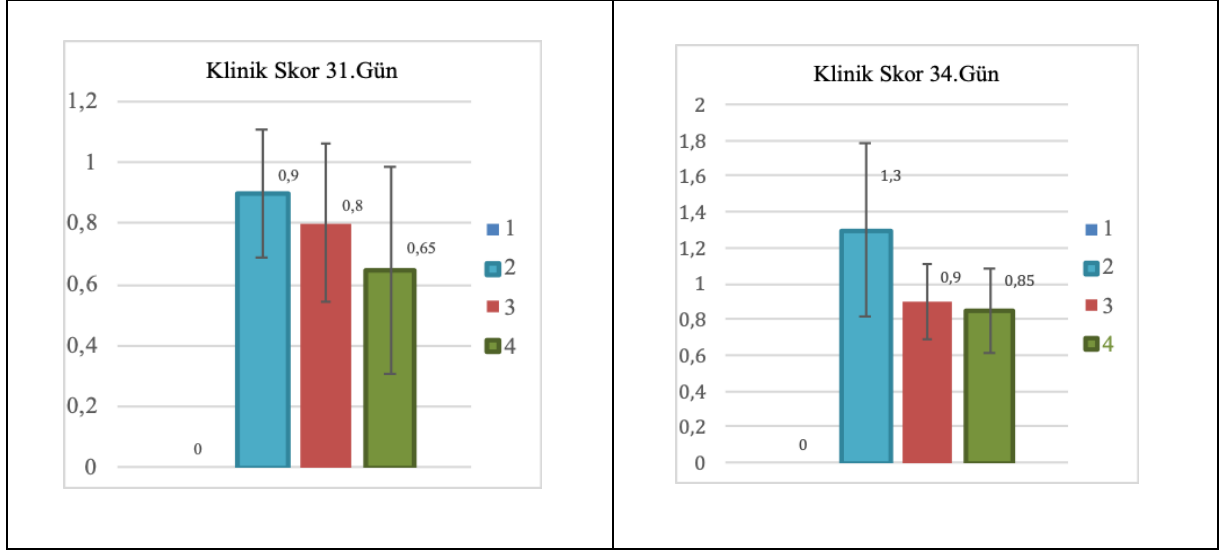
Mann-Whitney U test

Üveit bulguları görüldükten sonra günlük takiplerde kaydedilen klinik skorlar Tablo 20’de verilmiştir (23-34 gün arası). Tüm günlerde tedavi grubunun günlük klinik skor ortalamaları tofasitinib tedavisi almayan hasta kontrol ve sham kontrol gruplarından düşük olduğu izlendi (Şekil 40). Tofasitinib tedavisi klinik skoru azalttı.

Tablo 20. Üveit gelişen gruplarda kaydedilen günlük klinik skorlar.

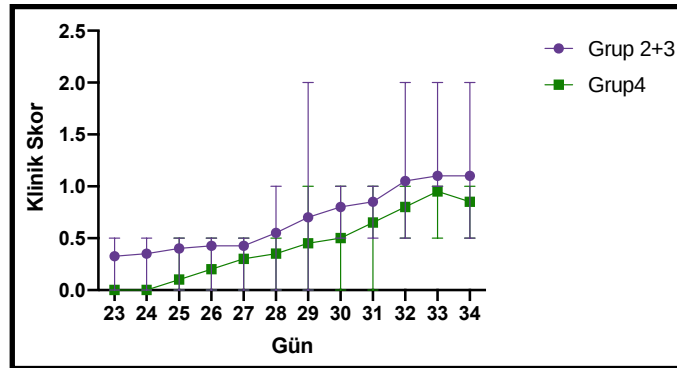
	Hasta kontrol grubu n=10	Sham kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10
Günlere göre klinik skor	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)
23	0.5±0 0.5 (0.5-0.5)	0.15±0.24 0 (0-0.5)	0±0 0 (0-0)
24	0.5±0 0.5 (0.5-0.5)	0.2±0.26 0 (0-0.5)	0±0 0 (0-0)
25	0.5±0 0.5 (0.5-0.5)	0.3±0.26 0.5 (0-0.5)	0.1±0.21 0 (0-0.5)
26	0.5±0 0.5 (0.5-0.5)	0.35±0.24 0.5 (0-0.5)	0.2±0.26 0 (0-0.5)
27	0.5±0 0.5 (0.5-0.5)	0.35±0.24 0.5 (0-0.5)	0.3±0.26 0.5 (0-0.5)
28	0.65±0.34 0.5 (0-1)	0.45±0.28 0.5 (0-1)	0.35±0.24 0.5 (0-0.5)
29	0.8±0.54 0.75 (0-2)	0.6±0.32 0.5 (0-1)	0.45±0.37 0.5 (0-1)
30	0.75±0.26 0.75 (0.5-1)	0.85±0.24 1 (0.5-1)	0.5±0.41 0.5 (0-1)
31	0.9±0.21 1 (0.5-1)	0.8±0.26 1 (0.5-1)	0.65±0.34 0.5 (0-1)
32	1.1±0.52 1 (0.5-2)	1±0.41 1 (0.5-2)	0.8±0.26 1 (0.5-1)
33	1.2±0.42 1 (1-2)	1±0 1 (1-1)	0.95±0.16 1 (0.5-1)
34	1.3±0.48 1 (1-2)	0.9±0.21 1 (0.5-1)	0.85±0.24 1 (0.5-1)





Şekil 40. İlk üeit bulgusunun saptanmasından (23. gün) sakrifikasyon gününe (35. gün) kadar günlük klinik skorların gruplar arasındaki dağılımını gösteren grafikler. 1= Sağlıklı kontrol grubu, 2= Hasta kontrol grubu, 3= Sham kontrol grubu, 4= Tedavi grubu.

Tofasitinib tedavisinin günlük klinik skorlara etkinliğini değerlendirmek amacıyla tofasitinib tedavisi almayan hasta kontrol ve sham kontrol gruplarının günlük klinik skor ortalamaları ile tedavi grubunun günlük takiplerinde kaydedilen klinik skor ortalamalarının, ilk klinik bulgu izlendikten (23. gün), sakrifikasyon gününe kadar (35. gün) olan zamana göre değişimi kümülatif periodogram white-noise test ile değerlendirildi. Zamana göre değişim istatistiksel anlamlı bulundu (Tofasitinib tedavisi almayan üeit grupları (hasta kontrol ve sham kontrol) için Barlett's B=1.61; p=0.01, tedavi grubu için Barlett's B=1.41; p=0.037) (Şekil 41).



Şekil 41. Günlük klinik skor değişimi. 2+3= Hasta kontrol ve Sham kontrol grupları, 4= Tedavi grubu.

Üveit başlama günü açısından immünize edilen tüm sıçanların gözleri değerlendirildiğinde, cinsiyetler arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0.423$) (Tablo 21).

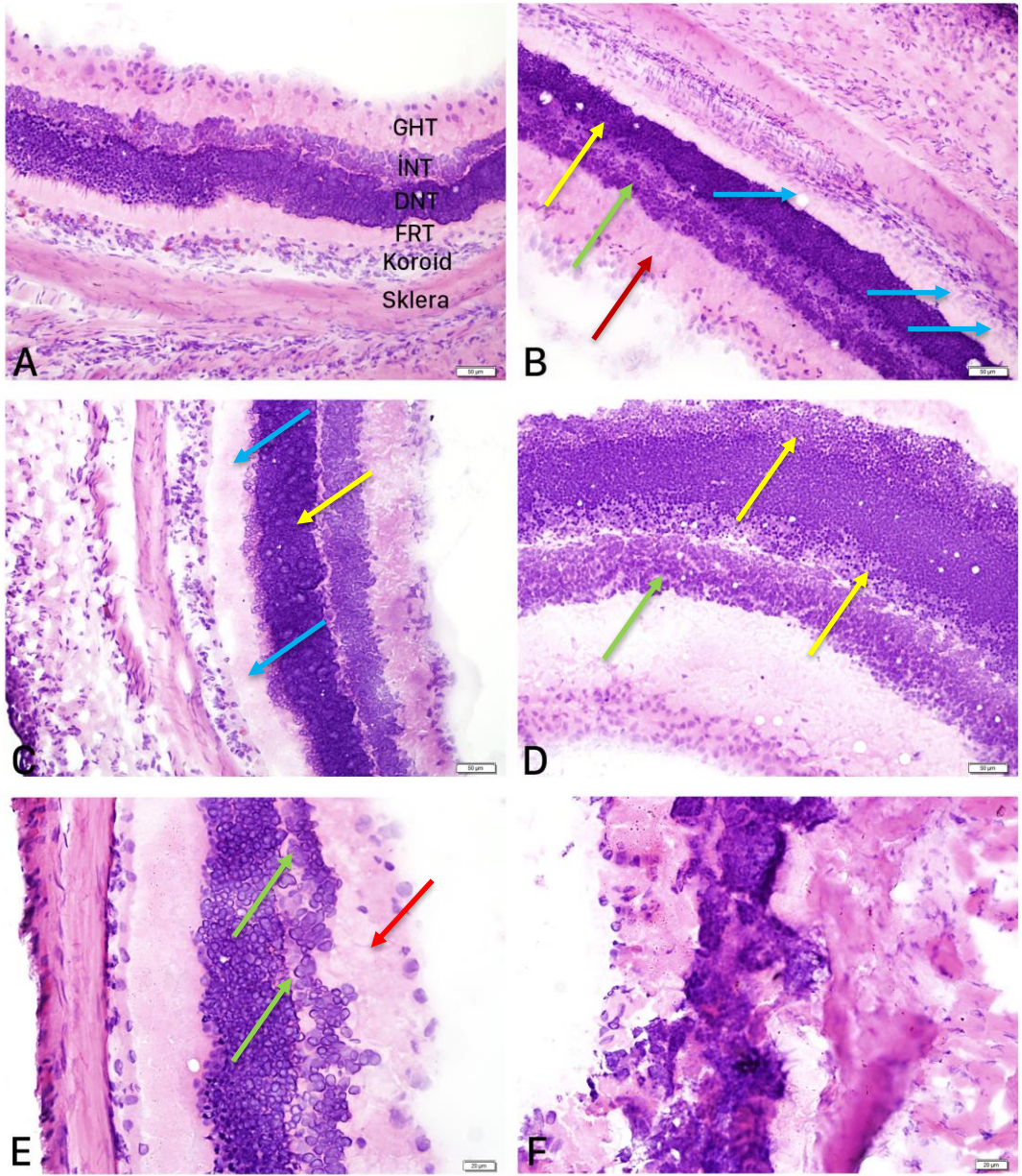
Tablo 21. Üveit oluşturulan gözlerde üveit başlama gününe cinsiyetin etkisi.

İmmünize edilen tüm sıçanlar	Dişi N=16	Erkek N=14	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	P
Üveit başlama günü	24.94±2.49 24 (23-31)	25.79±3.02 25.5 (23-32)	0.423

Mann-Whitney U test

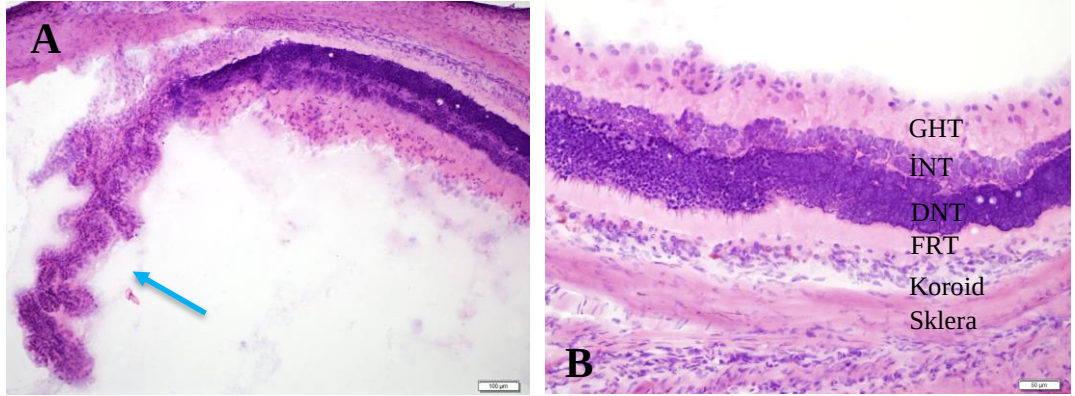
4.2. Histolojik Skorlama

Gruplar arasındaki histolojik farklılıklar, de Smet ve ark.'nın histolojik skor sistemine göre değerlendirildi. Sunulan çalışmaya ait preperatların bu skorlama sistemine karşılık gelen örnekleri Şekil 42'de verilmiştir.



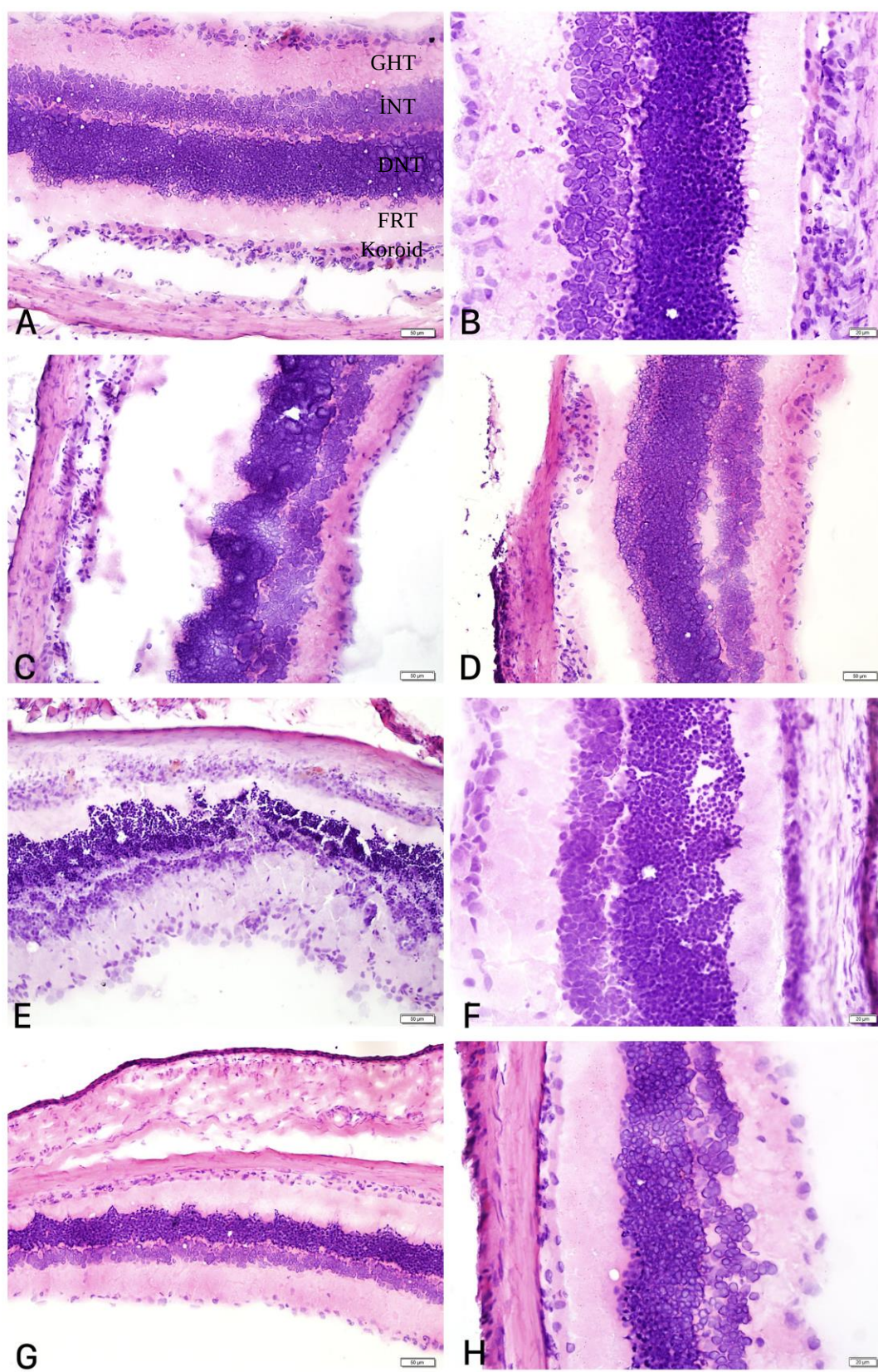
Şekil 42. Sırasıyla skor 0, 0.5, 1, 2, 3 ve 4'e ait temsili mikrograflar. A) Histolojik skor; B) Histolojik skor: 0.5, FRT'nin bütününde devam etmeyen hasar (mavi oklar), DNT (sarı ok), İNT (yeşil ok) ve GHT (kırmızı ok) intakt; C) Histolojik skor: 1, FRT'nin bütününde bozulma (mavi ok), DNT (sarı ok), İNT ve GHT intakt; D) Histolojik skor: 2, DNT 'de hasar (sarı oklar) oysa İNT (yeşil ok) intakt; E) Histolojik skor: 3, İNT tamamında bozulma (yeşil oklar), GHT'nin bütününde devam etmeyen hasar (kırmızı ok); F) Histolojik skor: 4, tüm tabakalarda hasar izlenmekte. GHT: Gangliyon hücre tabakası. İNT: İç nükleer tabaka. DNT: Dış nükleer tabaka. FRT: Fotoreseptör tabakası. (A-D: H-E boyama, x20; E-F: H-E boyama, x40).

Sağlıklı kontrol grubunda hiç inflamasyon izlenmedi (Şekil 43).



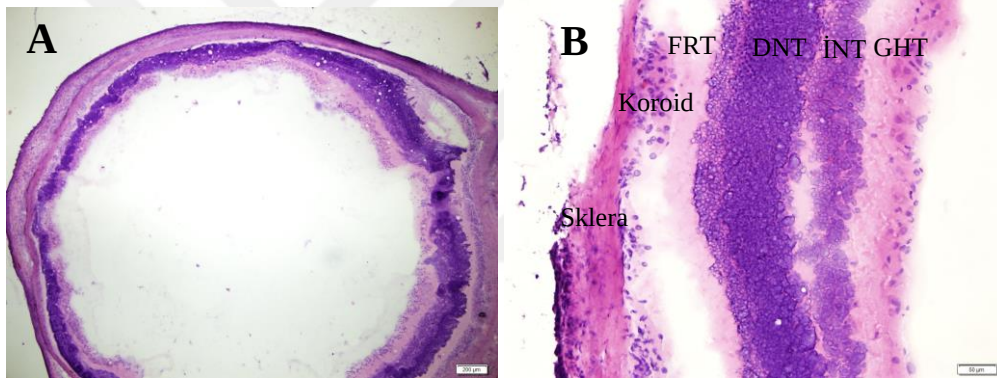
Şekil 43. Sağlıklı kontrol grubuna ait kesitler. A) Siliyer cisim (mavi ok) ve periferik retinanın mikrograf görünümü; B) Histolojik skor: 0. GHT: Gangliyon hücre tabakası. İNT: İç nükleer tabaka. DNT: Dış nükleer tabaka. FRT: Fotoresptör tabakası. (A: H-E boyama, x4; B: H-E boyama, x20).

Üveit oluşturulan gruplarda ise ortalama histolojik skor 2.65 ± 1.18 (0.5-4) idi ve sağlıklı kontrole göre anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0.001$) (Şekil 44).



Şekil 44. İmmünize edilen sıçanlara ait temsili mikrograflar. A) Histolojik skor: 0.5, (4.2R); B) Histolojik skor: 2, (2.2R); C) Histolojik skor: 3, (3.1L); D) Histolojik skor: 3, (3.4R); E) Histolojik skor: 4, (3.3L); F) Histolojik skor: 2, (2.5L); G) Histolojik skor: 1, (4.3R); H) Histolojik skor: 3, (2.4L). Parantez içinde sıçan göz kodu verilmiştir; grup no.sıçan no.taraf. R: sağ göz, L: sol göz. Hematoksilen ve Eozin boyası. GHT: Gangliyon hücre tabakası. İNT: İç nükleer tabaka. DNT: Dış nükleer tabaka. FRT: Fotreseptör tabakası. (A, C-E, G: H-E boyama, x20; B, F, H: H-E boyama, x40).

Retinal tutulum diffüz idi. Literatür bilgisi de sıçanlarda DOİÜ retina hasarının diffüz olduğu yönünde olduğundan kriyotom ile kesit alınma sırasında parçalı gelen kesitlerdeki histolojik skor tüm retinaya uyarlanarak kaydedildi (9) (Şekil 45).



Şekil 45. Retinal hasarın diffüz karakterde olduğunu gösteren aynı göze ait farklı kesitler. A-B) Sıçan 3.2R'ye ait farklı büyütmede mikrograflar; A) Histolojik skor: 3; B) Histolojik skor: 3., R: sağ göz, L: sol göz. GHT: Gangliyon hücre tabakası. İNT: İç nükleer tabaka. DNT: Dış nükleer tabaka. FRT: Fotreseptör tabakası. (A: H-E boyama, x4, B: H-E boyama, x20).

Hasta kontrol grubu ve sham kontrol grubu histolojik skorlar açısından karşılaştırılarak gavaj işleminin histolojik skor üzerine herhangi bir etkisi olup olmadığı incelendi ve gavajın histolojik skorları etkilemediği saptandı ($p=0.165$) (Tablo 22).

Tablo 22. Hasta kontrol ve sham kontrol grupları arasında histolojik skor dağılımı.

	Hasta kontrol grubu n=10	Sham kontrol grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Histolojik Skor	2.6±1.07 3 (1-4)	3.3±0.48 3 (3-4)	0.165

Mann-Whitney U test

Tüm gruplar değerlendirildiğinde, histolojik skor dağılımları açısından sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılık bulundu (**p<0.001**) (Tablo 23).

Tablo 23. Sağlıklı kontrol grubu ile tüm üveit gruplarının histolojik skor dağılımı açısından karşılaştırılması.

Histolojik Skor	Sağlıklı kontrol grubu n=4	Hasta kontrol grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	0±0 0 (0-0)	2.6±1.07 3 (1-4)	<0.001
	Sağlıklı kontrol grubu n=4	Sham kontrol grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	
	0±0 0 (0-0)	3.3±0.48 3 (3-4)	<0.001
	Sağlıklı kontrol grubu n=4	Tedavi grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	0±0 0 (0-0)	2.05±1.48 2 (0.5-4)	<0.001

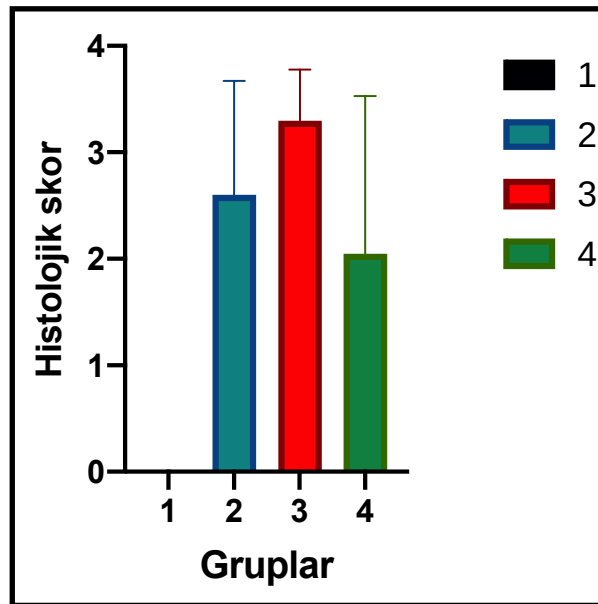
Mann-Whitney U test

Tofasitinib tedavisi histolojik skorda azalma yarattı. Ancak tedavi grubu sırasıyla tofasitinib almayan hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, histolojik skordaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla p değerleri; 0.393, 0.089) (Tablo 24, Şekil 46).

Tablo 24 Tedavi grubunun, hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile histolojik skor dağılımı açısından karşılaştırması.

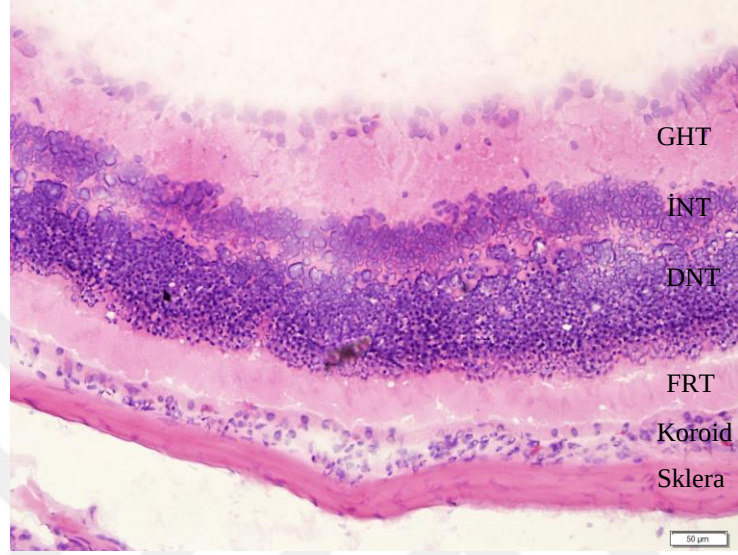
Histolojik Skor	Hasta kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	2.6±1.07 3 (1-4)	2.05±1.48 2 (0.5-4)	0.393
	Sham kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
	3.3±0.48 3 (3-4)	2.05±1.48 2 (0.5-4)	0.089

Mann-Whitney U test



Şekil 46. Gruplar arası histolojik skor dağılımı. (**): p<0.001. 1= Sağlıklı kontrol grubu, 2= Hasta kontrol grubu, 3= Sham kontrol grubu, 4= Tedavi grubu.

Sadece oral tofasitinib verilen sıçanların enükleasyon sonrası incelenen retinal kesitler doğal izlendi. Toksisite düşündürecek herhangi bir hasar bulgusu saptanmadı (Şekil 47).



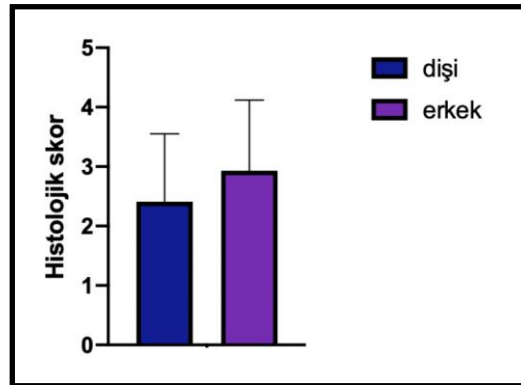
Şekil 47. Sadece oral tofasitinib tedavisi olan sıçana ait temsili mikrogram. GHT: Gangliyon hücre tabakası. İNT: İç nükleer tabaka. DNT: Dış nükleer tabaka. FRT: Fotoreseptör tabakası. (H-E boyama, x20).

Cinsiyetin histolojik skor dağılımına etkisi açısından gruplar kendi içlerinde ve tüm üveit gelişen sıçanlar birlikte değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Ancak tüm gruplarda, erkeklerde gelişen üveitin histolojik skor ortalaması daha yüksek olarak tespit edildi (Tablo 25, Şekil 48).

Tablo 25. Üveit oluşturulan tüm gruplarında cinsiyetin histolojik skor dağılımına etkisi.

Hasta kontrol grubu	Dişi n=6	Erkek n=4	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Histolojik Skor	2.33±1.21 2.5 (1-4)	3±0.82 3 (2-4)	0.476
Sham kontrol grubu	Dişi n=4	Erkek n=6	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Histolojik Skor	3.25±0.5 3 (3-4)	3.33±0.52 3 (3-4)	0.914
Tedavi grubu	Dişi n=6	Erkek n=4	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Histolojik Skor	1.92±1.2 2 (0.5-3)	2.25±2.02 2.25 (0.5-4)	0.914
İmmünize edilen tüm sıçanlar	Dişi n=16	Erkek n=14	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Histolojik Skor	2.41±1.14 3 (0.5-4)	2.93±1.19 3 (0.5-4)	0.224

Mann-Whitney U test



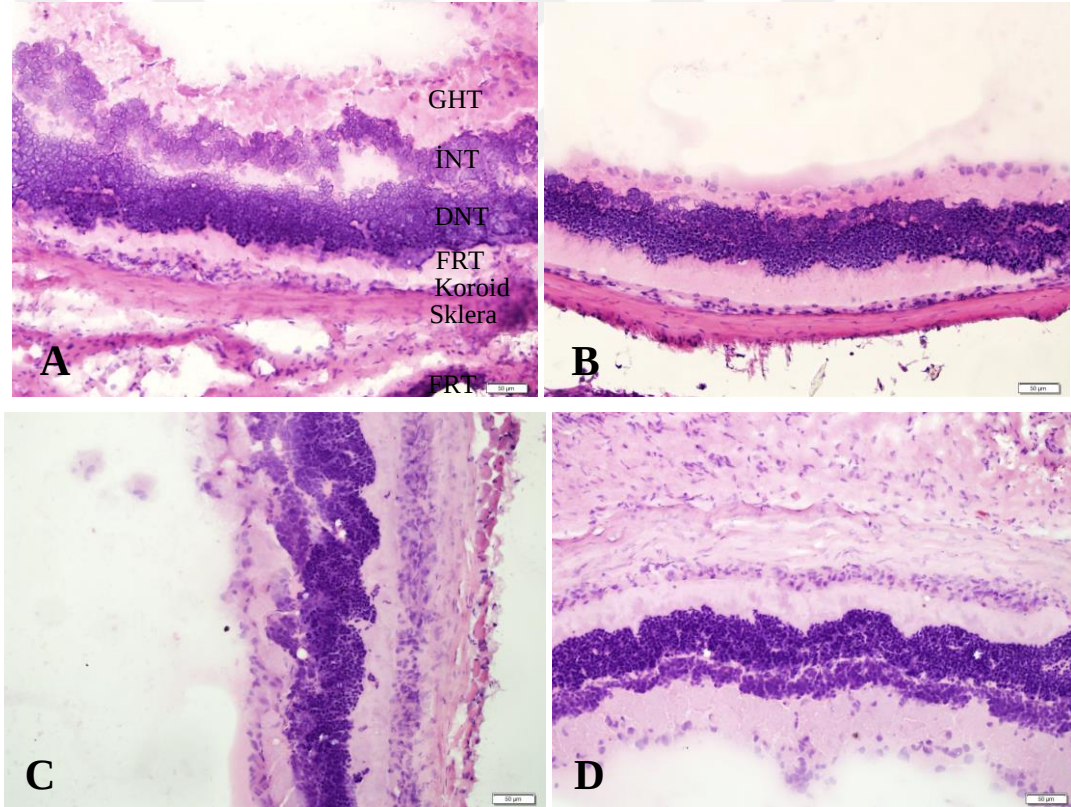
Şekil 48. Cinsiyetler arasında histolojik skor dağılımı (tüm gruplar).

Sağ ve sol gözler arasında histolojik skor dağılımı açısından istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 26, Şekil 49).

Tablo 26 Üveit geliştirilen gözlerin histolojik skor dağılımına taraf etkisi.

İmmünize edilen tüm sıçanlar	Sağ n=18	Sol n=18	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Histolojik Skor	1.9±1.55 2.5 (0-4)	2.07±1.57 3 (0-4)	0.738

Mann-Whitney U test



Şekil 49. Aynı sıçana ait sağ ve sol gözün histolojik skorları birbiri ile kıyaslanması. A-B) Sıçan 2.4'e ait mikrograflar; A) 2.4R, Histolojik skor: 4; B) 2.4L, Histolojik skor: 3; C-D) Sıçan 3.1'e ait mikrograflar; C) 3.1R, Histolojik skor: 4; D) 3.1L, Histolojik skor: 3. R: sağ göz, L: sol göz. GHT: Gangliyon hücre tabakası. İNT: İç nükleer tabaka. DNT: Dış nükleer tabaka. FRT: Fotoreseptör tabakası. (A-D: H-E boyama, x20).

DOIÜ modelinde inflamasyonun en güvenilir göstergesi histolojik skor olduğu için, histolojik skora göre yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda elde edilen güvenilirlik; üveit gelişimini tespit etmede sağlıklı kontrol ve hasta kontrol/sham kontrol/tedavi grupları karşılaştırıldığında sırasıyla; %100, %100 ve %99.5 olarak bulundu. Tofasitinib tedavisinin etkinliğini göstermede ise tedavi grubu ve hasta kontrol/sham kontrol grupları karşılaştırıldığında sırasıyla; %15.7 ve %71.9 bulundu. Çalışmanın örneklem sayısı istatistiksel sınamalar için üveit tespit etmede yeterli (>%80) ancak tofasitinibin tedavi etkinliğini göstermede yetersiz bulundu.

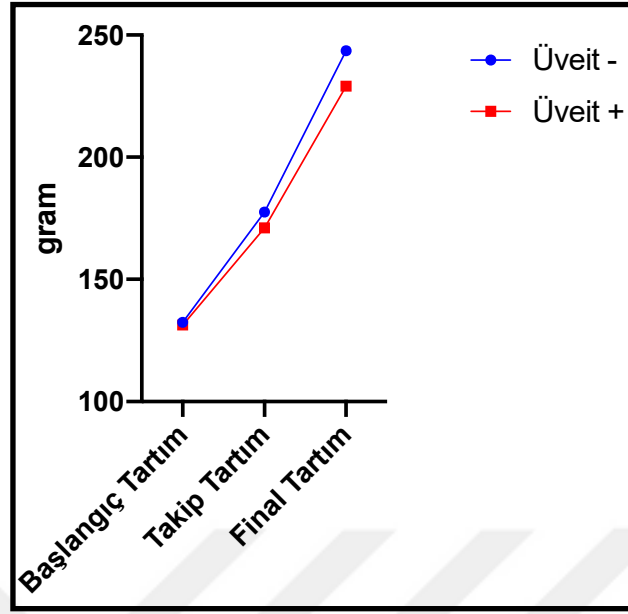
4.3. Üveitte Tartı Değişimi

Tüm sıçanların immünizasyon öncesi, takip sırasında 14. günde ve sakrifikasyon öncesi tartımı yapıldı. Üveit gelişen (üveit +) ve gelişmeyen (üveit -) sıçanlar arasında tartı ölçümleri açısından üveit + sıçanlarda daha az tartı artışı olsa da istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Üveit gelişmesi tartı değişimini etkilemedi (Tablo 27, Şekil 50).

Tablo 27. Üveit gelişen/gelişmeyen sıçanların başlangıç/takip/final tartımlarına ve tartı değişimlerine üveitin etkisi.

	Üveit - n=2	Üveit + n=15	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
Başlangıç Tartı	132.4±35.59 148 (94-163)	131.37±18.87 126 (95-161)	0.697
Takip Tartı	177.6±38.58 182 (138-215)	171±24.73 173 (136-215)	0.697
Final Tartı	243.6±54.28 260 (186-293)	229±40.02 232 (173-295)	0.631
Tartı Değişimi	111.2±19.01 112 (92-130)	97.63±27.35 102 (59-142)	0.299

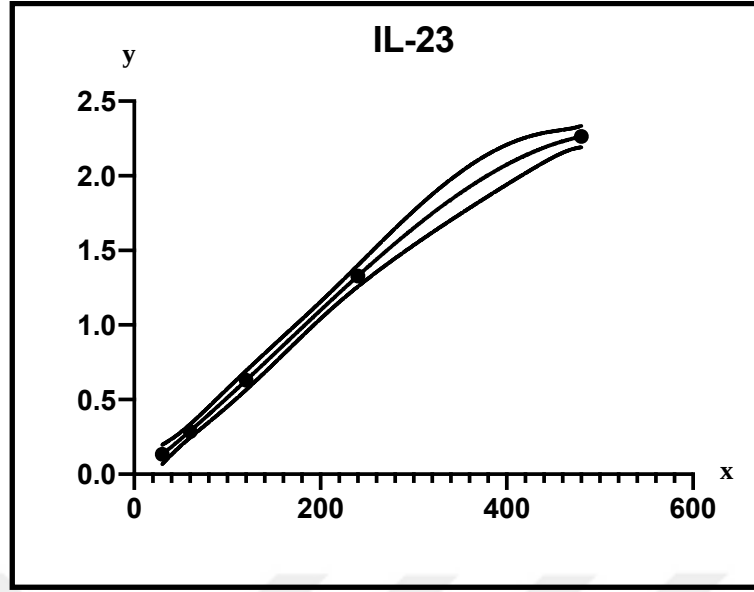
Mann-Whitney U test



Şekil 50. Üveit gelişen ve gelişmeyen sıçanlarda tartı değişimi.

4.4. Plazma Sitokin Düzeyleri

ELISA işlemi sonrasında, standart solüsyona göre absorbens değerleri yardımı ile konsantrasyon eğrisi çizilerek sitokin değerleri belirlendi; değerleri bilinen standartların konsantrasyonu ve ELISA testi sonucundan elde edilen absorbens okumaları ile çizilen grafik sonrası plazma örneklerinin konsantrasyonları GraphPad Prism8 üzerinden hesaplandı. Standart eğri için öncelikle veriler girildi. Bilinen standart numune konsantrasyonları 'X' sütununa ve karşılık gelen test sonuçları 'Y' sütununa girildi. Standart eğri değerlerinin hemen altına; konsantrasyonları bilinmeyen örnekler için absorbens sonuçları 'Y' sütununa girildi ve karşılık gelen X hücrelerini boş bırakıldı. Daha sonra, Prism8'e standart eğri çizdirildi. Bu eğri kullanılarak bilinmeyen konsantrasyonları hesaplandı (Şekil 51).



Şekil 51. IL-23 absorbans değerleri ve konsantrasyon eğrisi. ‘X’ konsantrasyon eksen, ‘Y’ absorbans eksen.

4.4.1. Kafeslerin sitokin düzeyine etkisi

Deney süresince, cinsiyetlerine dikkat edilerek farklı gruplardan sıçanlar aynı kafeste kaldı. Kafesler kendi içlerinde sitokin düzeyi dağılımı açısından değerlendirildi. Hiçbir sitokin açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

4.4.2. Gavaj işleminin sitokin düzeylerine etkisi

Tofasitinib tedavisi almayan ancak immünize edilen hasta kontrol ve sham kontrol gruplarına ait sitokin değerleri karşılaştırıldı. IL-6 dağılımı açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanırken ($p<0.05$), diğer parametreler açısından 2 grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 28). Sham kontrol grubu içinde sitokin düzeylerinin histolojik skor ile ilişkisi tek tek incelendiğinde IL-6/histolojik skor ilişkili bulunmadı ($r=0$, $p=1$).

Çalışma süresinde gavaj işleminden kaynaklanan herhangi bir komplikasyon gelişmedi. Gavaj prosedürü sonuçlar üzerine etkisiz kabul edildi.

Tablo 28. Gavaj işleminin sitokin düzeylerine etkisi.

	Hasta kontrol grubu n=10	Sham kontrol grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	P
IL-6	1.99±0.33 1.85 (1.6-2.4)	1.71±0.14 1.77 (1.52-1.89)	0.035*
IL-10	23.51±5.08 23.28 (18.26-30.48)	22.65±1.64 21.64 (21.17-24.93)	0.912
IL-15	13.42±1.75 13.63 (11.4-15.49)	12.71±1.43 12.31 (10.64-14.59)	0.481
IL-17	45.99±4.43 45.74 (40.26-50.76)	44.9±5.86 43.74 (37.14-52.45)	0.684
IL-23	28.3±5.54 28.1 (22.34-36.7)	24.52±3.42 25.72 (19.32-28.89)	0.190
IFN-γ	9.61±3.17 10.73 (5.77-13.52)	9.9±1.23 10.01 (8.28-11.71)	0.912
IL-17/ IFN-γ	5.23±1.56 4.38 (3.74-7.09)	4.54±0.39 4.48 (4.21-5.24)	0.912

Mann-Whitney U test, (*): $p \leq 0.05$

4.4.3. İmmünizasyonun sitokin düzeylerine etkisi

Üveit gelişiminin sitokin düzeylerine etkisini göstermek için sağlıklı kontrol grubu ve immünize edilen ancak hiçbir tedavi almayan hasta kontrol grubu karşılaştırıldı; istatistiksel anlamlı bir değişim izlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 29).

Tablo 29. Üveit gelişiminin sitokin düzeylerine etkisi.

	Sağlıklı kontrol grubu n=4	Hasta kontrol grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
IL-6	1.67±0.33 1.67 (1.39-1.95)	1.99±0.33 1.85 (1.6-2.4)	0.254
IL-10	22.59±3.52 22.59 (19.54-25.63)	23.51±5.08 23.28 (18.26-30.48)	1
IL-15	13.7±1.38 13.7 (12.51-14.9)	13.42±1.75 13.63 (11.4-15.49)	1
IL-17	45.21±8.56 45.21 (37.79-52.62)	45.99±4.43 45.74 (40.26-50.76)	1
IL-23	30.65±3.17 30.65 (27.9-33.4)	28.3±5.54 28.1 (22.34-36.7)	0.569
IFN-γ	9.7±2.1 9.7 (7.88-11.52)	9.61±3.17 10.73 (5.77-13.52)	1
IL-17/ IFN-γ	4.68±0.13 4.68 (4.57-4.8)	5.23±1.56 4.38 (3.74-7.09)	0.569

Mann-Whitney U test

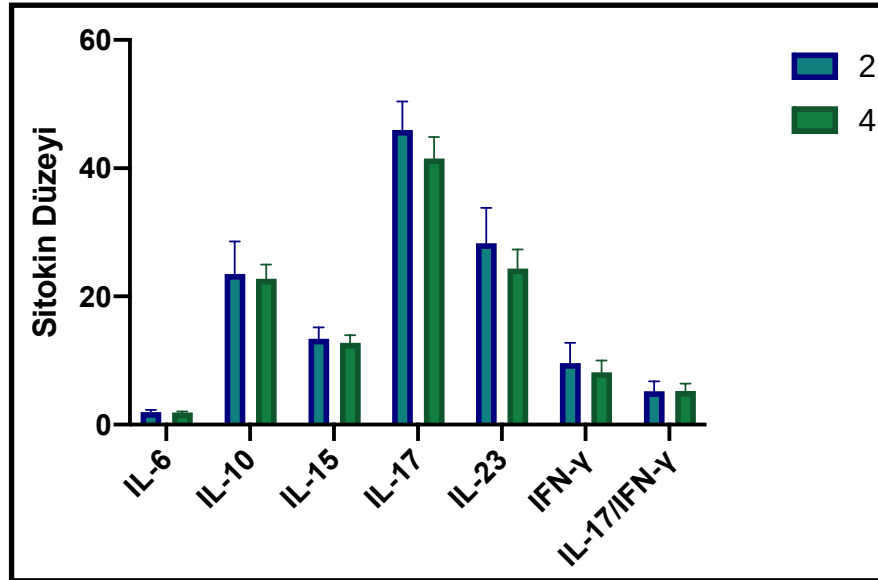
4.4.4. Tofasitinib tedavisinin üveitte sitokin düzeylerine etkisi

Tofasitinib tedavisinin üveit durumunda sitokin düzeyleri üzerine etkisini incelemek için tedavi grubu ile hasta kontrol grubu karşılaştırıldığında; hasta kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı IL-17 azalışı saptandı (**p=0.023**) IL-17/IFN- γ oranı hariç tüm parametrelerde tofasitinib tedavisi ile azalma olduğu saptandı (Tablo 30, Şekil 52).

Tablo 30. Üveitte tofasitinib tedavisinin sitokin düzeylerine etkisi.

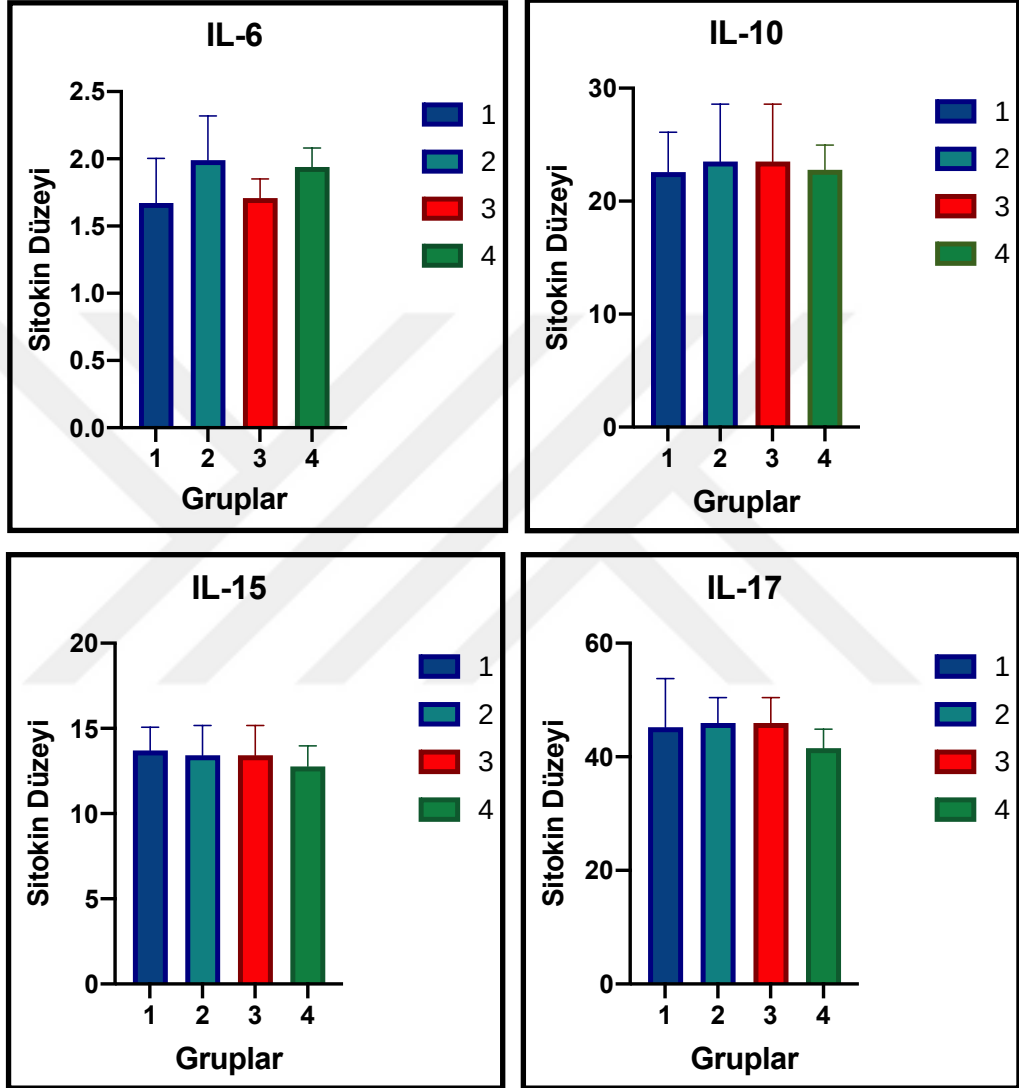
	Hasta kontrol grubu n=10	Tedavi grubu n=10	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
IL-6	1.99±0.33 1.85 (1.6-2.4)	1.94±0.14 1.99 (1.67-2.03)	0.912
IL-10	23.51±5.08 23.28 (18.26-30.48)	22.79±2.18 21.99 (20.71-26.58)	0.796
IL-15	13.42±1.75 13.63 (11.4-15.49)	12.77±1.2 12.17 (11.74-14.9)	0.684
IL-17	45.99±4.43 45.74 (40.26-50.76)	41.53±3.34 41.42 (37.79-45.57)	0.023*
IL-23	28.3±5.54 28.1 (22.34-36.7)	24.4±2.92 24.53 (20.33-28.69)	0.190
IFN- γ	9.61±3.17 10.73 (5.77-13.52)	8.2±1.85 8.41 (5.15-10.6)	0.190
IL-17/ IFN- γ	5.23±1.56 4.38 (3.74-7.1)	5.28±1.13 5.1 (4.3-7.3)	0.315

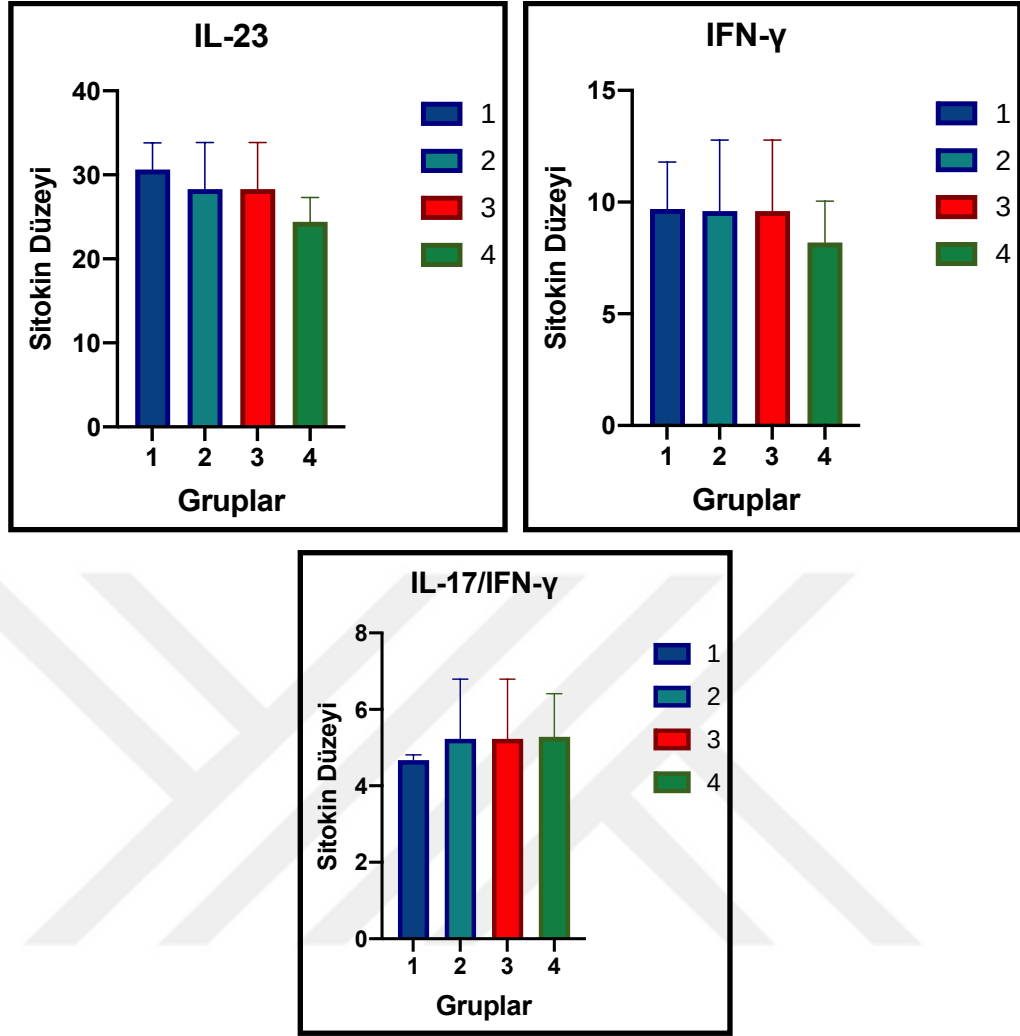
Mann-Whitney U test, (*): $p \leq 0.05$



Şekil 52. Tofasitinib tedavisinin üveit gelişiminde sitokin düzeylerine etkisi. IL-10 ve IL-17 için pg/mL cinsinden, IL-6, IL-15, IL-23 ve IFN- γ için ise ng/L cinsinden. 2= Hasta kontrol grubu, 4= Tedavi grubu.

Aşağıdaki grafiklerde tüm gruplara ait sitokin düzeylerini gösteren grafikler verilmiştir (Şekil 53).





Şekil 53. Gruplar arasında sitokin düzeylerinin ve IL-17/ IFN- γ oranının dağılımı. IL-10 ve IL-17 için pg/mL cinsinden, IL-6, IL-15, IL-23 ve IFN- γ için ise ng/L cinsinden. 1= Sağlıklı kontrol grubu, 2= Hasta kontrol grubu, 3= Sham kontrol grubu, 4= Tedavi grubu.

4.4.5. Üveitte sitokin düzeylerinin cinsiyet ile ilişkisi

Üveit oluşturulan tüm sıçan grupları kendi içinde değerlendirildiğinde; inflamasyona sitokin cevabı açısından, erkek sıçanlarda tüm sitokin düzeyleri daha yüksek ancak IL-17/ IFN- γ oranı istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte düşük bulundu (hasta kontrol/sham kontrol grupları için $p=0,114$).

Cinsiyete göre; hasta kontrol grubunda IL-6, IL-10, IL-15, IL-17 dağılımları açısından (tüm sitokinler için $p=0.01$), sham kontrol grubunda IL-6, IL-15 dağılımları açısından istatistiksel anlamlı farklılık vardı (sırasıyla p değerleri; **0.01, 0.038**).

4.5. Üveitte Sitokin Düzeylerinin Histolojik Skor ile İlişkisi

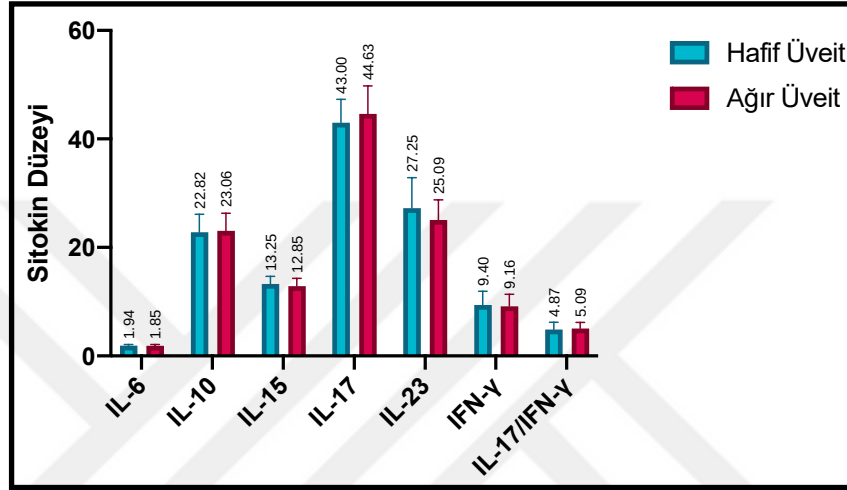
Histolojik skor şiddetine göre üveit gelişen gözler 2 alt gruba ayrıldı. Histolojik skoru 0.5 ve 1 olan gözler ‘Hafif üveit’ alt grubuna; histolojik skoru 2, 3 ve 4 olan gözler ise ‘Ağır üveit’ alt grubuna dahil edilerek sitokin düzeyleri Mann-Whitney U ile karşılaştırıldı. Histolojik skor şiddetine göre sitokin düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 31, Şekil 54). IL-10, IL-17 düzeylerinin ve IL-17/IFN- γ oranının histolojik skor ile birlikte arttığı izlendi ancak üveit gelişen tüm deneklerin sitokin değerlerinin histolojik skor ile korelasyonu incelendiğinde; hiçbir sitokin histolojik skor ile korele bulunmadı (Spearman’s rho korelasyon >0.05). Tofasitinib verilen tedavi grubunda ise IL-17/IFN- γ oranının histolojik skor ile arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel anlamlı korelasyon bulundu ($r=0.699$, $p=0.025$).

Tablo 31. Histolojik skora göre Hafif/Ağır üveit alt grupların sitokin düzeylerinin dağılımı.

	Hafif Üveit n=9	Ağır Üveit n=21	
	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort.±SS Med. (Min.-Maks.)	p
IL-6	1.94±0.19 1.99 (1.67-2.32)	1.85±0.27 1.78 (1.52-2.4)	0.193
IL-10	22,82±3.33 23.28 (18.37-30.48)	23.06±3.27 21.64 (18.26-30.48)	0.790
IL-15	13.25±1.45 13.63 (11.64-14.93)	12,85±1.49 12.31 (10.64-15.49)	0.657
IL-17	43±4.34 42.58 (37.79-50.6)	44.63±5.13 43.74 (37.14-52.45)	0.594

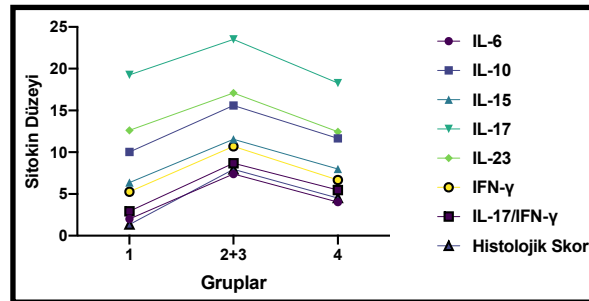
IL-23	27.25±5.63 25.53 (22.34-36.7)	25.09±3.7 25.72 (19.32-31.05)	0.657
IFN-γ	9.4±2.55 10.6 (5.15-13.52)	9.16±2.22 9.08 (5.15-13.52)	0.657
IL-17/ IFN-γ	4.87±1.36 4.3 (3.74-7.33)	5.09±1.08 4.56 (3.74-7.33)	0.283

Mann-Whitney U test



Şekil 54. Histolojik skor şiddetine göre sitokin düzeyi dağılımı.

Sitokin düzeyleri ve histolojik skor, gruplar arasında benzer bir değişim gösterdi. Tofasitinib verilmeyen üveit gruplarında ortalama sitokin düzeyi ve histolojik skor artarken, tofasitinib verilen tedavi grubunda azaldı (Şekil 55).



Şekil 55. Üveit gelişimi ve üveitte tofasitinib tedavisinin sitokin düzeylerine ve histolojik skorlara etkisi. IL-10 ve IL-17 için pg/mL cinsinden, IL-6, IL-15, IL-23 ve IFN- γ için ise ng/L cinsinden. 1= Sağlıklı kontrol grubu, 2+3= Hasta kontrol ve Sham kontrol grupları, 4= Tedavi grubu.

4.6. Sitokinlerin Birbirleri ile İlişkisi

Sitokinlerin birbiri ile ilişkisi üveit gruplarında kendi içlerinde, Spearman's rho korelasyon testi ile incelendi.

Hasta kontrol grubunun değerlendirilmesi ile, salt üveit durumunda sitokinlerin ikili ilişkileri hesaplandı. İnflamasyon durumunda non-spesifik akut faz reaktanı olan IL-6'nın, non-spesifik olarak inflamasyonun kompensasyonu için artan IL-10'un, üveit patogenezinde sorumlu tutulan Th1 sitokini IFN- γ 'nın ve Th17 sitokini IL-17'nin IL-23 hariç incelenen tüm sitokinler ile arasında pozitif yönde mükemmel düzeyde korelasyon olduğu görüldü (Spearman's rho korelasyonu $p<0.001$).

Tedavi grubunun değerlendirilmesi ile; tofasitinib etkisi ile sitokinlerin ikili ilişkileri hesaplandı. Th17'den IL-17 farklılaşması; IL-6 ve IL-23 üzerinden düzenlenmektedir; yapılan incelemede IL-17 ile IL-6 arasında pozitif yönde mükemmel düzeyde istatistiksel anlamlı korelasyon (Spearman's rho korelasyonu $p<0.001$), IL-17 ile IL-23 arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulundu ($r=0.5$, $p=0.141$).

5. TARTIŞMA

Üveit 20-50 yaş arasında daha sık olmak üzere her yaş grubunda görülebilen, ve ciddi görme kayıpları ile sonuçlanabilen bir tablodur. İmmün ayrıcalıklı bir doku olan gözde, tedavi edilmemiş veya kötü yönetimli üveit vakalarında oküler inflamasyonun yıkıcı etkisi nedeni ile görme düzeyinde kalıcı olarak azalma olabilir. Üveit ve üveite bağlı komplikasyonlar dünya çapında görme bozukluğunun % 5-10'una yol açarken, üveit hastalarında % 35'e varan yasal körlük bildirilmiştir (3). Ülkemiz için endemik olan BÜ, BH'nın en önemli komplikasyonlarından biri olup kötü prognozlu panüveit ile seyreden BÜ tablosunun tedavisinde öncelikle inflamasyonun baskılanması hedeflenmeli; mümkün olduğunca erken ve etkin

şekilde üveit tedavisi yapılmalıdır. Günümüzde BÜ olgularında ‘basamaklı tedavi’ algoritması uygulanmaktadır. Ancak kimi zaman dirençli vakalarda istenen düzeyde bir iyileşme izlenememekte ve tedavide kullanılan ajanlarının sistemik yan etki (karaciğer-böbrek toksisitesi, sitopeni vb.), enfeksiyon riskinde artış, teratojenite, parenteral kullanım zorluğu, yüksek maliyet gibi olumsuz faktörleri kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu nedenle hastalığın patofizyolojisinin aydınlanması ve hedefe yönelik, güçlü etkili, düşük yan etki profilili, kullanımı kolay ve düşük maliyetli alternatif tedavi ajanlarının bulunması gerekli görünmektedir (12, 22, 23, 113, 187, 189, 190).

Farmakolojik etkisi bilinen ajanların in-vivo etkilerinin saptanmasını amaçlayan çalışmalarda, ilk olarak deneysel modeller tercih edilmektedir (7, 8, 22, 62, 67, 75, 77). Sunulan çalışmada; BÜ tedavisinde alternatif bir ajanın test edilebilmesi için BÜ patogenezinde de rol alan PDSAg ile indüklenen DOIÜ modeli oluşturulması ve oluşturulan bu deneysel modelde oral tofasitinib tedavisinin etkinliğinin ve güvenilirliğinin test edilmesi amaçlanmıştır.

Deneysel üveit modellerinde; çalışmanın amacına ve eldeki imkanlara bağlı olarak farklı modeller tercih edilebilir (7-9, 67). Mevcut çalışmada panüveit ile karakterize BÜ tedavisinde tofasitinib etkinliğinin saptanabilmesi için; immün kompleks aracılı üveit modeli olan LIÜ, kısa süreli ön üveit ile karakterize EIÜ ve uzun süreli ancak yine ön üveitin ön planda olduğu MIÜ yerine DOIÜ modeli kullanılmıştır (6-11, 67, 73-79). Öngörüldüğü gibi oluşturulan DOIÜ modeli ile hedeflendiği gibi bir panüveit tablosu oluşturulmuştur.

Yapılan çalışma ile PDSAg ile immünize edilen Wistar sıçanlarda %100 oranında üveit geliştiği gösterilmiştir. Gelişen üveit klinik ve histolojik olarak dökümante edilmiştir. İmmünizasyon uygulanan sıçanlara ait klinik ve histolojik skorlar, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik anlamlı üveit tablo geliştiği saptanmıştır (**p≤0.001**). Literatürde ‘outbred’ bir sıçan cinsi olan Wistar sıçanlarda oluşturulan DOIÜ modeli ile ilgili yeterli bilgi bulunmamakla birlikte, Marak ve ark. Wistar sıçanlarda üveit gelişme oranının %50 olduğunu bildirilmiştir (101). Mevcut çalışma ile arasındaki bu farkın, immünizasyon için tercih edilen RSA formu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Marak ve ark. 30 adet Wistar sıçanda DOIÜ modeli geliştirmek için bütün bir RSA proteini 50 µg dozunda kullanmıştır,

oysa sunulan çalışmada PDSAg (aa:341-354) kullanılmış ve sadece 15 µg tercih edilmiştir. PDSAg'nin bu formu pek çok çalışmada yüksek üveitojenik olarak bildirilmiştir (9, 10, 77, 98, 299). Literatürde üveitojenik ajanlara dirençli olarak bildirilen Wistar sıçanlarda, PDSAg'nin 15 µg dozunda kullanılması ile en duyarlı sıçan cinsi olan Lewis sıçanlarla aynı oranda üveit oluşturulabildiği göstermiştir (9, 77, 86, 100, 101, 109). Bu durum; DOİÜ modellerinde üveit gelişiminde; sıçan cinsinin duyarlılığı kadar seçilen üveitojenik ajanın da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bakımı ve temini kolay, tek seferde çok yavru verebilen, düşük maliyetli Wistar cinsi sıçanlar ile, oldukça maliyetli, bakımı ve üretimi zor, ülkemizde temin konusunda problem yaşanan Lewis cinsi sıçanlarda bildirildiği kadar etkili bir DOİÜ modeli oluşturulabileceği gösterilmiştir. Djeraba ve ark.'nın Wistar sıçanlarda RSA kullanılarak oluşturdukları DOİÜ'nde, deneklerin inflamasyon şiddeti ile korele olan plazma NO düzeylerini Lewis sıçanlara benzer düzeyde saptanması da bu görüşü desteklemektedir (109).

Lewis sıçanlarda immünizasyon sonrası ilk günden itibaren retinal hasar başlamakta ve 14-16 gün sonra klinik bulgular ortaya çıkmaktadır (8, 9, 71, 84). Oysa Marak ve ark. Wistar sıçanlarda 16. güne, Djeraba ve ark. ise 21. güne kadar retinal hasar bildirmemiştir (101, 109). Sunulan çalışma sonlanmadan ara dönemde histolojik değerlendirme yapılmamıştır. Bu nedenle histolojik hasarın tam olarak kaçınıcı günde başladığı söylenemez. Ancak klinik bulguların histolojik hasardan daha geç ortaya çıktığı ve prodromal dönem olarak tanımlanan bu sürenin Lewis ratlarda 1-2 hafta olduğu bilinmektedir (10, 70, 71, 85). Mevcut çalışmada; hasta kontrol grubundaki sıçanların tümünde 23. günde, sham kontrol grubunda ortalama 25.2 ± 2.1 (23-29) günde, tedavi grubunda ise ortalama 27.8 ± 2.6 (25-32) günde saptanmıştır. Bu bilgilere dayanarak mevcut çalışmada ilk klinik bulgular literatürdeki Wistar/DOİÜ verileri ile benzer zamanda, Lewis/DOİÜ verileri ile kıyaslandığında 1 hafta kadar daha geç başladığı söylenebilir.

Klinik skor incelendiğinde mevcut çalışmada hiçbir sıçanda hipopyon (evre 3), hifema (evre 4) gibi ileri evre bulgulara rastlanmamıştır. Oysa literatürde Lewis ratlarda proptozis, ön kamarada hemoroji ve perforasyon gelişebildiği bildirilmiştir (8-10, 71, 75, 77). Bu durum Lewis sıçanların üveitojenik ajanlara daha duyarlı olması ile açıklanabilir.

Tofasitinib tedavisinin üveit başlama gününe olan etkisi değerlendirildiğinde; klinik üveit bulgularının başlama zamanı tedavi grubunda, hasta kontrol ve sham kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı gecikmiştir (sırasıyla p değerleri; **<0.001, 0.029**). Günlük klinik skorlar incelendiğinde de tüm günlerde tedavi grubunun klinik skor ortalaması, hasta ve sham kontrol gruplarından düşük olup zamana göre değişimi white-noise testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlı olduğu saptanmıştır (Barlett's **p<0.05**). Literatürde tofasitinibin oral kullanımının klinik üveit bulguları üzerine olan etkisi ile ilgili herhangi bir yayın bulunmamaktadır. Bu nedenle mevcut çalışmanın sonuçları, tofasitinibin farklı inflamatuvar hastalıklardaki etkinliğinin test edildiği preklinik çalışmalar ve topikal kullanım ile karşılaştırılmış ve klinik bulguların ortaya çıkışı açısından benzer sonuçlar saptanmıştır. Oral tofasitinib tedavisinin klinik artrit değerlendirilmesinde kullanılan pati ödemi azalttığı bildirilmiştir (26, 28, 48, 279). Huang ve ark.'nın Lewis sıçanlarda oluşturdukları PDSAg/DOIÜ modelinde topikal tofasitinib tedavisinin etkinliğini test ettikleri çalışmada da klinik skorun azaldığı bildirilmiştir (36). Sakimoto ve ark. fare kornealarında alkali yanık üzerine topikal tofasitinib tedavisinin etkinliğini korneal neovaskülarizasyon alanı ile değerlendirmiş ve istatistiksel anlamlı gerileme bildirmiştir (34). Stevenson ve ark. farelerde kurutma stresi ile oluşturulan deneysel kuru göz modelinde topikal tofasitinib tedavisini uyguladıkları çalışmalarında klinik olarak korneal floreseinin boyanmada istatistiksel anlamlı azalma bildirmişlerdir (35). Literatür ve mevcut çalışma bulguları değerlendirildiğinde tofasitinib tedavisinin hastalık patogenezinde yer alan inflamatuvar süreci geciktirdiği ve klinik bulguları azalttığı söylenebilir.

Sistemik olarak verilen PDSAg'e karşı oluşan immün yanıtın esas hedefi retina olduğu için ön kamara bulguları yol gösterici olsa da deneysel üveitte kesin tanı histolojik inceleme ile konur. Sunulan çalışmada; sağlıklı kontrol grubunda retina hasarı saptanmazken, immünize edilen hasta kontrol, sham kontrol ve tedavi gruplarında ortalama histolojik skor sırasıyla; 2.6 ± 1.07 , 3.3 ± 0.48 ve 2.05 ± 1.48 olarak saptanmıştır. Hasar FRT'den iç retinal katlara ilerlemekte ve diffüz olarak tüm retinayı tutmaktadır. Djeraba ve ark. da sunulan çalışmaya benzer şekilde PDSAg ile DOIÜ oluşturulan Wistar sıçanların retinal kesitlerini inceledikleri çalışmada asıl hasarın FRT'de olduğunu, FRT tutulmadan iç tabakalarda tutulum olmadığını ve

tespit edilen hasarın tüm retinada devam ettiğini izlemiştir (109). Bu tutulum karakteristiği DOİÜ modelinde hedeflendiği gibi NİÜ gibi koriokapillaris kaynaklı, diffüz bir inflamasyon oluştuğunu desteklemektedir; bu model NİÜ patogenezi ve tedavi alternatiflerinin test edilmesi planlanan çalışmalarda kullanılabilir.

Mevcut çalışmada üveit gelişen gruplar arasında histolojik skor dağılımı incelendiğinde 5 mg/kg günde 2 kez olacak şekilde uygulanan oral tofasitinib tedavisinin histolojik hasarı istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte azalttığı gösterilmiştir (hasta kontrol grubuna göre $p=0.393$, sham kontrol grubuna göre $p=0.089$). Histolojik skor dağılımı hasta kontrol grubunda 2.6 ± 1.07 (1-4), sham kontrol grubunda 3.3 ± 0.48 (3-4) iken oral tofasitinib verilen tedavi grubunda tüm diğer gruplardan daha düşük olacak şekilde 2.05 ± 1.48 (0.5-4)'dir. Huang ve ark.'nın 15 adet Lewis sıçanda PDSAg/DOİÜ oluşturarak topikal tofasitinib tedavisinin etkinliğini değerlendirdikleri çalışmalarında tofasitinib tedavisi almayan grupta ortalama retinal histolojik skor 3.7 ± 2.9 iken, günde 3 kez %0.03 konsantrasyonda topikal tofasitinib alan grupta 2.6 ± 3.0 olarak bildirilmiştir, histolojik skorda azalma izlense de mevcut çalışmaya benzer şekilde bu azalma istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. Günde 1 kez olacak şekilde verilen grupta ise herhangi bir etki gözlenmemiştir ve tofasitinibin üveitte histolojik skor üzerine etkinliğinin doz bağımlı bulunmuştur (36). Benzer şekilde Dowty ve ark.'nın tofasitinibin farmakolojik özelliklerini ve JAK tiplerine olan etkisini inceledikleri çalışmada tofasitinibin etkinliği doz bağımlı bulunmuştur (280). Sunulan çalışmada farklı dozlar karşılaştırılmamış olup, preklinik/klinik çalışmalar temel alınarak seçilen (≥ 3 mg/kg literatürde etkin minimal doz olup, mevcut çalışmada 5 mg/kg şeklinde uygulanmıştır) tofasitinib dozunun üveite sekonder gelişen retinal hasarı azaltmakta yeterli olduğu söylenebilir (279, 280, 282). Ancak tofasitinibin etkinliği doz bağımlı olduğu için günlük daha yüksek doz ile histolojik skorda istatistiksel anlamlı bir iyileşme sağlanabileceği düşünülmektedir.

Tofasitinibin klinik ve histolojik inflamasyon bulgularını azalma etkisini görmek için mevcut çalışmanın süresi, 35 gün (5 hafta) olarak belirlenmiştir. Bu sürede immünizasyon uygulanan tüm sıçanlarda klinik ve histolojik olarak gösterilebilen üveit tablosu gelişmiştir. Çalışma süresinin tofasitinib etkisini saptayabilmek için yeterliliği üzerine literatür tarandığında; tofasitinib ile ilgili

preklinik/klinik çalışmalarda etki başlangıç süresinin 1-4 hafta arasında verildiği görülmüştür. Preklinik çalışmalardan Hodge ve ark.'ı artrit modelinde 1. haftada tofasitinib etkisinin başladığını, Sakimoto ve ark. ise kuru göz modelinde etkinliğin 2. haftada başladığını bildirmişlerdir (27, 34). Klinik çalışmalarda ise RA için 2 haftadan itibaren, diğer inflamatuvar hastalıklarda 2-4 haftadan itibaren, üveit üzerine etkisini bildiren olgu serilerinde ise 4 haftadan itibaren etkinlik gösterdiği izlenmiştir (32, 33, 48). Literatürde bildirilen farklı etki başlangıç süreleri, mevcut çalışmada tofasitinib tedavisi ile saptanan histolojik skordaki azalmanın beklenen düzeyde bulunmamış olmasının deney süresinin kısa olması ile açıklanabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle yeni bir tedavi ajanının etkinliği test edileceği çalışmalarda, geç başlangıçlı bir panüveit tablosu gelişen Wistar sıçanlar kullanılacaksa, çalışma süresinin daha uzun planlanması gerektiği düşünülmektedir.

Literatürde salt tofasitinib kullanımının retina üzerine olan etkisi üzerine bir çalışma bulunmamaktadır. Sunulan çalışmada sadece oral tofasitinib verilen 2 adet sıçana ait retinal kesitlerin histolojik incelemesinde herhangi bir retinal hasar saptanmamıştır. Oral tofasitinibin uygulanan dozda retinal toksisitesinin görülmemesi; retina toksisitesi açısından güvenilir bir ajan olabileceğini düşündürmektedir.

Tofasitinibin sistemik kullanımının DOİÜ üzerine olan etkisi ile ilgili yayınlanmış herhangi bir çalışma bulunmasa da, farklı yöntemler ile indüklenen deneysel oküler inflamasyon ve klinikteki üveit ve kuru göz olguları üzerine olan etkinlikliğı ile ilgili çalışmalar Tablo 32'de özetlenmiştir. Sunulan çalışma ile paralel şekilde tabloda verilen preklinik ve klinik çalışmaların tümünde etkili olarak bildirilmiştir.

Tablo 32. Tofasitinibin oküler inflamasyon üzerine etkileri ile ilgili yapılmış prelinik/klirik çalışmalar.

JAKinib Jenerik Adı	Prelinik Çalışma				Klinik Çalışma			
	Çalışma	Model	Kullanım şekli	Sonuç	Çalışma	Hasta sayısı	Kullanım şekli	Sonuç
Tofasitinib	Sakimoto ve ark. (34)	Korneada alkali yanık	Topikal, 1 mg/mL	Etkili	Paley ve ark. (32)	2 (sklerit/orta üveit)	Oral, 11 mg/gün	Etkili
	Stevenson ve ark. (35)	Korneal termo koter/ deneysel kuru göz	Topikal, %0.03	Etkili	Miserocchi ve ark. (33)	1 (JİA ilişkili üveit)	Oral, 10 mg/gün	Etkili
	Huang ve ark. (36)	DOİÜ	Topikal, %0.005	Etkili	Bauermann ve ark. (289)	1 (JİA ilişkili üveit)	Oral, 10 mg/gün	Etkili
					Liew ve ark. (290)	327 (kuru göz)	Topikal	Etkili
					Huang ve ark. (291)	82 (kuru göz)	Topikal	Etkili
					NCT03580343	5 (aktif üveit/sklerit)	Oral, 11 mg/gün	Çalışma devam etmekte

JİA: Juvenil idiyopatik artrit, DOİÜ: Deneysel otoimmün üveit.

Mevcut çalışmada immünizasyon uygulanan sıçanlarda saptanan klinik ve histolojik üveit bulgularının cinsiyete göre dağılımı değerlendirilmiş ve istatistiksel anlamlı fark bulunmamakla beraber erkek sıçanlarda daha yüksek skorlar saptanmıştır ($p>0.05$). Caspi ve ark. çalışmaları sonucunda; yapılmış kontrollü bir çalışma bulunmasa da denek cinsiyetinin klinik ve histolojik sonuçlar üzerine etkili olmadığını bildirmişlerdir (8, 9). Panüveit tablosu olmasa da deneysel bir ön üveit gelişen EİÜ modelinde ise erkek sıçanlarda üveitin daha ağır seyirli olduğu bildirilmiştir, östrojenin koruyucu olduğu saptanmıştır (73, 308).

Mevcut çalışmada üveit geliştirmek için sıçanlara uygulanan immünizasyonun üveit patogenezinde rol aldığı bilinen sitokinler üzerine olan etkisini incelemek için, sağlıklı kontrol ve hasta kontrol grupları kıyaslandığında beklenen düzeyde olmasa da IL-6 düzeyinin ve IL-17/ IFN- γ oranının hasta kontrol

grubunda arttığı, IL-23 düzeyinin azaldığı, diğer sitokin düzeylerinin ise değişmediği saptanmıştır (sırasıyla p değerleri; IL-6 için 0.254, IL-17/IFN- γ için 0.569, IL-23 için 0.569, diğer sitokinler için 1'dir). Sitokin düzeylerinde immünizasyona karşın beklenen düzeyde değişim olmamasının birkaç sebebi olabileceği düşünülmektedir. Birincisi; üveit geliştirilememesi olabilir, ancak deneysel modellerde üveit tanısı histolojik skor ile konur; immünize edilen sıçanlarda histolojik skor artışı mevcut çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca bu veriyi destekleyen klinik bulgular da dökümanite edilmiştir. İkincisi; inflamatuvar yanıtın lokal düzeyde sınırlı kalarak kan sitokin düzeylerine yansımaması olabilir. Thureau ve ark. RSA ile immünizasyon sonrası sıçanlarda T hücrelerinin dolaşımdan intraoküler göçünü izlemişlerdir. İlk göçü takiben dokuya yerleşen lenfositlerden salınan sitokin ve kemokinlerin üveitin geç dönemindeki inflamasyondan sorumlu olduğunu göstermişler, geç dönemde lokal inflamasyonun ön planda olduğu göstermişlerdir (84). Bu nedenle mevcut çalışmada kan sitokin düzeyine bakıldığı dönem, üveitin kronikleştiği geç dönem olabileceği için bu dönemde inflamasyon lokal olarak gözde daha etkin olduğundan sitokin değişimleri kana yansımamış olabilir. Üveit hastalarında sitokin düzeylerini inceleyen pek çok çalışmada da, kontrol gruplarında AH ve serum sitokin düzeyleri benzer olsa da üveit geliştiğinde AH örneklerinde serum örneklerinden daha yüksek sitokin konsantrasyonları bildirilmiştir (77, 112, 115, 117, 134, 135, 145). Massof ve ark. sıçan göz boyutlarını yayınlamış; büyük lens ve dar ön kamara nedeni ile AH ya da vitre örneği alımı sırasında retinal dokuya hasar verilebileceğini bildirmiştir (9, 69). Mevcut çalışmada retinal dokuya hasar verilmesinden çekinilerek AH ya da vitre örneği alınmadığından intraoküler sitokin düzeyleri bilinmemektedir. Kaya ve ark. ise Wistar sıçanlara KonA vererek oluşturdukları panüveit tablosunda vitreustan aldıkları örneklerde planlanan tüm sitokinler için yeterli düzeyde materyal elde edememiş olsa da belirlenen 3 sitokine sıçanlar gruplandırılarak bakmıştır (309). Sitokin düzeylerinin beklenen değişimi göstermemesinin üçüncü nedeni ise; sitokin yarı ömrünün oldukça kısa olması ve kanda gözden daha çabuk temizlenmesi olabilir. Endoftalmi durumunda vitreusta sitokin düzeylerinin incelendiği bir çalışmada sitokin düzeylerinin 24. saatte pik yapıp 72. saatte bazal seviyeye indiği gösterilmiş olup sitokinlerin yarı ömrünün oldukça kısa olduğu izlenmiştir (310). Sunulan çalışmada kan sitokin düzeyine üveitin kronikleştiği geç dönemde bakılmış ve bu

nedenle lokal olarak gözde daha yüksek olan sitokin düzeyleri kana yansımadığından beklenen düzeyde değişimlerin saptanamadığı düşünülmektedir.

Beklenen düzeyde olmasa da immünizasyon ile hasta kontrol grubunda, sağlıklı kontrol grubuna göre IL-17/IFN- γ oranında artış saptanmıştır ($p=0.569$). Ayrıca üveit geliştiği saptanan tüm sıçanlar, histolojik skora göre hafif (0.5-1) ve ağır (2-3-4) olmak üzere iki alt gruba ayrılarak, sitokin düzeyleri açısından değerlendirildiğinde de IL-17 düzeyinin ve IL-17/IFN- γ oranının beklenen düzeyde olmamakla birlikte arttığı, buna karşın IFN- γ düzeyinin azaldığı izlenmiştir (sırasıyla p değerleri; 0.594, 0.283, 0.657). Th17 tanımlayıcı sitokini olan IL-17'nin Th1 tanımlayıcı sitokini IFN- γ 'ya karşı olan bu üstünlüğü son dönemde prelinik/klinik pek çok çalışmada gösterileni üveit patogenezinde Th17 yolağının baskın olduğu görüşü ile örtüşmektedir (7, 13, 62, 66, 67, 81, 82, 119, 120, 141). Diedrichs-Mohring ve ark. PDSAg ve IRBP ile oluşan DOIÜ modellerini karşılaştırdığı çalışmada PDSAg/DOIÜ modelinde IL-17/IFN- γ oranını yüksek bulmuşlardır (92). von Toerne ve ark. PDSAg ile indüklenen DOIÜ modelinde özellikle IL-17 düzeyinin yüksek olduğunu göstermişlerdir (96). Zhang ve ark. DOIÜ modelinde anti-IL-17 tedavisini test etmişler; hasta ve tedavi gruplarının IFN- γ düzeyleri benzer olsa IL-17 düzeyinde azalma ile DOIÜ bulgularında iyileşme bildirmişler, inflamasyona bağlı histolojik hasarın IL-17 ile daha ilişkili olduğunu saptamışlardır (82). Caspi ve ark. da sistemik enfeksiyonu olan farelerde DOIÜ bulgularının daha silik olduğunu bildirmiş, bu azalmanın sistemik enfeksiyona bağlı kanda düzeyi artan IFN- γ 'nın koruyucu etkisi nedeni ile olduğunu öne sürmüştür (103). Yoshimura ve ark. IL17 (-) farelerde oluşturulan DOIÜ modelindeki intraoküler inflamasyonun, vahşi tipte oluşturulan DOIÜ'den daha geç başlangıçlı ve düşük şiddette olduğunu bildirmişlerdir (81). Oh ve ark. da kronik üveitte IL-17 ile aktive olan STAT3 yolağının anahtar rol oynadığını ve STAT3 defektli farelerde DOIÜ gelişmediği göstermişlerdir (13). Tulunay ve ark. BH'da Th1/Th17 sitokinlerinin doku ekspresyonunda artış saptamışlardır (16). Klinikte ise BH'da IL-17/IFN- γ oranının özellikle üveitin eşlik ettiği hastalarda yüksek olduğunu bildirilmiştir (17, 111, 175). Ahn ve ark.'nın BÜ hastalarına ait AH ve kan sitokin düzeylerini endojen üveitli ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırdığı çalışmada IFN- γ düzeyi AH'de, serumdan istatistiksel anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (117). Arıdoğan ve ark.'nın serum

sitokin düzeylerini; aktif/inaktif BH grubu, rekürren aftöz ülseri olan hasta grubu ve sağlıklı kontroller ile karşılaştırdıkları çalışmalarında da benzer şekilde IFN- γ düzeyi aktif BH grubunda, inaktif BH ile rekürren aftöz ülser gruplarından düşük saptanmıştır (183). Sunulan çalışmanın sonucu ve literatür bilgisi göz önüne alındığında Th17 sitokini olan IL-17'nin üveitte inflamasyona bağlı doku hasarında önemli rol oynadığı, BÜ gibi NİÜ'lerin tedavisinde IL-17'nin baskılanması üzerine etkili tedavi alternatiflerinin inflamasyonun azaltılmasında daha başarılı olabileceği düşünülmektedir.

IL-23, IL-12 ailesinden bir sitokin olup IL-17'nin patojenik yönde farklılaşmasında önemli rol oynar (50, 80, 154). Sunulan çalışmada IL-23 düzeyi beklenenin aksine hem sağlıklı kontrol, hasta kontrol grupları arasında hem de histolojik skora dayanarak hafif/ağır üveit şeklinde ayrılan 2 alt grup arasında değerlendirildiğinde istatistiksel anlamlılık göstermemekle birlikte azalmış olarak saptanmıştır (sırasıyla p değerleri; 0.569, 0.657). Sitokin düzeylerinin inflamasyon durumunda birbirleri ile ilişkileri Spearmen korelasyon testi ile incelendiğinde de IL-23 haricinde tüm sitokinlerin birbiri ile korelasyonu 'mükemmel' düzeyde saptanmıştır (**$p \leq 0.001$**). Kuiper ve ark. Birdshot korioretinopatisi olan hastaların AH ve serumda sitokin düzeylerini inceledikleri çalışmada serumda IL-23 saptanmadığını, AH'de de kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim olmadığını bildirmişlerdir (134). Mevcut çalışmadaki sonuçlar da IL-23'ün lokal düzeyde etkili olması ve kan düzeylerine yansımaması ile açıklanabilir.

Tofasitinib tedavisinin üveit ile ilişkili doku hasarını azaltıcı etkisini inflamatuvar sitokinleri azaltarak gösterdiği düşünülmektedir. Daha önce bahsedildiği gibi tofasitinib, JAKinib sınıfından bir KİM olup, pek çok sitokine aynı anda etki edebilmektedir. Tofasitinibin sitokin düzeylerine etkisi üzerine yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Çalışmaların genel sonucu tofasitinibin non-spesifik olarak tüm sitokinleri azaltıcı etkisi olduğu yönündedir (26, 27, 49, 275-278). Sunulan çalışmada da hasta kontrol ve tedavi grupları kıyaslandığında IL-17 düzeyinde istatistiksel anlamlı olmak üzere (**$p=0.023$**), tüm sitokin düzeylerinde azalma saptanmıştır. Çalışmada literatür bilgisine benzer şekilde tofasitinibin sitokinler üzerinden etki ettiği ve deney süresinin (35 gün) tofasitinibin sitokin düzeylerini baskılaması için yeterli olduğu sonucuna varılabilir.

İn-vitro ve in-vivo olarak tofasitinibin sitokin düzeylerine olan etkisinin incelendiği çalışmalarda tofasitinibin IL-2 fonksiyonunu JAK1/3-STAT5 fosforilasyonunu engelleyerek bloke ettiği, bunun da tüm T hücre alt tiplerinde bir azalma yarattığı bildirilmiştir (26, 275-277). Sunulan çalışmada IL-2 ile oldukça benzer özellikte ve aynı aileden olan IL-15 düzeyi incelenmiş ve tofasitinib verilen tedavi grubunda istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte azaldığı saptanmıştır ($p=0.684$). Dowty ve ark. tek doz 50mg/kg tofasitinib ile JAK1/3 üzerinden STAT5 fosforilasyonunu bloke ederek IL-15 düzeyini azalttıklarını bildirmişlerdir (279). Mevcut çalışmada IL-15 ile IL-2 düzeyi öngörülebilir ve tofasitinib etkisiyle azaldığı düşünülmektedir; tofasitinib tedavisinin yardımcı T hücre alt tiplerime olan etkisini saptamak için Th1 için IFN γ , Th2 için IL-10, Th17 için IL-17 düzeylerine bakılmış ve tedavi grubunda hasta kontrol grubuna göre IL-17 azalışı ön planda olmak üzere IFN γ ve IL-10 düzeylerinde de azalma saptanmıştır (sırasıyla p değeri; **0.023**, 0.190, 0.796). Tofasitinibin inflamasyonu baskılamada Th1, Th2 ve Th17 yollarının hepsini etkilediği söylenebilir.

Mevcut çalışmada tedavi grubunda tofasitinib tedavisi altında incelenen tüm sitokinlerde istatistiksel anlamlı olmamakla beraber azalma saptanmasına karşın ($p>0.05$) IL-17 düzeyindeki azalma ön planda izlenmiştir (**$p=0.023$**). Bunun nedeni IL-17'nin tofasitinib etkisine daha duyarlı olması olabilir. Maeshima ve ark.'nın tofasitinibin RA hastalarından aldıkları sinovyal sıvı ve kan örneklerinden izole edilen yardımcı T hücreleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada da IL-17 ve IFN γ 'nın diğer sitokinlerden farklı olarak direkt inhibe edildiği saptanmıştır (276). Oysa Ghoreschi ve ark.'nın tofasitinibin immün yanıt üzerine olan etkisini inceleyen pek çok çalışmanın sonuçlarını derledikleri makalede; tofasitinibin IL-17 üzerine olan etkisinin, Th17'den IL-17 farklılaşmasında önemli rol oynayan IL-6 ve IL-23'nin direkt inhibisyonuna bağlı olduğu, bu nedenle inflamasyonu azaltmada asıl etkenin IL-23'ün fonksiyon göstermemesi nedeni ile patojenik özellikteki IL-17'nin azalması olduğu sonucuna varılmıştır (275). Mevcut çalışmada tedavi grubunda IL-17'nin IL-6 ve IL-23 ile ilişkisi incelenmiş; Spearman korelasyon analizi ile IL-17 ile IL-6 arasında pozitif yönde mükemmel düzeyde (**$r=0.8$, $p=0.005$**), IL-17 ile IL-23 arasında pozitif yönde orta düzeyde korelasyon bulunmuştur ($r=0.5$, $p=0.141$). Yoshimura ve ark. IL-6 (-) ve IL-23 (-) farelerde DOİÜ ile hasta kontrol grubunu

karşılaştırıldığında; düşük IL-17 düzeyleri ve bununla korele daha düşük histolojik skorlar bildirmişlerdir (142). Stevenson ve ark. deneysel kuru göz modelinde topikal tofasitinib tedavisinin inceldikleri çalışmada, kornea ve konjonktivanın immünohistokimyasal incelemesinde IL-23 ve IL-17 düzeyinde azalma saptanmıştır (35). Huang ve ark. da klinik olarak kuru gözde topikal tofasitinib kullanmış; gözyaşı örneklerinde IL-15 ve IL-17 düzeylerini azalttığını saptamışlardır (291). Vidal ve ark. deneysel artrit modelinde oral tofasitinib tedavisinin etkinliğini klinik, histolojik ve serum sitokin düzeyleri ile test ettikleri çalışmada; tofasitinibin klinik ve histolojik iyileşme sağladığını; STAT1 fosforilasyonunda ve IL-17 düzeyinde istatistiksel anlamlı azalmaya karşın serum IL-6 seviyesinde anlamlı bir azalma olmadığı bildirilmiştir (28). Mevcut çalışmanın verileri literatürdeki çalışmalarla birlikte değerlendirildiğinde inflamatuvar hasarda başlıca rol oynayan IL-17'nin IL-6 ve IL-23 üzerinden düzenlendiği ancak tofasitinib ile hem direkt hem indirekt mekanizmalarla IL-17 düzeyinin azaldığı, bu azalmanın üveite bağlı doku hasarını azaltmada diğer sitokinlerden daha ön planda olduğu sonucuna varılmaktadır.

Yapılan çalışmalarda tofasitinibin IFN γ 'yı da baskıladığı saptanmıştır (28, 48, 275). Sakimoto ve ark. alkali yanık ile oluşturulan korneal inflamasyonda topikal tofasitinib tedavisi uygulamış ve dokuda immünohistokimyasal inceleme yaparak korneal stromada STAT1 fosforilasyonunda ve IFN γ 'da anlamlı azalma bildirilmişlerdir (34). Ancak Keino ve ark. farelerde oluşturulan DOIÜ modelinde IL-12/IL-23 alt birimi olan p40'ı kodlayan genin ekspresyonu üzerine inhibitör etkili STA-5326 test ettikleri çalışmada; sistemik IFN- γ 'da artış, IL-17 azalma ile klinik ve histolojik üveit skorlarında azalma bildirilmiştir. STA-5326 ile IL-12 inhibisyonuna rağmen IFN- γ düzeyinin artmış olmasının; IL-23 inhibisyonu ile azalan IL-17'nin IFN- γ üzerine olan inhibitör etkisinin kalkmasına bağlı olabileceği bildirilmiştir (150). Sunulan çalışmada da tofasitinib tedavisi ile IFN- γ baskılanmış olsa da IL-17'nin azalmasına bağlı ortadan kalkan inhibisyon etkisi nedeni ile IFN- γ azalışı beklenen düzeyde saptanmamış olabilir (p=0.190).

Sunulan çalışmada tofasitinib tedavisi ile IL-17 ve IFN- γ düzeylerindeki azalmaya rağmen IL-17/ IFN- γ oranı hasta kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olmasa da artmıştır (p=0.315). Buna karşın tofasitinib tedavisi ile histolojik skorda da yine beklenen düzeyde olmamakla birlikte azalma saptanmış (p=0.393), IL-17/

IFN- γ oranı ile histolojik skor tedavi grubunda pozitif yönde orta düzeyde korele bulunmuştur (**$r=0.699$, $p=0.025$**). IL-17/ IFN- γ oranının beklenenin aksine artmış olması ve histolojik skorda saptanan azalma patojenik/düzenleyici IL-17 değişimi ile açıklanabilir. Literatürde patojenik özellikteki IL-17'nin ancak IL-23 varlığında oluştuğu, IL-23 yokluğunda TGF- β dominantlığında farklılaşan IL-17 düzenleyici karakterde olduğu bildirilmiştir (125, 126, 128-130, 148, 275). Mevcut çalışmada da IL-17/IFN- γ oranını arttıran IL-17'nin IL-23 yokluğunda farklılaşan düzenleyici özellikte IL-17 olduğu, bu nedenle histolojik skorda kötüleşme yaratmadığı düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada sitokin düzeyleri ve histolojik skor gruplar arasında benzer değişiklikler göstermiştir; genel olarak immünizasyon ile düzeyleri artış gösterip, tofasitinib tedavisi ile azalmıştır. Bu nedenle oral tofasitinib tedavisinin intraoküler inflamasyonu sitokinleri baskılayarak, özellikle de IL-17 üzerinden geciktirdiği ve retinal doku hasarını önlemede etkili bir ajan olabileceği düşünülmüştür.

Mevcut çalışmada tofasitinib tedavisinin sitokin düzeylerine olan etkisini test etmek için; cinsiyet ve uygulanan gavaj işlemi gruplar arasında değerlendirilmiştir. Wistar sıçanlar 'outbred' bir suş olduğu için normatif datası bulunmayıp; aynı laboratuvardaki sıçanlar kendi içinde değerlendirilir (99). Sunulan çalışmada sağlıklı kontrol grubunda dişi/erkek arasında sitokin düzeyleri açısından fark saptanmazken ($p>0.05$), inflamasyon durumunda erkek sıçanlarda tüm sitokinlerde artış saptanmıştır (grup içinde farklı sitokinlerde istatistiksel anlamlı saptanmıştır) ancak Wistar sıçanlarda cinsiyetin sitokin düzeyine etkisini inceleyen yapılmış kontrollü bir çalışma bulunmasa da denek cinsiyeti Lewis sıçanlar için sonuçlar üzerine etkisiz olarak bildirilmiştir (8, 9). Mevcut çalışmanın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda her iki cinsiyette de sitokin düzeyinde azalma olduğu ve farklı oranlarda azalma yaratsa da inflamasyonu azaltıcı etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Gavaj etkisi açısından hasta kontrol ve sham kontrol grupları karşılaştırıldığında IL-6 düzeyi hariç sitokin düzeylerinde anlamlı değişim saptanmamıştır ($p>0.05$). Tofasitinib etkinliğinin temel olarak değerlendirildiği histolojik skor ile IL-6 düzeyinin ilişkisi sham grubunda değerlendirildiğinde IL-6, histolojik skor ile ilişkisiz bulunmuştur ($r=0$, $p=1$). Bu nedenle gavaj ile salin

verilmesinin immünizasyon ile üveit geliştirilen sıçanlarda intraoküler inflamasyon üzerine etkisi olmadığı düşünülmektedir.

Çalışmaya dahil edilen tüm sıçanların başlangıç, takip ve final tartı değerleri kaydedilip; üveit gelişiminin tartı değişimine etkisi değerlendirildiğinde; üveit gelişen sıçanlarda tartı alımının istatistiksel anlamlı olmasa da daha düşük olduğu saptanmıştır ($p=0.299$). Keino ve ark. DOIÜ oluşturdukları deneklerin tartı değişimlerini değerlendirmiş ve benzer şekilde anlamlı bir değişiklik olmamakla beraber azalma bildirmişlerdir (150). Guo ve ark. ise Lewis sıçanlarda oluşturulan DOIÜ'nin metabolik etkilerini serumda aa düzeylerini inceleyerek ortaya koymuş ve DOIÜ'te bazı aa'lerin düzeyinin kontrol grubuna göre değiştiğini saptamışlardır (311). Sunulan çalışmada kilo kaybının saptanmaması; DOIÜ modelinde lokal inflamasyonun daha ön planda olması ile açıklanabilir.

Çalışmada ülkemizde üretimi olmadığından, bakımı ve üretimi zor, bu nedenle de maliyeti yüksek olan Lewis sıçanlar kullanılamamıştır. Alternatif olarak 'Wistar cinsi sıçanlar tercih edilmiştir. Bu durum tam anlamıyla bir kısıtlılık olarak değerlendirilmemiş aksine Lewis sıçanlarda oluşturulan DOIÜ'ne benzer özellikte bir model oluşturulmuştur. Ancak sonuçların yorumlanmasında ve literatür ile karşılaştırılmasında bir takım güçlükler sebep olmuştur. Ayrıca Lewis sıçanlara göre daha silik ve geç başlangıçlı bir DOIÜ tablosu geliştiği için tofasitinib tedavi etkinliğini göstermek için belirlenen çalışma süresi Wistar/DOIÜ modeli için yetersiz kalmış olabilir. Gelecekte yeni bir tedavi ajanının DOIÜ üzerine etkinliğinin test edileceği çalışmalarda Wistar sıçan tercih edilecek ise daha uzun bir deney süresi planlanması uygun olacaktır.

Çalışmada kullanılan denek sayısı, önceki küçük molekül inhibitörleri ile ilgili çalışmalar ile pre-hoc güvenilirlik bakılarak, uzman görüşü alınarak ve hayvan deneylerinde örneklem sayısı üzerine yayınlanan formüle dayanarak belirlenmeye çalışılmış ancak asıl incelenen parametre olan histolojik skorun grup içi dağılımları farklılık gösterdiği için post-hoc güvenilirliği tofasitinib tedavi etkinliğini göstermede yetersiz kalmıştır ($<80\%$). Bu nedenle tip II hata fazladır. Tofasitinib tedavisi ile histolojik skordaki azalma istatistiksel anlamlı bulunamamış olabilir. Tip II hatayı ortadan kaldırmak için; mevcut çalışma 44'er sıçandan oluşan 4 grup için toplamda 176 sıçan dahil edilerek yapıldığında, çalışmanın post-hoc güvenilirliği

aynı standart sapma ile ancak $>80\%$ 'e ulaşmaktadır. Çalışmanın bu sayıda sıçan dahil edilerek yapılması gerek etik, gerek yürütülebilirlik açısından mümkün olmadığı için genetik açıdan birbirine benzer olan inbred' suş kullanılarak standart sapmanın azalması sağlanarak tip II hata aşılabilir, çalışmanın güvenilirliğinin artırılabilceği düşünülmektedir.

Çalışma süresince indüklenen üveit modelinin oluşturduğu ön segment bulguları kalem ışık ile takip edilmiş, arka segment bulguları ise ancak sakrifikasyon sonrası enükle edilen gözlerin retina kesitleri incelenerek skorlanmıştır. İmkanlar dahilinde çalışma sürecinde arka segmenti değerlendirebilecek OCT, FFA gibi ileri tetkikler uygulanamamıştır. Bu nedenle inflamasyonun daha erken aşamalarında tofasitinibin etkisi gözlemlenememiştir. Gelecek çalışmalarda çalışma süresince intraoküler inflamasyonun gelişimini izleyebilmek için yukarı sayılan cihazlardan faydalanılabilir ya da etik sınırlar çerçevesinde denek sayısı yüksek tutularak deney süresince belli aşamalarda sakrifikasyon yapılabilir.

Histolojik skor, H-E ile boyanan nükleuslar üzerinden yapılmıştır. Bu inceleme sırasında çalışma bütçesi yeterli olmadığı için immünohistokimyasal inceleme, elektron mikroskopi yapılamamış ve retinal inflamasyonda rol oynayan hücrelerin tiplendirmesi ve oluşan hasarın özellikleri belirlenememiştir. Bu değerlendirmeler yapılarak ileride hedefe yönelik tedavilerin etkinliği daha objektif değerlendirilebilir.

Çalışmada inflamasyonu ve oral tofasitinib tedavisi ile inflamasyonda azalmayı göstermek için kanda sitokin düzeyi ELISA testi ile bakılmıştır. Kanda sitokin düzeyi bakılması, lokal inflamasyonu tam olarak yansıtmıyor olabilir. Mevcut çalışmanın bütçesi dokuda mRNA ekspresyonu gibi incelemeleri gerçekleştirmek için yetersiz kalmıştır. Gelecekte retinal dokuda mRNA ekspresyonu gösterilerek lokal inflamasyona ait veriler daha net ortaya konabilir.

Çalışmada tek bir konsantrasyonda tofasitinib kullanılmıştır. Tercih edilen doz için mevcut literatür bilgisi temel alınarak ($>3\text{mg/kg}$) yüksek bir doz (10mg/kg) tercih edilmiştir. Herhangi bir yan etki izlenmemiştir. Kullanım şekli ise oraldır. İleride çalışmanın farklı konsantrasyonlarda ve farklı uygulama yolları ile denenmesinin gerektiği düşünülmektedir. Böylece tofasitinib tedavisi için etkin minimum doz ve optimal uygulama şekli saptanabilir.

Bilimsel araştırma projesi olarak Marmara Üniversitesi tarafından bütçelendirilen mevcut çalışmanın, ileride bu çalışma temel alınarak; daha uzun süreli bir çalışmada, farklı tofasitinib dozları/uygulama yollarının etkinliğini doku düzeyindeki inflamasyonun immünohistokimyasal yöntemler ile gösterilmesine olanak sağlayacak bütçe ile gerçekleştirilmesi planlanmaktadır.

Mevcut çalışma ile daha ulaşılabilir olan Wistar cinsi sıçanlarda %100 üveit yapan, Th17 yolağının daha ön planda olduğu, BÜ'ne benzer klinik özellikleri ile yeni tedavi ajanlarının denenmesine imkan sunan bir DOIÜ modeli ortaya konmuştur. Bu modelde etkinliği test edilen oral tofasitinib tedavisi; üveitin klinik bulguların başlangıcını geciktirmede ve histolojik olarak üveit grubunda arttığı gösterilen retinal hasarı azaltmada faydalı bulunmuştur. Bu etkilerini sitokin düzeylerini azaltarak, özellikle de IL-17 düzeyini azaltarak göstermiştir. Tofasitinibin BÜ tedavisinde hedefe yönelik, yüksek etkinlikli, etkisini kısa sürede gösteren, yan etki profili düşük, güvenilir, temini ve kullanımı kolay, düşük maliyetli bir tedavi alternatifi olarak kullanılabilir.

Sunulan çalışmanın, gelecekte tofasitinib ve daha spesifik JAKinib sınıfından ajanlar ile yapılacak farklı parametrelerin değerlendirileceği prelinik çalışmalara temel olması ve üveit tedavisinde etkinliğini araştırarak klinik çalışmalara ışık tutması umut edilmektedir.

6. SONUÇ

- Wistar sıçanlarda %100 üveit yapan bir DOİÜ modeli ortaya konmuştur.
- Kullanılan PDSAg'nin aminoasit sekansı için her bir sıçana 15'er µg yeterli olmuş ve %100 oranında klinik ve histolojik olarak dökümanite edilen üveit gelişimi saptanmıştır (**p<0.001**).
- Üveitojenik ajanlara en duyarlı sıçan cinsi olarak bildirilen Lewis sıçanların üretimi, temini ve bakımı ülkemiz şartlarında oldukça güçtür. Bu çalışma ile üretimi, temini ve bakımı çok daha kolay olan Wistar sıçanlar ile yeni tedavi modalitelerinin test edilebileceği, NİÜ'e benzer bir panüveit tablosu oluşturulmuştur.
- Wistar cinsi sıçanlar ile oluşturulan PDSAg/DOİÜ modelinde literatürde özellikleri iyi tanımlanmış olan Lewis sıçanlarla oluşturulan PDSAg/DOİÜ modeline göre; üveitin klinik bulgularının başlangıcı 1 hafta daha geç (3. hafta), klinik muayenede ön segment bulguları daha silik (klinik skor 3 ve 4 saptanmadı) ve retinal hasar daha hafif saptanmıştır.
- Klinik bulgular, literatüre benzer şekilde ilk olarak konjonktival hiperemi ve iris damarlarında genişleme olarak saptanmıştır. Bulguların başlangıç günü tofasitinib tedavisi almayan Wistar/PDSAg/DOİÜ modeli için 23. gündür.
- Tofasitinib tedavisi üveit başlama gününü geciktirmiş ve günlük muayenelerde izlenen klinik skoru azaltmıştır (**p<0.001**).
- Histolojik inceleme ile gösterilen inflamasyona bağlı retinal hasar FRT'dan başlayıp, iç retinal katlara ilerlemektedir. Etkilenme tüm retinada diffüz özelliktedir. Aynı sıçanın sağ ve sol gözü arasında retinal hasar benzer özellik göstermiştir ($p>0.05$). Oluşan retinal hasarın şiddeti, cinsiyete göre farklılık göstermemektedir ($p>0.05$).
- Tedavi grubunda oral tofasitinib günde 2 kez 5 mg/kg şeklinde uygulanmış olup, histolojik skorlarda iyileşme izlenmiş ancak istatistiksel anlamlı olarak saptanmamıştır (hasta control grubuna göre $p=0.393$; sham control grubuna göre $p=0.089$).
- Oluşturulan Wistar/PDSAg/DOİÜ tablosu ve tofasitinib tedavisinin etkisini gözlemleyebilmek için çalışma süresi (35 gün) yeterli bulunmuştur.

- Oral tofasitinib kullanımı retinal toksisite açısından güvenilir bir ajan gibi gözükmemektedir. Salt tofasitinib verilen sıçanların retinal kesitlerinin histolojik incelemesinde toksisite düşündürecek herhangi bir hasar bulgusu saptanmamıştır.
- Üveit durumunda istatistiksel anlamlı olmamakla birlikte non-spesifik akut faz reaktanı olan IL-6 düzeyinin ($p=0.254$) ve IL-17/IFN- γ oranının ($p=0.569$) arttığı saptanmıştır. Histolojik skora göre daha ‘ağır’ üveit saptanan sıçanlarda da beklenen düzeyde olmasa da IL-17/ IFN- γ oranı yüksektir ($p=0.283$). Üveit patogenezinde Th17 sitokini IL-17’nin daha ön planda olduğu söylenebilir.
- Tofasitinib inflamasyonu azaltıcı etkisini IL-17 düzeyini istatistiksel anlamlı olmak üzere (**$p=0.023$**) non-spesifik olarak tüm sitokinleri baskılayarak gösterdiği düşünülmektedir.
- Tofasitinibin inflamatuvar hasarda başlıca rol oynayan IL-17’yi hem direkt hem indirekt mekanizmalarla IL-17 düzeyinin azalttığı, bu azalmanın üveite bağlı doku hasarını azaltmada diğer sitokinlerden daha ön planda olduğu sonucuna varılabilir (**$p=0.023$**).
- Gavaj prosedürü histolojik skorlar açısından değerlendirildiğinde intraoküler inflamasyon üzerine etkisiz bulunmuştur ($p=0.165$).
- Üveit gelişimi ile tartı alımı azalmış ancak istatistiksel anlamlı bulunmamıştır ($p=0.299$). DOIÜ tablosunda lokal inflamasyonun sistemik inflamasyondan daha ön planda olduğu sonucuna varılabilir.
- Sunulan bu çalışma, oral tofasitinib kullanımının DOIÜ modelindeki inflamasyon bulgularının giderilmesi üzerine yapılmış ilk çalışmadır.

7. KAYNAKLAR

1. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT, Standardization of Uveitis Nomenclature Working G. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol*. 2005;140(3):509-16.
2. Rothova A, Buitenhuis HJ, Meenken C, Brinkman CJ, Linssen A, Alberts C, Luyendijk L, Kijlstra A. Uveitis and systemic disease. *Br J Ophthalmol*. 1992;76(3):137-41.
3. Tsirouki T, Dastiridou A, Symeonidis C, Tounakaki O, Brazitikou I, Kalogeropoulos C, Androudi S. A Focus on the Epidemiology of Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018;26(1):2-16.
4. Munoz-Fernandez S, Martin-Mola E. Uveitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006;20(3):487-505.
5. Miserocchi E, Fogliato G, Modorati G, Bandello F. Review on the worldwide epidemiology of uveitis. *Eur J Ophthalmol*. 2013;23(5):705-17.
6. Nussenblatt RB. Proctor Lecture. Experimental autoimmune uveitis: mechanisms of disease and clinical therapeutic indications. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991;32(13):3131-41.
7. Caspi RR. A look at autoimmunity and inflammation in the eye. *J Clin Invest*. 2010;120(9):3073-83.
8. Agarwal RK, Silver PB, Caspi RR. Rodent models of experimental autoimmune uveitis. *Methods Mol Biol*. 2012;900:443-69.
9. Caspi RR. Experimental autoimmune uveoretinitis in the rat and mouse. *Curr Protoc Immunol*. 2003;Chapter 15:Unit 15 6.
10. Gery I, Mochizuki M, Nussenblatt R. Chapter 3 Retinal specific antigens and immunopathogenic processes they provoke. *Progress in Retinal Research*. 1986;5(C):75-109.
11. de Smet MD, Yamamoto JH, Mochizuki M, Gery I, Singh VK, Shinohara T, Wiggert B, Chader GJ, Nussenblatt RB. Cellular immune responses of patients with uveitis to retinal antigens and their fragments. *Am J Ophthalmol*. 1990;110(2):135-42.
12. Lee RW, Dick AD. Current concepts and future directions in the pathogenesis and treatment of non-infectious intraocular inflammation. *Eye (Lond)*. 2012;26(1):17-28.
13. Oh HM, Yu CR, Lee Y, Chan CC, Maminishkis A, Egwuagu CE. Autoreactive memory CD4+ T lymphocytes that mediate chronic uveitis reside in the bone marrow through STAT3-dependent mechanisms. *J Immunol*. 2011;187(6):3338-46.
14. He C, Yu CR, Mattapallil MJ, Sun L, Larkin J, Egwuagu CE. SOCS1 Mimetic Peptide Suppresses Chronic Intraocular Inflammatory Disease (Uveitis). *Mediators Inflamm*. 2016;2016:2939370.
15. Kaabachi W, Bouali E, Berraies A, Dhifallah IB, Hamdi B, Hamzaoui K, Hamzaoui A. Interleukin-26 is overexpressed in Behcet's disease and enhances Th17 related -cytokines. *Immunol Lett*. 2017;190:177-84.
16. Tulunay A, Dozmorov MG, Ture-Ozdemir F, Yilmaz V, Eksioğlu-Demiralp E, Alibaz-Oner F, Ozen G, Wren JD, Saruhan-Direskeneli G, Sawalha AH,

- Direskeneli H. Activation of the JAK/STAT pathway in Behcet's disease. *Genes Immun.* 2015;16(2):170-5.
17. Puccetti A, Fiore PF, Pelosi A, Tinazzi E, Patuzzo G, Argentino G, Moretta F, Lunardi C, Dolcino M. Gene Expression Profiling in Behcet's Disease Indicates an Autoimmune Component in the Pathogenesis of the Disease and Opens New Avenues for Targeted Therapy. *J Immunol Res.* 2018;2018:4246965.
 18. Sut N, Seyahi E, Yurdakul S, Senocak M, Yazici H. A cost analysis of Behcet's syndrome in Turkey. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(4):678-82.
 19. Russell AI, Lawson WA, Haskard DO. Potential new therapeutic options in Behcet's syndrome. *BioDrugs.* 2001;15(1):25-35.
 20. Akkoc N. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of Behcet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018;32(2):261-70.
 21. Zierhut M, Abu El-Asrar AM, Bodaghi B, Tugal-Tutkun I. Therapy of ocular Behcet disease. *Ocul Immunol Inflamm.* 2014;22(1):64-76.
 22. Nussenblatt RB. Bench to bedside: new approaches to the immunotherapy of uveitic disease. *Int Rev Immunol.* 2002;21(2-3):273-89.
 23. Lin P, Suhler EB, Rosenbaum JT. The future of uveitis treatment. *Ophthalmology.* 2014;121(1):365-76.
 24. Tugal-Tutkun I, Cakar Ozdal P. Behcet's disease uveitis: is there a need for new emerging drugs? *Expert Opin Emerg Drugs.* 2020:1-17.
 25. Gadina M, Gazaniga N, Vian L, Furumoto Y. Small molecules to the rescue: Inhibition of cytokine signaling in immune-mediated diseases. *J Autoimmun.* 2017;85:20-31.
 26. Tanaka Y, Maeshima K, Yamaoka K. In vitro and in vivo analysis of a JAK inhibitor in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012;71 Suppl 2:i70-4.
 27. Hodge JA, Kawabata TT, Krishnaswami S, Clark JD, Telliez JB, Dowty ME, Menon S, Lamba M, Zwillich S. The mechanism of action of tofacitinib - an oral Janus kinase inhibitor for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;34(2):318-28.
 28. Vidal B, Cascao R, Finnila MAJ, Lopes IP, da Gloria VG, Saarakkala S, Zioupos P, Canhao H, Fonseca JE. Effects of tofacitinib in early arthritis-induced bone loss in an adjuvant-induced arthritis rat model. *Rheumatology (Oxford).* 2017;57(8):1461-71.
 29. Singh JA, Hossain A, Mudano AS, Tanjong Ghogomu E, Suarez-Almazor ME, Buchbinder R, Maxwell LJ, Tugwell P, Wells GA. Biologics or tofacitinib for people with rheumatoid arthritis naive to methotrexate: a systematic review and network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;5:CD012657.
 30. Kaur K, Kalra S, Kaushal S. Systematic review of tofacitinib: a new drug for the management of rheumatoid arthritis. *Clin Ther.* 2014;36(7):1074-86.
 31. van der Heijde D, Deodhar A, Wei JC, Drescher E, Fleishaker D, Hendrikx T, Li D, Menon S, Kanik KS. Tofacitinib in patients with ankylosing spondylitis: a phase II, 16-week, randomised, placebo-controlled, dose-ranging study. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(8):1340-7.
 32. Paley MA, Karacal H, Rao PK, Margolis TP, Miner JJ. Tofacitinib for refractory uveitis and scleritis. *Am J Ophthalmol Case Rep.* 2019;13:53-5.
 33. Miserocchi E, Giuffre C, Cornalba M, Pontikaki I, Cimaz R. JAK inhibitors in refractory juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Clin Rheumatol.* 2020.

34. Sakimoto T, Ishimori A. Anti-inflammatory effect of topical administration of tofacitinib on corneal inflammation. *Exp Eye Res.* 2016;145:110-7.
35. Stevenson W, Sadrai Z, Hua J, Kodati S, Huang JF, Chauhan SK, Dana R. Effects of topical Janus kinase inhibition on ocular surface inflammation and immunity. *Cornea.* 2014;33(2):177-83.
36. Huang JF, Zhang Y, Hirakawa B. Evaluation of JAK inhibition with topical tofacitinib in an experimental autoimmune uveitis model (EAU). . *ARVO Journals.* 2013;54.
37. Hogan MJ, Alvarado JA, JE W. *Histology of the human eye: an atlas and textbook.* Philadelphia: WB Saunders 1971.
38. Theofilopoulos A. The basis of autoimmunity: Part I. Mechanisms of aberrant self-recognition. *Immunol Today.* 1995;16:90-8.
39. Theofilopoulos A. The basis of autoimmunity. Part II. Genetic predisposition. *Immunol Today.* 1995;16:150-9.
40. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and molecular immunology* 6ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.; 2007.
41. Levinson W. *Review of Medical Microbiology & Immunology.* . 12. ed 2012.
42. Snell GD. Studies in histocompatibility. *Science.* 1981;213(4504):172-8.
43. Shuai K, Liu B. Regulation of JAK-STAT signalling in the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(11):900-11.
44. Ghoreschi K, Laurence A, O'Shea JJ. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunol Rev.* 2009;228(1):273-87.
45. Roskoski R, Jr. Janus kinase (JAK) inhibitors in the treatment of inflammatory and neoplastic diseases. *Pharmacol Res.* 2016;111:784-803.
46. O'Shea JJ, Schwartz DM, Villarino AV, Gadina M, McInnes IB, Laurence A. The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention. *Annu Rev Med.* 2015;66:311-28.
47. Schwartz DM, Bonelli M, Gadina M, O'Shea JJ. Type I/II cytokines, JAKs, and new strategies for treating autoimmune diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(1):25-36.
48. Meyer DM, Jesson MI, Li X, Elrick MM, Funckes-Shippy CL, Warner JD, Gross CJ, Dowty ME, Ramaiah SK, Hirsch JL, Saabye MJ, Barks JL, Kishore N, Morris DL. Anti-inflammatory activity and neutrophil reductions mediated by the JAK1/JAK3 inhibitor, CP-690,550, in rat adjuvant-induced arthritis. *J Inflamm (Lond).* 2010;7:41.
49. Okamoto A, Fujio K, Okamura T, Iwasaki Y, Yamamoto K. JAK inhibition and modulation of T cell function. *Inflammation and Regeneration.* 2013;33:143-9.
50. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, Klunker S, Meyer N, O'Mahony L, Palomares O, Rhyner C, Ouaked N, Schaffartzik A, Van De Veen W, Zeller S, Zimmermann M, Akdis CA. Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(3):701-21 e1-70.
51. Schwartz DM, Kanno Y, Villarino A, Ward M, Gadina M, O'Shea JJ. JAK inhibition as a therapeutic strategy for immune and inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2017;17(1):78.
52. Streilein JW. Tissue barriers, immunosuppressive microenvironments, and privileged sites: the eye's point of view. *Reg Immunol.* 1993;5(5):253-68.

53. Streilein JW. Regulation of ocular immune responses. *Eye (Lond)*. 1997;11 (Pt 2):171-5.
54. van Dooremaal JC. Die Entwicklung der in fremden Grund versetzten lebenden Gewebe. *Graefe's Archiv für Ophthalmologie*. 1873;19:358-73.
55. Medawar PB. Immunity to homologous grafted skin; the fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue, and to the anterior chamber of the eye. *Br J of Exp Pathol*. 1948;29:58-69.
56. Stein-Streilein J, Streilein JW. Anterior chamber associated immune deviation (ACAID): regulation, biological relevance, and implications for therapy. *Int Rev Immunol*. 2002;21(2-3):123-52.
57. Streilein JW. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(11):879-89.
58. Yucel YH, Cardinell K, Khattak S, Zhou X, Lapinski M, Cheng F, Gupta N. Active Lymphatic Drainage From the Eye Measured by Noninvasive Photoacoustic Imaging of Near-Infrared Nanoparticles. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(7):2699-707.
59. Streilein JW. Immunoregulatory mechanisms of the eye. *Prog Retin Eye Res*. 1999;18(3):357-70.
60. Niederkorn JY, Shadduck JA, Streilein JW. Immunogenetic basis for immunologic privilege in the anterior chamber of the eye. *Immunogenetics*. 1981;13(3):227-36.
61. Cone RE, Pais R. Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (ACAID): An Acute Response to Ocular Insult Protects from Future Immune-Mediated Damage? *Ophthalmol Eye Dis*. 2009;1:33-40.
62. Perez VL, Caspi RR. Immune mechanisms in inflammatory and degenerative eye disease. *Trends Immunol*. 2015;36(6):354-63.
63. Thureau SR, Fricke H, Burchardi C, Diedrichs-Mohring M, Wildner G. Long-term follow-up of oral tolerance induction with HLA-peptide B27PD in patients with uveitis. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1029:408-12.
64. Wildner G, Diedrichs-Mohring M. Autoimmune uveitis induced by molecular mimicry of peptides from rotavirus, bovine casein and retinal S-antigen. *Eur J Immunol*. 2003;33(9):2577-87.
65. Direskeneli H, Saruhan-Direskeneli G. The role of heat shock proteins in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21(4 Suppl 30):S44-8.
66. Luger D, Silver PB, Tang J, Cua D, Chen Z, Iwakura Y, Bowman EP, Sgambellone NM, Chan CC, Caspi RR. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: conditions of disease induction affect dominant effector category. *J Exp Med*. 2008;205(4):799-810.
67. Bansal S, Barathi VA, Iwata D, Agrawal R. Experimental autoimmune uveitis and other animal models of uveitis: An update. *Indian J Ophthalmol*. 2015;63(3):211-8.
68. Caspi RR, Roberge FG, Chan CC, Wiggert B, Chader GJ, Rozenszajn LA, Lando Z, Nussenblatt RB. A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J Immunol*. 1988;140(5):1490-5.
69. Massof RW, Chang FW. A revision of the rat schematic eye. *Vision Res*. 1972;12(5):793-6.

70. Wildner G, Diedrichs-Mohring M, Thureau SR. Rat models of autoimmune uveitis. *Ophthalmic Res.* 2008;40(3-4):141-4.
71. Nussenblatt RB, Gery I. Experimental autoimmune uveitis and its relationship to clinical ocular inflammatory disease. *J Autoimmun.* 1996;9(5):575-85.
72. Chan CC, Caspi RR, Ni M, Leake WC, Wiggert B, Chader GJ, Nussenblatt RB. Pathology of experimental autoimmune uveoretinitis in mice. *J Autoimmun.* 1990;3(3):247-55.
73. Smith JR, Hart PH, Williams KA. Basic pathogenic mechanisms operating in experimental models of acute anterior uveitis. *Immunol Cell Biol.* 1998;76(6):497-512.
74. Kozhich AT, Chan CC, Gery I, Whitcup SM. Recurrent intraocular inflammation in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(7):1823-6.
75. Gasparin F, Takahashi BS, Scolari MR, Gasparin F, Pedral LS, Damico FM. Experimental models of autoimmune inflammatory ocular diseases. *Arq Bras Oftalmol.* 2012;75(2):143-7.
76. Smith JR, Rosenbaum JT, Williams KA. Experimental melanin-induced uveitis: experimental model of human acute anterior uveitis. *Ophthalmic Res.* 2008;40(3-4):136-40.
77. de Smet MD, Chan CC. Regulation of ocular inflammation--what experimental and human studies have taught us. *Prog Retin Eye Res.* 2001;20(6):761-97.
78. Grus FH, Augustin AJ, Zimmermann CW, Spitznas M, Sekundo W, Lutz J. Immunomodulating activity of allopurinol in experimental lens-induced uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1997;235(2):118-23.
79. de Smet MD, Taylor SR, Bodaghi B, Miserocchi E, Murray PI, Pleyer U, Zierhut M, Barisani-Asenbauer T, LeHoang P, Lightman S. Understanding uveitis: the impact of research on visual outcomes. *Prog Retin Eye Res.* 2011;30(6):452-70.
80. Horai R, Caspi RR. Cytokines in autoimmune uveitis. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31(10):733-44.
81. Yoshimura T, Sonoda KH, Miyazaki Y, Iwakura Y, Ishibashi T, Yoshimura A, Yoshida H. Differential roles for IFN-gamma and IL-17 in experimental autoimmune uveoretinitis. *Int Immunol.* 2008;20(2):209-14.
82. Zhang R, Qian J, Guo J, Yuan YF, Xue K. Suppression of experimental autoimmune uveoretinitis by Anti-IL-17 antibody. *Curr Eye Res.* 2009;34(4):297-303.
83. Wacker WB, Donoso LA, Kalsow CM, Yankeelov JA, Jr., Organisciak DT. Experimental allergic uveitis. Isolation, characterization, and localization of a soluble uveitopathogenic antigen from bovine retina. *J Immunol.* 1977;119(6):1949-58.
84. Thureau SR, Mempel TR, Flugel A, Diedrichs-Mohring M, Krombach F, Kawakami N, Wildner G. The fate of autoreactive, GFP+ T cells in rat models of uveitis analyzed by intravital fluorescence microscopy and FACS. *Int Immunol.* 2004;16(11):1573-82.
85. de Kozak Y, Sakai J, Thillaye B, Faure JP. S antigen-induced experimental autoimmune uveo-retinitis in rats. *Curr Eye Res.* 1981;1(6):327-37.

86. Broekhuysse RM, Winkens HJ, Kuhlmann ED. Induction of experimental autoimmune uveoretinitis and pinealitis by IRBP. Comparison to uveoretinitis induced by S-antigen and opsin. *Curr Eye Res.* 1986;5(3):231-40.
87. Meyers-Elliott RH, Sumner HL. Experimental uveitis induced by products of activated lymphocytes: intraocular effects of rhodopsin-induced lymphokines. *Cell Immunol.* 1982;66(2):240-53.
88. Broekhuysse RM, Winkens HJ, Kuhlmann ED, van Vugt AH. Opsin-induced experimental autoimmune retinitis in rats. *Curr Eye Res.* 1984;3(12):1405-12.
89. Gery I, Chanaud NP, 3rd, Anglade E. Recoverin is highly uveitogenic in Lewis rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35(8):3342-5.
90. Dua HS, Lee RH, Lolley RN, Barrett JA, Abrams M, Forrester JV, Donoso LA. Induction of experimental autoimmune uveitis by the retinal photoreceptor cell protein, phosducin. *Curr Eye Res.* 1992;11 Suppl:107-11.
91. Pfister C, Chabre M, Plouet J, Tuyen VV, De Kozak Y, Faure JP, Kuhn H. Retinal S antigen identified as the 48K protein regulating light-dependent phosphodiesterase in rods. *Science.* 1985;228(4701):891-3.
92. Diedrichs-Mohring M, Kaufmann U, Wildner G. The immunopathogenesis of chronic and relapsing autoimmune uveitis - Lessons from experimental rat models. *Prog Retin Eye Res.* 2018;65:107-26.
93. Brewer JM, Conacher M, Satoskar A, Bluethmann H, Alexander J. In interleukin-4-deficient mice, alum not only generates T helper 1 responses equivalent to freund's complete adjuvant, but continues to induce T helper 2 cytokine production. *Eur J Immunol.* 1996;26(9):2062-6.
94. Kaufmann U, Diedrichs-Mohring M, Wildner G. Dynamics of intraocular IFN-gamma, IL-17 and IL-10-producing cell populations during relapsing and monophasic rat experimental autoimmune uveitis. *PLoS One.* 2012;7(11):e49008.
95. Diedrichs-Mohring M, Hoffmann C, Wildner G. Antigen-dependent monophasic or recurrent autoimmune uveitis in rats. *Int Immunol.* 2008;20(3):365-74.
96. von Toerne C, Sieg C, Kaufmann U, Diedrichs-Mohring M, Nelson PJ, Wildner G. Effector T cells driving monophasic vs. relapsing/remitting experimental autoimmune uveitis show unique pathway signatures. *Mol Immunol.* 2010;48(1-3):272-80.
97. Wildner G, Kaufmann U. What causes relapses of autoimmune diseases? The etiological role of autoreactive T cells. *Autoimmun Rev.* 2013;12(11):1070-5.
98. de Smet MD, Bitar G, Roberge FG, Gery I, Nussenblatt RB. Human S-antigen: presence of multiple immunogenic and immunopathogenic sites in the Lewis rat. *J Autoimmun.* 1993;6(5):587-99.
99. Otto GM FC, Clifford CB. . *Biology and Diseases of Rats. . Laboratory Animal Medicine* 2015:151–207.
100. Suzuki I, Takahashi S, Fujii Y, Fuyama S, Arai S. Experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in rats: isolation of S-antigen, EAU susceptibility of rat strains, genetic control of EAU induction, and effects of cyclophosphamide and irradiation on EAU. *Jpn J Ophthalmol.* 1989;33(1):13-26.
101. Marak GE, Jr., Rao NA. Retinal 's' antigen disease in rats. *Ophthalmic Res.* 1982;14(1):29-39.

102. Agarwal RK, Chan CC, Wiggert B, Caspi RR. Pregnancy ameliorates induction and expression of experimental autoimmune uveitis. *J Immunol.* 1999;162(5):2648-54.
103. Caspi RR, Chan CC, Grubbs BG, Silver PB, Wiggert B, Parsa CF, Bahmanyar S, Billiau A, Heremans H. Endogenous systemic IFN-gamma has a protective role against ocular autoimmunity in mice. *J Immunol.* 1994;152(2):890-9.
104. Mozayani RM, Chan CC, Grubbs BG, Wiggert B, Caspi RR. Alternative routes of immunization for the induction of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in rodents: a comparison. *Ocul Immunol Inflamm.* 1995;3(2):81-8.
105. Chen J, Caspi RR. Clinical and Functional Evaluation of Ocular Inflammatory Disease Using the Model of Experimental Autoimmune Uveitis. *Methods Mol Biol.* 2019;1899:211-27.
106. Xu H, Koch P, Chen M, Lau A, Reid DM, Forrester JV. A clinical grading system for retinal inflammation in the chronic model of experimental autoimmune uveoretinitis using digital fundus images. *Exp Eye Res.* 2008;87(4):319-26.
107. Harimoto K, Ito M, Karasawa Y, Sakurai Y, Takeuchi M. Evaluation of mouse experimental autoimmune uveoretinitis by spectral domain optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol.* 2014;98(6):808-12.
108. J. Li WC. An experimental autoimmune uveoretinitis model and intraocular inflammation. 2016.
109. Djeraba Z, Arroul-Lammali A, Medjeber O, Belguendouz H, Hartani D, Lahlou-Boukoffa OS, Touil-Boukoffa C. Nitric oxide, biomarker of experimental autoimmune uveitis induced by S antigen. *J Fr Ophtalmol.* 2010;33(10):693-700.
110. O'Shea JJ, Ma A, Lipsky P. Cytokines and autoimmunity. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(1):37-45.
111. Hamzaoui K. Th17 cells in Behcet's disease: a new immunoregulatory axis. *Clin Exp Rheumatol.* 2011;29(4 Suppl 67):S71-6.
112. Lacombe MS, Martin CM, Chamond RR, Galera JM, Omar M, Estevez EC. Aqueous and serum interferon gamma, interleukin (IL) 2, IL-4, and IL-10 in patients with uveitis. *Arch Ophthalmol.* 2000;118(6):768-72.
113. Heiligenhaus A, Thureau S, Hennig M, Grajewski RS, Wildner G. Anti-inflammatory treatment of uveitis with biologicals: new treatment options that reflect pathogenetic knowledge of the disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010;248(11):1531-51.
114. Virtanen A, Haikarainen T, Raivola J, Silvennoinen O. Selective JAKinibs: Prospects in Inflammatory and Autoimmune Diseases. *BioDrugs.* 2019;33(1):15-32.
115. Takase H, Futagami Y, Yoshida T, Kamoi K, Sugita S, Imai Y, Mochizuki M. Cytokine profile in aqueous humor and sera of patients with infectious or noninfectious uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(4):1557-61.
116. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Guemira F, Bessioud M, Hamza M, Ayed K. Cytokine profile in Behcet's disease patients. Relationship with disease activity. *Scand J Rheumatol.* 2002;31(4):205-10.
117. Ahn JK, Yu HG, Chung H, Park YG. Intraocular cytokine environment in active Behcet uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2006;142(3):429-34.
118. El-Asrar AM, Struyf S, Kangave D, Al-Obeidan SS, Opdenakker G, Geboes K, Van Damme J. Cytokine profiles in aqueous humor of patients with different clinical entities of endogenous uveitis. *Clin Immunol.* 2011;139(2):177-84.

119. Laurence A, Tato CM, Davidson TS, Kanno Y, Chen Z, Yao Z, Blank RB, Meylan F, Siegel R, Hennighausen L, Shevach EM, O'Shea J J. Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation. *Immunity*. 2007;26(3):371-81.
120. Boyman O, Sprent J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(3):180-90.
121. Perera PY, Lichy JH, Waldmann TA, Perera LP. The role of interleukin-15 in inflammation and immune responses to infection: implications for its therapeutic use. *Microbes Infect*. 2012;14(3):247-61.
122. Curnow SJ, Pryce K, Modi N, Knight B, Graham EM, Stewart JE, Fortune F, Stanford MR, Murray PI, Wallace GR. Serum cytokine profiles in Behcet's disease: is there a role for IL-15 in pathogenesis? *Immunol Lett*. 2008;121(1):7-12.
123. Choe JY, Lee H, Kim SG, Kim MJ, Park SH, Kim SK. The distinct expressions of interleukin-15 and interleukin-15 receptor alpha in Behcet's disease. *Rheumatol Int*. 2013;33(8):2109-15.
124. Hamzaoui K, Hamzaoui A, Ghorbel I, Khanfir M, Houman H. Levels of IL-15 in serum and cerebrospinal fluid of patients with Behcet's disease. *Scand J Immunol*. 2006;64(6):655-60.
125. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, Wang Y, Hood L, Zhu Z, Tian Q, Dong C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*. 2005;6(11):1133-41.
126. Di Meglio P, Di Cesare A, Laggner U, Chu CC, Napolitano L, Villanova F, Tosi I, Capon F, Trembath RC, Peris K, Nestle FO. The IL23R R381Q gene variant protects against immune-mediated diseases by impairing IL-23-induced Th17 effector response in humans. *PLoS One*. 2011;6(2):e17160.
127. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*. 2011;34(2):149-62.
128. Furuzawa-Carballeda J, Vargas-Rojas MI, Cabral AR. Autoimmune inflammation from the Th17 perspective. *Autoimmun Rev*. 2007;6(3):169-75.
129. Steinman L. A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage. *Nat Med*. 2007;13(2):139-45.
130. Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(9):585-600.
131. Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, Mattson J, Basham B, Sedgwick JD, McClanahan T, Kastelein RA, Cua DJ. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med*. 2005;201(2):233-40.
132. Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, Murphy CA, Joyce B, Seymour B, Lucian L, To W, Kwan S, Churakova T, Zurawski S, Wiekowski M, Lira SA, Gorman D, Kastelein RA, Sedgwick JD. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*. 2003;421(6924):744-8.
133. Pepple KL, Lin P. Targeting Interleukin-23 in the Treatment of Noninfectious Uveitis. *Ophthalmology*. 2018;125(12):1977-83.
134. Kuiper JJ, Mutis T, de Jager W, de Groot-Mijnes JD, Rothova A. Intraocular interleukin-17 and proinflammatory cytokines in HLA-A29-associated birdshot chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2011;152(2):177-82 e1.

135. Lahmar I, Abou-Bacar A, Abdelrahman T, Guinard M, Babba H, Ben Yahia S, Kairallah M, Speeg-Schatz C, Bourcier T, Sauer A, Villard O, Pfaff AW, Mousli M, Garweg JG, Candolfi E. Cytokine profiles in toxoplasmic and viral uveitis. *J Infect Dis.* 2009;199(8):1239-49.
136. Chi W, Yang P, Li B, Wu C, Jin H, Zhu X, Chen L, Zhou H, Huang X, Kijlstra A. IL-23 promotes CD4⁺ T cells to produce IL-17 in Vogt-Koyanagi-Harada disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119(5):1218-24.
137. Na SY, Park MJ, Park S, Lee ES. Up-regulation of Th17 and related cytokines in Behcet's disease corresponding to disease activity. *Clin Exp Rheumatol.* 2013;31(3 Suppl 77):32-40.
138. Cai T, Wang Q, Zhou Q, Wang C, Hou S, Qi J, Kijlstra A, Yang P. Increased expression of IL-22 is associated with disease activity in Behcet's disease. *PLoS One.* 2013;8(3):e59009.
139. Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, Huang X, Kijlstra A. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behcet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(7):3058-64.
140. Albayrak O, Oray M, Can F, Uludag Kirimli G, Gul A, Tugal-Tutkun I, Onal S. Effect of Interferon alfa-2a Treatment on Adaptive and Innate Immune Systems in Patients With Behcet Disease Uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019;60(1):52-63.
141. Peng Y, Han G, Shao H, Wang Y, Kaplan HJ, Sun D. Characterization of IL-17⁺ interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific T cells in experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(9):4153-61.
142. Yoshimura T, Sonoda KH, Ohguro N, Ohsugi Y, Ishibashi T, Cua DJ, Kobayashi T, Yoshida H, Yoshimura A. Involvement of Th17 cells and the effect of anti-IL-6 therapy in autoimmune uveitis. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48(4):347-54.
143. Jiang S, Liu X, Luo L, Qu B, Huang X, Xu L, Lin Y, Ye S, Liu Y. Elevated serum IL-23 correlates with intraocular inflammation after cataract surgery in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol.* 2010;94(8):1078-82.
144. Yang P, Foster CS. Interleukin 21, interleukin 23, and transforming growth factor beta1 in HLA-A29-associated birdshot retinochoroidopathy. *Am J Ophthalmol.* 2013;156(2):400-6 e2.
145. Abu El-Asrar AM, Berghmans N, Al-Obeidan SA, Mousa A, Opdenakker G, Van Damme J, Struyf S. The Cytokine Interleukin-6 and the Chemokines CCL20 and CXCL13 Are Novel Biomarkers of Specific Endogenous Uveitic Entities. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(11):4606-13.
146. Velez G, Roybal CN, Colgan D, Tsang SH, Bassuk AG, Mahajan VB. Precision Medicine: Personalized Proteomics for the Diagnosis and Treatment of Idiopathic Inflammatory Disease. *JAMA Ophthalmol.* 2016;134(4):444-8.
147. Ke Y, Liu K, Huang GQ, Cui Y, Kaplan HJ, Shao H, Sun D. Anti-inflammatory role of IL-17 in experimental autoimmune uveitis. *J Immunol.* 2009;182(5):3183-90.
148. Amadi-Obi A, Yu CR, Liu X, Mahdi RM, Clarke GL, Nussenblatt RB, Gery I, Lee YS, Egwuagu CE. TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1. *Nat Med.* 2007;13(6):711-8.

149. Yeilding N, Szapary P, Brodmerkel C, Benson J, Plotnick M, Zhou H, Goyal K, Schenkel B, Giles-Komar J, Mascelli MA, Guzzo C. Development of the IL-12/23 antagonist ustekinumab in psoriasis: past, present, and future perspectives. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1222:30-9.
150. Keino H, Watanabe T, Sato Y, Niikura M, Wada Y, Okada AA. Therapeutic effect of the potent IL-12/IL-23 inhibitor STA-5326 on experimental autoimmune uveoretinitis. *Arthritis Res Ther.* 2008;10(5):R122.
151. Dick AD, Tugal-Tutkun I, Foster S, Zierhut M, Melissa Liew SH, Bezlyak V, Androudi S. Secukinumab in the treatment of noninfectious uveitis: results of three randomized, controlled clinical trials. *Ophthalmology.* 2013;120(4):777-87.
152. Hueber W, Patel DD, Dryja T, Wright AM, Koroleva I, Bruin G, Antoni C, Draelos Z, Gold MH, Psoriasis Study G, Durez P, Tak PP, Gomez-Reino JJ, Rheumatoid Arthritis Study G, Foster CS, Kim RY, Samson CM, Falk NS, Chu DS, Callanan D, Nguyen QD, Uveitis Study G, Rose K, Haider A, Di Padova F. Effects of AIN457, a fully human antibody to interleukin-17A, on psoriasis, rheumatoid arthritis, and uveitis. *Sci Transl Med.* 2010;2(52):52ra72.
153. Letko E, Yeh S, Foster CS, Pleyer U, Brigell M, Grosskreutz CL, Group AAS. Efficacy and safety of intravenous secukinumab in noninfectious uveitis requiring steroid-sparing immunosuppressive therapy. *Ophthalmology.* 2015;122(5):939-48.
154. Weinstein JE, Pepple KL. Cytokines in uveitis. *Curr Opin Ophthalmol.* 2018;29(3):267-74.
155. Kazokoglu H, Onal S, Tugal-Tutkun I, Mirza E, Akova Y, Ozyazgan Y, Soyulu M, Batioglu F, Apaydin C. Demographic and clinical features of uveitis in tertiary centers in Turkey. *Ophthalmic Epidemiol.* 2008;15(5):285-93.
156. Yalcindag FN, Ozdal PC, Ozyazgan Y, Batioglu F, Tugal-Tutkun I, Group BS. Demographic and Clinical Characteristics of Uveitis in Turkey: The First National Registry Report. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018;26(1):17-26.
157. Harthan JS, Opitz DL, Fromstein SR, Morettin CE. Diagnosis and treatment of anterior uveitis: optometric management. *Clin Optom (Auckl).* 2016;8:23-35.
158. Selmi C. Diagnosis and classification of autoimmune uveitis. *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):591-4.
159. Babu BM, Rathinam SR. Intermediate uveitis. *Indian J Ophthalmol.* 2010;58(1):21-7.
160. Yazici H, Yurdakul S, Hamuryudan V. Behcet's syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 1999;11(1):53-7.
161. Behçet H. Über rezidivierende aphthöse durch ein virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge, und an den Genitalien. *Dermatol Wochenschr.* 1997;1937:105:1152-7.
162. Davatchi F, Chams-Davatchi C, Shams H, Shahram F, Nadji A, Akhlaghi M, Faezi T, Ghodsi Z, Sadeghi Abdollahi B, Ashofteh F, Mohtasham N, Kavosi H, Masoumi M. Behcet's disease: epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017;13(1):57-65.
163. Keino H, Okada AA. Behcet's disease: global epidemiology of an Old Silk Road disease. *Br J Ophthalmol.* 2007;91(12):1573-4.
164. Criteria for diagnosis of Behcet's disease. International Study Group for Behcet's Disease. *Lancet.* 1990;335(8697):1078-80.

165. Tugal-Tutkun I, Onal S, Altan-Yaycioglu R, Huseyin Altunbas H, Urgancioglu M. Uveitis in Behcet disease: an analysis of 880 patients. *Am J Ophthalmol*. 2004;138(3):373-80.
166. Celiker H, Kazokoglu H, Direskeneli H. Factors Affecting Relapse and Remission in Behcet's Uveitis Treated with Interferon Alpha2a. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2018;35(1):58-65.
167. Evereklioglu C. Current concepts in the etiology and treatment of Behcet disease. *Surv Ophthalmol*. 2005;50(4):297-350.
168. Atmaca LS. Fundus changes associated with Behcet's disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1989;27(4):340-4.
169. Zierhut M, Stübiger N, C. D. Behçet's disease. . 1 ed. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2005.
170. Kitaichi N, Miyazaki A, Iwata D, Ohno S, Stanford MR, Chams H. Ocular features of Behcet's disease: an international collaborative study. *Br J Ophthalmol*. 2007;91(12):1579-82.
171. Direskeneli H. Behcet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Ann Rheum Dis*. 2001;60(11):996-1002.
172. Ohno S, Ohguchi M, Hirose S, Matsuda H, Wakisaka A, Aizawa M. Close association of HLA-Bw51 with Behcet's disease. *Arch Ophthalmol*. 1982;100(9):1455-8.
173. Mizuki N, Ohno S. Immunogenetic studies of Behcet's disease. *Rev Rhum Engl Ed*. 1996;63(7-8):520-7.
174. Wildner G, Thureau SR. Cross-reactivity between an HLA-B27-derived peptide and a retinal autoantigen peptide: a clue to major histocompatibility complex association with autoimmune disease. *Eur J Immunol*. 1994;24(11):2579-85.
175. Kim J, Park JA, Lee EY, Lee YJ, Song YW, Lee EB. Imbalance of Th17 to Th1 cells in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2010;28(4 Suppl 60):S16-9.
176. de Boer JH, van Haren MA, de Vries-Knoppert WA, Baarsma GS, de Jong PV, Postema FJ, Rademakers AJ, Kijlstra A. Analysis of IL-6 levels in human vitreous fluid obtained from uveitis patients, patients with proliferative intraocular disorders and eye bank eyes. *Curr Eye Res*. 1992;11 Suppl:181-6.
177. Ooi KG, Galatowicz G, Calder VL, Lightman SL. Cytokines and chemokines in uveitis: is there a correlation with clinical phenotype? *Clin Med Res*. 2006;4(4):294-309.
178. Demir T, Godekmerdan A, Balbaba M, Turkcuoglu P, Ilhan F, Demir N. The effect of infliximab, cyclosporine A and recombinant IL-10 on vitreous cytokine levels in experimental autoimmune uveitis. *Indian J Ophthalmol*. 2006;54(4):241-5.
179. Rizzo LV, Xu H, Chan CC, Wiggert B, Caspi RR. IL-10 has a protective role in experimental autoimmune uveoretinitis. *Int Immunol*. 1998;10(6):807-14.
180. Rosenbaum JT, Angell E. Paradoxical effects of IL-10 in endotoxin-induced uveitis. *J Immunol*. 1995;155(8):4090-4.
181. Remmers EF, Cosan F, Kirino Y, Ombrello MJ, Abaci N, Satorius C, Le JM, Yang B, Korman BD, Cakiris A, Aglar O, Emrence Z, Azakli H, Ustek D, Tugal-Tutkun I, Akman-Demir G, Chen W, Amos CI, Dizon MB, Kose AA, Azizlerli G, Erer B, Brand OJ, Kaklamani VG, Kaklamanis P, Ben-Chetrit E, Stanford M, Fortune F, Ghabra M, Ollier WE, Cho YH, Bang D, O'Shea J, Wallace

- GR, Gadina M, Kastner DL, Gul A. Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behcet's disease. *Nat Genet.* 2010;42(8):698-702.
182. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behcet's disease susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010;42(8):703-6.
183. Aridogan BC, Yildirim M, Baysal V, Inaloz HS, Baz K, Kaya S. Serum Levels of IL-4, IL-10, IL-12, IL-13 and IFN-gamma in Behcet's disease. *J Dermatol.* 2003;30(8):602-7.
184. Evereklioglu C, Er H, Turkoz Y, Cekmen M. Serum levels of TNF-alpha, sIL-2R, IL-6, and IL-8 are increased and associated with elevated lipid peroxidation in patients with Behcet's disease. *Mediators Inflamm.* 2002;11(2):87-93.
185. Lopalco G, Fabiani C, Sota J, Lucherini OM, Tosi GM, Frediani B, Iannone F, Galeazzi M, Franceschini R, Rigante D, Cantarini L. IL-6 blockade in the management of non-infectious uveitis. *Clin Rheumatol.* 2017;36(7):1459-69.
186. Bae JH, Lee SC. Effect of intravitreal methotrexate and aqueous humor cytokine levels in refractory retinal vasculitis in Behcet disease. *Retina.* 2012;32(7):1395-402.
187. Gaggiano C, Sota J, Gentileschi S, Caggiano V, Grosso S, Tosi GM, Frediani B, Cantarini L, Fabiani C. The current status of biological treatment for uveitis. *Expert Rev Clin Immunol.* 2020;16(8):787-811.
188. Karacorlu M, Mudun B, Ozdemir H, Karacorlu SA, Burumcek E. Intravitreal triamcinolone acetonide for the treatment of cystoid macular edema secondary to Behcet disease. *Am J Ophthalmol.* 2004;138(2):289-91.
189. Pleyer U, Stubiger N. New pharmacotherapy options for noninfectious posterior uveitis. *Expert Opin Biol Ther.* 2014;14(12):1783-99.
190. Pleyer U, Algharably EA, Feist E, Kreutz R. Small molecules as therapy for uveitis: a selected perspective of new and developing agents. *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(13):1311-23.
191. Gallego-Pinazo R, Dolz-Marco R, Martinez-Castillo S, Arevalo JF, Diaz-Llopis M. Update on the principles and novel local and systemic therapies for the treatment of non-infectious uveitis. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2013;12(1):38-45.
192. Celiker H, Kazokoglu H, Direskeneli H. Conventional immunosuppressive therapy in severe Behcet's Uveitis: the switch rate to the biological agents. *BMC Ophthalmol.* 2018;18(1):261.
193. Kempen JH, Daniel E, Gangaputra S, Dreger K, Jabs DA, Kacmaz RO, Pujari SS, Anzaar F, Foster CS, Helzlsouer KJ, Levy-Clarke GA, Nussenblatt RB, Liesegang T, Rosenbaum JT, Suhler EB. Methods for identifying long-term adverse effects of treatment in patients with eye diseases: the Systemic Immunosuppressive Therapy for Eye Diseases (SITE) Cohort Study. *Ophthalmic Epidemiol.* 2008;15(1):47-55.
194. Pleyer U, Pohlmann D, Kardes E, Poddubnyy D, Rademacher J. Emerging drugs for the treatment of noninfectious uveitis. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2019;24(3):173-90.

195. Smolen JS, van der Heijde D, Machold KP, Aletaha D, Landewe R. Proposal for a new nomenclature of disease-modifying antirheumatic drugs. *Ann Rheum Dis*. 2014;73(1):3-5.
196. Dick AD, Rosenbaum JT, Al-Dhibi HA, Belfort R, Jr., Brezin AP, Chee SP, Davis JL, Ramanan AV, Sonoda KH, Carreno E, Nascimento H, Salah S, Salek S, Siak J, Steeples L, Fundamentals of Care for Uveitis International Consensus G. Guidance on Noncorticosteroid Systemic Immunomodulatory Therapy in Noninfectious Uveitis: Fundamentals Of Care for UveitiS (FOCUS) Initiative. *Ophthalmology*. 2018;125(5):757-73.
197. Hatemi G, Silman A, Bang D, Bodaghi B, Chamberlain AM, Gul A, Houman MH, Kotter I, Olivieri I, Salvarani C, Sfrikakis PP, Siva A, Stanford MR, Stubiger N, Yurdakul S, Yazici H, Committee EE. EULAR recommendations for the management of Behcet disease. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(12):1656-62.
198. Levy-Clarke G, Jabs DA, Read RW, Rosenbaum JT, Vitale A, Van Gelder RN. Expert panel recommendations for the use of anti-tumor necrosis factor biologic agents in patients with ocular inflammatory disorders. *Ophthalmology*. 2014;121(3):785-96 e3.
199. Galor A, Jabs DA, Leder HA, Kedhar SR, Dunn JP, Peters GB, 3rd, Thorne JE. Comparison of antimetabolite drugs as corticosteroid-sparing therapy for noninfectious ocular inflammation. *Ophthalmology*. 2008;115(10):1826-32.
200. Taylor SR, Banker A, Schlaen A, Couto C, Matthe E, Joshi L, Menezes V, Nguyen E, Tomkins-Netzer O, Bar A, Morarji J, McCluskey P, Lightman S. Intraocular methotrexate can induce extended remission in some patients in noninfectious uveitis. *Retina*. 2013;33(10):2149-54.
201. Taylor SR, Hahot-Wilner Z, Pacheco P, Lightman SL. Intraocular methotrexate in the treatment of uveitis and uveitic cystoid macular edema. *Ophthalmology*. 2009;116(4):797-801.
202. Gilger BC, Malok E, Stewart T, Horohov D, Ashton P, Smith T, Jaffe GJ, Allen JB. Effect of an intravitreal cyclosporine implant on experimental uveitis in horses. *Vet Immunol Immunopathol*. 2000;76(3-4):239-55.
203. Murphy CC, Greiner K, Plskova J, Duncan L, Frost NA, Forrester JV, Dick AD. Cyclosporine vs tacrolimus therapy for posterior and intermediate uveitis. *Arch Ophthalmol*. 2005;123(5):634-41.
204. Oh-i K, Keino H, Goto H, Yamakawa N, Murase K, Usui Y, Kezuka T, Sakai J, Takeuchi M, Usui M. Intravitreal injection of Tacrolimus (FK506) suppresses ongoing experimental autoimmune uveoretinitis in Rats. *Br J Ophthalmol*. 2007;91(2):237-42.
205. Ishikawa T, Hokama H, Katagiri Y, Goto H, Usui M. Effects of intravitreal injection of tacrolimus (FK506) in experimental uveitis. *Curr Eye Res*. 2005;30(2):93-101.
206. Shanmuganathan VA, Casely EM, Raj D, Powell RJ, Joseph A, Amoaku WM, Dua HS. The efficacy of sirolimus in the treatment of patients with refractory uveitis. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(6):666-9.
207. Nguyen QD, Ibrahim MA, Watters A, Bittencourt M, Yohannan J, Sepah YJ, Dunn JP, Naor J, Shams N, Shaikh O, Leder HA, Do DV. Ocular tolerability and efficacy of intravitreal and subconjunctival injections of sirolimus in patients with non-infectious uveitis: primary 6-month results of the SAVE Study. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2013;3(1):32.

208. Pasadhika S, Rosenbaum JT. Update on the use of systemic biologic agents in the treatment of noninfectious uveitis. *Biologics*. 2014;8:67-81.
209. Thomas AS. Biologics for the treatment of noninfectious uveitis: current concepts and emerging therapeutics. *Curr Opin Ophthalmol*. 2019;30(3):138-50.
210. Gueudry J, Wechsler B, Terrada C, Gendron G, Cassoux N, Fardeau C, Lehoang P, Piette JC, Bodaghi B. Long-term efficacy and safety of low-dose interferon alpha2a therapy in severe uveitis associated with Behcet disease. *Am J Ophthalmol*. 2008;146(6):837-44 e1.
211. Kotter I, Zierhut M, Eckstein AK, Vonthein R, Ness T, Gunaydin I, Grimbacher B, Blaschke S, Meyer-Riemann W, Peter HH, Stubiger N. Human recombinant interferon alfa-2a for the treatment of Behcet's disease with sight threatening posterior or panuveitis. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(4):423-31.
212. Tugal-Tutkun I, Guney-Tefekli E, Urgancioglu M. Results of interferon-alfa therapy in patients with Behcet uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2006;244(12):1692-5.
213. Caliceti P. Pharmacokinetics of pegylated interferons: what is misleading? *Dig Liver Dis*. 2004;36 Suppl 3:S334-9.
214. Celiker H, Kazokoglu H, Direskeneli H. Long-Term Efficacy of Pegylated Interferon Alpha-2b in Behcet's Uveitis: A Small Case Series. *Ocul Immunol Inflamm*. 2017;27(1):15-22.
215. Bielefeld P, Devilliers H, Deschasse C, Saadoun D, Seve P, Muselier A, Creuzot-Garcher C, Besancenot JF, Bron AM. Potential of Pegylated Interferon Alpha-2a in Behcet Uveitis: A Report of Five Cases. *Ocul Immunol Inflamm*. 2016;24(5):599-602.
216. Lightman S, Taylor SR, Bunce C, Longhurst H, Lynn W, Moots R, Stanford M, Tomkins-Netzer O, Yang D, Calder VL, Haskard DO. Pegylated interferon-alpha-2b reduces corticosteroid requirement in patients with Behcet's disease with upregulation of circulating regulatory T cells and reduction of Th17. *Ann Rheum Dis*. 2015;74(6):1138-44.
217. Kotter I, Gunaydin I, Zierhut M, Stubiger N. The use of interferon alpha in Behcet disease: review of the literature. *Semin Arthritis Rheum*. 2004;33(5):320-35.
218. Plskova J, Greiner K, Forrester JV. Interferon-alpha as an effective treatment for noninfectious posterior uveitis and panuveitis. *Am J Ophthalmol*. 2007;144(1):55-61.
219. Dick AD, Forrester JV, Liversidge J, Cope AP. The role of tumour necrosis factor (TNF-alpha) in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). *Prog Retin Eye Res*. 2004;23(6):617-37.
220. Santos Lacombe M, Marcos Martin C, Gallardo Galera JM, Gomez Vidal MA, Collantes Estevez E, Ramirez Chamond R, Omar M. Aqueous humor and serum tumor necrosis factor-alpha in clinical uveitis. *Ophthalmic Res*. 2001;33(5):251-5.
221. Sharma SM, Nestel AR, Lee RW, Dick AD. Clinical review: Anti-TNFalpha therapies in uveitis: perspective on 5 years of clinical experience. *Ocul Immunol Inflamm*. 2009;17(6):403-14.
222. Al-Rayes H, Al-Swailem R, Al-Balawi M, Al-Dohayan N, Al-Zaidi S, Tariq M. Safety and efficacy of infliximab therapy in active behcet's uveitis: an open-label trial. *Rheumatol Int*. 2008;29(1):53-7.

223. Maleki A, Sahawneh HF, Ma L, Meese H, He Y, Foster CS. Infliximab Therapy in Patients with Noninfectious Intermediate Uveitis Resistant to Conventional Immunomodulatory Therapy. *Retina*. 2017;37(5):836-43.
224. Tugal-Tutkun I, Mudun A, Urgancioglu M, Kamali S, Kasapoglu E, Inanc M, Gul A. Efficacy of infliximab in the treatment of uveitis that is resistant to treatment with the combination of azathioprine, cyclosporine, and corticosteroids in Behcet's disease: an open-label trial. *Arthritis Rheum*. 2005;52(8):2478-84.
225. Markomichelakis N, Delicha E, Masselos S, Fragiadaki K, Kaklamanis P, Sfrikakis PP. A single infliximab infusion vs corticosteroids for acute panuveitis attacks in Behcet's disease: a comparative 4-week study. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(3):593-7.
226. Farvardin M, Afarid M, Shahrzad S. Long-term effects of intravitreal infliximab for treatment of sight-threatening chronic noninfectious uveitis. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2012;28(6):628-31.
227. Perra D, Alba MA, Callejas JL, Mesquida M, Rios-Fernandez R, Adan A, Ortego N, Cervera R, Espinosa G. Adalimumab for the treatment of Behcet's disease: experience in 19 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(10):1825-31.
228. Olivieri I, Leccese P, D'Angelo S, Padula A, Nigro A, Palazzi C, Coniglio G, Latanza L. Efficacy of adalimumab in patients with Behcet's disease unsuccessfully treated with infliximab. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29(4 Suppl 67):S54-7.
229. Kunimi K, Usui Y, Asakage M, Maehara C, Tsubota K, Mitsuhashi R, Umazume A, Kezuka T, Sakai JI, Goto H. Anti-TNF-alpha Therapy for Refractory Uveitis Associated with Behcet's Syndrome and Sarcoidosis: A Single Center Study of 131 Patients. *Ocul Immunol Inflamm*. 2020:1-8.
230. Rudwaleit M, Rodevand E, Holck P, Vanhoof J, Kron M, Kary S, Kupper H. Adalimumab effectively reduces the rate of anterior uveitis flares in patients with active ankylosing spondylitis: results of a prospective open-label study. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(5):696-701.
231. Suhler EB, Adan A, Brezin AP, Fortin E, Goto H, Jaffe GJ, Kaburaki T, Kramer M, Lim LL, Muccioli C, Nguyen QD, Van Calster J, Cimino L, Kron M, Song AP, Liu J, Pathai S, Camez A, Schlaen A, van Velthoven MEJ, Vitale AT, Zierhut M, Tari S, Dick AD. Safety and Efficacy of Adalimumab in Patients with Noninfectious Uveitis in an Ongoing Open-Label Study: VISUAL III. *Ophthalmology*. 2018;125(7):1075-87.
232. Lejoyeux R, Diwo E, Vallet H, Saadoun D, Tezenas du Montcel S, Bodaghi B, LeHoang P, Fardeau C. INFLIXIMAB and ADALIMUMAB in Uveitic Macular Edema. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018;26(7):991-6.
233. Vallet H, Seve P, Biard L, Baptiste Fraison J, Bielefeld P, Perard L, Bienvenu B, Abad S, Rigolet A, Deroux A, Sene D, Perlat A, Marie I, Feurer E, Hachulla E, Fain O, Clavel G, Riviere S, Bouche PA, Gueudry J, Pugnet G, Le Hoang P, Resche Rigon M, Cacoub P, Bodaghi B, Saadoun D, French Uveitis N. Infliximab Versus Adalimumab in the Treatment of Refractory Inflammatory Uveitis: A Multicenter Study From the French Uveitis Network. *Arthritis Rheumatol*. 2016;68(6):1522-30.
234. Taban M, Dupps WJ, Mandell B, Perez VL. Etanercept (enbrel)-associated inflammatory eye disease: case report and review of the literature. *Ocul Immunol Inflamm*. 2006;14(3):145-50.

235. Gaujoux-Viala C, Giampietro C, Gaujoux T, Ea HK, Prati C, Orcel P, Wendling D, Liote F. Scleritis: a paradoxical effect of etanercept? Etanercept-associated inflammatory eye disease. *J Rheumatol*. 2012;39(2):233-9.
236. Wang F, Wang NS. Etanercept therapy-associated acute uveitis: a case report and literature review. *Clin Exp Rheumatol*. 2009;27(5):838-9.
237. Lim LL, Fraunfelder FW, Rosenbaum JT. Do tumor necrosis factor inhibitors cause uveitis? A registry-based study. *Arthritis Rheum*. 2007;56(10):3248-52.
238. Nicolela Susanna F, Pavesio C. A review of ocular adverse events of biological anti-TNF drugs. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2020;10(1):11.
239. Cordero-Coma M, Salom D, Diaz-Llopis M, Lopez-Prats MJ, Calleja S. Golimumab for uveitis. *Ophthalmology*. 2011;118(9):1892 e3-4.
240. Mesquida M, Victoria Hernandez M, Llorenc V, Pelegrin L, Espinosa G, Dick AD, Adan A. Behcet disease-associated uveitis successfully treated with golimumab. *Ocul Immunol Inflamm*. 2013;21(2):160-2.
241. Fabiani C, Sota J, Rigante D, Vitale A, Emmi G, Vannozzi L, Franceschini R, Bacherini D, Frediani B, Galeazzi M, Tosi GM, Cantarini L. Rapid and Sustained Efficacy of Golimumab in the Treatment of Multirefractory Uveitis Associated with Behcet's Disease. *Ocul Immunol Inflamm*. 2019;27(1):58-63.
242. Tosi GM, Sota J, Vitale A, Rigante D, Emmi G, Lopalco G, Guerriero S, Orlando I, Iannone F, Frediani B, Angotti R, Messina M, Galeazzi M, Vannozzi L, Cantarini L, Fabiani C. Efficacy and safety of certolizumab pegol and golimumab in the treatment of non-infectious uveitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2019;37(4):680-3.
243. Llorenc V, Mesquida M, Sainz de la Maza M, Blanco R, Calvo V, Maiz O, Blanco A, de Dios-Jimenez de Aberasturi JR, Adan A. Certolizumab Pegol, a New Anti-TNF-alpha in the Armamentarium against Ocular Inflammation. *Ocul Immunol Inflamm*. 2016;24(2):167-72.
244. Sharon Y, Chu DS. Certolizumab pegol - Tumor necrosis factor inhibitor for refractory uveitis. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2020;18:100633.
245. Celiker H, Toker E, Kaygusuz Atagunduz I. A case of conjunctival MALT lymphoma: successfully treated with solely extended rituximab therapy. *Int Ophthalmol*. 2018;39(3):687-91.
246. Tuncer S, Tanyildiz B, Basaran M, Buyukbabani N, Dogan O. Systemic Rituximab Immunotherapy in the Management of Primary Ocular Adnexal Lymphoma: Single Institution Experience. *Curr Eye Res*. 2014;40(8):780-5.
247. Tappeiner C, Heinz C, Specker C, Heiligenhaus A. Rituximab as a treatment option for refractory endogenous anterior uveitis. *Ophthalmic Res*. 2007;39(3):184-6.
248. Onal S, Kazokoglu H, Koc A, Yavuz S. Rituximab for remission induction in a patient with relapsing necrotizing scleritis associated with limited Wegener's granulomatosis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2008;16(5):230-2.
249. Sadreddini S, Noshad H, Molaeeefard M, Noshad R. Treatment of retinal vasculitis in Behcet's disease with rituximab. *Mod Rheumatol*. 2008;18(3):306-8.
250. Davatchi F, Shams H, Rezaipoor M, Sadeghi-Abdollahi B, Shahram F, Nadji A, Chams-Davatchi C, Akhlaghi M, Faezi T, Naderi N. Rituximab in intractable ocular lesions of Behcet's disease; randomized single-blind control study (pilot study). *Int J Rheum Dis*. 2010;13(3):246-52.

251. Hohki S, Ohguro N, Haruta H, Nakai K, Terabe F, Serada S, Fujimoto M, Nomura S, Kawahata H, Kishimoto T, Naka T. Blockade of interleukin-6 signaling suppresses experimental autoimmune uveoretinitis by the inhibition of inflammatory Th17 responses. *Exp Eye Res.* 2010;91(2):162-70.
252. Perez VL, Papaliodis GN, Chu D, Anzaar F, Christen W, Foster CS. Elevated levels of interleukin 6 in the vitreous fluid of patients with pars planitis and posterior uveitis: the Massachusetts eye & ear experience and review of previous studies. *Ocul Immunol Inflamm.* 2004;12(3):193-201.
253. Maleki A, Gomez S, Asgari S, Bosenberg Z, Manhapra A, Walsh M, Weng A, Tseng C, He C, Anesi SD, Foster CS. Diagnostic and Prognostic Roles of Serum Interleukin-6 Levels in Patients with Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2020:1-6.
254. Tappeiner C, Mesquida M, Adan A, Anton J, Ramanan AV, Carreno E, Mackensen F, Kotaniemi K, de Boer JH, Bou R, de Vicuna CG, Heiligenhaus A. Evidence for Tocilizumab as a Treatment Option in Refractory Uveitis Associated with Juvenile Idiopathic Arthritis. *J Rheumatol.* 2016;43(12):2183-8.
255. Hirano T, Ohguro N, Hohki S, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, Yoshizaki K, Kumanogoh A, Kishimoto T, Tanaka T. A case of Behcet's disease treated with a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab. *Mod Rheumatol.* 2012;22(2):298-302.
256. Alokaily F, Al Saati A, Jawad A. Successful treatment of Behcet's uveitis with Tocilizumab. *Saudi J Ophthalmol.* 2017;31(1):42-4.
257. Atienza-Mateo B, Calvo-Rio V, Beltran E, Martinez-Costa L, Valls-Pascual E, Hernandez-Garfella M, Atanes A, Cordero-Coma M, Miquel Nolla J, Carrasco-Cubero C, Loricera J, Gonzalez-Vela MC, Vegas-Revenga N, Fernandez-Diaz C, Demetrio-Pablo R, Dominguez-Casas LC, Luis Martin-Varillas J, Palmou-Fontana N, Hernandez JL, Gonzalez-Gay MA, Blanco R. Anti-interleukin 6 receptor tocilizumab in refractory uveitis associated with Behcet's disease: multicentre retrospective study. *Rheumatology (Oxford).* 2018;57(5):856-64.
258. Sepah YJ, Sadiq MA, Chu DS, Dacey M, Gallemore R, Dayani P, Hanout M, Hassan M, Afridi R, Agarwal A, Halim MS, Do DV, Nguyen QD. Primary (Month-6) Outcomes of the STOP-Uveitis Study: Evaluating the Safety, Tolerability, and Efficacy of Tocilizumab in Patients With Noninfectious Uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2017;183:71-80.
259. Sato T, Minakuchi S, Mochizuki M, Takeuchi M. Acute anterior uveitis after discontinuation of tocilizumab in a patient with rheumatoid arthritis. *Clin Ophthalmol.* 2014;8:187-90.
260. Wendling D, Dernis E, Prati C, Frisch E, Delbosc B. Onset of inflammatory eye disease under tocilizumab treatment for rheumatologic conditions: a paradoxical effect? *J Rheumatol.* 2011;38(10):2284.
261. Lim WK, Fujimoto C, Ursea R, Mahesh SP, Silver P, Chan CC, Gery I, Nussenblatt RB. Suppression of immune-mediated ocular inflammation in mice by interleukin 1 receptor antagonist administration. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(7):957-63.
262. El-Shabrawi YG, Christen WG, Foster SC. Correlation of metalloproteinase-2 and -9 with proinflammatory cytokines interleukin-1b, interleukin-12 and the interleukin-1 receptor antagonist in patients with chronic uveitis. *Curr Eye Res.* 2000;20(3):211-4.

263. Fabiani C, Sota J, Tosi GM, Franceschini R, Frediani B, Galeazzi M, Rigante D, Cantarini L. The emerging role of interleukin (IL)-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory and degenerative eye diseases. *Clin Rheumatol*. 2017;36(10):2307-18.
264. Botsios C, Sfriso P, Furlan A, Punzi L, Dinarello CA. Resistant Behcet disease responsive to anakinra. *Ann Intern Med*. 2008;149(4):284-6.
265. Fabiani C, Vitale A, Emmi G, Lopalco G, Vannozzi L, Guerriero S, Gentileschi S, Bacherini D, Franceschini R, Frediani B, Galeazzi M, Iannone F, Tosi GM, Cantarini L. Interleukin (IL)-1 inhibition with anakinra and canakinumab in Behcet's disease-related uveitis: a multicenter retrospective observational study. *Clin Rheumatol*. 2017;36(1):191-7.
266. Ugurlu S, Ucar D, Seyahi E, Hatemi G, Yurdakul S. Canakinumab in a patient with juvenile Behcet's syndrome with refractory eye disease. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(9):1589-91.
267. Gul A, Tugal-Tutkun I, Dinarello CA, Reznikov L, Esen BA, Mirza A, Scannon P, Solinger A. Interleukin-1 β -regulating antibody XOMA 052 (gevokizumab) in the treatment of acute exacerbations of resistant uveitis of Behcet's disease: an open-label pilot study. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(4):563-6.
268. Tugal-Tutkun I, Pavesio C, De Cordoue A, Bernard-Poenaru O, Gul A. Use of Gevokizumab in Patients with Behcet's Disease Uveitis: An International, Randomized, Double-Masked, Placebo-Controlled Study and Open-Label Extension Study. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018;26(7):1023-33.
269. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville R, Ohno-Jones S, Sawyers CL. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1031-7.
270. Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, Levy RS, Gupta V, DiPersio JF, Catalano JV, Deininger M, Miller C, Silver RT, Talpaz M, Winton EF, Harvey JH, Jr., Arcasoy MO, Hexner E, Lyons RM, Paquette R, Raza A, Vaddi K, Erickson-Viitanen S, Koumenis IL, Sun W, Sandor V, Kantarjian HM. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012;366(9):799-807.
271. Meyer SC, Levine RL. Molecular pathways: molecular basis for sensitivity and resistance to JAK kinase inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2014;20(8):2051-9.
272. Koppikar P, Bhagwat N, Kilpivaara O, Manshouri T, Adli M, Hricik T, Liu F, Saunders LM, Mullally A, Abdel-Wahab O, Leung L, Weinstein A, Marubayashi S, Goel A, Gonen M, Estrov Z, Ebert BL, Chiosis G, Nimer SD, Bernstein BE, Verstovsek S, Levine RL. Heterodimeric JAK-STAT activation as a mechanism of persistence to JAK2 inhibitor therapy. *Nature*. 2012;489(7414):155-9.
273. Seif F, Aazami H, Khoshmirsafa M, Kamali M, Mohsenzadegan M, Pornour M, Mansouri D. JAK Inhibition as a New Treatment Strategy for Patients with COVID-19. *Int Arch Allergy Immunol*. 2020;181(6):467-75.
274. Jamilloux Y, El Jammal T, Vuitton L, Gerfaud-Valentin M, Kerever S, Seve P. JAK inhibitors for the treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Autoimmun Rev*. 2019;18(11):102390.
275. Ghoreschi K, Jesson MI, Li X, Lee JL, Ghosh S, Alsup JW, Warner JD, Tanaka M, Steward-Tharp SM, Gadina M, Thomas CJ, Minnerly JC, Storer CE, LaBranche TP, Radi ZA, Dowty ME, Head RD, Meyer DM, Kishore N, O'Shea JJ.

Modulation of innate and adaptive immune responses by tofacitinib (CP-690,550). *J Immunol.* 2011;186(7):4234-43.

276. Maeshima K, Yamaoka K, Kubo S, Nakano K, Iwata S, Saito K, Ohishi M, Miyahara H, Tanaka S, Ishii K, Yoshimatsu H, Tanaka Y. The JAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of interferon-gamma and interleukin-17 production by human CD4⁺ T cells. *Arthritis Rheum.* 2012;64(6):1790-8.

277. Migita K, Miyashita T, Izumi Y, Koga T, Komori A, Maeda Y, Jiuchi Y, Aiba Y, Yamasaki S, Kawakami A, Nakamura M, Ishibashi H. Inhibitory effects of the JAK inhibitor CP690,550 on human CD4(+) T lymphocyte cytokine production. *BMC Immunol.* 2011;12:51.

278. VanDeusen JB, Shah MH, Becknell B, Blaser BW, Ferketich AK, Nuovo GJ, Ahmer BM, Durbin J, Caligiuri MA. STAT-1-mediated repression of monocyte interleukin-10 gene expression in vivo. *Eur J Immunol.* 2006;36(3):623-30.

279. Dowty ME, Jesson MI, Ghosh S, Lee J, Meyer DM, Krishnaswami S, Kishore N. Preclinical to clinical translation of tofacitinib, a Janus kinase inhibitor, in rheumatoid arthritis. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014;348(1):165-73.

280. Dowty ME, Lin J, Ryder TF, Wang W, Walker GS, Vaz A, Chan GL, Krishnaswami S, Prakash C. The pharmacokinetics, metabolism, and clearance mechanisms of tofacitinib, a janus kinase inhibitor, in humans. *Drug Metab Dispos.* 2014;42(4):759-73.

281. Lee JS, Kim SH. Dose-Dependent Pharmacokinetics of Tofacitinib in Rats: Influence of Hepatic and Intestinal First-Pass Metabolism. *Pharmaceutics.* 2019;11(7).

282. Fleischmann R, Cutolo M, Genovese MC, Lee EB, Kanik KS, Sadis S, Connell CA, Gruben D, Krishnaswami S, Wallenstein G, Wilkinson BE, Zvillich SH. Phase IIB dose-ranging study of the oral JAK inhibitor tofacitinib (CP-690,550) or adalimumab monotherapy versus placebo in patients with active rheumatoid arthritis with an inadequate response to disease-modifying antirheumatic drugs. *Arthritis Rheum.* 2012;64(3):617-29.

283. Cada DJ, Demaris K, Levien TL, Baker DE. Tofacitinib. *Hosp Pharm.* 2013;48(5):413-24.

284. Mueller RB, Hasler C, Popp F, Mattow F, Durmisi M, Souza A, Hasler P, Rubbert-Roth A, Schulze-Koops H, Kempis JV. Effectiveness, Tolerability, and Safety of Tofacitinib in Rheumatoid Arthritis: A Retrospective Analysis of Real-World Data from the St. Gallen and Aarau Cohorts. *J Clin Med.* 2019;8(10).

285. Huang F, Luo ZC. Adverse drug events associated with 5mg versus 10mg Tofacitinib (Janus kinase inhibitor) twice daily for the treatment of autoimmune diseases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Rheumatol.* 2019;38(2):523-34.

286. Gadina M, Chisolm DA, Phillips RL, McInness IB, Changelian PS, O'Shea JJ. Translating JAKs to Jakinibs. *J Immunol.* 2020;204(8):2011-20.

287. Fleischmann R, Kremer J, Cush J, Schulze-Koops H, Connell CA, Bradley JD, Gruben D, Wallenstein GV, Zvillich SH, Kanik KS, Investigators OS. Placebo-controlled trial of tofacitinib monotherapy in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2012;367(6):495-507.

288. Bechman K, Subesinghe S, Norton S, Atzeni F, Galli M, Cope AP, Winthrop KL, Galloway JB. A systematic review and meta-analysis of infection

- risk with small molecule JAK inhibitors in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (Oxford). 2019;58(10):1755-66.
289. Bauermann P, Heiligenhaus A, Heinz C. Effect of Janus Kinase Inhibitor Treatment on Anterior Uveitis and Associated Macular Edema in an Adult Patient with Juvenile Idiopathic Arthritis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2019;27(8):1232-4.
 290. Liew SH, Nichols KK, Klamerus KJ, Li JZ, Zhang M, Foulks GN. Tofacitinib (CP-690,550), a Janus kinase inhibitor for dry eye disease: results from a phase 1/2 trial. *Ophthalmology*. 2012;119(7):1328-35.
 291. Huang JF, Yafawi R, Zhang M, McDowell M, Rittenhouse KD, Sace F, Liew SH, Cooper SR, Pickering EH. Immunomodulatory effect of the topical ophthalmic Janus kinase inhibitor tofacitinib (CP-690,550) in patients with dry eye disease. *Ophthalmology*. 2012;119(7):e43-50.
 292. Sarny S, Hucke M, El-Shabrawi Y. Treatment of Mucous Membrane Pemphigoid With Janus Kinase Inhibitor Baricitinib. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(12):1420-2.
 293. Martin AP, de Moraes LV, Tadokoro CE, Commodaro AG, Urrets-Zavalía E, Rabinovich GA, Urrets-Zavalía J, Rizzo LV, Serra HM. Administration of a peptide inhibitor of $\alpha 4$ -integrin inhibits the development of experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(6):2056-63.
 294. Suzuki J, Manola A, Murakami Y, Morizane Y, Takeuchi K, Kayama M, Miller JW, Sobrin L, Vavvas DG. Inhibitory effect of aminoimidazole carboxamide ribonucleotide (AICAR) on endotoxin-induced uveitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(9):6565-71.
 295. Suzuki J, Yoshimura T, Simeonova M, Takeuchi K, Murakami Y, Morizane Y, Miller JW, Sobrin L, Vavvas DG. Aminoimidazole carboxamide ribonucleotide ameliorates experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(7):4158-69.
 296. Tan J, Liu H, Huang M, Li N, Tang S, Meng J, Tang S, Zhou H, Kijlstra A, Yang P, Hou S. Small molecules targeting ROR γ mat inhibit autoimmune disease by suppressing Th17 cell differentiation. *Cell Death Dis*. 2020;11(8):697.
 297. Yu CR, Lee YS, Mahdi RM, Surendran N, Egwuagu CE. Therapeutic targeting of STAT3 (signal transducers and activators of transcription 3) pathway inhibits experimental autoimmune uveitis. *PLoS One*. 2012;7(1):e29742.
 298. Di Filippo C, Zippo MV, Maisto R, Trotta MC, Siniscalco D, Ferraro B, Ferraraccio F, La Motta C, Sartini S, Cosconati S, Novellino E, Gesualdo C, Simonelli F, Rossi S, D'Amico M. Inhibition of ocular aldose reductase by a new benzofuroxane derivative ameliorates rat endotoxic uveitis. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:857958.
 299. Diedrichs-Mohring M, Leban J, Strobl S, Obermayr F, Wildner G. A new small molecule for treating inflammation and chorioretinal neovascularization in relapsing-remitting and chronic experimental autoimmune uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;56(2):1147-57.
 300. Diedrichs-Mohring M, Niesik S, Priglinger CS, Thureau SR, Obermayr F, Sperl S, Wildner G. Intraocular DHODH-inhibitor PP-001 suppresses relapsing experimental uveitis and cytokine production of human lymphocytes, but not of RPE cells. *J Neuroinflammation*. 2018;15(1):54.
 301. Merrill PT, Clark WL, Banker AS, Fardeau C, Franco P, LeHoang P, Ohno S, Rathinam SR, Ali Y, Mudumba S, Shams N, Nguyen QD, Sirolimus Study

- Assessing Double-Masked Uveitis Treatment Study G. Efficacy and Safety of Intravitreal Sirolimus for Noninfectious Uveitis of the Posterior Segment: Results from the Sirolimus Study Assessing Double-Masked Uveitis Treatment (SAKURA) Program. *Ophthalmology*. 2020;127(10):1405-15.
302. Commodaro AG, Peron JP, Lopes CT, Arslanian C, Belfort R, Jr., Rizzo LV, Bueno V. Evaluation of experimental autoimmune uveitis in mice treated with FTY720. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(5):2568-74.
303. He X, Koenen H, Smeets RL, Keijsers R, van Rijssen E, Koerber A, van de Kerkhof PC, Boots AMH, Joosten I. Targeting PKC in human T cells using sotrastaurin (AEB071) preserves regulatory T cells and prevents IL-17 production. *J Invest Dermatol*. 2014;134(4):975-83.
304. Leary S. JC. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition. Members of the Panel on Euthanasia AVMA Staff Consultants 2020.
305. Agarwal RK, Caspi RR. Rodent models of experimental autoimmune uveitis. *Methods Mol Med*. 2004;102:395-419.
306. Yadav UC, Shoeb M, Srivastava SK, Ramana KV. Amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis by aldose reductase inhibition in Lewis rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(11):8033-41.
307. Arifin WN, Zahiruddin WM. Sample Size Calculation in Animal Studies Using Resource Equation Approach. *Malays J Med Sci*. 2017;24(5):101-5.
308. Miyamoto N, Mandai M, Suzuma I, Suzuma K, Kobayashi K, Honda Y. Estrogen protects against cellular infiltration by reducing the expressions of E-selectin and IL-6 in endotoxin-induced uveitis. *J Immunol*. 1999;163(1):374-9.
309. Kaya A, Sonmez M, Kar T, Haholu A, Yildirim Y, Muftuoglu T, Unal MH. Efficiency of Ozone Therapy in a Rat Model of Experimental Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2017;25(5):695-700.
310. Giese MJ, Shum DC, Rayner SA, Mondino BJ, Berliner JA. Adhesion molecule expression in a rat model of Staphylococcus aureus endophthalmitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41(1):145-53.
311. Guo JG, Guo XM, Wang XR, Tian JZ, Bi HS. Metabolic profile analysis of free amino acids in experimental autoimmune uveoretinitis rat plasma. *Int J Ophthalmol*. 2019;12(1):16-24.