

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PTERJİUMDA NEOPTERİN DÜZEYLERİNİN VE
KİNÜRENİN YOLAĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ecz. Bilge Kılıçarslan

**Farmasötik Toksikoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA
2018**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PTERJİUMDA NEOPTERİN DÜZEYLERİNİN VE
KİNÜRENİN YOLAĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ecz. Bilge KILIÇARSLAN

**Farmasötik Toksikoloji Programı
DOKTORA TEZİ**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Terken BAYDAR**

**ANKARA
2018**

**PTERJİUMDA NEOPTERİN DÜZEYLERİNİN VE KİNÜRENİN
YOLAĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

Ecz. Bilge KILIÇARSLAN

Bu çalışma 05.01.2018 tarihinde jürimiz tarafından “Farmasötik Toksikoloji Programı”nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof. Dr. Gönül ŞAHİN

Doğu Akdeniz Üniversitesi



Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Terken BAYDAR

Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Doç. Dr. Gözde GİRGİN

Hacettepe Üniversitesi



Üye:

Doç. Dr. Hande SİPAHİ

Yeditepe Üniversitesi



Üye:

Doç. Dr. Şaziye Sezin PALABIYIK

Atatürk Üniversitesi



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Tarih 15 Ocak 2018



Prof. Dr. Diclehan ORHAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir)

- ✓ **Tezimin/Raporumun 05.01.2048 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir)

- **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**
- **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

05/01/2018



Bilge KILIÇARSLAN

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Terken BAYDAR danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



Ecz. Bilge KILIÇARSLAN

TEŞEKKÜR

Öğrenciliğim sırasında bilgi ve deneyimiyle bana yol gösteren doktora tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Terken Baydar’a,

Kıymetli zamanını ve deneyimini benimle paylaşmaktan hiç çekinmeyen Sayın Doç. Dr. Gözde Girgin’e,

Tez çalışmam süresince değerli katkılarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Gönül Şahin’e,

Tez çalışmamda kullandığım biyolojik örneklerin toplanmasına yardımcı olan Sayın Uzm. Dr. Aziz Çardak’a ve

Her zaman yanımda olan sevgili arkadaşlarım Aylin Balcı ve Duygu Paslı’ya
Çok teşekkür ederim.

Sevgili annem Fatma Kılıçarslan’a benim için yarattığı bütün olanaklar için sonsuz teşekkür ederim. Elde ettiğim her başarı onun sevgisi ve paha biçilemez emeği sayesinde.

ÖZET

Kılıçarslan, B., Pterjiumda Neopterin Düzeylerinin ve Kinürenin Yolağının Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2018. Pterjium, konjonktiva dokusunun kornea üzerine doğru ilerlediği, inflamatuvar ve dejeneratif bir göz hastalığıdır. Patogenezinde ultraviyole ışınlar, p53 tümör baskılayıcı gen, immünolojik ve inflamatuvar mekanizmalar gibi etmenlerin rol oynadığı bilinmesine rağmen etiyojisinin belirsizliğini koruması ve çok sık tekrar eden bir klinik seyir göstermesi nedeniyle, bu patolojide neopterin gibi yenilikçi biyogöstergelere gereksinim vardır. Neopterin, hücrel immün aktivasyonu ifade eden konjuge olmayan bir pteridindir ve birçok patolojinin erken tanı ve seyrinde önemli bir biyogösterge olarak kabul edilmektedir. Hücrel immüniteyi yansıtan diğer bir gösterge, bulunduğu dokuda triptofanı tüketerek kinürenin oluşmasında rol oynayan indolamin 2,3-dioksijenaz (İDO) enzimidir. Bu tez çalışmasında, pterjiumda neopterin konsantrasyonları ve İDO aktivitesini ifade eden kinürenin/triptofan oranı belirlenerek immün aktivasyon durumu değerlendirilmiştir. Bu amaçla pterjium hastalarında (n=31) ve sağlıklı kontrol grubunda (n=32) neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ölçülmüştür. İmmün aktivasyonun sistemik değerlendirilmesinde serum, lokal değerlendirilmesinde ise gözyaşı örnekleri kullanılmıştır. Pterjium hastalarında serum neopterin konsantrasyonları ve kinürenin/triptofan oranının kontrol grubuna göre yüksek ve birbirleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum, immün stimülasyonun göstergesi olan İDO aktivitesinin pterjiumda indüklendiğini ve hastalığın patogenezinde immünolojik yolların, özellikle de T-hücre aracılıklı immünitenin katkısı olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre neopterin gibi biyogöstergelerin pterjium kliniğinde kullanım potansiyeli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: pterjium, neopterin, kinürenin, triptofan, biyogösterge

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin THD-2017-16538 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

Kilicarslan B., Evaluation of Neopterin Levels and Kynurenine Pathway in Pterygium, Hacettepe University Institute of Health Sciences Ph.D. Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2018. Pterygium is an inflammatory and degenerative eye disease in which conjunctival tissue grows onto cornea. Despite the fact that factors such as ultraviolet radiation, p53 tumor suppressor gene, immunologic and inflammatory mechanisms play a role in the pathogenesis, its etiology remains unclear. High recurrence rates of pterygium reveals the need for innovative biomarkers such as neopterin in clinical practice. Neopterin is an unconjugated pteridine which expresses cellular immunity and is considered to be an important biomarker in the early diagnosis and prognosis of many pathologies. Another indicator that reflects cellular immunity is the enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), which plays a role in the formation of kynurenine by consuming tryptophan in the tissues. In this study, immunological activation status was evaluated in pterygium by determination of neopterin concentrations and the ratio of kynurenine/tryptophan, which reflects IDO activity. For this purpose, neopterin, tryptophan and kynurenine levels were measured in pterygium patients (n=31) and healthy control group (n=32). Serum samples were used for systemic evaluation of immune activation and tear samples were used for local evaluation. Compared to control group, serum neopterin concentrations and kynurenine/tryptophan ratio were increased and found to be related to each other in pterygium patients ($p<0.05$). This demonstrates that IDO activity, an indicator of immunostimulation, is induced in pterygium and immunologic pathways, particularly T-cell mediated immunity, contribute to the pathogenesis of the disease. Our results have been pointed out that neopterin is an important biomarker for diagnosis and monitoring pterygium.

Keywords: pterygium, neopterin, kynurenine, tryptophan, biomarker

This thesis was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit with the project numbered THD-2017-16538.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xv
TABLolar	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pterjium	3
2.1.1. Tanım, Tarihçe ve Genel Özellikler	3
2.1.2. Epidemiyoloji	5
2.1.3. Patogenez	15
2.1.4. Risk Faktörleri	18
2.1.5. Tedavi	20
2.1.6. Pterjiumun Nüks Etmesi	23
2.2. Gözyaşı	24
2.2.1. Genel Özellikleri ve Fizyolojik Önemi	24
2.2.2. Analiz Örneği Olarak Kullanılması	25
2.2.3. Pterjiumda Gözyaşı	25
2.3. Pteridinler	26
2.4. Neopterin	28
2.4.1. Kimyasal Yapısı ve Tarihçesi	28
2.4.2. Biyosentezi	29
2.4.3. Fizyolojik Rolü	31
2.4.4. Biyolojik Sıvılardaki Düzeyi ve Ölçüm Yöntemleri	32
2.4.5. Çeşitli Patolojilerde Neopterin	35

2.5. Biyogöstergelerin Klinik Önemi	39
2.6. Triptofan	40
2.6.1. Genel Özellikleri ve Fizyolojik Önemi	40
2.6.2. Triptofan Metabolizması ve Kinürenin Yolağı	41
2.6.3. Biyolojik Sıvılardaki Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Ölçümü	44
2.7. İndolamin (2,3)-Dioksijenaz	44
2.7.1. Genel Özellikleri ve Fizyolojik Önemi	44
2.7.2. İndolamin (2,3)-Dioksijenaz ve İmmün Sistem Aktivasyonu	46
2.8. Neopterin ve Kinürenin Yolağı İlişkisi	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	50
3.1. Çalışma Grubu	50
3.2. Biyolojik Örneklerin Toplanması	51
3.2.1. Kan	51
3.2.2. Gözyaşı	51
3.2.3. Ön İşlemler	51
3.3. Gereçler	52
3.3.1. Kimyasal Maddeler	52
3.3.2. Çözeltiler ve Hazırlanışları	52
3.3.3. Araç ve Gereçler	56
3.4. Yöntemler	57
3.4.1. Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi (ELISA) Yöntemi ile Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi	57
3.4.2. Neopterin Düzeylerinin Hesaplanması	57
3.4.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesi	58
3.4.4. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Hesaplanması	58
3.4.5. Kullanılan Yöntemlerin Geçerliliğinin Değerlendirilmesi	59
3.4.6. Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	59
4. BULGULAR	61
4.1. Neopterin Standartlarına Ait Kalibrasyon Eğrisi	61
4.2. Triptofan ve Kinürenin Ölçümlerine Ait Kromatogram Örnekleri	62
4.3. Triptofan ve Kinürenin Standartlarına Ait Kalibrasyon Doğruları	64

4.4. Triptofan ve Kinürenin Ölçümlerinde Kullanılan Yöntemin Geçerliliğinin Değerlendirilmesi	65
4.5. Örneklerdeki Neopterin, Triptofan ve Kinürenin Düzeyleri	68
4.5.1. Demografik Özelliklere Göre Elde Edilen Bulgular	68
4.5.2. Çalışma Gruplarının Karşılaştırılması ile Elde Edilen Bulgular	74
5. TARTIŞMA	81
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
7. KAYNAKLAR	91
8. EKLER	
EK-1: Etik Kurul Onayı	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

3-HAO	3-Hidroksiantranilat Dioksijenaz
5-HT	5-Hidroksitriptamin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACMSD	Aminokarboksimumkonat Semialdehit Dekarboksilaz
ADC	Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu-Demens Kompleksi
AIDS	Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu
BAL	Bronkoalveoler Lavaj Sıvısı
BH₄	5,6,7,8-Tetrahidrobiyopterin
BOS	Beyin-Omurilik Sıvısı
BSA	Bovine Serum Albumin, Sığır Serum Albümini
CD4+	Farklılaşma Yığılım Molekülü-4
CD8+	Farklılaşma Yığılım Molekülü-8
COX	Siklooksijenaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EBV	Epstein-Barr Virüsü
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi
FAO	Food and Agriculture Organization, Gıda ve Tarım Örgütü
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GTP	Guanozintrifosfat
GTP-CH-I	Guanozintrifosfat-Siklohidrolsilaz-I
HIV	Human Immunodeficiency Virus, İnsan İmmünyetmezlik Virüsü
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
OGG1	8-Oksoguanin Glikosilaz 1
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography, Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
HPV	Human Papilomavirus, İnsan Papilloma Virüsü
ICAM-1	İnterselüler Adezyon Molekülü-1
IFN	İnterferon

IL	İnterlökin
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
İDO	İndolamin (2,3)-dioksijenaz
KA	Kuinolinik Asit
KAT	Kinürenin Aminotransferaz
KH₂PO₄	Potasyum Dihidrojen Fosfat
Kin	Kinürenin
KMO	Kinürenin Monooksijenaz
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NAD	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NaOH	Sodyum Hidroksit
NH₂TP	7,8-Dihidroneopterin Trifosfat
NIH	National Institutes of Health, Ulusal Sağlık Enstitüsü
NK	Doğal Öldürücü Hücre
NSAİİ	Non-Steroida Antiinflatuvar İlaçlar
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
QPRT	Kuinolinat Fosforibozil Transferaz
RIA	Radyoimmünanaliz
RNB	Reaktif Nitrojen Bileşikleri
ROT	Reaktif Oksijen Türevleri
SH	Standart Hata
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SS	Standart Sapma
T5H	Triptofan 5-hidroksilaz
TBUT	Gözyaşı Filmi Kırılma Süresi, Tear Break Up Time
TDO	Triptofan (2,3)-dioksijenaz
Th-I	Yardımcı Tip T Hücresi
TMB	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
TNF-α	Tümör Nekroze Edici Faktör-alfa

Trp	Triptofan
UV	Ultraviyole
VCAM-1	Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü-1
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VK	Varyasyon Katsayısı
WHO	World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü



ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Pterjiumun anatomik yapısı.	3
2.2. Nazal (A) ve temporal (B) pterjium.	4
2.3. Konjonktival otogreft yöntemi.	22
2.4. Gözyaşı filminin tabakaları.	25
2.5. Pteridin halkası (A), ksantopterin (B), izoksantopterin (C) ve lökopterin (D) moleküllerinin yapısı.	26
2.6. Neopterinin kimyasal yapısı.	28
2.7. Neopterin sentezi.	30
2.8. İmmün uyarı ile neopterin sentezi.	31
2.9. Triptofanın kimyasal yapısı.	40
2.10. Triptofan metabolizmasının ana yolları.	42
2.11. Triptofan metabolizması.	43
4.1. Neopterin standartlarına ait kalibrasyon eğrisi.	61
4.2. Triptofan (A) ve kinürenin (B) standartlarına ait kromatogramlar.	62
4.3. Serum örneğindeki triptofan (A) ve kinürenin (B) piklerini gösteren kromatogramlar.	63
4.4. Triptofan (A) ve kinürenin (B) standartlarına ait kalibrasyon doğruları.	64
4.5. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının cinsiyete göre serum ve gözyaşı neopterin düzeylerinin karşılaştırılması.	72
4.6. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının cinsiyete göre serum triptofan, kinürenin ve kinürenin/triptofan düzeylerinin karşılaştırılması.	73
4.7. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının ve serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarının karşılaştırılması.	75
4.8. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarına göre saçılım grafiği.	77
4.9. Serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarının kontrol ve pterjium grubundaki saçılım grafiği.	77
4.10. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının serum triptofan, kinürenin ve kinürenin/triptofan düzeylerinin karşılaştırılması.	78

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Pterijum üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların özeti.	10
2.2. Bazı pteridin grubu bileşiklerin isimlendirilmesi.	27
2.3. Pteridinlerin sınıflandırılması.	28
2.4. Sağlıklı insanlarda idrar neopterin düzeyleri (μmol neopterin/mol kreatinin).	34
2.5. Sağlıklı insanlarda serum neopterin düzeyleri (nmol/l).	34
2.6. Neopterin konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu durum ve hastalıklara örnekler.	35
2.7. Serum triptofan ve kinürenin düzeyleri.	44
2.8. Neopterin ve kin/trp konsantrasyonlarının yüksek ve birbirleri ile ilişkili olduğu durum ve hastalıklara örnekler.	48
3.1. Çalışma grubunun yaş ve cinsiyete göre dağılımı.	50
3.2. Kullanılan kimyasal maddeler.	52
3.3. Analizlerde kullanılan çözeltiler.	53
3.4. Neopterin ELISA kiti içerisindeki standart çözeltiler ve konsantrasyonları.	55
3.5. Kullanılan araç ve gereçler.	56
3.6. Serum triptofan ve kinürenin analizinde kullanılan HPLC yönteminin özellikleri	58
4.1. Triptofan analizinde kullanılan yöntemin geri kazanım sonuçları.	65
4.2. Kinürenin analizinde kullanılan yöntemin geri kazanım sonuçları.	65
4.3. Triptofan analizinde kullanılan yöntemin tekrarlanabilirlik sonuçları.	66
4.4. Kinürenin analizinde kullanılan yöntemin tekrarlanabilirlik sonuçları.	66
4.5. Örneklerdeki neopterin, triptofan, kinürenin ve kin/trp düzeylerinin cinsiyete göre değerlendirilmesi.	71
4.6. Örneklerdeki neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ve kin/trp oranları.	76
4.7. Sağlıklı kontrol grubunun serum ve gözyaşı neopterin düzeylerinin en düşük, en yüksek ve çeyreklik değerleri.	79
4.8. Neopterin dağılımının çeyreklere bölünmesi sonucu oluşturulan gruplar.	79

1. GİRİŞ

Pterjium, konjonktiva dokusunun kornea üzerine doğru ilerlediği, gözde kanat şeklinde bir görünüşle karakterize, inflamatuvar ve dejeneratif bir göz hastalığıdır. Gözlerde yanma, batma, sulanma, kaşıntı ve yabancı cisim hissi gibi semptomlar ve görüş alanının kapanmasına bağlı olarak görme kaybı ve estetik rahatsızlık görülmektedir. Patogenezinde ultraviyole ışınlar, p53 tümör baskılayıcı gen, immünolojik ve inflamatuvar mekanizmalar rol oynamaktadır. Pterjium, binlerce yıldır bilinen ve tedavi seçenekleri üzerine birçok araştırmanın yapıldığı ve yayımlandığı bir konu olmasına rağmen bazı yazarların ifade ettiği gibi bir “enigma” olmaya devam etmektedir (1). Neopterin ise bir gizem olmamakla birlikte farklı patolojilerde kendini ispatlamak zorunda olan yeni bir biyogöstergedir.

Hastalıklarda için biyogöstergeler çok önemlidir. Hastalığın tanısı, seyri, tedavi planı ve tedaviye yanıt gibi birçok basamakta sağlık çalışanlarının ihtiyaç duyduğu rehber görevi görürler. Göz hastalıklarında özellikle gözyaşı neopterin düzeylerinin değerlendirildiği çok az çalışma vardır. Gözyaşı gibi değerli ve zor bir örneğin kullanılması ve gözyaşında neopterin analizi yapılan tek çalışmanın bu projenin paydaşlarınca yapılması bu tezin güçlü yönlerinden biridir (2). İlgili tez, hem pterjium hem de neopterin konusunda soru işaretlerini gidermeye yönelik kapsamlı, temel bir araştırmadır. Bu tez çalışmasının amacı çok fazla bilinmeyen yönleri bulunan iki konu hakkında hem akademik hem de klinik olarak bir görüş ortaya koymaktır. Araştırma konusunun temel öğeleri ve kapsamı pterjium hastalığı ve neopterin olmakla birlikte, cevap aradığı sorular düşünüldüğünde neopterin üyesi olduğu pteridin ailesi ve ilişkili olduğu kinürenin yolağı da bu tez kapsamındadır. Tez araştırmasında kısaca aşağıdaki soruların cevabı aranmıştır:

- I. Pterjium hastalığı ile neopterin, triptofan, kinürenin düzeyleri ve kinürenin/triptofan oranı gibi pteridin yolağının etkileşimde olduğu parametreler arasında anlamlı bir ilişki var mı?
- II. Bu ilişki, etiyojisi tam olarak bilinmeyen bir hastalık olan pterjiumun oluşum mekanizmalarını aydınlatabilir mi?
- III. Neopterin gibi biyogöstergeler pterjium kliniğinde pratik olarak kullanılabilir mi?

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği ile yapılan işbirliği kapsamında, gönüllü olan sağlıklı ve pterjium hastası bireylerin serum ve

gözyaşı örneklerinde tez analizleri gerçekleştirilmiştir. Gönüllülerden toplanan serum ve gözyaşı örneklerinde neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri belirlenmiştir. Serum ve gözyaşındaki neopterin düzeyleri enzim bağlı immünosorbent analizi (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) yöntemi ile belirlenmiştir. Serum triptofan ve kinürenin düzeyleri ise eş zamanlı olarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (high pressure liquid chromatography, HPLC) kullanılarak analiz edilmiştir. Ölçülen parametreler hem kendi normal değerleri içerisinde hem de birbirleri ile olan ilişkileri bakımından değerlendirilmiştir.

Pterjium, cerrahi tedavi sonrası çok fazla tekrar etmesiyle bilinen bir hastalıktır. Bu durum cerrahi teknolojilerin ve sağlık hizmetlerinin kalitesi ve farklılığı ile ilgili olmasının yanı sıra çevresel faktörlerin güçlü etkisiyle de açıklanabilir. Bu araştırma ile hem pterjiumun patogenezi üzerine bir ışık tutulmuş hem de neopterin ile pterjium arasında patolojik açıdan bir ilişki kurulmaya çalışılmıştır.

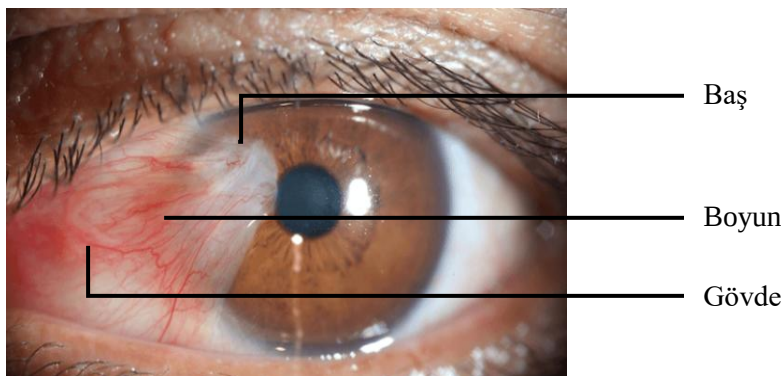
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pterjium

2.1.1. Tanım, Tarihçe ve Genel Özellikler

Pterjium, konjonktiva dokusunun göz köşesinden başlayarak kornea üzerine doğru ilerlediği inflamatuvar, fibrovasküler ve dejeneratif bir hastalıktır. Binlerce yıldır hekimler tarafından bilinen bu hastalığın yaşı yaklaşık olarak üç bin yıldır. Tarihte bilinen ilk göz cerrahı Sushruta'nın M.Ö. 1000 yılına ait kayıtlarında pterjiumdan ve cerrahisinden bahsedilmektedir (3). M.Ö. 1300-1600 arasında yazılmış Mısır papirüslerinde pterjiuma rastlanmaktadır (4). Hastalığın "pterjium" adıyla anılması ilk kez 1985 yılında Walton ile başlamıştır (1). Yunancada "pter(o)-" kanat (veya tüy) anlamına gelmektedir. Hastalık, ilerleyen dokunun üçgenimsi kanat görünümünden dolayı adını "küçük kanat" anlamına gelen "pterygion" sözcüğünden almıştır (5). Halk arasında "kuş kanadı" olarak da bilinmektedir.

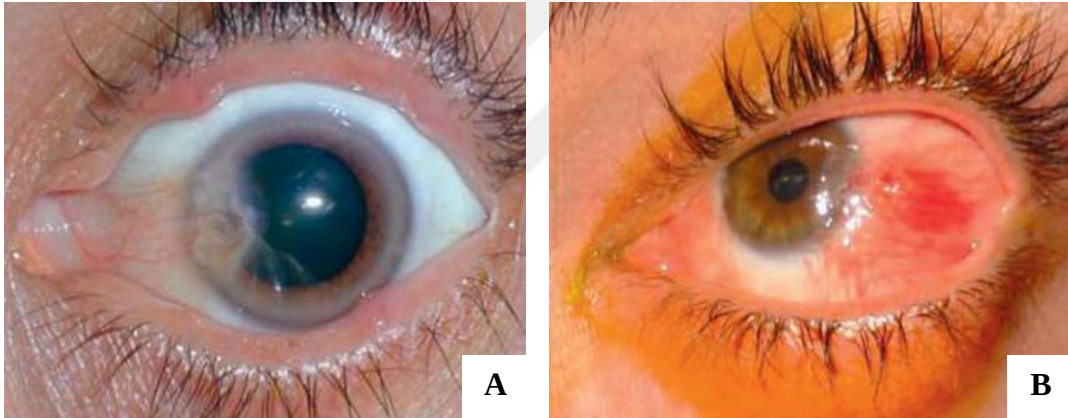
Pterjium baş, boyun ve gövde olarak adlandırılan üç farklı bölümden oluşur. Baş kısmı, kornea üzerinden Bowman membranına doğru yayılan, fibroblastlardan meydana gelen düz bir bölgedir. Boyun kısmı, baş kısmının ardından gelen, korneaya sıkıca tutunmuş olan vasküler bölgedir. Gövde ise, altındaki dokudan kolaylıkla ayrılabilen ve hareket ettirilebilen bulbar konjonktiva bölümüdür (6). Pterjiumun anatomik yapısı Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Pterjiumun anatomik yapısı (7).

Pterjiumda genellikle nazal konjonktivadan göz yüzeyine doğru konjonktiva dokusunun büyüdüğü gözlenmektedir. Temporal ya da her iki yönden de doku ilerlemesi gözlenebilir (Şekil 2.2.). Tek bir gözde olabileceği gibi her iki gözde

birden olabilir. İki ayrı gözde asimetrik şekilde gelişim gösterebilir. Hastalığın erken dönemleri genellikle asemptomatik olarak seyretmekle birlikte göz kuruluğu meydana gelebilir. Pterjium ilerledikçe gözde yanma, batma, iritasyon, inflamasyon, sulanma ve kızarıklık gibi semptomların yanı sıra göz yüzeyini kaplayan doku nedeniyle astigmatizm, opasite bozukluğu ve kontrast duyarlılığında azalma gözlenebilir (8). Astigmatizm arttıkça görüş keskinliği azalmaktadır (9). Ayrıca göz sıcaklığı artabilir ve duyu kaybı yaşanabilir (10, 11). En önemlisi göz üzerindeki doku nedeniyle görüş alanı kapanmakta ve görme yetisi etkilenmektedir. Kornea yüzeyini kaplayan doku, hastalığın şiddetiyle birlikte ilerleyip bütün göz yüzeyini kaplayabilir ve dokunun büyüklüğüne göre semptomların şiddeti değişebilir (12). Dokunun büyüklüğü, kalınlığı ve genel olarak hastalığın şiddeti kişiler arasında farklılık göstermektedir. Yapısı itibariyle hastaların özellikle estetik rahatsızlık duyduğu pterjiumda genellikle cerrahi yöntemle göz yüzeyindeki doku alınmaktadır.



Şekil 2.2. Nazal (A) ve temporal (B) pterjium (13).

Pterjium inflamasyon, kontrolsüz hücre bölünmesi ve anjiyogenezin bir arada görüldüğü bir hastalıktır. Sadece inflamatuvar bir hastalık olmadığı gibi kanser olarak da tanımlanamamaktadır. Oluşum mekanizmalarının aydınlatılamamış olması farklı tanımlamalara neden olmaktadır. Hastalık ile ilişkisi olduğu düşünülen faktörler ayrıntılı olarak “patogenez” başlığı altında incelenmiştir.

2.1.2. Epidemiyoloji

“Hastalığın hangi insanı bulacağını bilmek, insanın hangi hastalığa sahip olduğunu bilmekten çok daha önemlidir.”

Hipokrat

Hastalıklar yaş, cinsiyet ve genetik aktarım gibi bireyin biyolojik özelliklerine bağlı olmasının yanı sıra, insanın toplumsal bir varlık olmasının sonucu olarak içine doğduğu ve büyüdüğü, yani kaçamadığı çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkabilir, tetiklenebilir, tekrarlayabilir ve tedaviye yanıtın farklılığı hastalığın seyrini değiştirebilir. Pterjium sık görülen, genel popülasyonda görülme sıklığı %5-10 arasında değişen ve çevresel faktörlerin çok etkili olduğu bir hastalıktır (14). Bu nedenle literatürde sık rastlanan bu patolojiye ait epidemiyolojik çalışmalarda çevresel özelliklerin etkisinin de büyük olduğu görülmektedir. Tez araştırması kapsamında yapılan pterjiuma ait literatür taramasında, ulaşılan çalışmaların geniş bir yelpazede olduğu görülmüştür.

Pterjium üzerine yapılan epidemiyolojik araştırmalarda yaş, cinsiyet, coğrafi konum, kırsal yaşam, açık havada geçirilen zaman, tozlu ve kuru hava, mesleki durum ve kişisel alışkanlıklar gibi birçok faktörün hastalığa olan etkisi ve aralarındaki ilişki değerlendirilmiştir (15-18). Bu faktörlerin hepsi birbirleri ile ilişki içerisindedir. Coğrafi bölge insanın içinde yaşadığı çevre olarak her hastalığın değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulmalıdır. İklim koşulları pterjiumda önemli bir rol oynamaktadır (19, 20). İnsanlar yaşlandıkça meslek hastalıklarının ortaya çıkma riski artmaktadır; çünkü yıllar boyunca aynı faktörlere maruz kalmaktadırlar. Toplumun ataerkil/anaerkil yapısı işbölümelerini etkilemekte ve inşaat, çiftçilik gibi açık alan işlerini yapan bireylerin cinsiyetlerini belirlemektedir. Dolayısıyla yaş, cinsiyet ve meslek hem birbirleriyle hem de pterjium oluşumuyla ilişki içerisinde olan faktörlerdir (21-24).

Pterjium epidemiyolojisinde üzerinde en fazla durulan, en önemli hususlar aşağıda açıklanmaktadır.

Coğrafi Bölge

Ekvator bölgesi gibi ultraviyole (UV) ışınlar uzun süre ve yoğun miktarda maruz kalan bölgelerde hastalığın görülme sıklığının daha fazla olduğu bilinmektedir. Ekvator'un yaklaşık 40° kuzey ve 40° güney enlemleri arasında kalan ve pterjium sıklığının yüksek olduğu bölge “pterjium kemeri” olarak adlandırılmaktadır (25). Pterjium kemerinde hastalığın görülme sıklığı yaklaşık olarak %22 iken diğer bölgelerde bu oran genellikle %2'yi aşmamaktadır (13, 26).

Ekvator'dan uzak olmasına rağmen yüksek bölgelerde yaşayan insanlarda da pterjiumun sıklığının yüksek olduğu bildirilmektedir (19, 27, 28). Atmosferin daha ince olduğu Ekvator bölgesinde UV ışınların absorpsiyonu daha azdır. Dolayısıyla Dünya'ya ulaşan zararlı UV ışınların miktarı daha fazladır. Yüksek rakımlarda da benzer şekilde atmosfer incelendiği için UV ışınlar daha yoğun olarak yeryüzüne ulaşmaktadır. Her 1000 metrede UV ışın yoğunluğunun %10-12 oranında arttığı bilinmektedir (29).

Norn (30), Grönland'da yaptığı çalışmada Ekvator'dan uzak (yaklaşık 60° enleminde) fakat yüksek yerlerde yaşayan Eskimo topluluklarında pterjium görülme oranının genel popülasyona göre yüksek olduğunu tespit etmiştir (%8,6). Bu durumun buzul iklimde UV ışınların yansıması ile ilgili olduğu düşünülmektedir.

Nepal'de yapılan bir çalışmada farklı yüksekliklerde yaşayan yerel topluluklarda pterjium görülme sıklığı araştırılmıştır. Yükseklik arttıkça hastalık prevalansının anlamlı şekilde arttığı bildirilmiştir. 1400, 2710, 2900, 3500 ve 3800 metrelerde yaşayan insanlarda pterjium görülme oranları sırasıyla %20,7; %28,8; %56,6; %65,8 ve %65,8 olarak tespit edilmiştir. Yüksek rakımda yaşam süresinin pterjiuma etkisi incelendiğinde 20 yıldan az süredir yüksek rakımda yaşayan bireylerde pterjium gözlenme oranı %36,1 iken 20 yıl ve daha uzun süredir yüksek rakımda yaşayanlarda bu oran %40,3 olarak bulunmuştur (31).

Benzer sonuçlar Lu ve ark. (27) tarafından Çin'in Henan Özerk Bölgesi'nde yerli Moğol halkı ile yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Burası yüksek rakıma sahip, yıllık ortalama sıcaklığı -3°C olan bir bölgedir. Halk göçebe yaşadığı için günde yaklaşık 6-9 saatlerini açık havada geçirmektedir ve popülasyonunun %17,9'unda pterjium gözlenmiştir.

Cinsiyet

Pterjiumun görülme sıklığında cinsiyete göre anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır. Lu ve ark. (19) tarafından Tibet'te yapılan bir araştırmada pterjiumun görülme sıklığı kadınlarda erkeklere göre daha fazla bulunmuştur (sırasıyla %16,6 ve %12,8). Bu bölgede anaerik bir yaşayış şeklinin olmasının ve kadınların açık havada yapılan işlerde etkin rol oynamasının böyle bir farklılığa neden olduğu belirtilmiştir. Zhong ve ark. (32), çiftçilik gibi geçim kaynaklarında çalışanların daha çok kadınlar olduğu Çin'in batısında yaşayan bazı anaerik etnik gruplarda da benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Liu ve ark. (33) ise pterjium sıklığını erkeklerde %14,5; kadınlarda %13,6 olarak bildirmiştir. Erkeklerde pterjium prevalansını daha yüksek bulunduğu başka çalışmalar da vardır (22, 34, 35). Bazı çalışmalarda ise cinsiyetler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (36).

Cinsiyete dayalı bir hastalık değerlendirmesi yapmaya çalışan araştırmalarda toplumun sosyoekonomik durumu göz ardı edilmemelidir. Yukarıda belirtilen çalışmaların birbirleri ile tutarsız görünen sonuçlarında cinsiyete dayalı işbölümü farklılaşmasının etkisi büyüktür. Kırsal yaşam alanlarında ve bu bölgelerde yapılan çiftçilik ve hayvancılık gibi açık hava işlerinde güneş ışığı, rüzgar ve tozlu hava gibi pterjiumu tetikleyen birçok koşul bulunmaktadır. Dolayısıyla bu koşullara daha çok maruz kalan kadın veya erkek hastalığa karşı daha duyarlı hale gelmektedir.

Yaş

Pterjium ile yaş arasındaki ilişkiyi ifade eden çalışmaların sonuçları farklılık göstermektedir. Liu ve ark. (33) tarafından, yaş ilerledikçe pterjium görülme sıklığının arttığı; bu oranın 40-49 yaşlarında %11, 50-59 yaş arası %15,6 ve 60-69 yaşları arasında %20,1 olduğu bildirilmiştir. Singapur'da yapılan bir çalışmada 40 yaş üzerinde pterjium prevalansı %6,9 bulunurken (35), Avustralya'nın güneydoğusunda 49 yaş üzerinde %7,3 (34) ve Avustralya'nın kuzeybatısında Aborjinler arasında 30 yaş üzerinde %44 olarak bulunmuştur (37).

Meslek

Açık havada/dış ortamda çalışan insanlarda pterjium daha sık gözlenmektedir. Toz, rüzgar, kuru ve sıcak hava gibi koşulların bu durumu etkilediği düşünülmektedir. Çiftçiler, balıkçılar, denizciler, marangozlar, kaynak, inşaat ve gemi işçileri en riskli meslek gruplarına örnek olarak verilebilir.

Pterjium kuşağı denilen bölgede bulunan Ürdün’de yapılan bir çalışmada inşaat işçileri, taksi şoförleri gibi açık hava mesleklerinde çalışan kişilerde pterjium görülme oranı ofis çalışanları gibi kapalı alanlarda çalışan kişilere göre yaklaşık 6 kat daha fazla bulunmuştur. Bu oranın günde 1 saat ve üzerinde güneşe maruz kalan kişilerde, daha az süre maruz kalanlara göre 4,5 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (38).

Tan ve ark. (36) tarafından Endonezya’da yapılan bir çalışmada pterjium oranı yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni bölgedeki temel geçim kaynağının balıkçılık olması ile ilişkilidir. Çalışmanın yürütüldüğü adada insanlar güneşin altında saatler boyunca balıkçılık yapmaktadırlar. Endonezya’nın farklı bir bölgesinde yapılan başka bir çalışmada ise son 10 yıldır açık havada günde 5 saat ve üzeri çalışanlarda pterjium gözlenme oranı genel popülasyona göre daha fazla bulunmuştur (39).

Lin ve ark. (20)’nin Hawaii’de yaptığı bir çalışmada sörf ve pterjium arasındaki ilişki araştırılmıştır. Pterjiumun “sörfçü hastalığı” olarak anılacak kadar yaygın görülen bir hastalık olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni sörf yapan kişilerin uzun saatler boyunca yoğun bir şekilde güneş, rüzgar ve partikül iritasyonuna maruz kalmalarıdır.

Diğer Etmenler

Pterjium epidemiyolojisinde etkili olan en önemli konular yukarıda anlatılmıştır. Bunların dışında pterjium görülme sıklığında etkisi olduğu düşünülen başka etmenleri de inceleyen çalışmalar bulunmaktadır.

Luthra ve ark. (15) tarafından gerçekleştirilen ünlü Barbados Göz Araştırması’nda siyah ırkta gözlenen pterjium sıklığının beyaz ırka göre yaklaşık 3 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Zhong ve ark. (32), Çin’de yaptıkları çalışmada farklı etnik kökenlerde pterjium sıklığının değiştiğini ifade etmişlerdir. Geniş

kapsamlı benzer başka bir çalışmada ise ten ve saç rengi koyuluğu ile pterjium arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (34).

Her hastalıkta olduğu gibi pterjiumda da sosyoekonomik koşullar eğitim düzeyi ile sıkı bir ilişki içindedir. Eğitim düzeyinin düşüklüğü ile pterjium arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (27).

Pterjium epidemiyolojisi üzerine yapılan çalışmaların bir özeti Tablo 2.1.'de gösterilmektedir.



Tablo 2.1. Pterjium üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların özeti.

Kaynakça	Ülke/Bölge/Enlem Derecesi	Yerleşim	Cinsiyet (Meslek)	Yaş Aralığı (yıl)	Örneklem Büyüklüğü (n)	Anımlı Parametre
Lin ve ark. (20)	ABD/Hawaii/21° kuzey		K/E (sörfçüler)	18-80	169	yaşam boyu sörf saatleri
Zhong ve ark. (32)	Çin/Yunnan-Guizhou Platosu/25° kuzey	Kırsal	K/E	≥ 50	6418	etnik köken, yaş, cinsiyet
Nemet ve ark. (40)	İsrail	Kırsal, Şehir	K/E	58,4 (ortalama)	4037	sosyoekonomik düzey, yerleşim
Lim ve ark. (18)	Güney Kore/Seoul, Busan, Daegu, Gwangju, Daejeon, Incheon, Ulsan	Kırsal, Şehir	K/E	≥ 40	13204	yaş, cinsiyet, güneşe maruz kalma süresi, yerleşim, eğitim düzeyi
Shrestha ve ark. (28)	Nepal/Mustang ve Katmandu Vadisi	Kırsal	K/E	≥ 20	408	rakım
Jiao ve ark. (41)	Çin/Shandong/34-38° kuzey	Kırsal	K/E	≥ 50	17816	yaş, açık havada geçirilen zaman, eğitim düzeyi
Li ve ark. (17)	Çin/Heilongjiang	Kırsal	K/E (tarım işçileri)	18-94	8445	yaş, cinsiyet, açık havada geçirilen zaman

ABD: Amerika Birleşik Devletleri, E: erkek, K: kadın.

Tablo 2.1. (Devam) Pterijium üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların özeti.

Kaynakça	Ülke/Bölge/Enlem Derecesi	Yerleşim	Cinsiyet (Meslek)	Yaş Aralığı (yıl)	Örneklem Büyüklüğü (n)	Anımlı Parametre
Mahar ve ark. (31)	Pakistan/Karaçi		K/E	16-90	147	nüks etme
Tano ve ark. (24)	Japonya/Fukuşima/37° kuzey	Kırsal	K/E	40-74	2312	yaş
Zhao ve ark. (42)	Çin	Kırsal, Şehir	K/E	≥ 40	2695	yerleşim, hipoglisemi
Veena ve ark. (43)	Hindistan/Jaipur	Kırsal	K/E	20-60	200	yaş, açık havada geçen çalışma süresi
Nangia ve ark. (44)	Hindistan/Maharaştra	Kırsal	K/E	≥ 30	4711	yaş, cinsiyet, açık havada geçirilen zaman, eğitim düzeyi
Sherwin ve ark. (16)	Avustralya/Norfolk Adası/29° güney		K/E	15-89	641	cinsiyet, UV ışın maruziyeti
Sun ve ark. (45)	Çin/Handan/36° kuzey	Kırsal	K/E	≥30	7557	yaş, cinsiyet, sigara

E: erkek, K: kadın.

Tablo 2.1. (Devam) Pterijum üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların özeti.

Kaynakça	Ülke/Bölge/Enlem Derecesi	Yerleşim	Cinsiyet (Meslek)	Yaş Aralığı (yıl)	Örneklem Büyüklüğü (n)	Anamlı Parametre
Saraç ve ark. (46)	Türkiye/Ankara/39° kuzey	Şehir	K/E	≥ 40	6470	yaş
Cajucum-Uy ve ark. (47)	Singapur	Şehir	K/E	40-79	3280	yaş, cinsiyet
Lu ve ark. (27)	Çin/Henan/34° kuzey	Kırsal, Şehir	K/E	≥ 40	2486	rakım, yaş, eğitim düzeyi, kuru göz
Durkin ve ark. (48)	Myanmar/Meiktila/20° kuzey	Kırsal	K/E	≥ 40	2076	yaş, açık havada geçirilen zaman
Omoti ve ark. (49)	Nijerya/Warri		K/E (petrol işçileri)	21-60	270	irritan kimyasallara maruziyet
Lu ve ark. (19)	Çin/Tibet/Çinghay/35° kuzey	Kırsal, Şehir	K/E	≥ 40	2632	rakım, yaş, cinsiyet, eğitim düzeyi
Tan ve ark. (36)	Endonezya/Pulau Jaloh Adası	Kırsal	K/E (balıkçılar)	≤ 90	477	cinsiyet, yaş

E: erkek, K: kadın.

Tablo 2.1. (Devam) Pterjium üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların özeti.

Kaynakça	Ülke/Bölge/Enlem Derecesi	Yerleşim	Cinsiyet (Meslek)	Yaş Aralığı (yıl)	Örneklem Büyüklüğü (n)	Anlamlı Parametre
Mathur ve ark. (50)	Hindistan/Rajasthan		K/E (tuz işçileri)	32 (ortalama)	865	yaş, iş bölümü, işçilik yılları (meslekte geçen süre)
Al-Bdour ve ark. (38)	Ürdün/İrbid/31° kuzey	Şehir	K/E (açık ve kapalı alanda çalışan işçiler)	22-70	201	açık havada geçirilen zaman
Gazzard ve ark. (39)	Endonezya/Riau	Kırsal	K/E	36,6 (ortalama)	1210	yaş, açık havada geçirilen zaman
Luthra ve ark. (15)	Barbados/13° kuzey		K/E	40-84	4709	etnik köken, açık havada geçirilen zaman
Saw ve ark. (23)	Singapur	Şehir	K/E	≥ 30	186	cinsiyet, açık havada geçirilen zaman
McCarty ve ark. (22)	Avustralya/Victoria	Kırsal, Şehir	K/E	≥ 40	3229	yaş, cinsiyet, açık havada geçirilen zaman, yerleşim

E: erkek, K: kadın.

Tablo 2.1. (Devam) Pterjium üzerine yapılan epidemiyolojik çalışmaların özeti.

Kaynakça	Ülke/Bölge/Enlem Derecesi	Yerleşim	Cinsiyet (Meslek)	Yaş Aralığı (yıl)	Örneklem Büyüklüğü (n)	Anlamlı Parametre
Panchapakesan ve ark. (34)	Avustralya/Blue Mountains (Sidney)	Kırsal	K/E	≥ 49	3564	yaş, cinsiyet, ten ve göz rengi, deri duyarlılığı
Khoos ve ark. (21)	Singapur	Şehir	K/E (Açık ve kapalı alanda çalışan işçiler)	51,5 (ortalama)	186	açık havada geçirilen zaman
Nakaishi ve ark. (51)	Japonya/Tokyo	Şehir	E (motosikletli polisler)	22-29	783	pinguekula, meslekte geçen süre
Karai ve ark. (52)	Japonya/Osaka	Şehir	E (kaynak işçileri)	17-65	191	meslekte geçen süre
Wong ve ark. (35)	Singapur/Tanjong Pagar	Şehir	K/E	40-81	1232	yaş, cinsiyet, meslek
Wu ve ark. (53)	Çin/Doumen/22° kuzey	Kırsal	K/E	≥ 50	4214	yaş, cinsiyet
Shiroma ve ark. (54)	Japonya/Kumejima Adası/26° kuzey	Kırsal	K/E	≥ 40	3762	yaş, cinsiyet, açık alan meslekleri, göz içi basınç

E: erkek, K: kadın.

2.1.3. Patogenez

Pterjium üzerine yapılan çalışmalar genellikle pterjiumun klinik ve cerrahi tedavisi üzerinde yoğunlaşmıştır. Patogenez, henüz tam olarak aydınlatılamamakla birlikte temel olarak pterjium oluşumunun iki basamaklı bir süreç olduğu ifade edilmektedir. Başlangıç basamağında limbal korneal-konjonktival epitelyal bariyer bozulmaya başlamaktadır. İkinci basamakta ise inflamasyon, hızlı hücre bölünmesi, bağ dokusunun yeniden şekillenmesi ve anjiyogenez ile karakterize bir “konjonktivalizasyon” gözlenmektedir (55, 56).

Elde edilen verilere göre pterjium patogeneğinde UV ışınlar, oksidatif stres, neoplastik, immünolojik ve inflamatuvar değişiklikler gibi farklı mekanizmalar görev almaktadır. Birçok dejeneratif hastalıkta olduğu gibi bütün bu mekanizmalar birbiriyle ilişki içerisinde ve başlatıcı “ilk adımı” tespit etmek zordur. UV ışınlar oksidatif strese neden olarak deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarına neden olabilir; UV ışınların etkisiyle p53 geni mutasyona uğrayabilir ya da var olan gen mutasyonu sonrası UV ışın gibi bir tetikleyici yoluyla hastalık ortaya çıkabilir. Benzer şekilde immünolojik mekanizmalarda var olan bir bozukluk nedeniyle hücre proliferasyonu tetiklenerek pterjium meydana gelebilir (57, 58). Pterjium patogeneğinde üzerinde fazlaca durulan etmenler aşağıda açıklanmaktadır.

Ultraviyole (UV) Işın

İnsanların yaşadıkları coğrafya, çalıştıkları işin türü, gün içindeki çalışma saatleri, hayat boyu çalışma süresi, çalışma mevsimi, kullandıkları giysiler ve bireysel pigmentasyon miktarları maruz kaldıkları güneş ışığı miktarını değiştirmektedir. Güneş’ten yayılan UV ışınlar dalga boylarına göre UV-A (400-315 nm), UV-B (315-280 nm) ve UV-C (<280 nm) olarak sınıflandırılmaktadır. Atmosfer tabakası UV-C ışınların tamamını ve UV-B ışınların %90’ını absorbe ederek tutmaktadır. UV-A ışınları ise absorbe olmadan ve neredeyse hiç değişmeden yeryüzüne ulaşmaktadır (59).

Ultraviyole-A ışınları UV-B ışınlarına göre deriye daha fazla penetre olmalarına rağmen kırısklık ve lekelenme gibi daha zararsız etkilere neden olmaktadır. UV-B ışınları ise DNA hasarına neden olmaktadır (59). UV ışınlar doğrudan DNA üzerinde fototoksik etkiler göstererek ve oksidatif strese neden

olarak pterjium oluşumunda rol oynayan mediyatörlerin artışına neden olmaktadır (60).

300 nm dalga boyunun altındaki ışınlar kornea tarafından yüksek miktarda absorbe edilmektedirler. Bu nedenle UV-B ışınların konjonktiva dokusunda kalınlaşma ve hiperplazi gibi korneal değişikliklerden sorumlu oldukları düşünülmektedir (61, 62). Güneş ışınlarına uzun süre ve yoğun bir şekilde maruz kalma sonucu açığa çıkan bazı göz hastalıklarına pinguekula, kornea ve konjonktivada skuamöz hücreli karsinom ve solar keratoz örnek olarak verilebilir.

p53 Tümör Baskılayıcı Gen

Pterjium proliferasyon, kornea invazyonu, anjiyogenez ve inflamasyon ile karakterize ve cerrahi tedavi sonrası sıklıkla tekrar eden bir hastalıktır. Tümörle ortak olan bütün bu özellikler, pterjiumun neoplastik bir hastalık olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle pterjium patogenezinde üzerinde durulan en önemli konulardan biri p53 tümör baskılayıcı genidir.

p53 geninin görevi hücre döngüsünü kontrol etmek ve tümör oluşumunu engellemektir. Bu gen, DNA mutasyonları gerçekleştiği zaman proliferasyonu engelleyen ve hücre apoptozunu tetikleyen bir kontrol noktası olarak işlev göstermektedir. p53 geninde meydana gelen mutasyonlar kanser oluşum mekanizmalarından biridir. Dokularda p53 tümör baskılayıcı gen aktivasyonunun artması malign tümörler ve apoptoz ile ilgilidir (63). Yapılan çeşitli araştırmalarda p53 gen ekspresyonunda artış ya da meydana gelen bir mutasyon ile pterjium arasında bir ilişki olduğu ifade edilmektedir. Bazı çalışmalarda pterjium dokusunda p53 geninin ekspresyonunda artış gözlenmesine rağmen, bazı araştırmalarda anlamlı bir artış bulunamamış ya da ekspresyondaki artış kanser dışı direnç mekanizmalarıyla açıklanmıştır (64-67). p53 geninde mutasyon tespit edilse dahi p53 proteini ekspresyonuyla anlamlı bir ilişki kurulamayan çalışmalar vardır (68). Bu durum doğrudan bir kanser tanımlaması yapmaya izin vermese de pterjiumun tümör benzeri bir patolojiye sahip olabileceğini düşündürmektedir. Dolayısıyla pterjium neoplazi benzeri bir büyüme bozukluğu olmasına rağmen metastatik tümör olarak kabul edilmemektedir.

Oksidatif Stres

Gözde UV ışınların etkisiyle oksidatif stres oluştuğu ve oluşan oksidatif stresin pterjium oluşumunu tetikleyebileceği düşünülmektedir. Oksidatif stres, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin artışına yol açarak DNA hasarı, lipid peroksidasyon ve protein yapısında değişikliklere neden olmaktadır; bu mekanizmanın lokal olarak göz(ler)de meydana gelmesi olasıdır (69). 8-hidroksideoksiguanozin gibi oksidatif DNA hasarını gösteren bileşikler pterjium dokusunda tespit edilmiştir. 8-oksoguanin glikosilaz 1 (OGG1) enzimi de bu bileşiği metabolize etmektedir ve aynı şekilde pterjium dokusunda yüksek oranda saptanmıştır (57, 70).

Oksidatif stres sadece UV ışınların etkisiyle değil başka birçok nedenle ortaya çıkabilir. Pterjium gibi dejeneratif bir hastalığı oksidatif stresten ayrı bir süreç olarak düşünmek yanlıştır. Bu nedenle pterjium hem oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir hem de başka mekanizmalarla meydana gelip doğası gereği vücutta sistemik ve lokal olarak bir oksidatif strese neden olabilir. Bu ikisinin birlikte karşılıklı bir ilişki içerisinde meydana geldiğini düşünürsek, pterjium için oksidatif stresin etkisini neden veya sonuç olarak kesin ve tek bir yanıt şeklinde sunmak yanlış olacaktır.

İmmünolojik ve İnflamatuvar Mekanizmalar

Pterjium patogenezinde göreceli olarak üzerinde daha az durulan konular inflamatuvar ve immünolojik mekanizmalardır. Özellikle UV ışınlara maruziyet sonrası kemokin, sitokin ve büyüme faktörleri salınarak konjonktivaya inflamatuvar hücre akışı ve vaskülerizasyon gerçekleşmektedir. Pterjiumda UV ışın maruziyetini takiben interlökin (IL)-6, IL-8, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve tümör nekroze edici faktör-alfa (TNF- α) düzeylerinde artış gözlenmiştir (71, 72). Diğer inflamatuvar sitokinleri ve matriks metalloproteinazları tetikleyen siklooksijenaz (COX)-II düzeylerinde artış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunun yanı sıra hücrel sinyal iletiminde rol oynayan bazı moleküllerin de benzer şekilde arttığını gösteren çalışmalar da vardır (73-75).

Mekanizması ve nedeni tam olarak anlaşılamamış olsa da immün sistemin pterjium patogenezi ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1), interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve insan lökosit

antijeni (HLA)-DR gibi immünolojik aktiviteyi gösteren biyogöstergelerin düzeylerinin pterjiumda arttığını bildirilmiştir (76). Pterjium dokusunda mast hücreleri, lenfositler, plazma hücreleri, dendritik hücreler, CD4+ ve CD8+ T-hücrelerinde artış olduğu gösterilmiştir (76, 77).

Mevcut veriler değerlendirildiğinde, immünolojik ve inflamatuvar mekanizmaların pterjium patogenezindeki rolleri patogenezi aydınlatmaya yetmese de bu mekanizmaların pterjium oluştuktan sonra aktif rol oynadıkları düşünülmektedir. İmmünolojik ve inflamatuvar parametrelerin hücre proliferasyonu veya anjiyogeneze belirgin bir katkısı yoktur; ama bu patolojilerin sonucu olarak tetiklenmiş olabilirler. İmmünolojik ve inflamatuvar değişiklikler birincil mekanizma olmasalar da ikincil olarak pterjiuma neden olabilirler (78).

2.1.4. Risk Faktörleri

Pterjium oluşumunda risk faktörleri arasında viral enfeksiyonlar, pinguekula ve genetik faktörler sayılmaktadır. Bu belirtilen faktörlerin kişiyi pterjiuma daha yatkın hale getirdiği düşünülmektedir. Bunlar hem bireysel hem de çevresel etmenlerdir ve hastalığın patogenezinde açıklanan mekanizmalarla birlikte değerlendirilmeleri daha doğru bir bakış açısı sunacaktır.

Viral Enfeksiyonlar

Virüsler, hücre proliferasyonunu tetikleyerek ya da DNA mutasyonlarına neden olarak tümör oluşumuna yol açabilirler. Pterjium ile insan papilloma virüsü (human papilomavirus, HPV) ve herpes simplex virüsleri arasında bir ilişki olduğu ifade edilmektedir (79). HPV deride ve konjonktiva gibi mukoz membranlarda enfeksiyonlara neden olmaktadır. HPV'nin 80'den fazla tanımlanmış tipi vardır ve bazıları neoplazi ile ilişkilidir. Yapılan bazı çalışmalarda HPV ve herpes simplex virüs DNA'larının normal konjonktiva dokusunda bulunmazlarken pterjium dokusunda bulundukları belirlenmiştir (80, 81). Bazı çalışmalarda ise pterjium dokusunda bu virüsler tespit edilememiş veya anlamlı bir ilişki kurulamamıştır (82).

Otlu ve ark. (79), yaptıkları çalışmada pterjium dokusunda HPV tespit edemezken başka bir onkogenik virüs olan Epstein-Barr virüsünün (EBV) bulunduğunu bildirmişlerdir.

Bütün bu araştırmalar değerlendirildiğinde pterjium ile viral enfeksiyonlar arasındaki ilişkinin tartışmalı olduğu söylenebilir. Virüslerin pterjiumda oynadıkları rol ve etki mekanizmaları belirsizdir. Pterjium dokusunda tespit edilen virüslerin doğrudan pterjiuma neden olmasalar da hastalığa karşı yatkınlığı/hassasiyeti arttırdıkları düşünülmektedir. HPV, herpes simplex ve EBV gibi virüslerin pterjiumda oynadıkları rol aydınlatılarak tedavide antiviral ilaçlar ya da aşı gibi farklı yöntemlerle korunmaya ilişkin yaklaşımların önü açılacaktır.

Pinguekula

Kronik göz yüzeyi bozuklukları ve güneş ışığı ile ilişkili göz hastalıkları pterjium için bir risk faktörü oluşturmaktadırlar. Pinguekula, güneş ışınlarına yoğun miktarda maruziyet sonucu göz yüzeyinde ortaya çıkan, epitelyal farklılaşmanın gözlendiği nodüler bir bozukluktur (83). Pinguekula, pterjium gibi büyüme ve yayılma özellikleri göstermese de ilerleyerek pterjiuma dönüşebilir ve pterjium için bir başlangıç basamağı oluşturabilir. Kişide pinguekula görülmesi pterjium için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (34, 84, 85).

Genetik Faktörler

Genetik faktörler birçok hastalıkta olduğu gibi pterjiumda da önemlidir. Pterjiumun genetik aktarım özellikleri ile ilgili araştırmalar yapılsa da anlamlı bir veri elde edilememiştir. Bloom ve ark. (86) tarafından sunulan olgu raporunda, pterjium hastası ikizler incelenerek pterjiumda genetik yatkınlığın önemi vurgulanmıştır. Yeşil gözlü insanların kahverengi gözlü olanlara göre daha çok risk altında bulundukları bile belirtilmekle birlikte bu kanıtlanmış bir sav değildir (14).

Belirli bir coğrafi bölgede yaşayan insanlar ile yapılan çalışmalarda anlamlı bulunan sonuçlar, pterjiumun genetik olarak belirli bir ırk veya toplumda gözlenmesinden ziyade bir topluluğun benzer çevre koşullarında yaşaması ve benzer faktörlerden etkilenmesi ile ilgilidir. Pterjiumda coğrafi bölge, iklim ve meslek hayatı gibi çevresel faktörlerin etkisi her zaman göz önünde bulundurulmalıdır (14, 86).

2.1.5. Tedavi

Tarihsel olarak çok önceden görülen bir hastalık olması sebebiyle, çok eski kaynaklarda pterjium tedavisine ilişkin tedavilere ulaşmak mümkündür. Bu kaynaklarda dönemin koşullarına uygun olarak geleneksel ilaçlardan ve cerrahi tekniklerden bahsedilmektedir. Eski Hint tıbbında rhemania (Çin yüksük otu), akebia (beş bardak, çikolata sarmaşığı), meyan ve ginseng gibi bitkilerle pterjium vaskülerizasyonunu durdurmaya yönelik tedaviler anlatılmaktadır. Kilikyalı Dioscorides akasya zamkı, pterjiumu ovalamak için mürekkep balığı kabuğunun tozu, sirke, aloe ekstresi ve dokuyu eritmek için sofr tuzu (sodyum klorür) gibi maddelerle tedavi uyguladığını anlatmıştır. Celsus, pterjiumun başlangıç aşamasında ilaçlarla tedaviyi önerirken, ilerlemiş ve kalın bir doku varsa cerrahi olarak uzaklaştırılması gerektiğini anlatmaktadır. Ameliyat sırasında hastanın uygun pozisyona getirilmesinden başlayarak ayrıntılı bir şekilde uygulanması gereken işlemlerden bahsetmektedir. Pterjium dokusun bir kanca ile kaldırılıp iple bağlandığı ve bıçakla kesilerek uzaklaştırıldığı anlatılmaktadır. Paullus, aynı kesme işleminden önce at kılı kullanmıştır. Ali İbn, cerrahi işlemin yanı sıra bakır ve amonyum tuzu gibi astrenjan ajanlarla tedavi önermektedir (87-89).

Günümüz pterjium tedavisinde, hastaların yakınmalarını gidermek için semptomları azaltmaya yönelik ilaçlar, doku büyümesini inhibe eden ajanlar ve dokunun uzaklaştırıldığı cerrahi girişimler uygulanmaktadır. Bu tedaviler, genellikle bir arada uygulanarak pterjium tedavisinde verimin iyileştirilmesine çalışılmaktadır.

Semptomatik Tedavi

Semptomatik tedavide asıl hedef hastanın yakınmalarını ortadan kaldırarak günlük hayatını kolaylıkla devam ettirebilmesini sağlamaktır. Pterjiumda gözlerde meydana gelen yanma, batma, iritasyon, kızarıklık, şişlik, kuruma ya da sulanma gibi semptomları azaltmaya yönelik olarak non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), kortikosteroidler ve lubrikanlar kullanılmaktadır (90). NSAİİ ve kortikosteroidler ile başta inflamasyon olmak üzere birçok belirti giderilmektedir. Lubrikan göz damlaları ile hastanın gözünde hissettiği rahatsızlık hissi azaltılmaya çalışılmaktadır. Özellikle hastalığın ilk aşamalarında başka bir tedaviye başlamadan

sadece semptomatik ilaçlar kullanılmakta ve güneş gözlüğü kullanımı gibi koruyucu önlemler önerilmektedir (91).

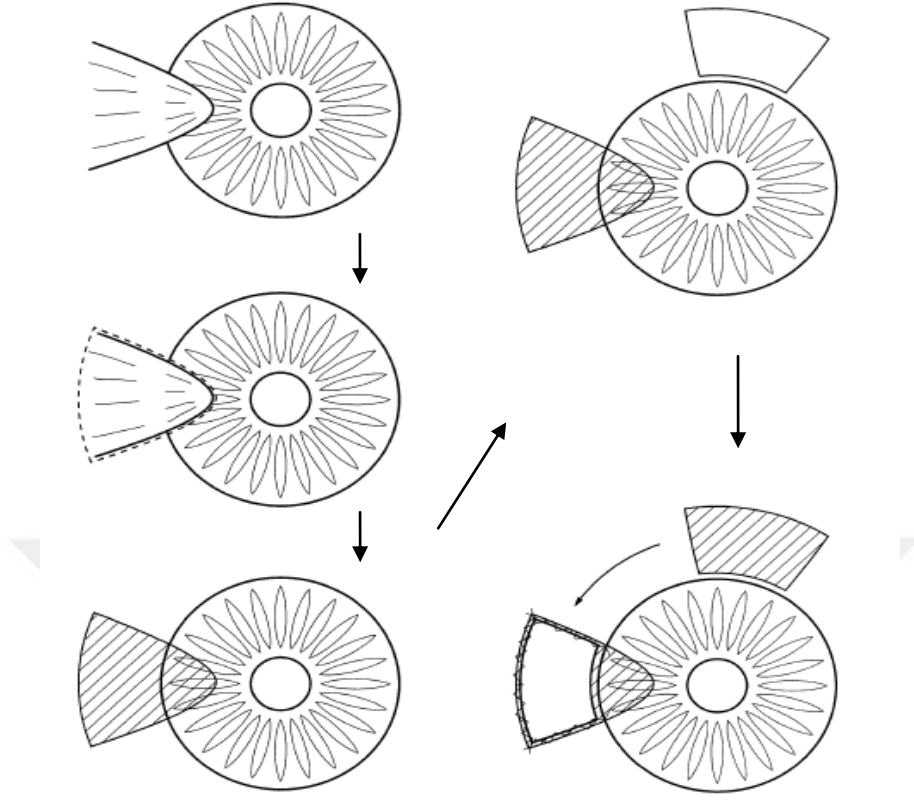
Cerrahi Tedavi

Pterjium tedavisindeki en radikal yöntem kornea üzerindeki dokunun cerrahi olarak çıkartılmasıdır. Dokunun büyüklüğü, vaskülerizasyonu ve yayılımına bağlı olarak hastanın görme alanı kapanmışsa, ciddi astigmatizm oluşmuşsa, göz hareketlerinde kısıtlanma varsa ve şiddetli estetik endişeler bulunuyorsa cerrahi işlem ile pterjiumun ortadan kaldırılması düşünülmektedir (88).

Şekil 2.1.'de gösterildiği üzere pterjium baş, boyun ve gövde bölümlerinden oluşmaktadır. Pterjiumun korneaya doğru ilerlediği kısmı baş bölümüdür ve cerrahi bıçak ile kesilerek cerrahi müdahale ile alınan yerdir. Gövde kısmı görece kolay hareket ettirilebilen bölgedir. Gövde ve boyun kısımları cerrahi bıçakla kaldırıldıktan sonra baş kısmı kesilerek çıkartılmaktadır (92). Cerrahi müdahale, dikkat ve deneyim gerektiren bir işlemdir. Çünkü pterjium dokusunun nerede başladığı ve normal konjonktiva dokusunun nerede bittiği kesin sınırlarla belli değildir.

Pterjium tedavisinde kullanılan birçok cerrahi yöntem vardır. Bu yöntemler şunlardır: çıplak sklera yöntemi, primer kapatma, konjonktival otogreft, limbal konjonktival otogreft, konjonktival flep ve amniyotik membran greft (88, 93). Kullanılan birçok yöntem olmasına rağmen üzerinde evrensel olarak görüş birliğine varılmış tek bir yöntem yoktur. Ancak, bunlar arasında en çok kabul gören ve tercih edilen cerrahi yöntem konjonktival otogreft yöntemidir. Şekil 2.3.'te gösterilen konjonktival otogreft yöntemi ilk defa Kenyon ve ark. (94) tarafından 1985'te tanımlanmıştır. Bu yöntemde pterjium dokusunun çıkartıldığı yere konjonktivadan alınan bir doku parçası aktarılmaktadır.

Konjonktival otogreft yönteminin diğer yöntemlere göre daha çok tercih edilmesinin nedeni tedavideki ana hedefleri daha iyi karşılayarak daha uzun süreli etkinliğe sahip olmasıdır. Bu hedefler nüks etme oranının çok az olması, en az komplikasyon ve estetik görünüm başarısıdır (95).



Şekil 2.3. Konjonktival otogreft yöntemi (88).

Konjonktival otogreft yönteminde dikiş veya fibrin yapıştırıcılar kullanılmaktadır. Dikiş kullanılması cerrahi tedavi sonrası hastalarda rahatsızlık yatabilmekte, kronik inflamasyona ve granülom oluşumuna neden olmaktadır. Bu nedenle ameliyat sonrası inflamasyonu azaltmak, iyileşmeyi hızlandırmak ve hastanın daha rahat etmesini sağlamak için dikiş yerine fibrin doku yapıştırıcılar tercih edilmektedir (96).

Adjuvan Tedavi

Adjuvan tedavi, asıl tedaviye yardımcı olmak ve hastalığın nüks etmesini engellemek amacıyla uygulanmaktadır. Bu amaçla mitomisin C, 5-florourasil ve thiotepa gibi antineoplastik ajanların yanı sıra ranibizumab (immün ajan) ve bevacizumab (monoklonal antikor) gibi ilaçlar ve radyoterapi (β -ışınları) kullanılmaktadır. Bunların genel özellikleri cerrahi olarak çıkartılan dokunun yerinde tekrar hücre proliferasyonunu engellemektir (97).

Sitotoksik aktivitesi bulunan mitomisin C, cerrahi işlem sırasında ve sonrasında kullanılmaktadır (98). β -ışınları ise sadece cerrahi işlem sonrasında kullanılmaktadır. Gözün dış katmanları tarafından tutulan, orta derecede penetrasyon özelliği bulunan β -ışınlar, mitomisin ve thiotepa gibi fibroblast aktivitesini inhibe etmek ve böylelikle yara dokusunda hücre proliferasyonunu engellemek amacıyla tercih edilmektedir (99). 5-florourasil, DNA sentezini inhibe eden pirimidin analogu bir bileşiktir. Fibroblastların tutunmasını ve göçünü engelleyerek hücre çoğalmasına hızlı bir şekilde etki etmektedir. Pterjiumun nüks oranını azalttığı kanıtlanmış güvenli ve etkili bir ilaçtır (100). Bevacizumab ise endotelial hücrelerin VEGF tarafından indüklenmiş proliferasyonunu engellemek için kullanılan monoklonal antikor bir bileşiktir (101).

2.1.6. Pterjiumun Nüks Etmesi

Bir tedavinin başarısı ölçülürken hasta izlemi çok önemlidir. Özellikle cerrahi tedavi uygulamaları sonrasında hasta takibi yapılarak yöntemin başarısı değerlendirilmektedir. Pterjiumun cerrahi tedavi sonrası yapılan değerlendirmelerde en çok karşılaşılan sorun, hastalığın sıklıkla nüks etmesidir (102-104). Kornea yüzeyinden kesilerek çıkartılan dokunun yerinde genellikle tekrar epitelizasyon gözlenmekte ve skar dokusunun olduğu yerde yeniden pterjium oluşmaktadır. Buna bağlı olarak post-operatif semptomlarla birlikte yeni bir pterjiumun semptomları birlikte gözlenebilmektedir.

“Pterjium dokusu çıkartıldıktan sonra neden tekrar oluşmaktadır?” sorusuna verilen yanıtlar aşağıda belirtilmektedir.

I. Cerrahi işlem sırasında dokunun iyi bir şekilde ortadan kaldırılamaması nedeniyle yeniden hücre proliferasyonu gerçekleşmektedir.

II. Cerrahi travmaya bağlı olarak fibroblastların aktivasyonu ve buna bağlı olarak hücre proliferasyonu gerçekleşmektedir.

Yapılan çalışmalara göre öncelikle seçilen yöntemin türü doğrudan nüks etme oranlarını etkilemektedir (93, 105). En iyi cerrahi yöntem konusunda bir görüş birliği olmasa da sık nüks etme özelliklerinden dolayı çıplak sklera ve primer konjonktival kapatma gibi yöntemler daha az tercih edilmektedir (95, 102). Hekimlerin hasta refahı açısından en çok tercih ettikleri yöntem konjonktival otogreft yöntemidir.

Bununla birlikte adjuvan tedavi ve semptomlara yönelik ilaç tedavisi de birlikte uygulanmaktadır.

Hastanın yaşının küçük olması ve pterjium dokusunun kalınlığı gibi faktörlerin nüks etme riskini arttırdığı söylene de bunların etkisi tartışmalıdır ve kanıtlanmış değildir (106). Bazı çalışmalarda ise cerrahi işlem sırasında kullanılan yardımcı malzemelerin nüks etme ile ilişkisi olduğu ifade edilmektedir. Geleneksel dikiş yerine fibrin doku yapıştırıcıları kullanmanın cerrahi sonrası nüks etme oranlarını azalttığı bildirilmiştir (105, 107).

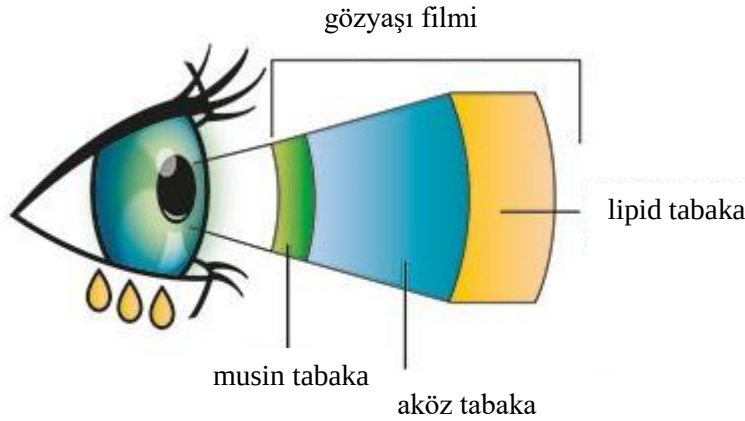
Hastalıkla ilgili bilinmeyenlerin çok olması, cerrahi sonrası hasta bakımı ve bu bakımın standardizasyonu konusundaki eksiklikler klinikte biyogöstergelerin kullanımının yaygınlaştırılması gerektiğini bir kez daha hatırlatmaktadır.

2.2. Gözyaşı

2.2.1. Genel Özellikleri ve Fizyolojik Önemi

Gözyaşı, lakrimal bezden salınan biyolojik bir sıvıdır. Göz yüzeyini kaplayan gözyaşı tabakası hem ışığın pürüzsüz bir yoldan göze girmesini sağlamakta hem de mekanik ve antimikrobiyal bir bariyer işlevi göstererek göz immünitesinde rol oynamaktadır. İçeriğinde su, elektrolit, peptid, glikoprotein ve musin bulunmaktadır. Ayrıca antioksidan bir içeriğe de sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), askorbik asit, ürik asit, sistein ve tirozin gibi antioksidan bileşikler de yapısında bulundurmaktadır (108). Gözyaşı pH değeri kanda olduğu gibi 7,4 ve ozmolaritesi de seruma benzer şekilde 298 mOsm/l'dir (2).

Gözyaşı, farklı tabakalardan oluşan bir film yapısındadır. Şekil 2.4.'te gösterildiği gibi bu tabakalar korneadan başlamak üzere musin, aköz ve lipid tabakalardır. En dışta bulunan lipid tabakası pürüzsüz, kaygan bir dış yüzey sağlamak ve gözyaşının buharlaşmasını geciktirmektedir. Aköz tabaka sudan oluşmaktadır ve gözyaşının bir film şeklinde göz yüzeyinde yayılmasını sağlamaktadır. En içteki musin tabaka ise gözyaşı filminin korneaya tutunmasına yardımcı olmaktadır (109, 110).



Şekil 2.4. Gözyaşı filminin tabakaları (111).

2.2.2. Analiz Örneği Olarak Kullanılması

Tez çalışmasında analiz örneği olarak kullanılan gözyaşı, biyolojik örnek olarak az tercih edilen, kıymetli bir materyaldir. Çünkü kan ve idrar gibi sık kullanılan biyolojik örneklerin aksine, bireylerden alınabilecek miktar fazla değildir. Ancak, katılımcılardan gözyaşı örneği toplamak, aköz veya vitröz sıvı örneği toplamak gibi zor bir işlem değildir. Örnek alınan bireyler için daha kolay ve sıkıntısızdır; hasta refahına uygundur.

2.2.3. Pterjiumda Gözyaşı

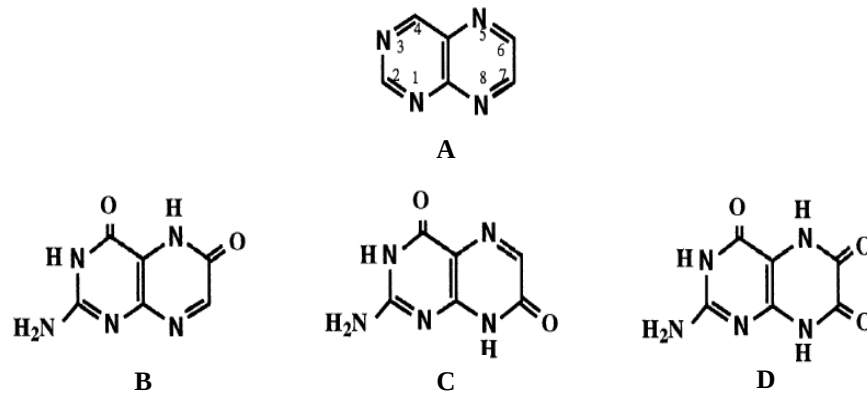
Pterjiumda gözyaşında meydana gelen en önemli değişiklikler gözyaşı salgısının azalması ve göz kuruluğudur (112). Göz kuruluşunun değerlendirilmesinde kullanılan bir parametre olan gözyaşı filmi kırılma süresinde (tear break up time, TBUT) azalma olduğu bildirilmektedir (113). Pterjiumda gözyaşı ozmolaritesinin arttığı ve kristalizasyon özelliğinin azaldığı bildirilmiştir (114).

Bunların yanı sıra, gözyaşı film tabakasının dağılımında bozukluklar gözlenmektedir. Sağlıklı bir gözde homojen dağılım gösteren gözyaşı filmi, pterjiumda heterojen olarak dağılmaktadır. Gözyaşı, pterjiumun baş kısmında birikme eğilimindedir. Bu durum gözyaşının göz yüzeyinde dengesiz toplanmasına ve dağılmasına neden olmaktadır. Gözyaşı filminin topografik özelliklerinde meydana gelen değişiklikler korneal düzleşmeye neden olmakta ve astigmatizmayı

arttırmaktadır. Kornea şeklinin bozulmasının başka bir nedeni, pterijum dokusundaki kontraktıl elementlerin meydana getirdiği çekiş kuvvetinin korneayı mekanik olarak deforme etmesi olabilir (115, 116).

2.3. Pteridinler

Wöhler ve Hlasiwetz, 1857 yılında ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarında, ürik asidin suda 100°C üzerinde uzun süre ısıtıldığı zaman sarı bileşikler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Yaklaşık 30 yıl sonra Hopkins (117), lepidoptera (pulkanatlılar) kanadından bazı renkli bileşikler izole etmiştir ve bunu takip eden yıllarda yaptığı çalışmalarında daha sonra “ksantopterin” ve “lökopterin” olarak adlandırılacak sarı ve beyaz renkli bileşiklerini elde etmiştir. İlk tutarlı sentez, 1894 yılında Otto Kühling tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın devamı olan 1936 yılındaki araştırmalarında Wieland ve Schöpf, kelebek kanadından izole ettikleri pigmentlere “pteridinler” demişlerdir. Pteridin, eski Yunancada “kanat” anlamında kullanılan “pteron (pter(o)-)” sözcüğünden türetilmiş bir isimdir. 1940 yılında Purmann, bisiklik azotlu halka sistemi olan pirazino-(2,3-d)-pirimidin yapısını içeren, “ksantopterin, izoksantopterin ve lökopterin” adı verilen bileşiklerin yapılarını aydınlatmayı başarmıştır (118, 119). Bu bileşiklerin ve pteridin halkasının yapısı Şekil 2.5.’te gösterilmektedir (118).



Şekil 2.5. Pteridin halkası (A), ksantopterin (B), izoksantopterin (C) ve lökopterin (D) moleküllerinin yapısı.

Günümüzde ise bütün bu çalışmalar sayesinde pirazino-(2,3-d)-pirimidin sistemi Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) tarafından “pteridin” olarak isimlendirilmektedir (118). Bazı pteridin bileşikleri ve isimlendirilmeleri Tablo 2.2.’de gösterilmektedir.

Tablo 2.2. Bazı pteridin grubu bileşiklerin isimlendirilmesi.

Bileşikler	İsimlendirme
Biyopterin	2-amino-6-(1,2-dihidroksipropil)-1H-pteridin-4-on
Folik asit (folat)	(2S)-2-[[4-[(2-amino-4-okso-1H-pteridin-6-il)metilamino]benzoil]amino]pentanedioik asit
İzoksantopterin	2-amino-4,7(3H,8H)-pteridindion
Ksantopterin	2-amino-4,6(3H,5H)-pteridindion
Lökopterin	2-amino-4,6,7(3H,5H,8H)-pteridintrion
Neopterin	2-amino-6-(1,2,3-trihidroksipropil)-1H-pteridin-4-on
Tetrahidrobiyopterin	2-amino-6-(1,2-dihidroksipropil)-5,6,7,8-tetrahidro-1H-pteridin-4-on

Küçük fonksiyonel grup taşıyan türevler konjuge olmayan pteridinler, daha büyük fonksiyonel grup taşıyanlar ise konjuge pteridinler olarak adlandırılmaktadır (120). Bu sınıflandırmaya göre pteridin bileşikleri Tablo 2.3.’te gösterilmektedir.

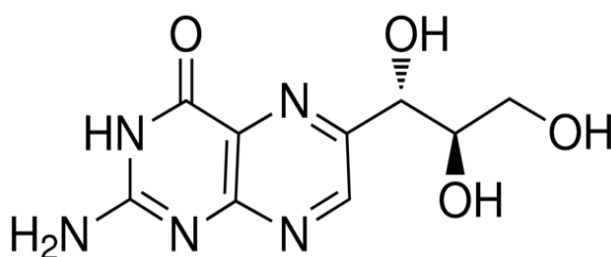
Tablo 2.3. Pteridinlerin sınıflandırılması.

Konjuge Olmayan Pteridinler	Konjuge Pteridinler
Ksantopterin	Folik Asit
İzoksantopterin	Metanopterin
Lökopterin	Sarsinapterin
Neopterin	Tatiopterin
Biyopterin	
Tetrahidrobiyopterin (BH ₄)	
Molibdopterin	
Siliapterin	
Diktiyopterin	
Drosopterin	
Sepiapterin	
Monapterin	

2.4. Neopterin

2.4.1. Kimyasal Yapısı ve Tarihçesi

Neopterin, 1963 yılında Rembold ve Buschmann tarafından arı larvası, işçi arı ve arı sütünde keşfedilmiştir. Bu yeni molekül pteridin araştırmalarında yeni bir dönemin başlangıcı sayıldığı için Yunanca “yeni” anlamına gelen “neo” sözcüğünden hareketle “neopterin” adı verilmiştir (120, 121) . Şekil 2.6.’da kimyasal yapısı gösterilmiştir.

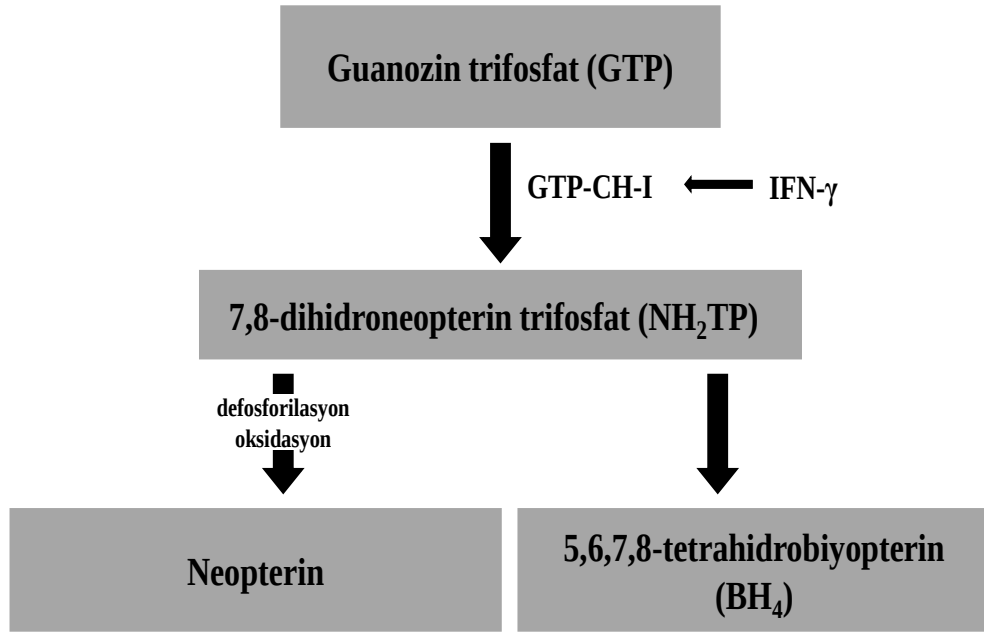
**Şekil 2.6.** Neopterinin kimyasal yapısı (122).

Neopterin, ilk defa 1967 yılında Sakurai ve Goto (123) tarafından insan idrarından izole edilmiştir. 1979 yılına gelindiğinde Wachter ve ark. (124), viral enfeksiyonlu ve malign tümörü olan bazı hasta gruplarında neopterin düzeylerinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

1981 yılında ise neopterinin organizmanın tümör hücrelerine ve viral enfeksiyonlu hücrelere karşı bir immün cevaptan kaynaklandığı ileri sürülmüştür (125). Daha sonra yapılan *in vitro* çalışmalarda neopterinin insan monosit ve makrofajları tarafından interferon-gama (IFN- γ) stimülasyonu ile üretildiği gösterilmiştir (126, 127). Bu sitokin, uyarılmış T-hücreler tarafından salınmaktadır. IFN- γ kadar olmasa da IFN- α , IFN- β , IL-2, IL-12 ve TNF- α gibi sitokinlerin stimülasyonu da çok az miktarda neopterin sentezini sağlamaktadır. Diğer hücrelerin sentezlediği neopterin miktarı ölçülemeyecek kadar az miktardadır. Bu nedenle neopterinin hücre immün cevapla ilişkili olduğu düşünülmüştür. Elde edilen *in vitro* sonuçlar birçok klinik araştırma ile doğrulanmıştır (120, 127, 128)

2.4.2. Biyosentezi

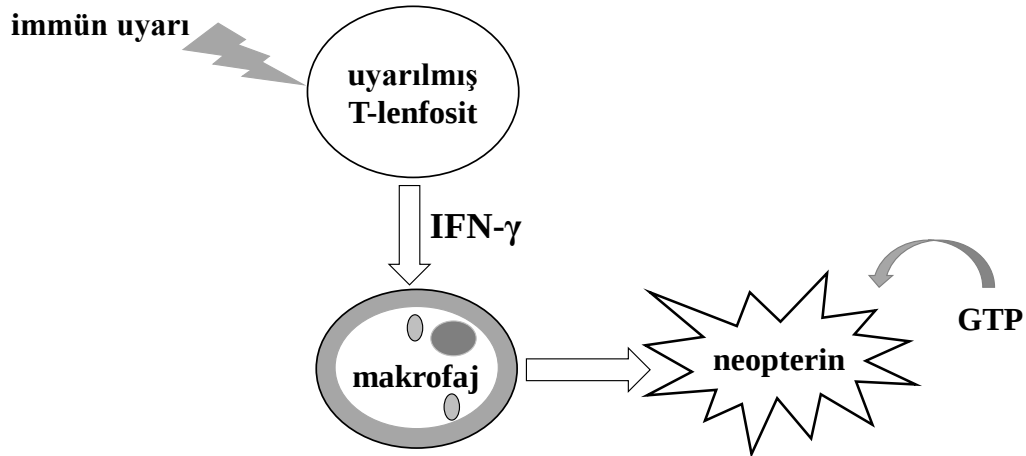
Neopterin, uyarılmış monosit ve makrofajlar tarafından guanozintrifosfattan (GTP) sentezlenmektedir (129). Bu sentez guanozintrifosfat-siklohidrolsilaz-I (GTP-CH-I) enzimi aracılığıyla gerçekleşmektedir. GTP öncelikle GTP-CH-I enzimi tarafından 7,8-dihidroneopterin trifosfata (NH₂TP) dönüştürülür (Şekil 2.7.). Bu reaksiyon 5,6,7,8-tetrahidrobiyopterin (BH₄) üretimine giden yolaktaki hız kısıtlayıcı basamaktır. BH₄, birçok nörotransmitter, katekolamin ve nitrik oksit üretiminde görevli enzimlerin kofaktörü olarak işlev göstermektedir. NH₂TP defosforilasyonu ve oksidasyonu sonucu neopterin sentezlenmektedir (127, 130).



Şekil 2.7. Neopterin sentezi.

GTP-CH-I: guanozintrifosfat-siklohidrolsilaz-I, IFN- γ : interferon-gama.

Guanozintrifosfat-siklohidrolsilaz-I enziminin aktivitesi ve dolayısıyla neopterin sentezi IFN- γ stimülasyonu ile artmaktadır. IFN- γ , Th-1 (T-helper, yardımcı) tipi bir sitokindir. İnterferonlar tip I interferonlar (IFN- α ve IFN- β) ve tip II interferonlar (IFN- γ) olarak ayrılırlar. IFN- γ , sadece CD4⁺ (farklılaşma yığılım molekülü-4) ve CD8⁺ (farklılaşma yığılım molekülü-8) ve doğal öldürücü (NK) hücreler gibi bazı özel T-lenfosit alt tipleri tarafından üretilirler. IFN- γ 'nın görevi patojenlere karşı monosit ve makrofajların antibakteriyel, antiprotozoal ve antifungal etkinliklerini arttırarak organizmayı zararlı saldırılardan korumaktır (131). Neopterin konsantrasyonu IFN- γ aktivitesini yansıttığı için T-lenfositler ve NK gibi IFN- γ üretimini sağlayan hücrelerin aktivitesinin ve dolayısıyla immün sistem aktivasyonunun göstergesi olarak kabul edilmektedir (132, 133). İmmün sistemin uyarılması ile gerçekleşen neopterin sentezi Şekil 2.8.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.8. İmmün uyarı ile neopterin sentezi.

GTP: guanozintrifosfat, IFN- γ : interferon-gama.

2.4.3. Fizyolojik Rolü

Neopterinin fizyolojik rolü tam olarak aydınlatılamamıştır; fakat biyosentezi ve biyosentezin ilişkili olduğu diğer moleküller, neopterin ve ilişkili moleküllerin üretiminin tetiklendiği koşullar değerlendirilerek organizmadaki bazı fonksiyonları açıklanmaya çalışılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda enfeksiyon, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve organ transplantasyonları gibi organizmanın savunma sisteminin uyarıldığı patolojilerde neopterin düzeylerinde artış olduğu bilinmektedir (134-139). Neopterin, organizma enfeksiyonla karşılaştığı ya da bazı hücreleri mutasyona uğradığı zaman, yani tehlikeye düştüğünde aktive olan immün sistem bileşenleri tarafından üretilmektedir. Biyolojik sıvılardaki neopterin konsantrasyonu ile immün aktivasyonu arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Neopterin bir neden değil, organizmanın immün reaksiyonlarının bir sonucudur.

Neopterin sadece immün sistem aktivasyonunu ifade etmez; aynı zamanda oksidatif stresle de ilişkilidir. Oksidatif stres, organizmadaki reaktif oksijen türevleri (ROT) ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozularak organizmanın prooksidatif duruma gelmesini ifade eder. Bu durum süperoksit anyon, hidroksil

radikali, nitrik oksit, hidrojen peroksit, hipokloröz asit ve peroksinitrit gibi reaktif bileşiklerin ve türevlerinin aşırı üretimi ya da SOD, katalaz, peroksidaz, glutatyon redüktaz (GR), glutatyon, tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidan mekanizmaların eksikliği ya da bozulması nedeniyle ortaya çıkar (140). Organizma zararlı patojenlere karşı savunmaya geçtiği zaman ROT'nin üretimi monosit/makrofajların aktivasyonu ile başlamaktadır. Patojenlere karşı silah olarak yöneltilen ROT'nin sitotoksik gücünün neopterin tarafından arttırıldığı düşünülmektedir. Neopterin konsantrasyonu ile oksidatif bileşiklerin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (141). Neopterinin ROT'nin oluşumunu düzenleyerek patojenleri ve tümör hücrelerini yok etmede görevli olduğu da düşünülmektedir.

Monosit/makrofajlardan salınan hidrojen peroksit ile neopterin miktarı arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Neopterinin folik asit sentezinde rol alan enzimler için yarışarak dolaylı yoldan enfekte hücrelerdeki folik asit sentezini inhibe ettiği düşünülmektedir. Öte yandan 7,8-dihidroneopterin ve 5,6,7,8-tetrahidroneopterin gibi neopterin türevlerinin güçlü antioksidan bileşikler olduğu gösterilmiştir (142). Neopterin ve 7,8-dihidroneopterin türevinin hücre apoptozunu tetiklediği bildirilmiştir. Neopterin ve türevlerinin hücre apoptozuna kadar giden süreçleri tetikleyerek zararlı mikroorganizmaların ve enfekte hücrelerin ortadan kaldırılmasında rol oynayarak organizmayı zararlı konakçılara karşı korumaktadır (143, 144).

2.4.4. Biyolojik Sıvılardaki Düzeyi ve Ölçüm Yöntemleri

İnterferon-gama gibi sitokinlerin biyolojik sıvılardaki düzeylerini tespit etmek zordur; çünkü hedef yapılara ve reseptörlere çok hızlı bir şekilde bağlanırlar veya reseptörlerin etkisiyle iyonizasyonları değişebilir. Lokal olarak sentezlenip bulundukları yere göre değişkenlik göstermeleri sebebiyle dolaşım sistemine ulaşmaları zordur. Bu nedenle laboratuvarında anlamlı bir ölçüm yapmak ve izlemek için uygun değildir. IFN- γ aktivitesini yansıttığı için neopterin düzeylerinin ölçümü daha akılcı ve duyarlı bir yaklaşımdır. Ayrıca neopterin düzeyleri sadece IFN- γ etkinliğini değil, diğer birçok immün parametrenin monosit ve makrofajlar üzerindeki etkisini ifade etmektedir. Örneğin IL-12 gibi Th-I tipi sitokinler ve IL-4 ve IL-10 gibi Th-II tipi sitokinlerin neopterin konsantrasyonlarına göre düzeylerinin

değiştii bilinmektedir (145). Dolayısıyla neopterin konsantrasyonlarının belirlenmesi tüm immün sistem bileşenlerinin etkinliğini ve etkileşimlerini yansıtması bakımından önemlidir.

İdrarda neopterin miktar tayininin üzerinden 50 yıl geçmiştir ve günümüzde neopterin konsantrasyonunun tespiti için idrar örneği sıklıkla kullanılmaya devam etmektedir (123). Herhangi bir böbrek yetmezliğı yoksa serum neopterin konsantrasyonları da idrar düzeylerini yansıtmaktadır (146). Neopterin, güneş ışığı ile temas ettiğinde bozulduğu için örneklerin taşınması ve saklanması sırasında uygun koşulların sağlanması doğru bir ölçüm için çok önemlidir. Analiz edilecek örnekler güneş ışığından korunarak 2-8°C arasında 24 saate kadar saklanabilir. -20°C'de ise 6 aya kadar depolanması mümkündür (147). Uygun koşullar sağlandığı takdirde serum, plazma, idrar ve başka birçok biyolojik sıvı neopterin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılabilir.

Serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılarda (beyin-omurilik sıvısı, sinoviyal sıvı, tükürük, pankreas sıvısı, karın içi sıvı) neopterin düzeyleri genellikle enzim bağı immünosorbent analizi (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) ve radyoimmünanaliz (radioimmunoassay, RIA) yöntemleriyle ölçülmektedir (148-152). İdrar neopterin düzeylerinin belirlenmesinde ise yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (high pressure liquid chromatography, HPLC) kullanılmaktadır (153, 154).

Sağlıklı bireylerde serum, plazma ve beyin-omurilik sıvısında bulunan ortalama neopterin konsantrasyonu yaklaşık 5-10 nmol/l'dir (2, 148, 155, 156). Patolojik durumlarda bu düzey 2-3 kat veya daha fazladır. Örneğin insan immünyetmezlik virüsü (human immunodeficiency virus, HIV) enfeksiyonu olan kişilerde plazma neopterin düzeyi 15 nmol/l düzeyine çıkabilmektedir (157). Alzheimer hastalarında ise bu düzey 16 nmol/l olarak bildirilmiştir (158). Diğer biyolojik sıvılar (beyin-omurilik sıvısı, sinoviyal sıvı, tükürük, pankreas sıvısı, karın içi sıvı vb.), invaziv yöntemlerle daha zor elde edildikleri için, bu örneklerde neopterin düzeylerinin ölçüldüğü az sayıda çalışmada vardır. Bu çalışmalarda tespit edilen neopterin düzeyleri 1,0-9,0 nmol/l arasında değişmektedir (149, 159).

Klerensin yaşa ve cinsiyete bağı olarak değişmesi nedeniyle idrar neopterin düzeyleri farklılık göstermektedir Sağlıklı yetişkin bireylerde her iki cinsiyet için

ortalama idrar neopterin düzeyi 100-200 $\mu\text{mol/mol}$ kreatinin değerleri arasındadır (160-162). Farklı yaş gruplarına göre idrar (Tablo 2.4.) ve serum (Tablo 2.5.) neopterin düzeyleri aşağıdaki tablolarda gösterilmektedir.

Tablo 2.4. Sağlıklı insanlarda idrar neopterin düzeyleri (μmol neopterin/mol kreatinin) (163).

Yaş	Kadın (Ortalama $\pm$ SS)	Erkek (Ortalama $\pm$ SS)
19-25	128 $\pm$ 33	123 $\pm$ 30
26-35	124 $\pm$ 33	101 $\pm$ 33
36-45	140 $\pm$ 39	109 $\pm$ 28
46-55	147 $\pm$ 32	105 $\pm$ 36
56-65	156 $\pm$ 35	119 $\pm$ 39
> 65	151 $\pm$ 40	133 $\pm$ 38

SS: standart sapma.

Tablo 2.5. Sağlıklı insanlarda serum neopterin düzeyleri (nmol/l) (163).

Yaş	Ortalama $\pm$ SS
< 18	6,8 $\pm$ 3,6
19-75	5,3 $\pm$ 2,7
> 75	9,7 $\pm$ 5,0

SS: standart sapma.

2.4.5. Çeşitli Patolojilerde Neopterin

Birçok patolojik durumda biyolojik sıvılarda yüksek neopterin konsantrasyonları tespit edilmiştir. Bu çalışmaların örnekleri Tablo 2.6.'da gösterilmektedir.

Tablo 2.6. Neopterin konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu durum ve hastalıklara örnekler.

Hastalık	Biyolojik Örnek	Kaynakça
Enfeksiyonlar		
Hepatit B	Serum	Demirturk ve ark. (164) Gulcan ve ark. (165) Kaleli ve ark. (166)
Hepatit C	Serum	Grüngreiff ve ark. (135)
HIV enfeksiyonu	BOS/Serum	Gisslen ve ark. (167, 168) Dolan ve ark. (169)
	İdrar	Zangerle ve ark. (170) Kramer ve ark. (171)
	Plazma	Aziz ve ark. (157)
	Serum	Stein ve ark. (172) Diez-Ruiz ve ark. (173)
Leishmaniazis	Serum	Hamerlinck ve ark. (174) Schrieffer ve ark. (175)
MSS Enfeksiyonu	BOS/Serum	Millner ve ark. (176)
Sepsis	İdrar	Baydar ve ark. (139)
	Plazma	Bavunoglu ve ark. (177)
	Serum	Sapa ve ark. (178) Tasdelen Fisgin ve ark. (179)
Septik Şok	İdrar	Baydar ve ark. (139)
	Plazma	Pascual ve ark. (180)

BOS: beyin-omurilik sıvısı, HIV: human immunodeficiency virus (insan immünyetmezlik virüsü), MSS: merkezi sinir sistemi.

Tablo 2.6. (Devam) Neopterin konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu durum ve hastalıklara örnekler.

Hastalık	Biyolojik Örnek	Kaynakça
Tüberküloz	BAL/ İdrar/Serum	Yuksekol ve ark. (181)
	İdrar	Fuchs ve ark. (182)
		Horak ve ark. (183)
		Eisenhut ve ark. (184)
	Serum	Immanuel ve ark. (185)
		Cesur ve ark. (186)
Kanser		
Akciğer	İdrar	Kronberger ve ark. (187)
Endometrium	İdrar	Isci Bostanci ve ark. (152)
Karaciğer	İdrar	Melichar ve ark. (188)
Kolon	İdrar	Weiss ve ark. (189)
		Melichar ve ark. (190)
Lenfoma, Lösemi	İdrar	Altindag ve ark. (191)
Meme	İdrar	Murr ve ark. (192)
		Melicharova ve ark. (193)
	Serum	Girgin ve ark. (137)
Over	İdrar	Volgger ve ark. (194)
Pankreas	Plazma	Manes ve ark. (195)
Prostat	Serum	Thein ve ark. (196)
Tiroid	İdrar	Inancli ve ark. (197)
		Sahin ve ark. (162)
	Serum	Beksac ve ark. (198)
Otoimmün Hastalıklar		
Multipl Skleroz	İdrar	Giovannoni ve ark. (199)
		Khorami ve ark. (200)
Romatoid Artrit	İdrar	Altindag ve ark. (134)
	Plazma	Arshadi ve ark. (201)

BAL: bronkoalveoler lavaj sıvısı.

Tablo 2.6. (Devam) Neopterin konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu durum ve hastalıklara örnekler.

Hastalık	Biyolojik Örnek	Kaynakça
Kalp Hastalıkları		
Akut Koroner Sendrom	Serum	Gurumurthy ve ark. (202)
Kalp Yetmezliği	Plazma	Yamamoto ve ark. (203)
	Serum	Tomandlova ve ark. (204)
		Berg ve ark. (205)
		Wietlicka-Kokoszaneck ve ark. (206)
Koroner Aterosklerotik Kalp Hastalığı	Serum	Lyu ve ark. (207)
Miyokard Enfarktüsü	Serum	Schumacher ve ark. (208)
		Gurfinkel ve ark. (209)
Böbrek Hastalıkları		
Diyabetik Nefropati	Serum	Weiss ve ark. (210)
	İdrar/Serum	Asci ve ark. (150)
Nefrit, Renal Yetmezlik	Serum	Erten ve ark. (211)
	İdrar/Serum	Godai ve ark. (212)
		Asci ve ark. (150)
Nefrotik Sendrom	İdrar/Serum	Oda ve ark. (213)
Transplantasyon		
Böbrek	İdrar	Reibnegger ve ark. (214)
	Serum	Carey ve ark. (138)
		Chin ve ark. (215)
Kalp	Serum	Müller ve ark. (216)
Psikiyatrik Hastalıklar		
Depresyon	İdrar	Taymur ve ark. (217)
	Serum	Celik ve ark. (218)
Obsesif Kompulsif Bozukluk	Serum	Kuloglu ve ark. (219)

Tablo 2.6. (Devam) Neopterin konsantrasyonlarının yüksek bulunduğu durum ve hastalıklara örnekler.

Hastalık	Biyolojik Örnek	Kaynakça
Nörodejeneratif Hastalıklar		
Alzheimer	Plazma	Parker ve ark. (220)
		Hull ve ark. (221)
	Serum	Savas ve ark. (222)
		Schroeksnadel ve ark. (223)
		Blasko ve ark. (224)
		Leblhuber ve ark. (136)
Creutzfeldt–Jakob Hastalığı	BOS	Stoeck ve Zerr (225)
Parkinson	İdrar	Campolo ve ark. (226)
Göz Hastalıkları		
Katarakt	Aköz humor/Serum	Laganovska ve ark. (227)
Retinal Vaskülit	İdrar	Palmer ve ark. (228)
Üveit	İdrar	Durukan ve ark. (229)
	İdrar/Serum	Palabiyik ve ark. (154)
Diğer		
Crohn Hastalığı	İdrar	Nancey ve ark. (230)
Down Sendromu	Plazma	Coppus ve ark. (231)
		Coppus ve ark. (232)
		Mehta ve ark. (233)
	Serum	Mehta ve ark. (234)
Polikistik Over Sendromu	Serum	Alanbay ve ark. (235)
		Barutcuoglu ve ark. (236)

BOS: beyin-omurilik sıvısı.

2.5. Biyogöstergelerin Klinik Önemi

“Biyogösterge” terimi literatüre ilk girdiği dönemlerde kısaca “klinik öncesi (preklinik) biyolojik gösterge” olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde ise Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health, NIH) Biyogösterge Tanımlamaları Çalışma Grubu’nun tanımına göre normal biyolojik süreçleri, patolojik durumları ya da klinik bir işleme verilen cevapları ölçmek için nesnel olarak ölçümü ve değerlendirmesi yapılan her türlü bileşik ve biyolojik yapıya biyogösterge denilmektedir (237). Bu tanım sadece klinik laboratuvarlarda ölçülen moleküler biyogöstergeleri değil aynı zamanda görüntüleme tekniklerini [ör. x-ışınları, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve pozitron emisyon tomografisi (PET)] ve kan glukoz düzeyinin tespiti gibi fizyolojik ölçümleri de kapsamaktadır (238). Biyogöstergelerin klinik uygulama alanlarını şu şekilde özetlemek mümkündür:

- I. Bir hastalığın ya da bozukluğun teşhisi
- II. Hastalıkların sınıflandırılması veya şiddete göre derecelendirilmesi
- III. Hastalıkların seyrinin değerlendirilmesi
- IV. Hastalık riski tahmini ve tedaviye yanıtın izlemi

Biyogöstergeler hastalık ilişkili durumların değerlendirilmesin dışında uzun yıllardır toksikolojide ve risk değerlendirmesinde kullanılmaktadır. Toksikolojik değerlendirmede kullanılan biyogöstergeler maruziyet, etkinlik ve duyarlılık biyogöstergeleri olarak sınıflandırılmaktadır (239). Bu biyogöstergeler, ksenobiyotiklere maruziyet sonucu meydana gelen hücresel değişikliklere duyarlı, ölçülebilir, moleküler ve biyolojik parametreleri temsil etmektedir. Toksisite mekanizmasını, toksisite derecesini, organizmada meydana gelen toksik etkileri, olası tedavi yaklaşımlarını ve tedavi etkinliğini değerlendirmede biyogöstergelerden yararlanılmaktadır (240).

Biyogöstergeler uygulama alanlarına göre temel olarak tanı, hastalık seyri ve kişiselleştirilmiş tedavi için kestirim olmak üzere üç sınıfa ayrılabilir. Tanısal biyogöstergeler, bir hastalığı teşhis etmek veya şiddetini tespit etmek için kullanılan göstergelerdir. Bu grubun en önemli üyelerinden biri görüntüleme biyogöstergeleridir. Görüntüleme biyogöstergeleri sağlıklı kişiler ile bir hastalığın erken evresinde olan ve semptom gözlenmeyenleri ayırt etmek için kullanılmaktadır.

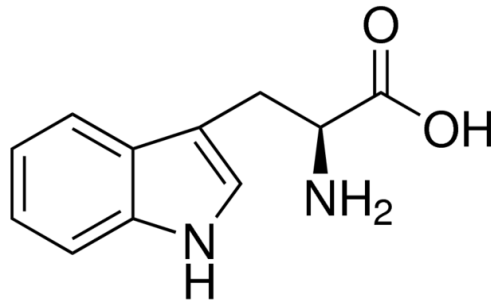
Tanı biliniyorsa uygulanan tedavi koşullarında hastalığın seyrini tahmin etmek için seyir biyogöstergeleri kullanılmaktadır. Örneğin bazı DNA tümör biyogöstergeleri metastaz riskini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Hastaya uygulanan tedavinin etkinliğini ve/veya güvenliğini değerlendirmek için ise kestirim yapmaya yarayan biyogöstergelerden faydalanılmaktadır (241).

Neopterin, birçok inflamatuvar ve dejeneratif hastalıkta immün aktivasyonu ifade eden, yeni bir biyogöstergedir. Enfeksiyon, kanser, otoimmün hastalıklar, kalp ve böbrek hastalıkları, nörodejeneratif bozukluklar ve transplantasyon gibi patolojilerde hücrel immüniteyi değerlendirmek için kullanılmakta ve biyolojik sıvılarda kolaylıkla düzeyleri ölçülmektedir (212, 215, 221, 242-244).

2.6. Triptofan

2.6.1. Genel Özellikleri ve Fizyolojik Önemi

Triptofan ((2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-il)propanoik asit), 1901 yılında kimyager F. G. Hopkins tarafından keşfedilen bir aminoasittir. Organizma tarafından endojen olarak sentezlenemediği için besinler yoluyla alınması zorunlu olan 9 esansiyel aminoasitten biridir (245). Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization, FAO) tarafından yetişkinler için önerilen günlük dozu 4 mg/kg olarak bildirilmiştir (246). Fındık, fıstık, ceviz ve badem gibi kabuklu yiyecekler, susam, bal kabağı, ayçiçeği tohumları ve buğday, mısır, pirinç gibi tahıllar triptofan içeriği yüksek gıdalardır. Diyetle alınan bu gıdalar vücuttaki triptofan düzeyini yükseltmekte ve triptofan mekanizmasında görevli enzimlerin aktivitesini arttırmaktadır (247). Şekil 2.9.'da kimyasal yapısı gösterilmektedir.



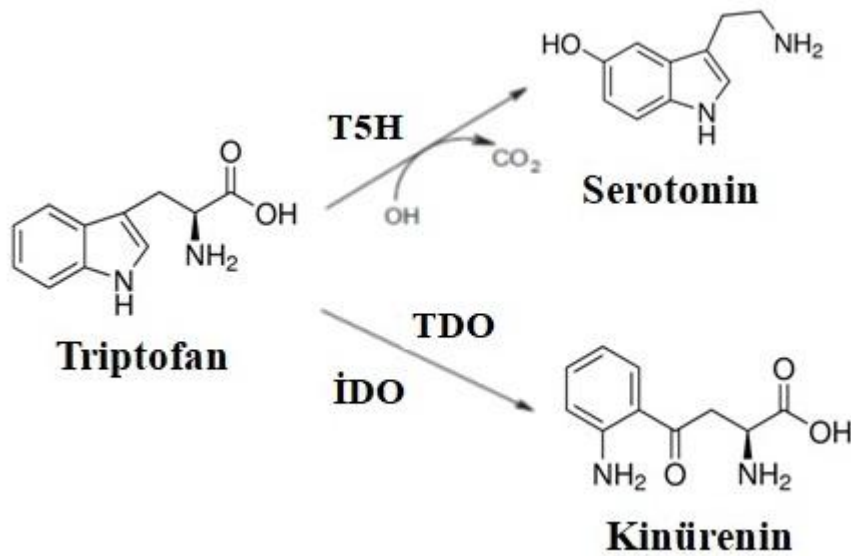
Şekil 2.9. Triptofanın kimyasal yapısı (248).

Aminoasitler proteinlerin yapı taşlarıdır. Fakat triptofanın sadece %1'i proteinlerin sentezi için kullanılmaktadır. Geriye kalan büyük bölümü metabolik yollarda ve fizyolojik cevaplarda görevli bileşiklerin sentezinde kullanılmaktadır (249). Bu bileşiklerden biri serotoninidir (5-hidroksitriptamin, 5-HT). Serotonin duygu durum, bilinç, açlık, saldırganlık, libido ve vücut sıcaklığı gibi çevresel değişikliklere tepki ve yanıt mekanizmalarını düzenlemekle görevli bir nörotransmitterdir. Ayrıca bağırsak hareketleri, immün ve inflamatuvar cevaplar, kan kök hücrelerinin farklılaşması ve hemodinamik fonksiyonlar gibi birçok fizyolojik olayın düzenlenmesinde görevlidir (250, 251). Serotonin yapım ve yıkımındaki değişikliklerin duygu durum bozukluğu, otizm, bilişsel eksiklik, anoreksia/bulimia nervosa ve obezite gibi hastalıklarla ilişkisi olduğu ifade edilmektedir (252-254). Ayrıca triptofandan sentezlenen serotoninin bir kısmı sirkadyen ritmi düzenleyen melatonin hormonuna dönüştürülmektedir (255, 256).

Triptofan metabolizması ile sentezlenen diğer önemli bileşikler kinürenin ve türevleridir. Bunlar kinürenik asit ve pikolinik asit gibi nöroprotektif bileşikler; 3-hidroksi-kinürenin, 3-hidroksiantranilik asit, kuinolinik asit ve nikotinik asit gibi sitotoksik bileşikler ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) gibi nörotransmitter bileşiklerdir (257, 258).

2.6.2. Triptofan Metabolizması ve Kinürenin Yolağı

Triptofan metabolizması başlıca iki yolak aracılığıyla gerçekleşmektedir. Metabolizmanın yaklaşık %5'ini oluşturan yolakta triptofan 5-hidroksilaz (T5H) enzimi aracılığı ile serotonin sentezlenmektedir. Triptofan metabolizmasının yaklaşık %95'ini ise kinürenin yolağı oluşturmaktadır. Bu yolakta birçok önemli bileşiğin substratı olan kinürenin sentezlenmektedir (259). Kinürenin yolağı olarak ifade edilen triptofan biyotransformasyonu Şekil 2.10.'da gösterilmiştir.

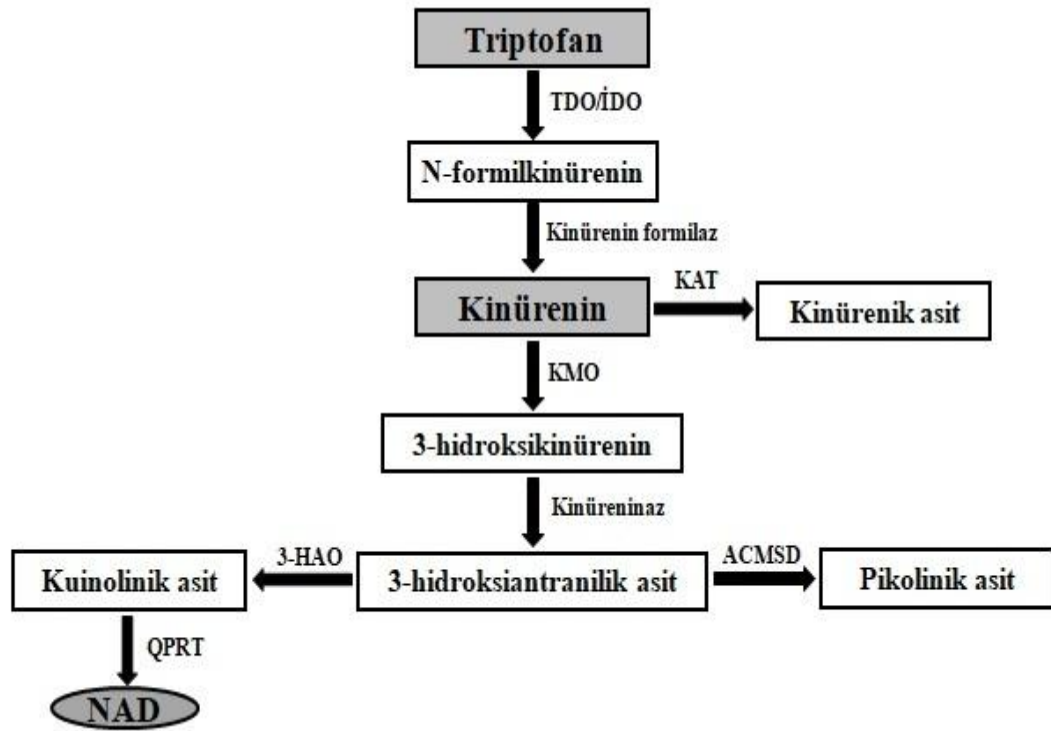


Şekil 2.10. Triptofan metabolizmasının ana yolları (260).

İDO: indolamin (2,3)-dioksijenaz, TDO: triptofan (2,3)-dioksijenaz, T5H: triptofan 5-hidroksilaz.

Kinürenin yolağında görevli olan birçok enzim vardır. İlk ve hız kısıtlayıcı basamaktan sorumlu enzimler triptofan (2,3)-dioksijenaz (TDO) ve indolamin (2,3)-dioksijenaz (İDO) enzimleridir. Bu enzimler yoluyla triptofan öncelikle N-formil-kinürenine dönüştürülür ve hızlı bir şekilde kinürenin sentezlenir. Kinürenik asit, 3-hidroksi-kinürenin, 3-hidroksiantranilik asit, pikolinik asit ve kuinolinik asit bu yolda sentezlenen kinürenin metabolitleridir. Daha sonra bu substratlardan nikotinik asit ve NAD bileşikleri sentezlenmektedir (Şekil 2.11.) (257, 261).

Hem İDO hem de TDO aynı reaksiyonu katalizleyen enzimler olmalarına rağmen farklı özellikler taşırlar ve farklı biyolojik mekanizmalarda rol oynarlar. TDO, karaciğerden sentezlenmektedir ve bu sentez glukokortikoidler tarafından ve triptofan düzeyinin yükselmesi ile indüklenmektedir (262). İDO ise makrofaj, mikroglia, nöron, astrosit, epitelyal hücre ve fibroblast gibi çeşitli hücreler tarafından sentezlenmektedir ve en önemlisi IFN- γ olan birçok inflamatuvar sitokin tarafından indüklenmektedir (260, 263, 264).



Şekil 2.11. Tryptofan metabolizması (257).

3-HAO: 3-hidroksiantranilat dioksijenaz, ACMSD: aminokarboksimumkonat semialdehit dekarboksilaz, İDO: indolamin (2,3)-dioksijenaz, KAT: kinürenin aminotransferaz, KMO: kinürenin monooksijenaz, NAD: nikotinamid adenin dinükleotid, QPRT: kuinolinat fosforibozil transferaz, TDO: triptofan (2,3)-dioksijenaz.

Organizmadaki triptofan düzeyi iki farklı yolla değişmektedir. İlki diyetle alınan triptofan miktarının azalmasına bağlıdır. Bu durumda yıkım ürünü olan kinürenin miktarı da azalmaktadır. Sağlıklı kişilerde diyetle alınan triptofan miktarı azalsa bile triptofan ve kinürenin konsantrasyonu bir denge içerisinde. Triptofan düzeyinin değiştiği diğer durum ise hücrel immün cevabın tetiklenmesi ile İDO enzimi aracılıklı triptofan yıkımının artmasına bağlıdır. Bu durumda serumda triptofan konsantrasyonunun azaldığı ve kinürenin gibi yıkım ürünlerinin konsantrasyonlarının arttığı gözlenmektedir (260, 265, 266).

İmmün aktivasyon ile triptofan yıkımının arttığı durumlarda triptofan ve kinürenin dengesi bozulmaktadır. İmmün sistem aktivasyonuna bağlı triptofan yıkımı İDO enzimi ile gerçekleşmektedir. Triptofan yıkım derecesini ve organizmadaki triptofan miktarını değiştiren mekanizmayı anlamak için kinürenin (kin) ile triptofan (trp) konsantrasyonlarının oranı (kin/trp) kullanılmaktadır. Triptofan yıkımının arttığı durumlarda bu oranda artış gözlenmektedir. Düşük triptofan ve yüksek kinürenin

konsantrasyonlarının yanı sıra yüksek kin/trp oranı immün sistem aktivasyonuna bağlı olarak İDO enzimi aracılığı ile triptofan yıkımının arttığını ifade etmektedir (260).

İndolamin (2,3)-dioksijenaz aracılıklı triptofan yıkımı, malign hücrelerin ve patojenlerin ihtiyaç duydukları temel aminoasit olan triptofanı tüketerek büyümelerini engelleyen bir savunma mekanizması olarak işlev göstermektedir. Triptofan yıkımının TDO yerine İDO gibi immün uyarı yoluyla sentezlenen bir enzim aracılığıyla gerçekleştiğini doğrulamak için İDO gibi IFN- γ stimülasyonu ile sentezlenen/tetiklenen başka bir immün aktivasyon parametresi ile birlikte değerlendirmek gerekmektedir. Bu nedenle neopterin gibi göstergelere ihtiyaç duyulmaktadır.

2.6.3. Biyolojik Sıvılardaki Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Ölçümü

Serum, plazma ve diğer biyolojik sıvılardaki triptofan ve kinürenin miktarının ölçümü HPLC kullanılarak yapılmaktadır. Triptofan floresans özelliği kullanılarak ölçülürken kinürenin için UV dedektör kullanılmaktadır. Sağlıklı yetişkinlerde rapor edilen serum triptofan ve kinürenin düzeyleri Tablo 2.7.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.7. Serum triptofan ve kinürenin düzeyleri.

Triptofan ($\mu\text{mol/l}$)	Kinürenin ($\mu\text{mol/l}$)	Kaynakça
73,00 $\pm$ 14,90	1,92 $\pm$ 0,58	Widner ve ark. (267)
70,90 $\pm$ 2,75	2,09 $\pm$ 0,06	Sarac ve ark. (156)
67,00 $\pm$ 15,00	1,90 $\pm$ 0,50	Laich ve ark. (268)
65,00 $\pm$ 1,71	2,60 $\pm$ 0,10	Cinici ve ark. (269)
64,20 $\pm$ 10,80	2,00 $\pm$ 0,40	Maneglier ve ark. (270)
63,37 $\pm$ 3,07	1,95 $\pm$ 0,11	Girgin ve ark. (155)

2.7. İndolamin (2,3)-Dioksijenaz

2.7.1. Genel Özellikleri ve Fizyolojik Önemi

İndolamin (2,3)-dioksijenaz, memelilerde bulunan oksijenaz grubu enzimlerin bir üyesidir. Oksijenazlar prostaglandinler, lökotrienler, steroid hormonları,

nörotransmitterler ve nitrik oksit gibi çok önemli bileşiklerin sentezinde görev alan enzimlerdir. Bu grubun üyesi olan İDO, oksijenazların keşfinden yaklaşık 12 yıl sonra ilk defa 1967 yılında tavşan bağırsağından izole edilerek tanımlanmıştır (271, 272). İDO'nun en önemli görevlerinden biri kinürenin yolağı aracılığı ile triptofan metabolizmasının ilk basamağını katalize etmektir. İDO bu görevi TDO enzimi ile birlikte yapmaktadır. Fakat TDO sadece karaciğerde sentezlenirken; İDO akciğer, mide, bağırsak, dalak, böbrek, beyin, plasenta, epididimis ve timüs gibi birçok dokuda sentezlenmektedir. (273-275).

İndolamin (2,3)-dioksijenazın fizyolojik görevleri genel olarak triptofan tüketmesi ve triptofan metabolitlerini üretmesi ile ilgilidir. İDO aracılığıyla gerçekleşen triptofan tüketiminin organizmanın savunma sisteminde görevli olduğu düşünülmektedir. IFN- γ 'nın patojenlere karşı antiviral, antibakteriyel ve antiparazit etkinliği İDO aracılıklı triptofan tüketimi ile ilgilidir. *In vitro* çalışmalarda *Chlamydia psittaci*, *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, bazı *Streptococcus* ve *Enterococcus* türleri, herpes simplex virüsü, sitomegalovirüs ve kızamık virüsü gibi birçok patojenin triptofan tüketimine karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir (276-282). İDO, patojenlerin konakçıda yaşaması için gerekli olan triptofanı tüketerek enfeksiyonları baskılamaya yönelik aktivite göstermektedir.

Bu mekanizmanın aynı zamanda malign hücrelere karşı da etkili olduğu düşünülmektedir. İDO, tümör hücrelerinin yaşaması için gerekli olan esansiyel aminoasit triptofanı tüketerek antitümöral etkinlik göstermektedir. Kanser hastalarının idrar örneklerinde tespit edilen triptofan metabolitlerinin konsantrasyonlarının tümörün cerrahi olarak çıkartılmasından sonra düştüğü belirtilmektedir (283, 284)

İndolamin (2,3)-dioksijenaz, kinürenin yolağı aracılığı ile triptofanın yıkımını sağlarken sadece triptofan konsantrasyonlarını etkilemez; aynı zamanda bu yolağın metabolitlerinin konsantrasyonlarını da değiştirir. Dolayısı ile İDO aktivitesi aynı zamanda triptofan metabolitlerinin görev aldığı birçok biyolojik mekanizmayı da etkilemektedir. Triptofanın kinürenin yolağında sentezlenen kuinolinik asit (KA) (Bkz. Şekil 2.11.), üzerinde en çok durulan metabolitlerden biridir. KA prooksidan ve nörotoksik etkileri olan bir bileşiktir. Beyin-omurilik sıvısındaki KA düzeyleri ile beyin hasarının derecesi arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. İskemik beyin

hasarı, AIDS-demans kompleksi (ADC) ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda İDO aracılıklı KA sentezinin arttığı belirtilmektedir (285-287). Bu nedenle artan İDO aktivitesinin triptofan metabolizmasını indükleyerek kuinolinik asidin beyinde birikmesine ve nörotoksik hasara neden olduğu düşünülmektedir (263).

2.7.2. İndolamin (2,3)-Dioksijenaz ve İmmün Sistem Aktivasyonu

Kontrol edilemeyen immün sistem aktivasyonu organizmayı büyük bir tehlikeye sokabilir. Bu nedenle birçok yolak ve mekanizma ile immün sistem değişikliklerine karşı cevaplar düzenlenmektedir. Triptofan yıkımından sorumlu olan İDO enziminin aktivasyonu sadece IFN- γ stimülasyonu ile gerçekleşmektedir. İDO, kinürenin yolağı aracılığıyla immün sistemin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır.

Triptofan, protein sentezinin yapıtaşlarından olduğu için miktarının azalması hücre çoğalmasını engellemektedir. Bu nedenle IFN- γ aracılıklı immün cevap, triptofan yıkımını arttırarak patojen mikroorganizmaların ve bunlardan etkilenmiş/enfekte olmuş hücrelerin çoğalmasını engellemektedir. IFN- γ stimülasyonu ile artan İDO aktivitesi immün sistemin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. Patojenlerin hayatta kalmak ve çoğalmak için gereksinim duydukları triptofan, İDO aracılığıyla tüketilerek antiproliferatif etki elde edilmektedir. Triptofan yıkımı patojenlerin hayatta kalmasını engelleyerek organizmayı korumaktadır. Kinürenin gibi bazı triptofan yıkım ürünlerinin proapoptotik etkileri de immün savunmaya katkı sağlamaktadır (288, 289).

Triptofan tüketimi ve triptofan metabolizması sonucu açığa çıkan sitotoksik metabolitler ile antitümöral etki sağlanmaktadır (283, 284). Yapılan araştırmalar sonucu HIV, malarya, hepatit C, *Toxoplasma gondii* ve klamidya gibi birçok viral, parazitik ve bakteriyel enfeksiyonda İDO aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (290-293).

İmmün sistemin savunmaya geçtiği durumlarda uyarılmış T-lenfositler tarafından salınan IFN- γ , İDO aktivitesini indüklemektedir. İDO aktivitesinin fazla indüklenmesi negatif feed-back (geri bildirim) yoluyla T-lenfosit aktivasyonunu düzenlemektedir. Bu nedenle İDO'nun organizmada immün baskılayıcı bir özelliği olduğu söylenebilir. İmmün sistemin aşırı uyarıldığı durumlarda organizmayı hücre

hasarından korumak için İDO bir kontrol noktası olarak görev almaktadır. Dolayısıyla İDO, hem immün sistemin bir silahı hem de onun denetleyicisi olarak işlev göstermektedir (294, 295).

2.8. Neopterin ve Kinürenin Yolağı İlişkisi

İnterferon-gama stimülasyonu, GTP-CH-I enzimini uyararak neopterin sentezini sağlamaktadır. Aynı stimülasyon İDO enzimini uyardığında ise triptofan, kinürenin yolağı ile metabolize olmaktadır. Bu iki önemli mekanizmanın tetikleyicisi immün sistem aktivasyonunu gösteren bir sitokin olan IFN- γ olduğu için eş zamanlı olarak değerlendirmeye uygun parametrelerdir. Bu nedenle yüksek kin/trp oranına eşlik eden yüksek neopterin konsantrasyonları immün aktivasyonu ifade etmektedir. Enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, kan ve organ transplantasyonları ve kanser gibi birçok patolojide neopterin düzeylerindeki artışın kin/trp oranı ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (130, 296-298). Neopterin ve kin/trp oranlarının birlikte ifade edildiği çalışmalar Tablo 2.8.'de gösterilmektedir.

Tablo 2.8. Neopterin ve kin/trp konsantrasyonlarının yüksek ve birbirleri ile ilişkili olduğu durum ve hastalıklara örnekler.

Hastalık	Kaynakça
Gebelik	Schrocksnadel ve ark. (299)
Enfeksiyon	
HIV enfeksiyonu	Bipath ve ark. (300)
Sepsis	Ploder ve ark. (301) Girgin ve ark. (155)
Kanser	
Çeşitli kanser türleri	Schroecksnadel ve ark. (242)
Kolorektal kanser	Huang ve ark. (302)
Melanoma	Weinlich ve ark. (303)
Meme	Girgin ve ark. (137)
Over	Sperner-Unterweger ve ark. (304) Schrocksnadel ve ark. (305)
Jinekolojik kanser	Schroecksnadel ve ark. (306)
Otoimmün Hastalıklar	
Romatoid Artrit	Ozkan ve ark. (307) Schroecksnadel ve ark. (308)
Sistemik Lupus Eritematozus	Widner ve ark. (309)
Kalp Hastalıkları	
Kalp Yetmezliği, Periferik Arter Hastalığı, Aterosklerotik Hastalıklar	Sulo ve ark. (243)
Koroner Arter Hastalığı	Ozkan ve ark. (310)
Böbrek Hastalıkları	
Renal Yetmezlik	Koenig ve ark. (311) Karu ve ark. (312)
Transplantasyon	
Böbrek	Brandacher ve ark. (313)
Hematopoetik Kök Hücre	Hainz ve ark. (314)

HIV: human immunodeficiency virus (insan immünyetmezlik virüsü).

Tablo 2.8. Devam Neopterin ve kin/trp konsantrasyonlarının yüksek ve birbirleri ile ilişkili olduğu durum ve hastalıklara örnekler.

Hastalık	Kaynakça
Psikiyatrik Hastalıklar	
Bipolar Bozukluk	Mukherjee ve ark. (315) Reininghaus ve ark. (316)
Major Depresyon	Sublette ve ark. (317) Maes ve ark. (318)
Nörodejeneratif Hastalıklar	
Alzheimer	Widner ve ark. (319) Wissmann ve ark. (320)
Huntington Hastalığı	Stoy ve ark. (321) Leblhuber ve ark. (322)
Parkinson	Widner ve ark. (323)
Göz Hastalıkları	
Konjonktivit	Cinici ve ark. (269)
Üveit	Palabiyik ve ark. (154)
Katarakt	Laganovska ve ark. (324)
Diğer	
İrritabl Bağırsak Sendromu	Clarke ve ark. (325)
Obezite	Brandacher ve ark. (326)

Pterjium etiyolojisinde IL-6, IL-8, VEGF ve TNF- α gibi sitokinlerin rolünün araştırıldığı çalışmalar vardır (71, 72). Fakat neopterin gibi yeni bir immün biyogöstergenin ve kinürenin yolağı bileşenlerinin ifade edildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Neopterin, triptofan ve kinürenin gibi organizmanın immün sistem durumunu yansıtan parametreler ilk defa bu tez çalışması ile pterjiumda ölçülmüş ve birlikte değerlendirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Tez araştırması Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 16.05.2017 tarihli ve 16969557-747 sayılı (Karar No: GO 17/435-47) izni ile Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yürütülmüştür. Çalışma grubu Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği ile işbirliği yapılarak oluşturulmuştur. Göz hekiminin onay verdiği, 18 yaş üstü, kadın ve erkek gönüllüler araştırmaya dahil edilmiştir. Katılımcılar araştırma konusunda bilgilendirilmişlerdir ve onam formlarını okuyarak imzalamışlardır.

Akut enfeksiyon durumu olanlar, herhangi bir kanser tutulumu olan ve kemoterapi/radyoterapi alanlar, organ nakli geçiren alıcılar veya donörler, son dönem böbrek hasarı olan ve hemodiyaliz uygulanan katılımcılar ile otoimmün hastalığı olanlar çalışma gruplarına dahil edilmemiştir. Çalışmada 2 grup oluşturulmuştur:

Grup I: Göz kliniği hastası olmayan, pterjium veya gözünde başka herhangi bir inflamatuvar, dejeneratif rahatsızlığı bulunmayan sağlıklı kişilerden oluşan kontrol grubudur (n=32).

Grup II: Göz kliniğine başvuran hastalar içerisinde bir veya iki gözü için pterjium tanısı alan, lokal ya da sistemik herhangi bir başka hastalığı bulunmayan hastalardan oluşmaktadır (n=31). Katılımcıların cinsiyet ve yaş özellikleri Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışma grubunun yaş ve cinsiyete göre dağılımı.

Gruplar	n	Cinsiyet (n)		Yaş (yıl)		
		K	E	Ortalama $\pm$ SS	En düşük	En yüksek
Kontrol	32	17	15	34,2 $\pm$ 8,8	20	54
Pterjium	31	18	13	50,5 $\pm$ 14,2	21	65
Toplam	63	35	28	42,2 $\pm$ 14,3	20	54

E: erkek, K: kadın, n: örnek sayısı, SS: standart sapma.

3.2. Biyolojik Örneklerin Toplanması

3.2.1. Kan

Örnekler sirkadyen ritim değişikliklerini bertaraf etmek amacıyla genellikle sabah saatlerinde toplanmıştır. Antikoagülan içermeyen laboratuvar tüplerine yaklaşık 10 ml kan örneği alınmıştır. Toplanan örnekler doğrudan ışık maruziyetinden korunarak ön işlemlerin ve analizlerin yapılacağı Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na soğuk zincir ile getirilmiştir.

3.2.2. Gözyaşı

Gözyaşı örnekleri, kan örnekleri ile eşzamanlı olarak toplanmıştır. Kişilere herhangi bir anestezi ya da girişim yapılmadan ve göz irrite edilmeden, gözyaşı örnekleri alınmıştır. Hastalardan alınan gözyaşı örnekleri pterjiumun olduğu göz veya gözlerden alınırken, kontrol grubundan alınan gözyaşı örnekleri standardizasyonu sağlamak amacıyla her zaman sağ gözden toplanmıştır. Bu tez çalışmasında, pterjium hastalarının sayısı 31 olmasına rağmen, hastaların bazılarında her iki gözde de pterjium olduğu için toplam 35 gözyaşı örneği sağlanmıştır.

2 µl çapındaki mikropapiller bir kılcal yardımıyla gözkapağı kenarından, gözyaşı menisküsünden alınan örnekler ependorf tüplerde toplanmıştır. Toplanan örnekler doğrudan ışık maruziyetinden korunarak Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na soğuk zincir ile getirilmiştir.

3.2.3. Ön İşlemler

Göz kliniğinden alınan ve Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı'na getirilen kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüjlenerak serum kısımlarının ayrımı sağlanmıştır. Serum örnekleri ependorf tüplerde porsiyonlara bölünerek analiz gününe kadar depolanmıştır.

Gözyaşı örneklerine herhangi bir ön işlem uygulanmamıştır. Göz kliniğinden geldiği ependorflar içerisinde etiketlenerek listelenmiş ve bu şekilde depolanmıştır. Bütün örnekler analiz gününe kadar -20°C’de derin dondurucuda saklanmıştır. Analiz günü oda sıcaklığına getirilen örneklerde ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.3. Gereçler

3.3.1. Kimyasal Maddeler

Tez araştırmasında kullanılan tüm kimyasal maddeler Tablo 3.2.’de listelenmektedir.

Tablo 3.2. Kullanılan kimyasal maddeler.

Kimyasal Maddeler	Marka
Albümin	Sigma-Aldrich
Asetonitril	Sigma-Aldrich
L-Kinürenin	Sigma-Aldrich
L-Triptofan	Sigma-Aldrich
Potasyum dihidrojen fosfat	Merck
Perklorik asit	Riedel-de Haën
Sodyum hidroksit	Merck
Neopterin ELISA kiti	IBL

3.3.2. Çözeltiler ve Hazırlanışları

Analizlerde kullanılan bütün çözeltiler taze olarak hazırlanmış ve oda sıcaklığında kullanılmıştır. Kullanılan çözeltiler Tablo 3.3.’de listelenmektedir.

Albümin Standart Çözeltisi

70 g/l konsantrasyonunda albümin çözeltisi hazırlamak için 0,7 g albümin tartılıp 10 ml’ye deiyonize su ile tamamlanmıştır.

Asetonitril İçeren 15 mM Potasyum Dihidrojen Fosfat Tamponu, pH: 6,4

2,041 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) tartılıp %7 (h/h) oranında asetonitril içermesi için, 70 ml asetonitril eklenerek deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır. 1 N sodyum hidroksit kullanılarak çözeltinin pH değeri 6,4 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan çözelti 0,45 μm por çapındaki filtreden süzölmüştür.

1 mM Kinürenin Stok Çözeltisi

2,08 mg L-kinürenin tartılıp deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

1 mM Triptofan Stok Çözeltisi

2,04 mg L-triptofan tartılıp deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.

Tablo 3.3. Analizlerde kullanılan çözeltiler.

Çözeltiler	Yöntem
Albümin standart çözeltisi	HPLC
Kinürenin stok çözeltisi	
Potasyum dihidrojen fosfat tamponu, pH: 6,4	
Sodyum hidroksit çözeltisi	
Triptofan stok çözeltisi	
Analiz tampon çözeltisi	ELISA
Enzim konjugatı	
Kontrol çözeltileri	
Neopterin antiserum çözeltisi	
Neopterin standart çözeltileri	
Reaksiyon durdurma çözeltisi	
Substrat çözeltisi	
Yıkama çözeltisi	

1 N Sodyum Hidroksit Çözeltisi

2 g sodyum hidroksit (NaOH) tartılıp deiyonize su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Analiz Tampon Çözeltisi

Analiz tampon çözeltisi fosfat tamponudur ve sığır serum albümin (bovine serum albumin, BSA) ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

Enzim Konjugatı

Neopterin peroksidaz konjugatı, fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

Kontrol Çözeltileri

Toplam 2 tane kontrol çözeltisi kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır. Kontrol çözeltilerinin konsantrasyonları sırasıyla 6,1 ve 25,3 nmol/l olup kitin doğruluğunu değerlendirmek için alt ve üst konsantrasyon limitleri belirlenmiştir (sırasıyla alt limitler 3,2 ve 13,2 nmol/l; üst limitler 7,4 ve 27,4 nmol/l).

Neopterin Antiserum Çözeltisi

Antiserum (tavşan), fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

Neopterin Standart Çözeltileri

Bu çözeltiler farklı konsantrasyonlarda neopterin, fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Toplam 6 tane neopterin standart çözeltisi kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır (Tablo 3.4.).

Tablo 3.4. Neopterin ELISA kiti içerisindeki standart çözeltiler ve konsantrasyonları.

Standart Çözeltisi	Konsantrasyon (nmol/l)
Standart A	0,00
Standart B	1,35
Standart C	4,00
Standart D	12,00
Standart E	37,00
Standart F	111,00

Reaksiyon Durdurma Çözeltisi

Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunan ve konsantrasyonu 1 M olan sülfürik asit çözeltisidir.

Substrat Çözeltisi

3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin (TMB), fosfat tamponu ve koruyucu madde içermektedir. Kullanıma hazır olarak ELISA kitinin içerisinde bulunmaktadır.

Yıkama Çözeltisi

Tween ve koruyucu madde içermektedir ve 1:20 oranında kullanılmadan önce seyreltilmiştir. Bunun için 50 ml yıkama çözeltisi deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

3.3.3. Araç ve Gereçler

Tez araştırmasında kullanılan araç ve gereçler aşağıdaki tabloda listelenmiştir (Tablo 3.5.).

Tablo 3.5. Kullanılan araç ve gereçler.

Araç ve Gereçler	Marka, Modeli
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Agilent, 1100
Bilgisayar	HP
Floresans dedektörü	Agilent, G1321A
Kolon	ACE, C18 silikajel, 250 x 4,6 mm
Otomatik örnekleyici	Agilent, G 1313A
Ön kolon	Hichrom, C18 silikajel
Pompa	Agilent, G 1311A
UV dedektörü	Agilent, G1314A
Yazıcı	HP laser, 1310
Buzdolabı	Arçelik
Deiyonize distile su cihazı	Baunstead
Derin dondurucu	Arçelik
ELISA plak okuyucu	Spectra Max M2
Hassas terazi	Mettler Toledo, AT201
Magnetik karıştırıcı	Dottingen 7801
Mikrosantrifüj	Hettich, Mikro 22
Mikropipetler	Eppendorf Research, Biohit
pH metre	Cyberscan pH 500
Santrifüj	Heraeus
Terazi	Denver Instrument
Tromp	Neuberger
Ultrasonik banyo	Transsonic 460/H
Vorteks	Janke & Kunkel VF 2
Yatay çalkalayıcı	Edmond Bühler BH 2

3.4. Yöntemler

3.4.1. Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi (ELISA) Yöntemi ile Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarını belirlemek için ticari ELISA kitinin üretici talimatları uygulanmış ve buna göre ölçümler yapılmıştır. Kullanılan ELISA yönteminin esası biyolojik örnekte aranan antijen (neopterin) ve enzim işaretli antijenin plaklara kaplanmış antikor için yarışması ve antijen-antikor kompleksleri oluşturmaya dayanmaktadır.

Serum veya gözyaşı örnekleri, kontrol çözeltileri ve standart çözeltilerden 20 µl alınarak ELISA plağındaki kuyucuklara aktarılmıştır. Üzerlerine önce 100 µl enzim konjugatı, daha sonra 50 µl neopterin antiserum çözeltisi eklenmiştir. Üzeri alüminyum folyo ile kapatılarak ışıktan korunan plak, oda sıcaklığında 90 dk. boyunca yatay çalkalayıcıda 500 rpm hızda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi bitince kuyucuklardaki içerik uzaklaştırılmış ve 300 µl yıkama çözeltisi ile 4 defa yıkanarak bağlanamayan antijenlerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. 150 µl substrat çözeltisi eklenerek ve oda sıcaklığında tekrar 500 rpm hız ile 10 dk. inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, her bir kuyucuğa 150 µl reaksiyon durdurma çözeltisi eklenerek 15 dk. içerisinde 450 nm’de optik dansite ölçümü yapılmıştır.

3.4.2. Neopterin Düzeylerinin Hesaplanması

SoftMax Pro 4.8 isimli ELISA programı kullanılarak neopterin standart çözeltilerinin konsantrasyonlarına karşılık gelen optik dansite değerlerine göre kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu kalibrasyon eğrisinin denklemine göre serum ve gözyaşı örneklerindeki neopterin konsantrasyonları hesaplanmış ve her bir neopterin sonucu nmol/l olarak ifade edilmiştir.

3.4.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi ile Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonları eşzamanlı olarak ölçülmüştür. Analiz günü oda sıcaklığına getirilen 100 µl serum örneği üzerine, 100 µl asetonitril içeren 15 mM KH₂PO₄ pH: 6,4 tamponu eklendikten sonra 25 µl perklorik asit ilavesi ile eklenerek biyolojik örneğin içerdiği proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Vorteksledikten sonra 12000 rpm devirde 10 dk. santrifüjlenmiştir. Süpernatandan 150 µl alınarak HPLC'ye enjeksiyon yapılmak üzere amber vial'e aktarılmıştır. HPLC için kullanılan özellikler Tablo 3.6.'da gösterilmiştir. Triptofan ve kinürenin ve standart çözeltileri için de aynı işlemler yapılarak standart doğrular hazırlanmıştır.

Tablo 3.6. Serum triptofan ve kinürenin analizinde kullanılan HPLC yönteminin özellikleri (267).

Parametre	Özellik
Sabit faz	C18 silikajel, 250 x 4,6 mm
Hareketli faz	Asetonitril içeren 15 mM KH ₂ PO ₄ tampon çözeltisi pH: 6,4
Akış hızı	0,8 ml/dk.
Akış sıcaklığı	25°C
Enjeksiyon hacmi	25 µl
Floresans dalga boyu	Eksitasyon 285 nm
(triptofan için)	Emisyon 365 nm
UV dalga boyu	360 nm
(kinürenin için)	

3.4.4. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Hesaplanması

Triptofan için 10, 20, 50 ve 100 µmol/l; kinürenin için 2, 4, 10 ve 20 µmol/l; konsantrasyonlarındaki standart çözeltilere karşılık gelen pik yüksekliklerine göre hazırlanan kalibrasyon doğruları kullanılarak serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonları hesaplanmıştır. Bu kalibrasyon doğrularının denklemine göre serum örneklerindeki bilinmeyen kinürenin ve triptofan konsantrasyonları

hesaplanmış ve $\mu\text{mol/l}$ olarak ifade edilmiştir. İDO aktivitesini değerlendirmek için kinürenin ve triptofan konsantrasyonlarının oranı (kin/trp) $\mu\text{mol/mmol}$ olarak ifade edilmiştir (267).

3.4.5. Kullanılan Yöntemlerin Geçerliliğinin Değerlendirilmesi

Geri Kazanım Oranı

Rastgele seçilen serum örneğine, konsantrasyonları bilinen triptofan ve kinürenin standart çözeltileri eklenerek konsantrasyonları tekrar ölçülmüştür. Standart çözeltilerin konsantrasyonları triptofan için $10 \mu\text{M}$ ve $25 \mu\text{M}$, kinürenin için $2 \mu\text{M}$ ve $5 \mu\text{M}$ olacak şekilde hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre yöntemin geri kazanım oranı hesaplanmış ve % olarak ifade edilmiştir.

Tekrarlanabilirlik

Rastgele seçilen 3 farklı serum örneğinde gün içi 3 kez ve günler arası 3 kez tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar ile gün içi ve günler arası varyasyon katsayısı (VK) hesaplanmış ve % olarak ifade edilmiştir.

Duyarlılık

$10 \mu\text{M}$ triptofan ve $2 \mu\text{M}$ kinürenin standart çözeltilerinin pik yüksekliklerinin standart sapmaları kullanılarak nitel ve nicel analiz limitleri belirlenmiştir. Bu sayede kinürenin ve triptofan için saptanabilir (nitel) ve hesaplanabilir (nicel) tayin sınırları ifade edilmiştir.

3.4.6. Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi bilgisayarda istatistik programı Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 11.5 ile yapılmıştır. Ölçülen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında, değişkenlerin birbiriyle olan ilişkisi ve ölçülen parametrelere katılımcıların demografik özelliklerinin etkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Parametrelerin normal dağılım gösterip göstermediği belirlenerek gruplar arası ortalamaların karşılaştırılması ve elde edilen parametreler arasındaki ilişkiler

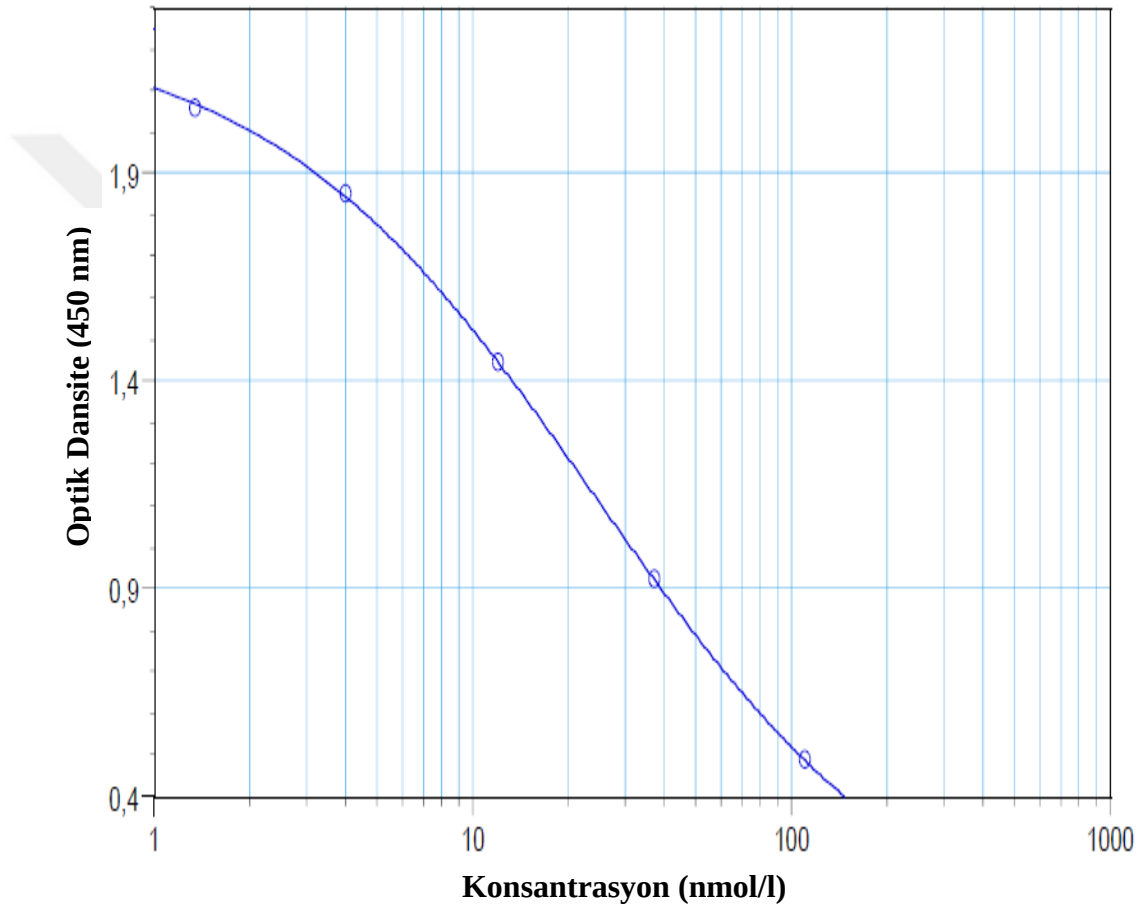
uygun testler yapılarak incelenmiştir. Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi ve basit regresyon analizi uygulanmıştır. Gruplar arası farklar Kruskal-Wallis analizi ile değerlendirilirken bağımsız alt grupların değerlendirilmesinde Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Sonuçlar aritmetik ortalama, standart sapma ve standart hata olarak sunulmuştur. Yanılma düzeyi 0,05 olarak seçilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Neopterin Standartlarına Ait Kalibrasyon Eğrisi

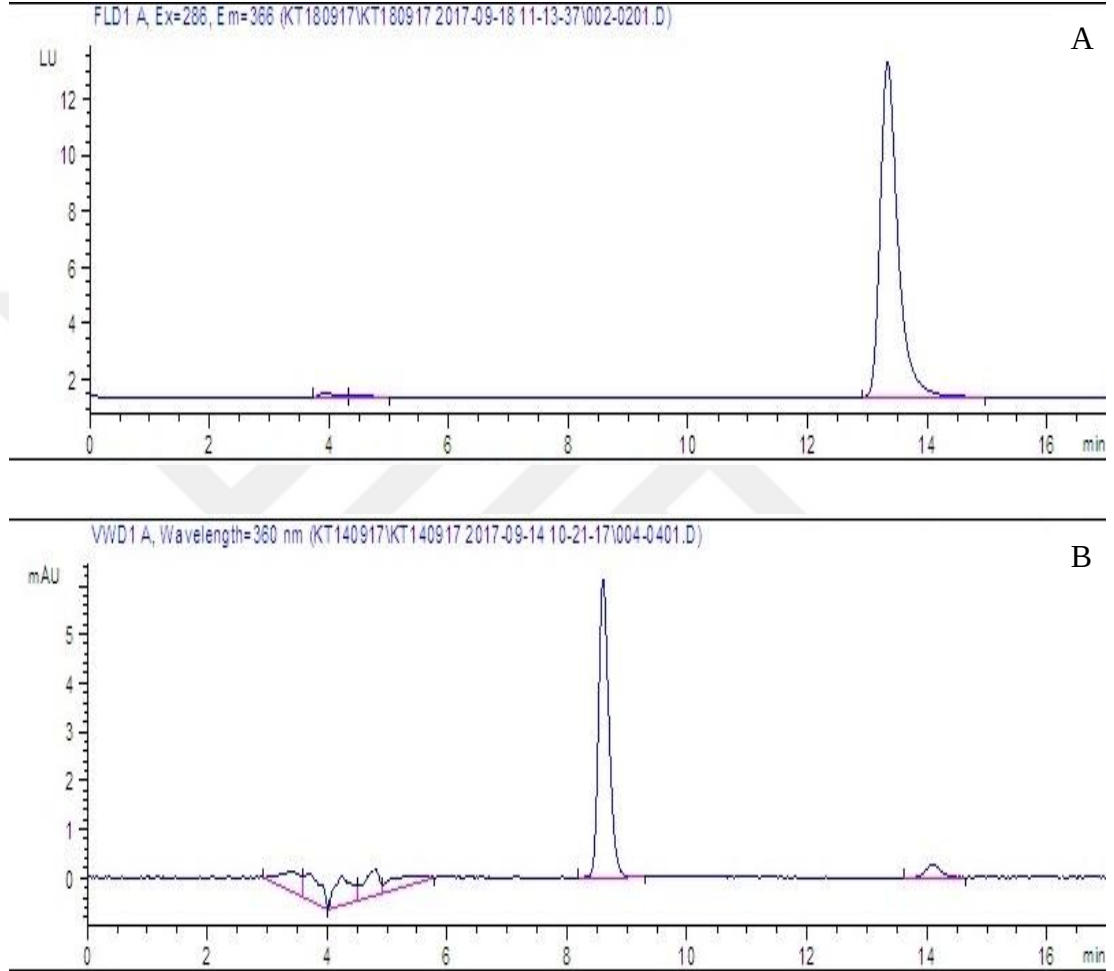
Biyolojik örneklerdeki neopterin düzeyleri standart çözeltiler yardımı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplanmıştır (Bkz. Bölüm 3.4.2.). Şekil 4.1.'de gösterilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak serum ve gözyaşı örneklerindeki neopterin konsantrasyonları tespit edilmiştir.



Şekil 4.1. Neopterin standartlarına ait kalibrasyon eğrisi.

4.2. Triptofan ve Kinürenin Ölçümlerine Ait Kromatogram Örnekleri

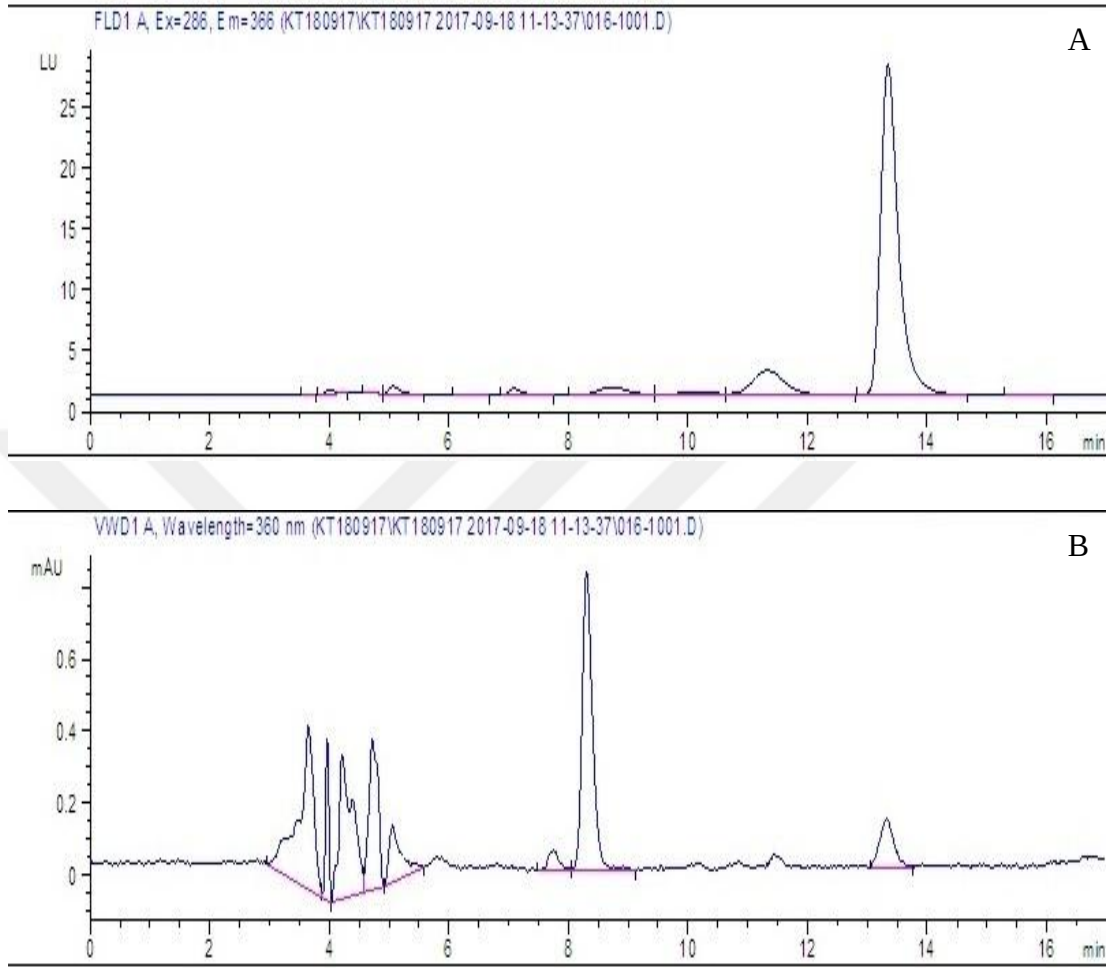
Triptofan ve kinürenin standart çözeltilerinin floresans ve UV dedektör kullanılarak eş zamanlı ölçümleri sonucunda elde edilen kromatogramlar Şekil 4.2.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Triptofan (A) ve kinürenin (B) standartlarına ait kromatogramlar.

Triptofan için floresans, kinürenin için UV dedektör kullanılmıştır. Retensiyon zamanları triptofan için 13,310; kinürenin için 8,601 dk.'dir.

Rastgele seçilen bir serum örneğindeki triptofan ve kinürenin piklerini gösteren kromatogram Şekil 4.3.'te gösterilmektedir.

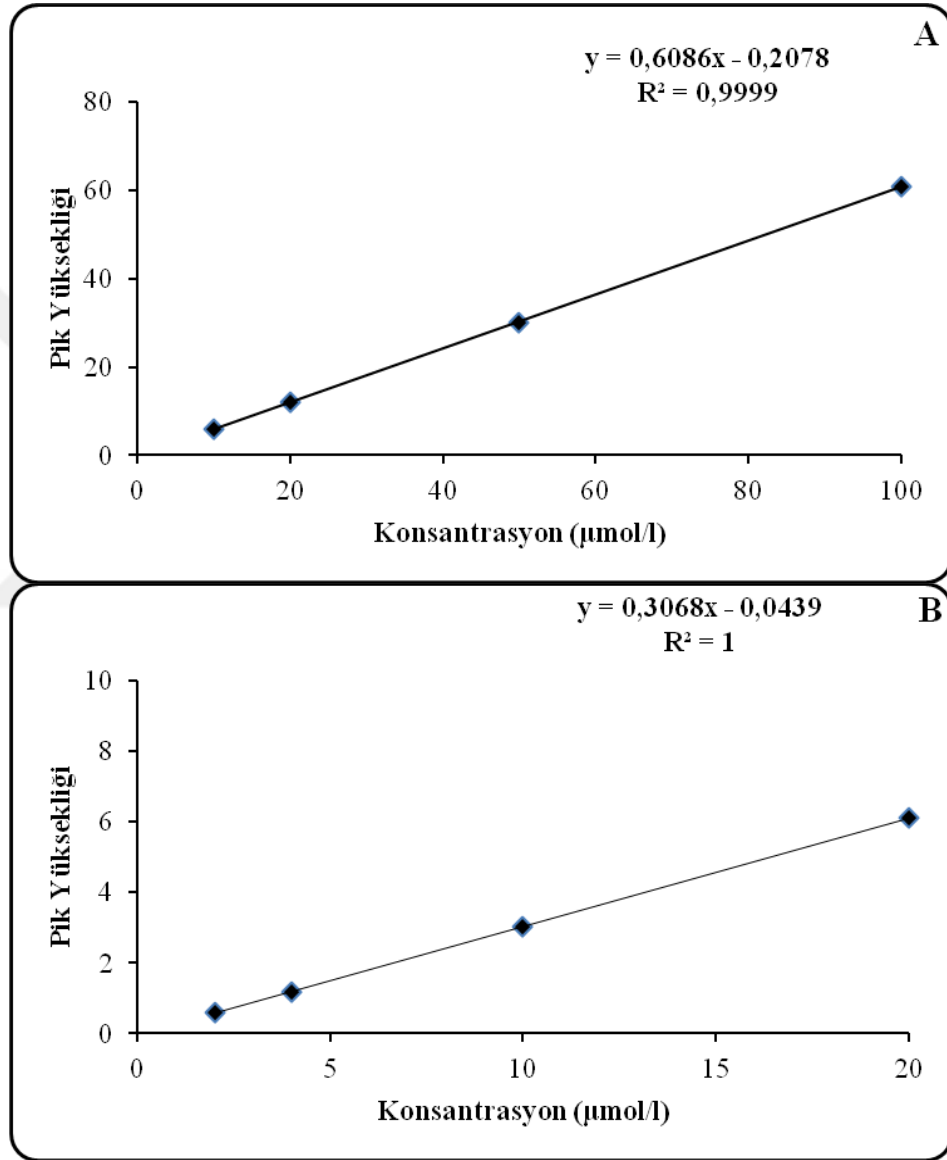


Şekil 4.3. Serum örneğindeki triptofan (A) ve kinürenin (B) piklerini gösteren kromatogramlar.

Triptofan için floresans, kinürenin için UV dedektör kullanılmıştır. Retensiyon zamanları triptofan için 13,346; kinürenin için 8,385 dk.'dır.

4.3. Triptofan ve Kinürenin Standartlarına Ait Kalibrasyon Doğruları

Farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltilerin pikleri kullanılarak konsantrasyona karşı pik yüksekliğini gösteren kalibrasyon doğruları çizilmiştir (Bkz. Bölüm 3.4.4.). Standartlara ait kalibrasyon doğruları Şekil 4.4.'te gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Triptofan (A) ve kinürenin (B) standartlarına ait kalibrasyon doğruları.

4.4. Triptofan ve Kinürenin Ölçümlerinde Kullanılan Yöntemin Geçerliliğinin Değerlendirilmesi

Rastgele seçilen bir serum örneğine farklı konsantrasyonlardaki triptofan ve kinürenin standart çözeltileri eklenerek HPLC ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirilerek hesaplanan geri kazanım oranları Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de gösterilmektedir.

Tablo 4.1. Triptofan analizinde kullanılan yöntemin geri kazanım sonuçları.

Triptofan ($\mu\text{mol/l}$)	Standart 1	Standart 2
İlk konsantrasyon	33,29	33,29
Eklenen standart konsantrasyonu	12,47	25,33
Beklenen konsantrasyon	45,76	58,62
Belirlenen konsantrasyon	44,94	56,20
Geri kazanım oranı (%)	98,22	95,88

Tablo 4.2. Kinürenin analizinde kullanılan yöntemin geri kazanım sonuçları.

Kinürenin ($\mu\text{mol/l}$)	Standart 1	Standart 2
İlk konsantrasyon	0,97	0,97
Eklenen standart konsantrasyonu	2,15	4,84
Beklenen konsantrasyon	3,12	5,81
Belirlenen konsantrasyon	3,05	5,16
Geri kazanım oranı (%)	97,72	88,68

Yöntemin tekrarlanabilirliğini göstermek amacıyla rastgele seçilen serum örneklerinin gün içinde ve günler arasında HPLC ölçümleri yapılmıştır. Aynı koşullarda tekrarlanan bu ölçümler değerlendirilerek gün içi ve günler arası varyasyon katsayıları hesaplanmıştır. Tablo 4.3. ve Tablo 4.4’de kullanılan yöntemin tekrarlanabilirlik özellikleri gösterilmektedir.

Tablo 4.3. Triptofan analizinde kullanılan yöntemin tekrarlanabilirlik sonuçları.

Triptofan ($\mu\text{mol/l}$)				
	Gün İçi		Günler Arası	
	Ortalama $\pm$ SS	%VK	Ortalama $\pm$ SS	%VK
Örnek I	53,58 $\pm$ 0,35	0,65	55,45 $\pm$ 0,24	0,43
Örnek II	52,34 $\pm$ 0,28	0,53	52,58 $\pm$ 1,64	3,12
Örnek III	63,26 $\pm$ 0,26	0,41	63,67 $\pm$ 2,23	3,50
Ortalama %VK		0,53		2,35

SS: standart sapma, VK: varyasyon katsayısı.

Tablo 4.4. Kinürenin analizinde kullanılan yöntemin tekrarlanabilirlik sonuçları.

Kinürenin ($\mu\text{mol/l}$)				
	Gün İçi		Günler Arası	
	Ortalama $\pm$ SS	%VK	Ortalama $\pm$ SS	%VK
Örnek I	1,20 $\pm$ 0,02	2,06	1,20 $\pm$ 0,06	5,29
Örnek II	1,11 $\pm$ 0,03	2,45	1,32 $\pm$ 0,26	19,44
Örnek III	1,42 $\pm$ 0,02	1,20	1,65 $\pm$ 0,26	15,61
Ortalama %VK		1,91		13,45

SS: standart sapma, VK: varyasyon katsayısı.

Yöntemin duyarlılığını göstermek amacıyla 10 µM triptofan ve 2 µM kinürenin standart çözeltilerinin pik yüksekliklerinin standart sapmaları kullanılmıştır. Nitel ve nicel analiz limitleri Formül 4.1. ve 4.2.'ye göre hesaplanmıştır.

$$\text{Nitel Analiz Limiti} = 3,3 \times (\text{SS \% kalibrasyon doğrusunun eğimi}) \quad (4.1)$$

$$\text{Nicel Analiz Limiti} = 10 \times (\text{SS \% kalibrasyon doğrusunun eğimi}) \quad (4.2)$$

Triptofan için:

$$\text{Nitel Analiz Limiti} = 3,3 \times (0,11 \% 0,6086) = 0,60 \mu\text{mol/l}$$

$$\text{Nicel Analiz Limiti} = 10 \times (0,11 \% 0,6086) = 1,82 \mu\text{mol/l}$$

Kinürenin için:

$$\text{Nitel Analiz Limiti} = 3,3 \times (0,01 \% 0,3068) = 0,07 \mu\text{mol/l}$$

$$\text{Nicel Analiz Limiti} = 10 \times (0,01 \% 0,3068) = 0,22 \mu\text{mol/l}$$

4.5. Örneklerdeki Neopterin, Triptofan ve Kinürenin Düzeyleri

4.5.1. Demografik Özelliklere Göre Elde Edilen Bulgular

Çalışma gruplarında cinsiyet ile neopterin, triptofan, kinürenin konsantrasyonları ve kin/trp oranı arasında bir ilişkinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bunun için pterjium ve sağlıklı kontrol grubu cinsiyete göre hem birbirleri ile hem de kendi içlerinde değerlendirilmiştir.

Bütün katılımcılarda cinsiyete göre değerlendirme yapıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Tüm çalışma grubunda (pterjium ve kontrol grubu birlikte) erkeklerde ölçülen triptofan düzeyleri kadınlara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).
- Tüm çalışma grubunda (pterjium ve kontrol grubu birlikte) erkeklerde ölçülen serum neopterin, kinürenin ve kin/trp düzeyleri kadınlardan yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- Tüm çalışma grubunda (pterjium ve kontrol grubu birlikte) kadınlarda ölçülen gözyaşı neopterin düzeyleri erkeklerden yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Pterjium grubu cinsiyete göre değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Pterjium grubundaki kadınların gözyaşı neopterin düzeyleri erkek hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).
- Pterjium grubundaki kadınların kin/trp oranları erkek hastalardan yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).
- Pterjium grubundaki erkeklerin serum neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri kadın hastalardan yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Kontrol grubu cinsiyete göre değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubundaki erkeklerin triptofan ve kinürenin düzeyleri kadınlara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

○ Kontrol grubunda erkeklerin serum neopterin, gözyaşı neopterin ve kin/trp oranları kadınlardan yüksek olmasına rağmen aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol ve pterjium grubundaki kadınlar karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

○ Pterjium grubundaki kadınların serum neopterin, kinürenin ve kin/trp düzeyleri kontrol grubundaki kadınlara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

○ Pterjium grubundaki kadınların gözyaşı neopterin ve triptofan düzeyleri kontrol grubundaki kadınlara göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol ve pterjium grubundaki erkekler karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

○ Pterjium grubundaki erkeklerin serum neopterin düzeyleri kontrol grubundaki erkeklere göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

○ Pterjium grubundaki erkeklerin kinürenin ve kin/trp düzeyleri kontrol grubundaki erkeklere göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p>0,05$).

○ Kontrol grubundaki erkeklerin gözyaşı neopterin ve triptofan düzeyleri pterjium grubundaki erkeklere göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubundaki kadınlarda ölçülen parametreler birbirleri ile karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

○ Kontrol grubunda bulunan kadınların gözyaşı neopterin düzeyleri ile kin/trp oranları arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubundaki erkeklerde ölçülen parametreler birbirleri ile karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

○ Kontrol grubunda bulunan erkeklerin serum neopterin düzeyleri ile kinürenin düzeyleri ve kin/trp oranları arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Pterjium grubundaki kadınlarda ölçülen parametreler birbirleri ile karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Pterjium grubunda bulunan kadınların serum neopterin düzeyleri ile kinürenin düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Pterjium grubundaki erkeklerde ölçülen parametreler birbirleri ile karşılaştırıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

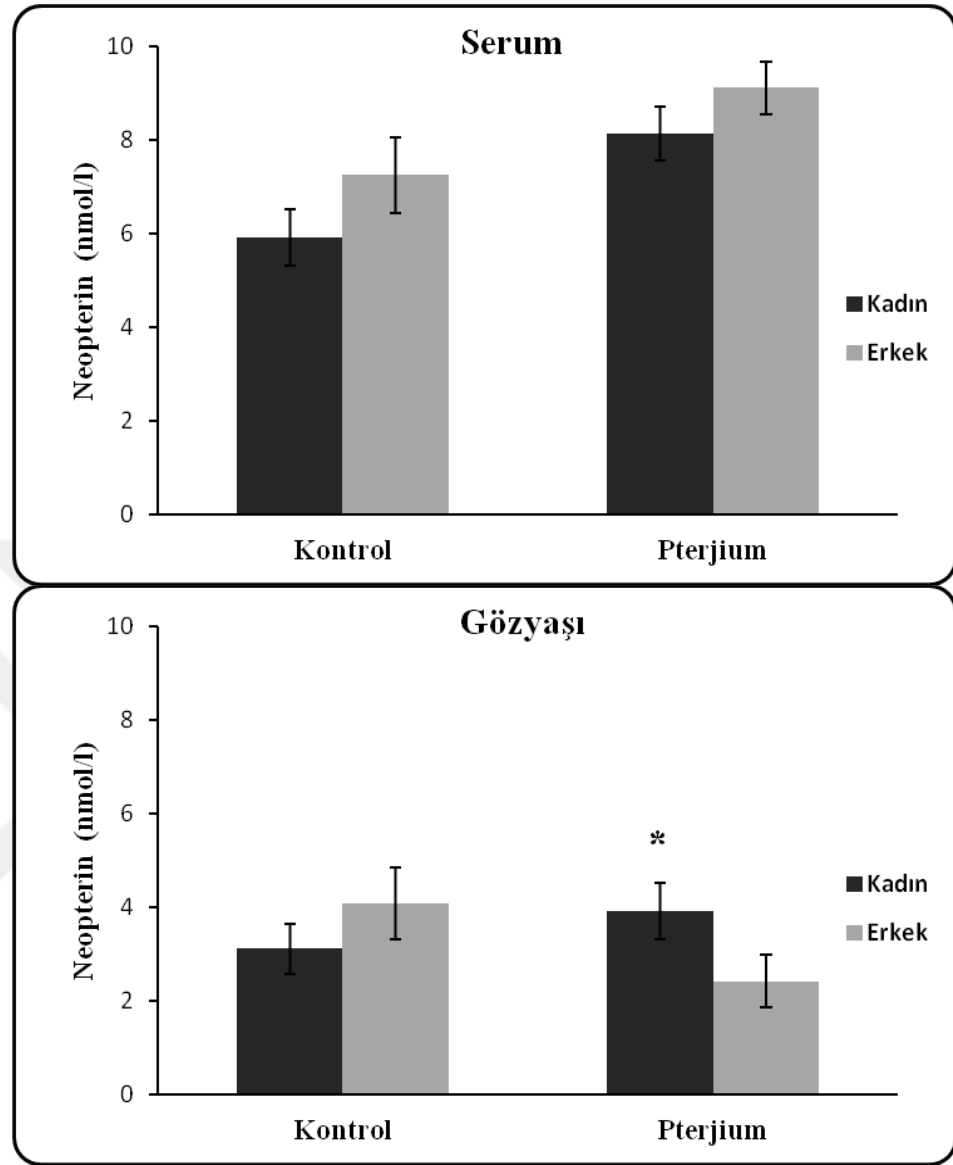
- Pterjium grubunda bulunan erkeklerin serum neopterin düzeyleri ile kinürenin düzeyleri ve kin/trp oranları arasında anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

Neopterin, triptofan, kinürenin düzeyleri ile kin/trp oranlarının cinsiyete göre değerlendirilmesi Tablo 4.5., Şekil 4.5. ve Şekil 4.6.'da gösterilmektedir.

Tablo 4.5. Örneklerdeki neopterin, triptofan, kinürenin ve kin/trp düzeylerinin cinsiyete göre değerlendirilmesi.

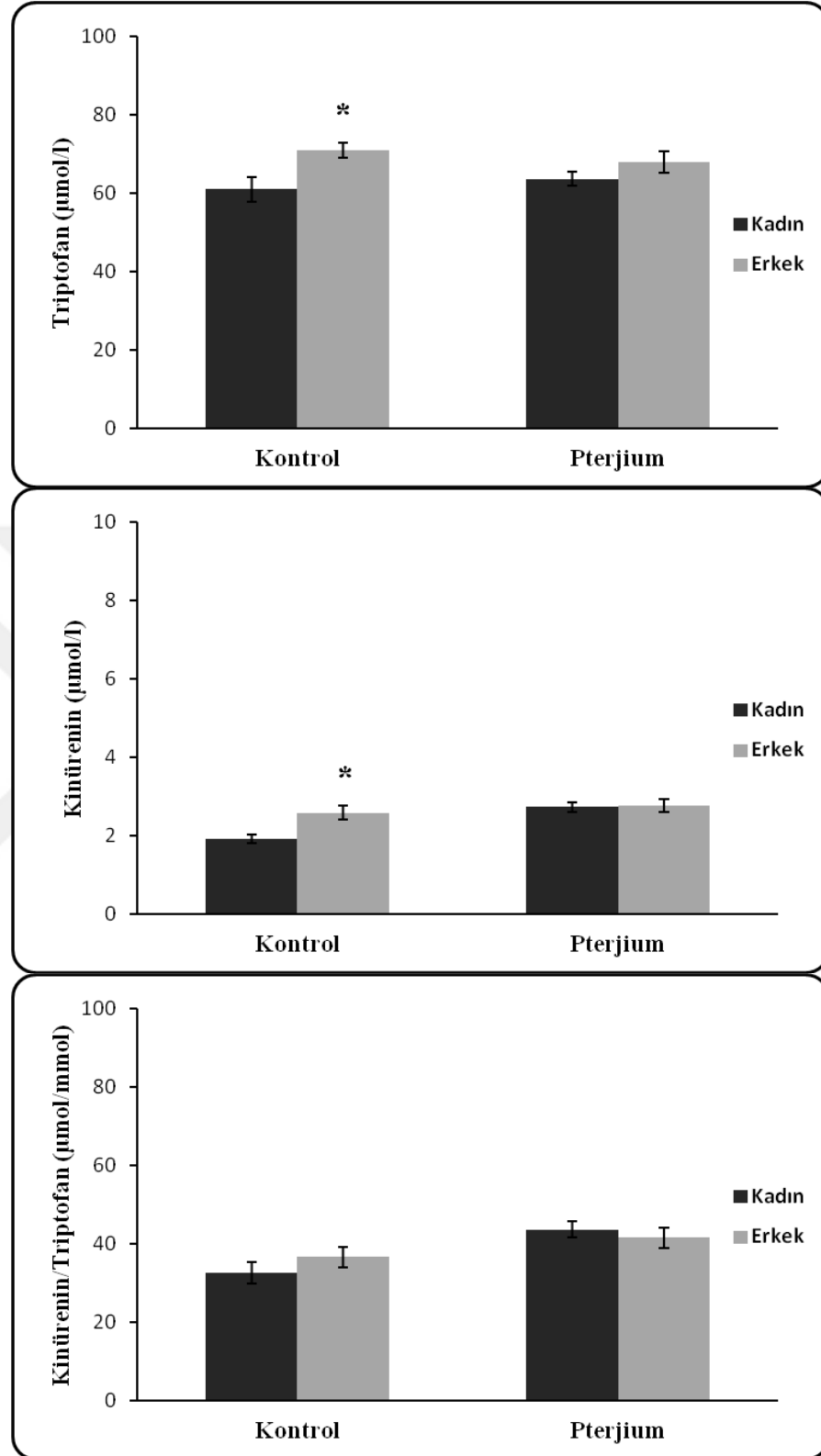
Gruplar		Ortalama $\pm$ SH (Minimum - Maksimum)				
		Neopterin (nmol/l)		Triptofan	Kinürenin	Kin/Trp
		Serum	Gözyaşı	(μ mol/l)	(μ mol/l)	(μ mol/mmol)
Kontrol (n:32)	K	5,92 $\pm$ 0,61	3,12 $\pm$ 0,53	60,98 $\pm$ 3,20	1,92 $\pm$ 0,12	32,65 $\pm$ 2,69
	(n:17)	(2,75 - 11,79)	(1,18 - 8,50)	(35,86 - 81,94)	(1,14 - 2,84)	(21,67 - 63,25)
	E	7,25 $\pm$ 0,81	4,09 $\pm$ 0,76	70,83 $\pm$ 1,88*	2,59 $\pm$ 0,18*	36,68 $\pm$ 2,62
	(n:15)	(4,36 - 13,99)	(1,10 - 10,82)	(60,42 - 80,94)	(1,58 - 3,97)	(20,92 - 61,21)
Pterjium (n:31)	K	8,13 $\pm$ 0,58	3,92 $\pm$ 0,60*	63,60 $\pm$ 1,84	2,73 $\pm$ 0,11	43,61 $\pm$ 2,04
	(n:18)	(4,02 - 14,42)	(0,80 - 9,50)	(42,33 - 76,91)	(2,00 - 3,48)	(27,42 - 57,06)
	E	9,11 $\pm$ 0,56	2,42 $\pm$ 0,56	67,89 $\pm$ 2,62	2,78 $\pm$ 0,16	41,57 $\pm$ 2,54
	(n:13)	(6,35 - 14,76)	(0,79 - 9,42)	(56,05 - 86,54)	(1,89 - 3,80)	(25,35 - 57,98)

SH: standart hata, K: kadın, E: erkek, *Diğer cinsiyete göre, $p < 0,05$.



Şekil 4.5. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının cinsiyete göre serum ve gözyaşı neopterin düzeylerinin karşılaştırılması.

*Pterjium grubundaki erkek hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.6. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının cinsiyete göre serum triptofan, kinürenin ve kinürenin/triptofan düzeylerinin karşılaştırılması.

*Kontrol grubundaki kadınlara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çalışma gruplarında yaş ile neopterin, triptofan, kinürenin konsantrasyonları ve kin/trp oranı arasında bir ilişkinin olup olmadığı araştırılmıştır. Kontrol ve pterjium grubu yaşa göre değerlendirildiğinde aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Kontrol grubunda yaş arttıkça kin/trp oranlarında anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Diğer parametreler ile yaş arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).
- Pterjium hastalarında yaş ile ölçülen parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).
- Kontrol grubunda cinsiyete göre yaş değerlendirmesi yapıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:
 - Kontrol grubu kadınlarda yaş arttıkça kinürenin düzeylerinde ve kin/trp oranlarında anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
 - Kontrol grubu erkeklerde yaş arttıkça triptofan düzeylerinde anlamlı olarak bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).
- Pterjium grubunda cinsiyete göre yaş değerlendirmesi yapıldığında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:
 - Pterjium hastası kadınlarda yaş ile parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).
 - Pterjium hastası erkeklerde yaş ile parametreler arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0,05$).

4.5.2. Çalışma Gruplarının Karşılaştırılması ile Elde Edilen Bulgular

Yapılan ölçümler ve hesaplamalar sonucunda serum ve gözyaşı örneklerinde tespit edilen neopterin, triptofan ve kinürenin konsantrasyonları ile İDO aktivitesini ifade etmek için kullanılan kin/trp düzeyleri Tablo 4.6.'da gösterilmektedir.

Grupların birbirleri ile karşılaştırılması ile aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Pterjium hastalarında ölçülen serum neopterin konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).
- Pterjium hastalarında ölçülen kinürenin konsantrasyonları ve kin/trp oranları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

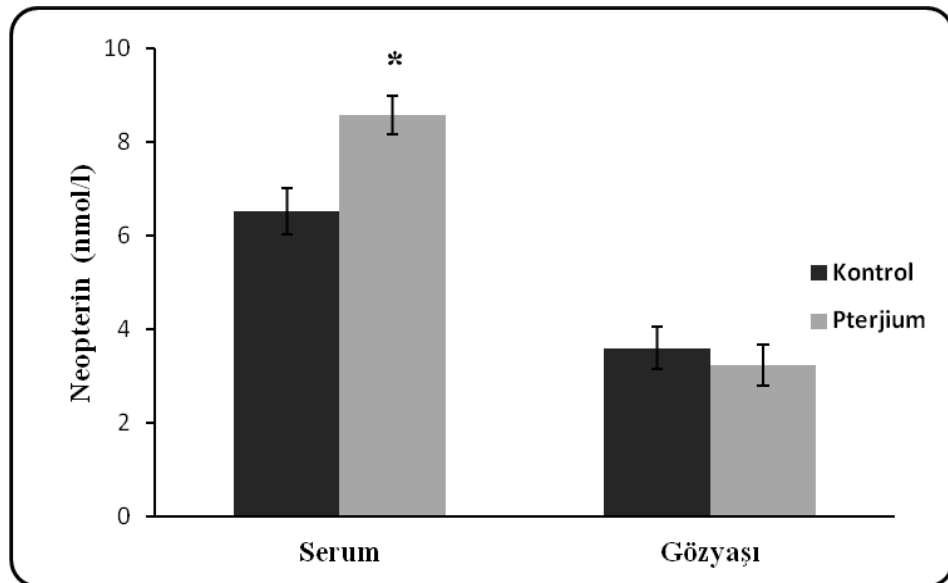
○ Sağlıklı kontrol grubunda ölçülen gözyaşı neopterin düzeyleri pterjium hastalarından daha yüksek olmasına rağmen aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

○ Sağlıklı kontrol grubunun triptofan düzeyleri ile pterjium grubunda ölçülen triptofan düzeyleri neredeyse aynı bulunmuştur (ortalama $\pm$ SH değerleri sırasıyla: $65,60\pm 2,08$ ve $65,44\pm 1,56$). Aralarında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Pterjium hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda ölçülen serum ve gözyaşı neopterin düzeyleri Şekil 4.7.'de gösterilmektedir.

○ Pterjium hastalarında ölçülen serum ve gözyaşı neopterin düzeyleri arasında istatistiksel bir ilişki bulunamamasına rağmen ($p>0,05$) serum neopterin düzeylerinin gözyaşı neopterin düzeylerinin yaklaşık 3 katı (2,65) olduğu tespit edilmiştir.

○ Sağlıklı kontrol grubunda ölçülen serum ve gözyaşı neopterin düzeyleri arasında istatistiksel bir ilişki bulunamamasına rağmen ($p>0,05$) serum neopterin düzeylerinin gözyaşı neopterin düzeylerinin yaklaşık 2 katı (1,81) olduğu tespit edilmiştir. Gruplardaki serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarının birbirleri ile olan ilişkisi Şekil 4.9'daki saçılım grafiğinde gösterilmektedir.



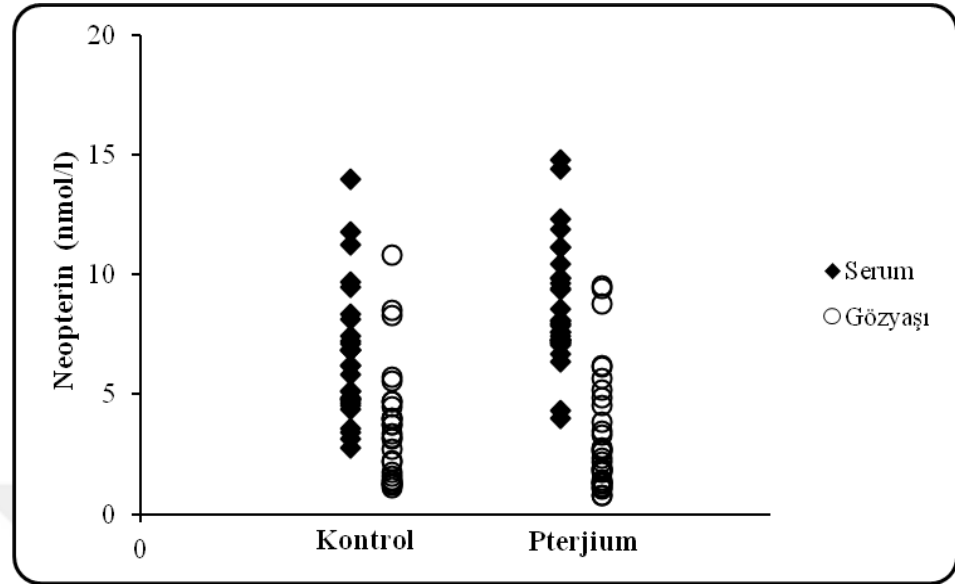
Şekil 4.7. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının ve serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

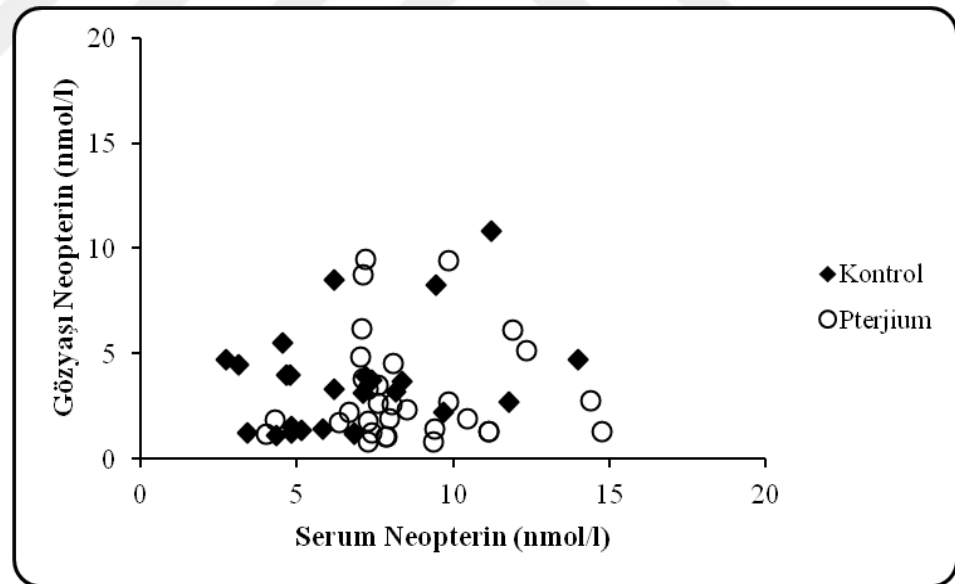
Tablo 4.6. Örneklerdeki neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ve kin/trp oranları.

Gruplar	Ortalama $\pm$ SH (Minimum - Maksimum)				
	Neopterin (nmol/l)		Triptofan (μ mol/l)	Kinürenin (μ mol/l)	Kin/Trp (μ mol/mmol)
	Serum	Gözyaşı			
Kontrol (n:32)	6,52 $\pm$ 0,50 (2,75 - 13,99)	3,60 $\pm$ 0,46 (1,10 - 10,82)	65,60 $\pm$ 2,08 (35,86 - 81,94)	2,23 $\pm$ 0,12 (1,14 - 3,97)	34,54 $\pm$ 1,89 (20,92 - 63,25)
Pterjium (n:31)	*8,57 $\pm$ 0,41 (4,02 - 14,76)	3,24 $\pm$ 0,43 (0,79 - 9,50)	65,44 $\pm$ 1,56 (42,33 - 86,54)	*2,75 $\pm$ 0,09 (1,89 - 3,80)	*42,73 $\pm$ 1,58 (25,35 - 57,98)

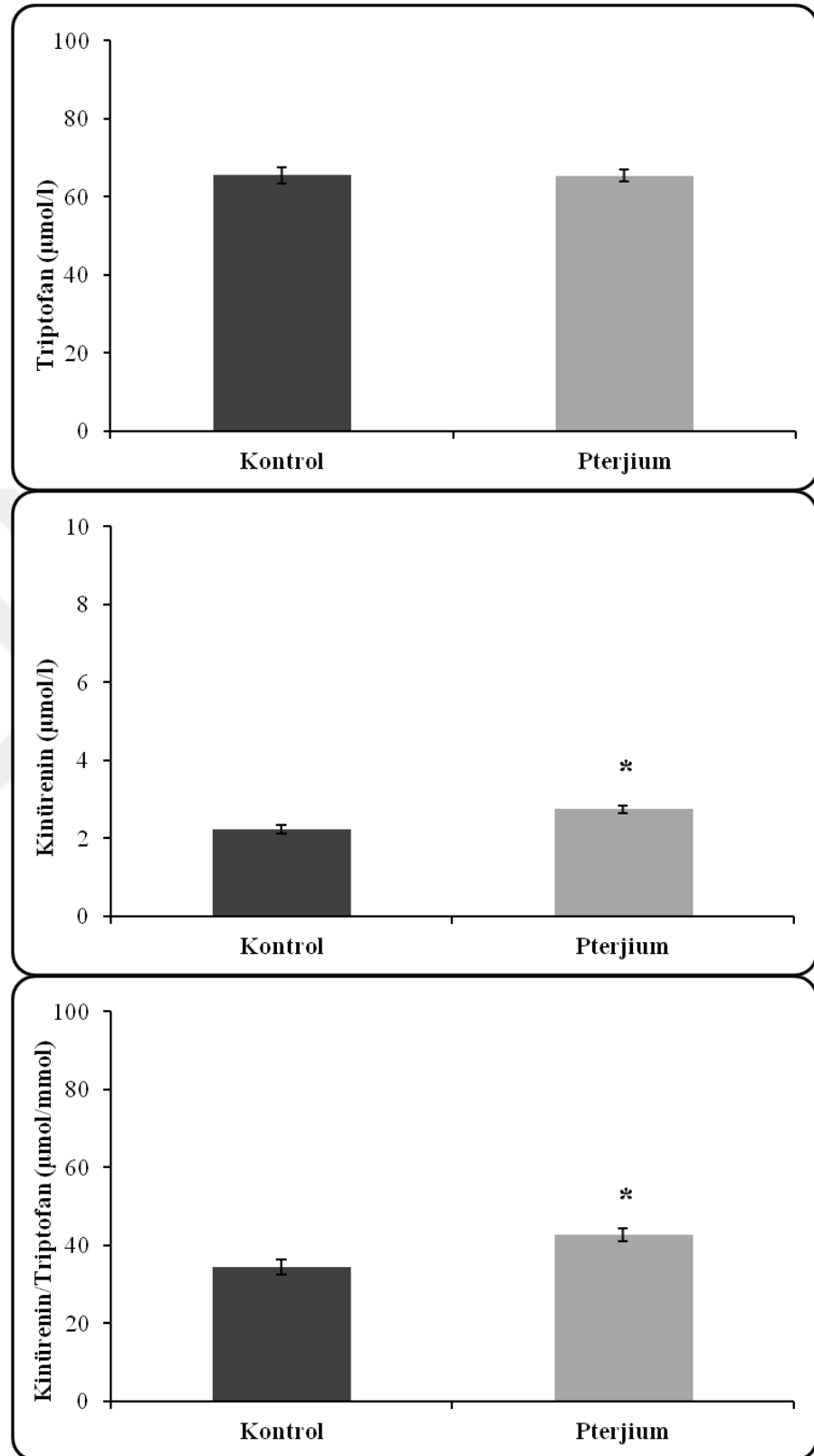
SH: standart hata, *Kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).



Şekil 4.8. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarına göre saçılım grafiği.



Şekil 4.9. Serum ve gözyaşı neopterin konsantrasyonlarının kontrol ve pterjium grubundaki saçılım grafiği.



Şekil 4.10. Sağlıklı kontrol grubunun ve pterjium hastalarının serum triptofan, kinürenin ve kinürenin/triptofan düzeylerinin karşılaştırılması.

*Kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p<0,05).

Pterjium hastaları ve sağlıklı kişiler kendi içlerinde serum neopterin dağılımlarını dört eşit parçaya bölen üç farklı değere göre gruplandırılmıştır. Bunlar 1. çeyrek, 2. çeyrek ve 3. çeyrek değerlerdir ve sırasıyla 25, 50 ve 75. yüzdelik olarak da adlandırılmaktadırlar.

Örneğin dağılımdaki en düşük neopterin konsantrasyonu ile 1. çeyrek değeri arasındaki konsantrasyonlar, dağılımın %25'ini oluşturmaktadır. 1. çeyrek değeri, dağılımın %25'ini altında %75'ini ise üstünde bırakan noktanın değeridir.

Neopterin düzeylerinin en düşük, en yüksek ve çeyrek değerleri Tablo 4.7.'de gösterilmektedir.

Tablo 4.7. Sağlıklı kontrol grubunun serum ve gözyaşı neopterin düzeylerinin en düşük, en yüksek ve çeyreklik değerleri.

Dağılım Değerleri	Neopterin (nmol/l)			
	Kontrol		Pterjium	
	Serum	Gözyaşı	Serum	Gözyaşı
En Düşük Değer	2,75	1,10	4,02	0,79
1. çeyrek (25. yüzdelik)	4,65	1,37	7,17	1,33
2. çeyrek (50. yüzdelik)	6,20	3,17	7,85	2,35
3. çeyrek (75. yüzdelik)	7,41	4,48	9,74	4,52
En Yüksek Değer	13,99	10,82	14,76	9,50

Bu dağılıma göre en düşük değer ile 1. çeyrek arası I. grup, 1 ile 2. çeyrek arası II. grup; 2 ile 3. çeyrek arası III. grup ve 3. çeyrek ile en yüksek değer arasındaki değerler IV. grup olarak adlandırılmıştır (Tablo 4.8.).

Tablo 4.8. Neopterin dağılımının çeyreklere bölünmesi sonucu oluşturulan gruplar.

Dağılım Aralığı	Dağılım Grupları
En Düşük Değer-1. Çeyrek	I. grup
1. Çeyrek-2. Çeyrek	II. grup
2. Çeyrek-3. Çeyrek	III. grup
3. Çeyrek-En Yüksek Değer	IV. grup

Serum neopterin dağılımlarının çeyreklere bölünmesi ile elde edilen gruplarda gözyaşı neopterin, kinürenin, triptofan düzeyleri ve kin/trp oranları değerlendirilmiştir. Buna göre aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Sağlıklı kişilerde IV. gruptaki kinürenin ve kin/trp düzeyleri I. gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Pterjium hastalarında III ve IV. gruplardaki kin/trp düzeyleri I. gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).
- Pterjium hastalarında IV. gruptaki kinürenin düzeyleri I ve II. gruplara göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).
- Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Gözyaşı neopterin dağılımlarının çeyreklere bölünmesi ile elde edilen gruplarda serum neopterin, triptofan, kinürenin düzeyleri ve kin/trp oranları değerlendirilmiştir. Buna göre aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

- Sağlıklı kontrol grubunda gözyaşı neopterin düzeyleri ile ölçülen parametreler arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).
- Pterjium hastalarında III. gruptaki kin/trp düzeyleri II. gruba göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

Neopterin, IFN- γ stimölasyonu ile monosit/makrofajlarda sentezlenen ve immün sistemin uyarıldığı enfeksiyon, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar gibi patolojilerde ve organ reddi durumlarında biyolojik örneklerdeki düzeyleri artan bir pteridindir (139, 200, 215, 224, 306). IFN- γ stimölasyonu, neopterin sentezinin yanı sıra İDO enziminin sentezlenmesini de uyarır. Bu nedenle neopterin ve İDO birlikte değerlendirildikleri zaman organizmanın immün aktivasyon durumunun değerlendirilmesine olanak sağlamaktadırlar (137, 296, 309). Pterjium inflamatuvar, fibrovasküler ve dejeneratif bir göz hastalığıdır. Patogenezi ile ilgili kesin bir görüş birliği olmamakla birlikte UV ışınlar, p53 tümör baskılayıcı gen, immünolojik ve inflamatuvar mekanizmaların rol oynadığı bilinmektedir (60, 72-74, 327). Binlerce yıldır bilinen, yaygın olarak gözlenen bir hastalık olmasına rağmen etiolojisinin belirsizliğini koruması ve çok sık tekrar eden bir klinik seyir göstermesi, bu patolojide neopterin gibi yenilikçi biyogöstergelere gereksinim olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Bu tez çalışmasında, pterjium hastalığında neopterin ve kinürenin yolağının bir rolü olup olmadığını araştırmak ve hastalığın patogenezinin bu bakış açısıyla değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla pterjium hastalarında ve sağlıklı kontrol grubunda neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ölçülmüş, aralarındaki olası ilişki değerlendirilmiştir. Neopterin düzeyleri ve kinürenin yolağının belirlenmesi ile immün aktivasyonun sistemik değerlendirilmesinde serum, lokal değerlendirilmesinde ise gözyaşı örnekleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar ile pterjiumdaki immünolojik mekanizmalar ve pterjium kliniğinde neopterin gibi biyogöstergelerin kullanım potansiyeli ilk defa bu tez çalışması ile gösterilmiştir.

Serum, idrar ve BOS gibi biyolojik sıvılarda neopterin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan ELISA kitleri, kullanıma hazır ve standardizasyonu sağlanmış ürünlerdir. Bu tez çalışması kapsamında ELISA neopterin ticari kitleri kullanılarak serum ve gözyaşı örneklerinde neopterin düzeylerinin belirlenmiştir. Serumda triptofan ve kinürenin düzeylerinin ölçülmesi için kullanılan HPLC yönteminin ise geçerliliğini değerlendirmek için geri kazanım özellikleri, tekrarlanabilirliği ve duyarlılığı incelenmiştir. Buna göre kullanılan yöntemin kesin, tekrarlanabilir ve duyarlı olduğu gösterilmiştir.

Pterijum, cinsiyetin etkisinin kesin olarak belirlenemediği bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar birbiri ile farklılık göstermektedir. Lim ve ark. (18) tarafından Güney Kore’de yapılan ve yaklaşık 13 bin kişiyi kapsayan bir araştırmada, pterijum prevalansının erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Sun ve ark. (45) tarafından yayımlanmıştır. Zhong ve ark. (32) ise kadınlarda erkeklere göre pterijum görülme sıklığının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışması kapsamında, neopterin düzeylerinin cinsiyete göre değişip değişmediği öncelikli olarak kontrol grubunda değerlendirilmiştir. 15 sağlıklı erkek katılımcının ortalama serum ve gözyaşı neopterin düzeyi, 17 sağlık kadın katılımcıdan yüksek bulunmuş, ancak istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. 18 kadın ve 13 erkek pterijum hastasında yapılan değerlendirmede ise, serum neopterin düzeylerinin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek olduğu, ancak kontrol grubunda olduğu gibi aradaki farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır. Gözyaşı neopterin düzeyleri karşılaştırıldığında ise, kadın pterijum hastalarındaki neopterin düzeyleri erkeklerdekinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Werner ve ark. (128) tarafından rapor edilen çalışmada gösterildiği üzere, bu tez kapsamında da cinsiyetin serum neopterin düzeyleri üzerine bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Gözyaşı neopterin düzeylerinin kadın hastalarda erkek hastalara göre daha yüksek bulunması, pterijumda lokal immünitinin kadınlarda daha aktif rol oynadığı şeklinde yorumlanmıştır.

Sağlıklı erkek katılımcıların İDO aktivitesini yansıtan kin/trp düzeylerinin ortalaması, sağlıklı kadın katılımcılardan daha yüksek bulunmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Pterijum hastalarında da kin/trp oranları kadınlarda erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur, ancak kontrol grubuna benzer şekilde anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu sonuç, cinsiyetin kin/trp oranlarına etkisinin olmadığını göstermektedir ve başka araştırmalardan elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir (328, 329).

Sağlıklı erkek katılımcılarda sadece serum neopterin düzeyleri ile kin/trp oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki bulunmuştur; diğer değerlendirilen parametreler arasında herhangi bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Sağlıklı kadın katılımcıların serum neopterin düzeyleri ile kin/trp oranları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır; ancak gözyaşı neopterin düzeyleri ile kin/trp

oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda olduğu gibi kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerde immün aktivasyonu gösteren neopterin ve İDO aktivitesini ifade eden kin/trp oranları paralellik göstermiştir (330-332). Bu çalışma ile şimdiye kadar yapılan araştırmalara ek olarak, gözyaşı neopterin düzeylerinin artmasıyla kin/trp oranlarının da arttığı, herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan kadınlarda ilk defa gösterilmiştir. Pterjium hastalığında, serum ve/veya gözyaşı neopterin düzeyleri ile kin/trp arasındaki ilişkiye cinsiyetin doğrudan etki edecek kadar kuvvetli bir faktör olmadığı da düşünülmüştür.

Sağlıklı erkek katılımcıların kinürenin ve triptofan düzeyleri kadın katılımcılardan istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Pterjium hastalarında da benzer şekilde erkek katılımcıların kinürenin ve triptofan düzeyleri kadın hastalardan yüksek, ancak istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Cinsiyetin, pterjium hastalığında kinürenin yolağını etkilemediği anlaşılmıştır.

Pterjiumda yaşın etkisi değerlendirildiğinde hastalığın daha sık gözlemlendiği belirgin bir yaş aralığı verilememektedir. Pterjium her yaşta gözlenen bir hastalıktır. Bloom ve ark. (86), literatürde pterjium başlangıcının tespit edildiği en erken yaş olarak 12 yaşındaki ikiz pterjium hastalarını vaka raporu olarak yayımlamışlardır. Yapılan araştırmalarda genellikle, Tan ve ark. (36)'nin yaptıkları çalışmada olduğu gibi, yaş arttıkça pterjium görülme sıklığının da arttığı tespit edilmiştir. Zhao ve ark. (42) tarafından 10 yıl arayla aynı popülasyonun incelendiği geniş kapsamlı bir çalışmada ise buna benzer sonuçlar bildirilmiştir. Yaş ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki kurulamamasının nedeni pterjiumda çok etkili olan çevresel faktörlerin tek başına yaşın etkisini incelemeyi zorlaştırmasıdır. Bu tez çalışmasında serum ve gözyaşı neopterin düzeylerinin ve kin/trp oranlarının yaş ile birlikte değişip değişmediği, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerde ve pterjium hastalarında değerlendirilmiştir. Hem sağlıklı katılımcıların hem de pterjium hastalarının neopterin düzeylerinin yaş ile değişmediği bulunmuştur. Bununla birlikte, sağlıklı katılımcıların kin/trp oranlarında artan yaş ile birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artma eğilimi gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar başka çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir (330, 333, 334).

Göz hastalıklarında neopterin düzeylerinin ve kinürenin yolağının değerlendirildiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Palmer ve ark. (228), inflamatuvar bir hastalık olan retinal vaskülitte neopterin düzeylerinin yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Kanser olgularında neopterin düzeylerinin yükseldiği bilinmektedir; Gerding ve ark. (335) de koroidal melanomada ölçtükleri yüksek neopterin konsantrasyonlarını bildirmişlerdir. Laganovska ve ark. (227), katarakt hastalarında neopterin düzeylerinin yükseldiğini saptamışlardır. Aynı araştırmacıların yaptıkları başka bir çalışmada ise katarakta yüksek bulunan neopterin düzeyleri ile kinürenin düzeylerinin pozitif anlamlı ilişkili olduğu bildirilmiştir (324). Üveit hastalığında da sağlıklılara göre neopterin düzeyleri yükselme eğilimindedir. Durukan ve ark. (229), üveit hastalarında yüksek neopterin düzeylerini rapor etmişlerdir. Üveit hastalarında yapılan başka bir çalışmada ise yüksek neopterin düzeylerinin yanı sıra neopterin ile kin/trp oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (154). Göz hastalıklarında yapılan bu çalışmaların tümünde idrar ve serum örnekleri gibi sadece sistemik immüniteyi yansıtan biyolojik örnekler kullanılmıştır. Laganovska ve ark. (227) 2003 yılında, aköz humorda neopterin düzeylerini belirleyerek katarakt hastalarında olası lokal immünite değişikliklerini değerlendirmişlerdir. Gözyaşı sıvısında neopterin düzeylerinin ölçüldüğü tek çalışma, Baydar ve ark. (2) tarafından 2016 yılında yapılan araştırmadır. Bu çalışmada sağlıklı kişilerden alınan serum ve gözyaşı örneklerinde neopterin düzeyleri ölçülerek sistemik ve lokal immünite arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Sunulan bu tez projesinde ise ilk defa pterjium hastalığında serum ve gözyaşı neopterin düzeyleri belirlenerek bu göz hastalığında sistemik ve lokal immünite arasındaki olası ilişki araştırılmıştır. Neopterin değerlendirmesinin yanı sıra bu tez kapsamında, kinürenin yolağı da araştırılmıştır. Gözyaşı ve serumda ayrı ayrı ölçülen neopterin düzeyleri ile pterjiumun sistemik ve lokal olarak karşılaştırması yapılabilmektedir. Elde edilen bulgulara göre, sağlıklı katılımcılarla karşılaştırıldığında pterjium hastalarında serum neopterin konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte sağlıklı katılımcıların gözyaşı neopterin düzeyleri pterjium hastalarından daha yüksek; ancak istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır.

Baydar ve ark. (2) yaptıkları çalışmada, sağlıklı kişilerin serum neopterin ve gözyaşı neopterin düzeylerinin birbirleri anlamlı bir ilişkisi olduğunu ve neopterin serum ve gözyaşı düzeyleri arasında yaklaşık 3 kat fark olduğunu bildirmişlerdir. Fakat tez çalışmasında pterjium hastalarının serum neopterin düzeyleri ile gözyaşı neopterin düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bununla birlikte pterjium hastalarının serum ve gözyaşı neopterin düzeyleri arasında aralarında benzer şekilde yaklaşık 3 kat fark bulunmuştur.

Bu sonuçlara ilave olarak hem sağlıklı katılımcıların hem de pterjium hastalarının serum neopterin düzeyleri ile kin/trp oranları arasında anlamlı bir ilişki saptanmış, ancak gözyaşı neopterin düzeyleri ile kin/trp arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Normal beslenme ile değişkenlik gösterebilen triptofan düzeyleri, pterjium hastaları ile sağlıklı katılımcılar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı değildir (sırasıyla $65,44 \pm 1,56$ ve $65,60 \pm 2,08$). Ancak, pterjium hastalarındaki ortalama kinürenin düzeyleri kontrole kıyasla daha yüksek bulunmuştur ve bu farklılık İDO aktivitesini ifade eden kin/trp oranlarına yansımıştır. Ulaşılan sonuçlar hücrel immün aktivasyonun derecesini yansıtan neopterin ve İDO aktivasyonunun pterjiumda yükseldiğini göstermekle birlikte, bu aktivasyon lokal olarak ifade edilememektedir.

Canlılar milyonlarca yıldır evrilirken ne yazık ki yaşadıkları gezegeni de değiştirmişlerdir. İnsanların doğa ile olan ilişkilerinde bozdukları denge, atmosferin kendini yenileme yeteneğini de azaltmıştır. Ozon tabakasının incilmesi yüzünden, atmosfer yeryüzüne ulaşan ışınları tutma görevini eskisi gibi yerine getirememekte ve geçirgenliği artmaktadır. Toprak örtüsünün ve okyanusların doğal yapısının ve kütlelerinin değişmesi sonucu yeryüzünden uzaya yansıyan ışın miktarı azalmaktadır. Bütün bu değişimler insanların olması gerekenden daha fazla miktarda UV ışına maruz kalmasına neden olmaktadır. Her zaman maruz kalınan güneş ışığının bildiğimiz güneş ışığından farklı olması, bir hastalığa neden olabilir ve/veya seyrini değiştirebilir. Bu nedenle gün geçtikçe başta deri kanseri olmak üzere pterjium gibi UV ilişkili hastalıkların arttığına tanık olmaktadır.

Ultraviyole ışınların, pterjium prevalansını arttıran bir etmen olduğunu belirten çok fazla rapor bulunmaktadır (15, 22, 23, 38). Bu çalışmalarda insanların yaşadıkları çevrenin Ekvator'a uzaklığı, iklim özellikleri ve rakım gibi maruz kalınan

UV ışın yoğunluğuna etki eden coğrafi özellikler değerlendirilmiştir. Dünya'nın en yüksek ve dağlık bölgelerinden olan Nepal'de yapılan bir çalışmada, bölgede yükseklik arttıkça pterjium görülme sıklığının da orantılı olarak arttığı ifade edilmiştir (28).

Ultraviyole ışın maruziyeti değerlendirilirken genellikle insanların açık havada geçirdikleri saatler göz önünde tutulmaktadır; dolayısıyla mesleki nedenlerden dolayı dış mekanlarda çalışanların etkilenme düzeyi daha fazladır. Açık havada yapılan işin özelliği, hangi saatler arasında çalışıldığı, bu arada koruyucu giysiler kullanılıp kullanılmadığı ve işin düzenli olarak ne kadar süredir yapıldığı UV ışın maruziyetini etkilemektedir. Khoo ve ark. (21), açık havada ve kapalı alanda çalışan işçileri inceledikleri çalışmalarında açık havada güneşe maruziyet süresiyle orantılı olarak pterjium prevalansının arttığını bildirmişlerdir. Lim ve ark (18) ise günde 5 saat ve üzerinde açık havada çalışan kişilerde pterjium riskinin arttığını ifade etmişlerdir. Pterjium çalışmalarında farklı coğrafi bölgelerde ve farklı topluluklar üzerinde yapılan incelemeler göstermektedir ki, mesleki nedenlerden dolayı güneş ışığı gibi doğal bir etkene maruz kalmak bile pterjium riskini doğrudan arttırmaktadır. Hindistan'daki erkek tuz işçileri (32) ile Çin'deki kadın çiftçilerde (50) yapılan pterjium çalışmalarının ortak noktası UV ışınlarla diğer meslek kollarına göre daha fazla maruz kalmalarıdır. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığının 2011 yılındaki rehberinde meslek hastalığı ve işle ilgili hastalık kavramları tanımlanmıştır; buna göre pterjiumun çalışma koşullarına bağlı olarak ortaya çıkan bir meslek hastalığı ya da çalışma koşullarının etkisiyle tetiklenen/şiddetlenen, işle ilgili bir hastalık olduğu söylenebilir (336). Tez çalışmasında incelenen pterjium hastalarının yaklaşık %22'sinin inşaat, kaynak ve tarım işçileri ile hamal oldukları görülmüştür. Bu kişiler işleri nedeniyle genellikle açık havada çalışmak zorunda olan, güneş ışınlarına ve partiküllere daha fazla maruz kalan bireylerdir. Ancak, sayılarının az olması nedeniyle, dış mekanda çalışan pterjium hastalarının iç mekanda çalışan hastalarla istatistiksel olarak karşılaştırılması yapılmamıştır. Bununla birlikte ortalama serum neopterin düzeyleri dikkate alındığında, pterjium hastaları arasında bulunan tarım işçilerinin serum neopterin düzeyleri, yaklaşık %17 daha yüksek bulunmuştur. Hamallarda ve inşaat işçilerinde ise bu düzeyin ortalamaya göre %30 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yaptığı işin niteliği nedeniyle açık havada

çalışan ve güneş ışınlarına daha fazla maruz kalan pterjium hastalarında, hücrel immün aktivasyonun daha fazla olduğu söylenebilir.

Meslek ile doğrudan ilişkisi olan ve genel sağlık durumunu etkileyen bir diğer önemli faktör sosyoekonomik durumdur. Sosyoekonomik düzeyin göstergesi olan gelir durumu ve eğitim düzeyi gibi parametreler ile pterjium arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Nanagia ve ark. (44), Hindistan'ın kırsal bir bölgesinde 8 köyü kapsayan bir çalışma yapmışlar ve pterjium prevalansının ülkenin diğer bölgelerine göre yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu durum araştırma yapılan bölgede sosyoekonomik düzeyin düşük olması ve insanların modern sağlık hizmetlerinden yoksun olmaları ile ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde Nemet ve ark. (40), 9 yılı kapsayan geniş ölçekli araştırmalarında sosyoekonomik düzeyin düşük olmasının pterjium riskini arttırdığını rapor etmişlerdir. Lim ve ark. (18) ise eğitim seviyesi düştükçe pterjium riskinin arttığını bildirmişlerdir.

Tez çalışmasında katılımcıların eğitim düzeyleri ve gelirleri gibi sosyoekonomik durumlarını yansıtan bilgiler edinilememiştir. Fakat yukarıda değinildiği gibi pterjium hastalarının yaklaşık beşte birinin sosyoekonomik düzeyi düşük insanlar olduğu görülmüştür. Bu kişilerin neopterin düzeylerinin çalışma grubunun ortalamasından yüksek olması, sosyoekonomik düzeyin immün sistemin aktivasyon derecesi ile ilişkisi olduğunu düşündürmektedir.

Pterjium patogenezinin altında yatan mekanizmaların tam olarak aydınlatılamaması, tedavide istenen kesin çözümlerin elde edilememesine ve toplumun genel sağlık durumunu etkileyen bir hastalığın süregitmesine sebep olmaktadır. Tedavide genel eğilimin cerrahi yöntemle dokunun ortadan kaldırılması yönünde olması, kalıcı bir iyileşme sağlamayıp geçici bir çözüm olarak uygulanmaktadır. Çünkü en radikal tedavi olarak uygulanan bu yöntemle bile sorun ortadan kalkmamakta ve pterjium sıklıkla nüks etmektedir.

Günümüzde ulaşılan teknoloji sayesinde ve yeni laboratuvar yöntemleri kullanılarak hastalığın mekanizmaları açıklığa kavuşturulabilir. Hem patogenezin aydınlatılması hem de tedavi etkinliğinin değerlendirilebilmesi için yenilikçi biyogöstergelerden yararlanılabilir. En önemli klinik araçlardan olan biyogöstergeler ile cerrahi işlem sonrası hasta bakımı, izlemi ve standardizasyonu sağlanarak tedavi iyileştirilebilir ve pterjiumda büyük bir sorun olan nüks etmenin önüne geçilebilir.

Tez çalışmasından elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, neopterin gibi önemli bir biyogöstergenin, kinürenin yolağı bileşenleri ile birlikte ifade edilerek pterjium patolojisini açıklığa kavuşturmak ve hasta refahını arttırmak için göz kliniklerinde uygulama potansiyeli olduğu düşünülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilim, doğru bilgiye ulaşmanın en akılcı yoludur. Bunun için öncelikle soru sormak ve yanıtlara ulaşmak için uygun bilimsel yöntemler kullanmak gerekmektedir. Bu tez çalışması kapsamında, neopterin ve kinürenin yolağının pterjium hastalığındaki rolünü ortaya çıkarmak için sorulan sorular, giriş bölümünde açıklanmıştır. Bu tez çalışması kapsamında elde edilen bulguların değerlendirilmesi ile aşağıdaki yanıtlar elde edilmiştir:

- Pterjium, lokal bir göz hastalığı olmasına rağmen, hücrel immünitinin sistemik durumunu gösteren güncel biyogösterge olan neopterin düzeyleri ile bu aktivasyonu doğrulayan hücrel sitotoksitenin dolaylı belirteci olan kinürenin düzeylerinin artışı söz konusudur.
- Pterjium hastalığında triptofan düzeyleri değişmezken immün stimülasyonun göstergesi olan İDO aktivitesini ifade eden kin/trp oranı yükselmektedir. Yüksek neopterin düzeylerine eşlik eden artmış kin/trp oranları, İDO enziminin pterjiumda indüklendiğini işaret etmektedir.
- Pterjium hastalarında İDO'nun yükselme eğiliminde olması, bu göz patolojisinde immün sistemin stimüle olduğunu göstermektedir.
- Pterjium hastalarında gözlenen artmış immün aktivite, hastalığın patogeneğinde immünolojik yolların, özellikle de T-hücre aracılıklı immünitinin katkısı olduğunu göstermektedir.
- Neopterin, kinürenin yolağı bileşenleri ile birlikte değerlendirildiğinde, pterjium kliniğinde kullanım potansiyeline sahip, etkili, duyarlı, tekrarlanabilir bir biyogösterge'dir. ELISA neopterin ticari kitleri ile ölçülebilir olması, belirlenmesini kolaylaştırmaktadır.
- Neopterin, immün aktivasyon durumunu ifade eden bir biyogösterge olarak pterjium şiddetinin derecelendirilmesinde, tedavi sonrası düzenli aralıklarla ölçülerek iyileşme sürecinin izlenmesinde ve hastalığın tekrar ortaya çıkma riskinin öngörülmesinde kullanılabilir.

Tez çalışması ile elde edilen sonuçlar, bazı soruları yanıtlarken aynı zamanda yeni değerli soruları sormaya teşvik etmiştir. Dolayısıyla yukarıdaki yanıtlar başka araştırmaların sorusu olmaya adaydır. Bu çalışmanın sonuçları başka araştırmacılar

için bir bakış açısı sağlarken, devamında yapılacak yeni araştırmalarda aşağıdaki soruların yanıtlarının aranabileceği sonucuna varılmıştır.

- Pterjium patogeneğinde neopterin ve kinürenin yolağı ile birlikte ve/veya ayrı olarak değerlendirilebilecek, klinikte kullanım potansiyeli olan diğer immün biyogöstergeler nelerdir?
- Etiyolojisi belli olmayan veya patogeneğinde immüitenin söz konusu olduğı düşünölen diğer göz hastalıklarında neopterin ve kinürenin yolağının rolü nedir? Bu hastalıklarda benzer sonuçlar elde edilir mi?
- Gözyaşı neopterin düzeylerinin immün bir parametre olarak kullanılabileceğı diğer göz patolojileri nelerdir?
- Pterjiumda çevre koşullarının önemi göz önüne alındığında, laboratuvarda ölçölen biyolojik bir parametre ile çevresel etmenlerin arasındaki ilişki değerlendirilerek, olası risklerin öngörölmesinde bilgisayarlı modelleme sistemleri kullanılabilir mi?

Pterjium örneğinde olduğı gibi bazı konuların bir “enigma” olarak tanımlanması aslında bilimsel bakış açısının eksikliği değil bir bilgi birikimi ve organizasyonu meselesidir. Umarım bu tez araştırması hem pterjium hem de neopterin konusunda evrensel birikime bir katkı sağlayacaktır ve yeni çalışmalara kaynak oluşturacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Coster D. Pterygium--an ophthalmic enigma. *Br J Ophthalmol*. 1995;79(4):304-5.
2. Baydar T, Kemer Ozlem E, Kilicarslan B, Cardak A, Girgin G. Detection of neopterin in tear samples. *Pteridines*. 2016;27(1-2):13.
3. Rosenthal JW. Chronology of pterygium therapy. *Am J Ophthalmol*. 1953;36(11):1601-16.
4. Chen J, Maqsood S, Kaye S, Tey A, Ahmad S. Pterygium: are we any closer to the cause? *Br J Ophthalmol*. 2014;98(4):423-4.
5. Diab M. *Lexicon of Orthopaedic Etymology*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 1999.
6. Marcovich AL, Bahar I, Srinivasan S, Slomovic AR. Surgical management of pterygium. *Int Ophthalmol Clin*. 2010;50(3):47-61.
7. Pterygium [Internet]. [Erişim Tarihi 13 Eylül 2017]. Erişim adresi: <http://melbourneeyecentre.com.au/pterygium/>
8. Malik A, Arya SK, Sood S, Sarda SB, Narang S. Effect of pterygium on contrast sensitivity. *Int Ophthalmol*. 2014;34(3):505-9.
9. Avisar R, Loya N, Yassur Y, Weinberger D. Pterygium-induced corneal astigmatism. *Isr Med Assoc J*. 2000;2(1):14-5.
10. Julio G, Lluch S, Pujol P, Merindano D. Ocular discomfort in pterygium patients. *Optom Vis Sci*. 2013;90(3):269-74.
11. Gonnermann J, Maier AK, Klein JP, Bertelmann E, Pleyer U, Klamann MK. Evaluation of ocular surface temperature in patients with pterygium. *Curr Eye Res*. 2014;39(4):359-64.
12. Safi H, Kheirkhah A, Mahbod M, Molaei S, Hashemi H, Jabbarvand M. Correlations between histopathologic changes and clinical features in pterygia. *J Ophthalmic Vis Res*. 2016;11(2):153-8.
13. Detorakis ET, Spandidos DA. Pathogenetic mechanisms and treatment options for ophthalmic pterygium: trends and perspectives (Review). *Int J Mol Med*. 2009;23(4):439-47.
14. Hirst LW. *Distribution, Risk Factors, and Epidemiology of Pterygium*. Taylor HR, editor. Pterygium. The Hague: Kugler Publications; 2000.
15. Luthra R, Nemesure BB, Wu SY, Xie SH, Leske MC. Frequency and risk factors for pterygium in the Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(12):1827-32.
16. Sherwin JC, Hewitt AW, Kearns LS, Griffiths LR, Mackey DA, Coroneo MT. The association between pterygium and conjunctival ultraviolet autofluorescence: The Norfolk Island Eye Study. *Acta Ophthalmol*. 2013;91(4):363-70.
17. Li Z, Wu S, Mai J, Xu K, Sun Y, Song Z, et al. Prevalence of and risk factors for pterygia in a rural Northern Chinese population. *Ophthalmic Epidemiol*. 2014;21(6):378-83.

18. Lim CY, Kim SH, Chuck RS, Lee JK, Park CY. Risk Factors for Pterygium in Korea: The Korean National Health and Nutrition Examination Survey V, 2010-2012. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(32):e1258.
19. Lu P, Chen X, Kang Y, Ke L, Wei X, Zhang W. Pterygium in Tibetans: a population-based study in China. *Clin Exp Ophthalmol*. 2007;35(9):828-33.
20. Lin AD, Miles K, Brinks MV. Prevalence of pterygia in Hawaii: examining cumulative surfing hours as a risk factor. *Ophthalmic Epidemiol*. 2016;23(4):264-8.
21. Khoo J, Saw SM, Banerjee K, Chia SE, Tan D. Outdoor work and the risk of pterygia: a case-control study. *Int Ophthalmol*. 1998;22(5):293-8.
22. McCarty CA, Fu CL, Taylor HR. Epidemiology of pterygium in Victoria, Australia. *Br J Ophthalmol*. 2000;84(3):289-92.
23. Saw SM, Banerjee K, Tan D. Risk factors for the development of pterygium in Singapore: a hospital-based case-control study. *Acta Ophthalmol Scand*. 2000;78(2):216-20.
24. Tano T, Ono K, Hiratsuka Y, Otani K, Sekiguchi M, Konno S, et al. Prevalence of pterygium in a population in Northern Japan: the Locomotive Syndrome and Health Outcome in Aizu Cohort Study. *Acta Ophthalmol*. 2013;91(3):e232-6.
25. Coroneo MT. Pterygium as an early indicator of ultraviolet insolation: a hypothesis. *Br J Ophthalmol*. 1993;77(11):734-9.
26. Taylor HR. A Historical Perspective of Pterygium. Taylor HR, editor. *Pterygium*. The Hague: Kugler Publications; 2000.
27. Lu J, Wang Z, Lu P, Chen X, Zhang W, Shi K, et al. Pterygium in an aged Mongolian population: a population-based study in China. *Eye (Lond)*. 2009;23(2):421-7.
28. Shrestha S, Shrestha SM. Comparative study of prevalence of pterygium at high altitude and Kathmandu Valley. *J Nepal Health Res Counc*. 2014;12(28):187-90.
29. Ultraviolet Radiation (UV) [Internet]. [Erişim Tarihi 14 Eylül 2017]. Erişim adresi: http://www.who.int/uv/uv_and_health/en/
30. Norn MS. Prevalence of pinguecula in Greenland and in Copenhagen, and its relation to pterygium and spheroid degeneration. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1979;57(1):96-105.
31. Mahar PS, Manzar N. The study of etiological and demographic characteristics of pterygium recurrence: a consecutive case series study from Pakistan. *Int Ophthalmol*. 2014;34(1):69-74.
32. Zhong H, Chen Q, Li J, Shen W, Sheng X, Niu Z, et al. Ethnic variations in pterygium in a rural population in Southwestern China: The Yunnan Minority Eye Studies. *Ophthalmic Epidemiol*. 2016;23(2):116-21.
33. Liu L, Wu J, Geng J, Yuan Z, Huang D. Geographical prevalence and risk factors for pterygium: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2013;3(11):e003787.

34. Panchapakesan J, Hourihan F, Mitchell P. Prevalence of pterygium and pinguecula: The Blue Mountains Eye Study. *Aust N Z J Ophthalmol*. 1998;26 Suppl 1:S2-5.
35. Wong TY, Foster PJ, Johnson GJ, Seah SK, Tan DT. The prevalence and risk factors for pterygium in an adult Chinese population in Singapore: the Tanjong Pagar survey. *Am J Ophthalmol*. 2001;131(2):176-83.
36. Tan CSH, Lim TH, Koh WP, Liew GC, Hoh ST, Tan CC, et al. Epidemiology of pterygium on a tropical island in the Riau Archipelago. *Eye (Lond)*. 2006;20(8):908-12.
37. Taylor HR. The prevalence of corneal disease and cataracts in Australian aborigines in Northwestern Australia. *Aust J Ophthalmol*. 1980;8(4):289-301.
38. Al-Bdour M, Al-Latayfeh MM. Risk factors for pterygium in an adult Jordanian population. *Acta Ophthalmol Scand*. 2004;82(1):64-7.
39. Gazzard G, Saw SM, Farook M, Koh D, Widjaja D, Chia SE, et al. Pterygium in Indonesia: prevalence, severity and risk factors. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(12):1341-6.
40. Nemet AY, Vinker S, Segal O, Mimouni M, Kaiserman I. Epidemiology and associated morbidity of pterygium: a large, community-based case-control study. *Semin Ophthalmol*. 2016;31(5):446-51.
41. Jiao W, Zhou C, Wang T, Yang S, Bi H, Liu L, et al. Prevalence and risk factors for pterygium in rural older adults in Shandong Province of China: a cross-sectional study. *Biomed Res Int*. 2014;2014:658648.
42. Zhao L, You QS, Xu L, Ma K, Wang YX, Yang H, et al. 10-year incidence and associations of pterygium in adult Chinese: the Beijing Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(2):1509-14.
43. Veena MSB, Alaka Priyadarshani D, Gaurav B. Pterygium - a study which was done on a rural based population. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(9):1936-7.
44. Nangia V, Jonas JB, Nair D, Saini N, Nangia P, Panda-Jonas S. Prevalence and associated factors for pterygium in rural agrarian central India. The central India eye and medical study. *PLoS One*. 2013;8(12):e82439.
45. Sun LP, Lv W, Liang YB, Friedman DS, Yang XH, Guo LX, et al. The prevalence of and risk factors associated with pterygium in a rural adult Chinese population: the Handan Eye Study. *Ophthalmic Epidemiol*. 2013;20(3):148-54.
46. Saraç Ö, Toklu Y, Şahin M. The prevalence of pterygium in Ankara: a hospital-based study. *Turk J Med Sci*. 2012;42(6):1006-9.
47. Cajucom-Uy H, Tong L, Wong TY, Tay WT, Saw SM. The prevalence of and risk factors for pterygium in an urban Malay population: the Singapore Malay Eye Study (SiMES). *Br J Ophthalmol*. 2010;94(8):977-81.
48. Durkin SR, Abhary S, Newland HS, Selva D, Aung T, Casson RJ. The prevalence, severity and risk factors for pterygium in central Myanmar: the Meiktila Eye Study. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(1):25-9.

49. Omoti AE, Waziri-Erameh JM, Enock ME. Ocular disorders in a petroleum industry in Nigeria. *Eye (Lond)*. 2008;22(7):925-9.
50. Mathur ML, Haladiya KR, Sachdev R, Saiyed HN. The risk of pterygium in salt workers. *Int Ophthalmol*. 2005;26(1):43-7.
51. Nakaishi H, Yamamoto M, Ishida M, Someya I, Yamada Y. Pingueculae and pterygia in motorcycle policemen. *Ind Health*. 1997;35(3):325-9.
52. Karai I, Horiguchi S. Pterygium in welders. *Br J Ophthalmol*. 1984;68(5):347-9.
53. Wu K, He M, Xu J, Li S. Pterygium in aged population in Doumen County, China. *Yan Ke Xue Bao*. 2002;18(3):181-4.
54. Shiroma H, Higa A, Sawaguchi S, Iwase A, Tomidokoro A, Amano S, et al. Prevalence and risk factors of pterygium in a southwestern island of Japan: the Kumejima Study. *Am J Ophthalmol*. 2009;148(5):766-71.e1.
55. Kwok LS, Coroneo MT. A model for pterygium formation. *Cornea*. 1994;13(3):219-24.
56. Coroneo MT, Di Girolamo N, Wakefield D. The pathogenesis of pterygia. *Curr Opin Ophthalmol*. 1999;10(4):282-8.
57. Tsai YY, Cheng YW, Lee H, Tsai FJ, Tseng SH, Lin CL, et al. Oxidative DNA damage in pterygium. *Mol Vis*. 2005;11:71-5.
58. Cimpean AM, Sava MP, Raica M. DNA damage in human pterygium: one-shot multiple targets. *Mol Vis*. 2013;19:348-56.
59. Lucas R. Solar Ultraviolet Radiation: Assessing the environmental burden of disease at national and local levels. Geneva: World Health Organization; 2010.
60. Lucas R, McMichael T, Smith W, Armstrong B. Solar Ultraviolet Radiation-Global burden of disease from solar ultraviolet radiation. Geneva: World Health Organization; 2006.
61. Young S, Sands J. Sun and the eye: prevention and detection of light-induced disease. *Clin Dermatol*. 1998;16(4):477-85.
62. Lucas RM, McMichael AJ, Armstrong BK, Smith WT. Estimating the global disease burden due to ultraviolet radiation exposure. *Int J Epidemiol*. 2008;37(3):654-67.
63. Goh AM, Coffill CR, Lane DP. The role of mutant p53 in human cancer. *J Pathol*. 2011;223(2):116-26.
64. Dushku N, Hatcher SL, Albert DM, Reid TW. p53 expression and relation to human papillomavirus infection in pingueculae, pterygia, and limbal tumors. *Arch Ophthalmol*. 1999;117(12):1593-9.
65. Weinstein O, Rosenthal G, Zirkin H, Monos T, Lifshitz T, Argov S. Overexpression of p53 tumor suppressor gene in pterygia. *Eye (Lond)*. 2002;16(5):619-21.
66. Tsai YY, Chang KC, Lin CL, Lee H, Tsai FJ, Cheng YW, et al. p53 Expression in pterygium by immunohistochemical analysis: a series report of 127 cases and review of the literature. *Cornea*. 2005;24(5):583-6.

67. Zhang LW, Chen BH, Xi XH, Han QQ, Tang LS. Survivin and p53 expression in primary and recurrent pterygium in Chinese patients. *Int J Ophthalmol.* 2011;4(4):388-92.
68. Tsai YY, Cheng YW, Lee H, Tsai FJ, Tseng SH, Chang KC. P53 gene mutation spectrum and the relationship between gene mutation and protein levels in pterygium. *Mol Vis.* 2005;11:50-5.
69. Kormanovski A, Parra F, Jarillo-Luna A, Lara-Padilla E, Pacheco-Yepey J, Campos-Rodriguez R. Oxidant/antioxidant state in tissue of primary and recurrent pterygium. *BMC Ophthalmol.* 2014;14:149.
70. Kau HC, Tsai CC, Lee CF, Kao SC, Hsu WM, Liu JH, et al. Increased oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxy- guanosine, in human pterygium. *Eye (Lond).* 2005;20(7):826-31.
71. Kennedy M, Kim KH, Harten B, Brown J, Planck S, Meshul C, et al. Ultraviolet irradiation induces the production of multiple cytokines by human corneal cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38(12):2483-91.
72. Di Girolamo N, Kumar RK, Coroneo MT, Wakefield D. UVB-mediated induction of interleukin-6 and -8 in pterygia and cultured human pterygium epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(11):3430-7.
73. Di Girolamo N, Chui J, Coroneo MT, Wakefield D. Pathogenesis of pterygia: role of cytokines, growth factors, and matrix metalloproteinases. *Prog Retin Eye Res.* 2004;23(2):195-228.
74. Di Girolamo N, Wakefield D, Coroneo MT. UVB-mediated induction of cytokines and growth factors in pterygium epithelial cells involves cell surface receptors and intracellular signaling. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(6):2430-7.
75. Black AT, Gordon MK, Heck DE, Gallo MA, Laskin DL, Laskin JD. UVB light regulates expression of antioxidants and inflammatory mediators in human corneal epithelial cells. *Biochem Pharmacol.* 2011;81(7):873-80.
76. Beden U, Irkec M, Orhan D, Orhan M. The roles of T-lymphocyte subpopulations (CD4 and CD8), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), HLA-DR receptor, and mast cells in etiopathogenesis of pterygium. *Ocul Immunol Inflamm.* 2003;11(2):115-22.
77. Ribatti D, Nico B, Maxia C, Longo V, Murtas D, Mangieri D, et al. Neovascularization and mast cells with tryptase activity increase simultaneously in human pterygium. *J Cell Mol Med.* 2007;11(3):585-9.
78. Golu T, Mogoanta L, Streba CT, Pirici DN, Malaescu D, Mateescu GO, et al. Pterygium: histological and immunohistochemical aspects. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52(1):153-8.
79. Otlu B, Emre S, Turkuoglu P, Doganay S, Durmaz R. Investigation of human papillomavirus and Epstein-Barr virus DNAs in pterygium tissue. *Eur J Ophthalmol.* 2009;19(2):175-9.
80. Gallagher M, Giannoudis A, Herrington C, Hiscott P. Human papillomavirus in pterygium. *Br J Ophthalmol.* 2001;85(7):782-4.

81. Detorakis ET, Sourvinos G, Spandidos DA. Detection of herpes simplex virus and human papilloma virus in ophthalmic pterygium. *Cornea*. 2001;20(2):164-7.
82. Takamura Y, Kubo E, Tsuzuki S, Akagi Y. Detection of human papillomavirus in pterygium and conjunctival papilloma by hybrid capture II and PCR assays. *Eye (Lond)*. 2008;22(11):1442-5.
83. World Health Organization. The Effects of Solar UV Radiation on the Eyes: Report of an Informal Consultation. Geneva: World Health Organization; 1994.
84. Rezvan F, Hashemi H, Emamian MH, Kheirikhah A, Shariati M, Khabazkhoob M, et al. The prevalence and determinants of pterygium and pinguecula in an urban population in Shahroud, Iran. *Acta Med Iran*. 2012;50(10):689-96.
85. Ip MH, Chui JJ, Tat L, Coroneo MT. Significance of fuchs flecks in patients with pterygium/pinguecula: earliest indicator of ultraviolet light damage. *Cornea*. 2015;34(12):1560-3.
86. Bloom AH, Perry HD, Donnenfeld ED, Pinchoff BS, Solomon R. Childhood onset of pterygia in twins. *Eye Contact Lens*. 2005;31(6):279-80.
87. Hirschberg J. The History of Ophthalmology. Wayenborough; 1982.
88. Hirst LW. The Treatment of Pterygium. *Surv Ophthalmol*. 2003;48(2):145-80.
89. Oguz H, San I, Verit A, Uzel I. Ophthalmic techniques described by Serefeddin Sabuncuoglu (1385-1468 AD). *Clin Exp Ophthalmol*. 2004;32(2):192-5.
90. Ozcimen M, Sakarya Y, Goktas S, Sakarya R, Yener HI, Bukus A, et al. Effect of nepafenac eye drops on pain associated with pterygium surgery. *Eye Contact Lens*. 2015;41(3):187-9.
91. Todani A, Melki SA. Pterygium: current concepts in pathogenesis and treatment. *Int Ophthalmol Clin*. 2009;49(1):21-30.
92. Tong L, Lan W, Sim HS, Hou A. Conjunctivochalasis is the precursor to pterygium. *Med Hypotheses*. 2013;81(5):927-30.
93. Hacıoğlu D, Erdöl H. Developments and current approaches in the treatment of pterygium. *Int Ophthalmol*. 2016;1-9.
94. Kenyon KR, Wagoner MD, Hettinger ME. Conjunctival autograft transplantation for advanced and recurrent pterygium. *Ophthalmology*. 1985;92(11):1461-70.
95. Alpay A, Uğurbaş SH, Erdoğan B. Comparing techniques for pterygium surgery. *Clin Ophthalmol*. 2009;3:69-74.
96. Varssano D, Shalev H, Lazar M, Fischer N. Pterygium excision with conjunctival autograft: true survival rate statistics. *Cornea*. 2013;32(9):1243-50.
97. Mohammed I. Treatment of pterygium. *Ann Afr Med*. 2011;10(3):197-203.
98. Martins TG, Costa AL, Alves MR, Chammas R, Schor P. Mitomycin C in pterygium treatment. *Int J Ophthalmol*. 2016;9(3):465-8.
99. Kirwan JF, Constable PH, Murdoch IE, Khaw PT. Beta irradiation: new uses for an old treatment: a review. *Eye (Lond)*. 2003;17(2):207-15.

100. Said DG, Faraj LA, Elalfy MS, Yeung A, Miri A, Fares U, et al. Intra-lesional 5 fluorouracil for the management of recurrent pterygium. *Eye (Lond)*. 2013;27(10):1123-9.
101. Mauro J, Foster CS. Pterygia: pathogenesis and the role of subconjunctival bevacizumab in treatment. *Semin Ophthalmol*. 2009;24(3):130-4.
102. Ang LP, Chua JL, Tan DT. Current concepts and techniques in pterygium treatment. *Curr Opin Ophthalmol*. 2007;18(4):308-13.
103. Hirst LW. Recurrent pterygium surgery using pterygium extended removal followed by extended conjunctival transplant: recurrence rate and cosmesis. *Ophthalmology*. 2009;116(7):1278-86.
104. Al Fayez MF. Limbal-conjunctival vs conjunctival autograft transplant for recurrent pterygia: a prospective randomized controlled trial. *JAMA Ophthalmol*. 2013;131(1):11-6.
105. Janson BJ, Sikder S. Surgical management of pterygium. *Ocul Surf*. 2014;12(2):112-9.
106. Anguria P, Ntuli S, Carmichael T. Young patient's age determines pterygium recurrence after surgery. *Afr Health Sci*. 2014;14(1):72-6.
107. Wang X, Zhang Y, Zhou L, Wei R, Dong L. Comparison of fibrin glue and Vicryl sutures in conjunctival autografting for pterygium surgery. *Mol Vis*. 2017;23:275-85.
108. Peters E, Colby K. The Tear Film. Tasman W, Jaeger EA, editors. *Duane's Ophthalmology*. 2009 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
109. Tomlinson A, Khanal S. Assessment of tear film dynamics: quantification approach. *Ocul Surf*. 2005;3(2):81-95.
110. Tiffany JM. The normal tear film. *Dev Ophthalmol*. 2008;41:1-20.
111. Tear Clinic [Internet]. [Erişim Tarihi 10 Eylül 2017]. Erişim adresi: <http://www.bbptometry.co.uk/eyecare/tear-clinic.aspx>
112. Chaidaroon W, Pongmoragot N. Basic tear secretion measurement in pterygium. *J Med Assoc Thai*. 2003;86(4):348-52.
113. Ishioka M, Shimmura S, Yagi Y, Tsubota K. Pterygium and dry eye. *Ophthalmologica*. 2001;215(3):209-11.
114. Julio G, Lluch S, Pujol P, Alonso S, Merindano D. Tear osmolarity and ocular changes in pterygium. *Cornea*. 2012;31(12):1417-21.
115. Rajiv MS, Mithal S, Sood AK. Pterygium and dry eye--a clinical correlation. *Indian J Ophthalmol*. 1991;39(1):15-6.
116. Yasar T, Ozdemir M, Cinal A, Demirok A, Ilhan B, Durmus AC. Effects of fibrovascular traction and pooling of tears on corneal topographic changes induced by pterygium. *Eye (Lond)*. 2003;17(4):492-6.
117. Hopkins FG. Note on a yellow pigment in butterflies. *Nature*. 1889;40:335.

118. Brown DJ. Introduction to the Pteridines. Brown DJ, editor. Chemistry of Heterocyclic Compounds. Canada: John Wiley & Sons, Inc.; 1988.
119. W. P. Natural Pteridines - A Chemical Hobby. Ayling JE, Nair MG, Baugh CM, editors. Chemistry and Biology of Pteridines and Folates. New York: Plenum Press; 1993.
120. Wachter H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Weiss G, Werner ER, et al. Neopterin: Biochemistry, Methods, Clinical Application. Berlin: Walter de Gruyter & Co.; 1992.
121. Hamerlinck FF. Neopterin: a review. *Exp Dermatol*. 1999;8(3):167-76.
122. D-(+)-Neopterin [Internet]. [Erişim Tarihi 9 Eylül 2017]. Erişim adresi: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/dneopterin25321200964511?lang=en®ion=TR>
123. Sakurai A, Goto M. Neopterin: isolation from human urine. *J Biochem*. 1967;61(1):142-5.
124. Wachter H, Hausen A, Grassmayr K. [Increased urinary excretion of neopterin in patients with malignant tumors and with virus diseases (author's transl)]. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*. 1979;360(12):1957-60.
125. Hausen A, Fuchs D, Grünwald K, Huber H, König K, Wechter H. Urinary neopterin as marker for haematological neoplasias. *Clin Chim Acta*. 1981;117(3):297-305.
126. Huber C, Fuchs D, Hausen A, Margreiter R, Reibnegger G, Spielberger M, et al. Pteridines as a new marker to detect human T cells activated by allogeneic or modified self major histocompatibility complex (MHC) determinants. *J Immunol*. 1983;130(3):1047-50.
127. Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, Hausen A, Lang A, Niederwieser D, et al. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med*. 1984;160(1):310-6.
128. Werner ER, Bichler A, Daxenbichler G, Fuchs D, Fuith LC, Hausen A, et al. Determination of neopterin in serum and urine. *Clin Chem*. 1987;33(1):62-6.
129. Wirleitner B, Reider D, Ebner S, Bock G, Widner B, Jaeger M, et al. Monocyte-derived dendritic cells release neopterin. *J Leukoc Biol*. 2002;72(6):1148-53.
130. Sucher R, Schroecksadel K, Weiss G, Margreiter R, Fuchs D, Brandacher G. Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. *Cancer Lett*. 2010;287(1):13-22.
131. Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. The roles of IFN gamma in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(2):95-109.
132. Berdowska A, Zwirska-Korczala K. Neopterin measurement in clinical diagnosis. *J Clin Pharm Ther*. 2001;26(5):319-29.
133. Hoffmann G, Wirleitner B, Fuchs D. Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans. *Inflamm Res*. 2003;52(8):313-21.

134. Altindag ZZ, Sahin G, Inanici F, Hascelik Z. Urinary neopterin excretion and dihydropteridine reductase activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 1998;18(3):107-11.
135. Grungreiff K, Reinhold D, Ansorge S. Serum concentrations of sIL-2R, IL-6, TGF-beta1, neopterin, and zinc in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha. *Cytokine.* 1999;11(12):1076-80.
136. Leblhuber F, Walli J, Demel U, Tilz GP, Widner B, Fuchs D. Increased serum neopterin concentrations in patients with Alzheimer's disease. *Clin Chem Lab Med.* 1999;37(4):429-31.
137. Girgin G, Tolga Sahin T, Fuchs D, Kasuya H, Yuksel O, Tekin E, et al. Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *Int J Biol Markers.* 2009;24(4):265-70.
138. Carey BS, Jain R, Adams CL, Wong KY, Shaw S, Tse WY, et al. Serum neopterin as an indicator of increased risk of renal allograft rejection. *Transpl Immunol.* 2013;28(2-3):81-5.
139. Suner A, Karaoglan I, Mete AO, Namiduru M, Bosnak V, Baydar I. Assessment of bloodstream infections and risk factors in an intensive care unit. *Turk J Med Sci.* 2015;45(6):1243-50.
140. Djordjević VB. Free radicals in cell biology. *Int Rev Cytol.* 2004;237:57-89.
141. Murr C, Fuith LC, Widner B, Wirleitner B, Baier-Bitterlich G, Fuchs D. Increased neopterin concentrations in patients with cancer: indicator of oxidative stress? *Anticancer Res.* 1999;19(3a):1721-8.
142. Weiss G, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER, Werner-Felmayer G, et al. Neopterin modulates toxicity mediated by reactive oxygen and chloride species. *FEBS Lett.* 1993;321(1):89-92.
143. Schobersberger W, Hoffmann G, Hobisch-Hagen P, Bock G, Volkl H, Baier-Bitterlich G, et al. Neopterin and 7,8-dihydroneopterin induce apoptosis in the rat alveolar epithelial cell line L2. *FEBS Lett.* 1996;397(2-3):263-8.
144. Baier-Bitterlich G, Fuchs D, Wachter H. Chronic immune stimulation, oxidative stress, and apoptosis in HIV infection. *Biochem Pharmacol.* 1997;53(6):755-63.
145. Weiss G, Murr C, Zoller H, Haun M, Widner B, Ludescher C, et al. Modulation of neopterin formation and tryptophan degradation by Th1- and Th2-derived cytokines in human monocytic cells. *Clin Exp Immunol.* 1999;116(3):435-40.
146. Fuchs D, Stahl-Hennig C, Gruber A, Murr C, Hunsmann G, Wachter H. Neopterin--its clinical use in urinalysis. *Kidney Int Suppl.* 1994;47:S8-11.
147. Laich A, Neurauter G, Wirleitner B, Fuchs D. Degradation of serum neopterin during daylight exposure. *Clin Chim Acta.* 2002;322(1-2):175-8.
148. Hagberg L, Dotevall L, Norkrans G, Larsson M, Wachter H, Fuchs D. Cerebrospinal fluid neopterin concentrations in central nervous system infection. *J Infect Dis.* 1993;168(5):1285-8.

149. Ozmeric N, Baydar T, Bodur A, Engin AB, Uraz A, Eren K, et al. Level of neopterin, a marker of immune cell activation in gingival crevicular fluid, saliva, and urine in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2002;73(7):720-5.
150. Asci A, Baydar T, Cetinkaya R, Dolgun A, Sahin G. Evaluation of neopterin levels in patients undergoing hemodialysis. *Hemodial Int*. 2010;14(2):240-6.
151. Hammerer-Lercher A, Moser C, Leichtfried V, Schobersberger W, Griesmacher A, Fuchs D. Comparison of a commercial urinary neopterin radioimmunoassay with high performance liquid chromatography. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(6):1075-8.
152. Isci Bostanci E, Ugras Dikmen A, Girgin G, Gungor T, Baydar T, Nuri Danisman A. A new diagnostic and prognostic marker in endometrial cancer: neopterin. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(4):754-8.
153. Schroecksnadel K, Winkler C, Fuchs D. Method for urinary neopterin measurements by HPLC. *J Biochem Biophys Methods*. 2006;66(1):99-100.
154. Palabiyik SS, Keles S, Girgin G, Arpali-Tanas E, Topdagi E, Baydar T. Neopterin release and tryptophan degradation in patients with uveitis. *Curr Eye Res*. 2016;1-5.
155. Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, Yuksel O, Kurukahvecioglu O, Sare M, et al. Tryptophan degradation and serum neopterin concentrations in intensive care unit patients. *Toxicol Mech Methods*. 2011;21(3):231-5.
156. Sarac ES, Girgin G, Palabiyik SS, Charehsaz M, Aydin A, Sahin G, et al. A pilot study on neopterin levels and tryptophan degradation in zinc-exposed galvanization workers. *Biol Trace Elem Res*. 2013;151(3):330-4.
157. Aziz N, Nishanian P, Taylor JM, Mitsuyasu RT, Jacobson JM, Dezube BJ, et al. Stability of plasma levels of cytokines and soluble activation markers in patients with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*. 1999;179(4):843-8.
158. Ghisoni K, Martins Rde P, Barbeito L, Latini A. Neopterin as a potential cytoprotective brain molecule. *J Psychiatr Res*. 2015;71:134-9.
159. Krause A, Protz H, Goebel KM. Correlation between synovial neopterin and inflammatory activity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1989;48(8):636-40.
160. Altindag ZZ, Baydar T, Isimer A, Sahin G. Neopterin as a new biomarker for the evaluation of occupational exposure to silica. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003;76(4):318-22.
161. Baydar T, Yuksel O, Sahin TT, Dikmen K, Girgin G, Sipahi H, et al. Neopterin as a prognostic biomarker in intensive care unit patients. *J Crit Care*. 2009;24(3):318-21.
162. Sahin TT, Yuksel O, Girgin G, Sipahi H, Dikmen K, Azili C, et al. Is neopterin level a predictive and differential biomarker in patients with thyroid disorders? *J Endocrinol Invest*. 2009;32(2):147-9.
163. Murr C, Widner B, Wirleitner B, Fuchs D. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab*. 2002;3(2):175-87.

164. Demirturk N, Demirdal T, Aktepe OC, Aykin N, Orhan S, Cevik F. Serum neopterin levels in patients with HBV infection at various stages. *Hepatogastroenterology*. 2007;54(75):903-5.
165. Gulcan EM, Tirit I, Anil A, Adal E, Ozbay G. Serum neopterin levels in children with hepatitis-B-related chronic liver disease and its relationship to disease severity. *World J Gastroenterol*. 2008;14(44):6840-3.
166. Kaleli I, Demir M, Cevahir N, Yilmaz M, Demir S. Serum neopterin levels in patients with replicative and nonreplicative HBV carriers. *BMC Infect Dis*. 2006;6:157.
167. Gisslen M, Hagberg L, Fuchs D, Norkrans G, Svennerholm B. Cerebrospinal fluid viral load in HIV-1-infected patients without antiretroviral treatment: a longitudinal study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998;17(4):291-5.
168. Gisslen M, Fuchs D, Svennerholm B, Hagberg L. Cerebrospinal fluid viral load, intrathecal immunoactivation, and cerebrospinal fluid monocytic cell count in HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1999;21(4):271-6.
169. Dolan MJ, Lucey DR, Hendrix CW, Melcher GP, Spencer GA, Boswell RN. Early markers of HIV infection and subclinical disease progression. *Vaccine*. 1993;11(5):548-51.
170. Zangerle R, Sarcletti M, Gallati H, Reibnegger G, Wachter H, Fuchs D. Correlation of body mass index with urinary neopterin in individuals infected with human immunodeficiency virus. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994;104(2):150-4.
171. Kramer A, Wiktor SZ, Fuchs D, Milstien S, Gail MH, Yellin FJ, et al. Neopterin: a predictive marker of acquired immune deficiency syndrome in human immunodeficiency virus infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 1989;2(3):291-6.
172. Stein DS, Lyles RH, Graham NM, Tassoni CJ, Margolick JB, Phair JP, et al. Predicting clinical progression or death in subjects with early-stage human immunodeficiency virus (HIV) infection: a comparative analysis of quantification of HIV RNA, soluble tumor necrosis factor type II receptors, neopterin, and beta2-microglobulin. Multicenter AIDS Cohort Study. *J Infect Dis*. 1997;176(5):1161-7.
173. Diez-Ruiz A, Kaiser G, Jager H, Birkmann J, Tilz GP, Wachter H, et al. Increased levels of serum intercellular adhesion molecule 1 in HIV infection are related to immune activation. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993;102(1):56-60.
174. Hamerlinck FF, van Gool T, Faber WR, Kager PA. Serum neopterin concentrations during treatment of leishmaniasis: useful as test of cure? *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2000;27(1):31-4.
175. Schriefer A, Barral A, Carvalho EM, Barral-Netto M. Serum soluble markers in the evaluation of treatment in human visceral leishmaniasis. *Clin Exp Immunol*. 1995;102(3):535-40.
176. Millner MM, Franthal W, Thalhammer GH, Berghold A, Aigner RM, Fuger GF, et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. *Clin Chem*. 1998;44(1):161-7.

177. Bavunoglu I, Genc H, Konukoglu D, Cicekci H, Sozer V, Gelisgen R, et al. Oxidative stress parameters and inflammatory and immune mediators as markers of the severity of sepsis. *J Infect Dev Ctries*. 2016;10(10):1045-52.
178. Sapa A, Rak A, Wybieralska M, Machon J, Krzywonos-Zawadzka A, Zawadzki K, et al. Diagnostic usefulness of sCD163, procalcitonin and neopterin for sepsis risk assessment in critically ill patients. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(1):101-8.
179. Tasdelen Fisgin N, Aliyazicioglu Y, Tanyel E, Coban AY, Ulger F, Zivalioglu M, et al. The value of neopterin and procalcitonin in patients with sepsis. *South Med J*. 2010;103(3):216-9.
180. Pascual C, Karzai W, Meier-Hellmann A, Oberhoffer M, Horn A, Bredle D, et al. Total plasma antioxidant capacity is not always decreased in sepsis. *Crit Care Med*. 1998;26(4):705-9.
181. Yuksekol I, Ozkan M, Akgul O, Tozkoparan E, Al-Rashed M, Balkan A, et al. Urinary neopterin measurement as a non-invasive diagnostic method in pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2003;7(8):771-6.
182. Fuchs D, Hausen A, Kofler M, Kosanowski H, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis. *Lung*. 1984;162(1):337-46.
183. Horak E, Gassner I, Solder B, Wachter H, Fuchs D. Neopterin levels and pulmonary tuberculosis in infants. *Lung*. 1998;176(5):337-44.
184. Eisenhut M, Hargreaves DS, Scott A, Housley D, Walters A, Mulla R. Determination of urinary neopterin/creatinine ratio to distinguish active tuberculosis from latent mycobacterium tuberculosis infection. *J Biomark*. 2016;2016:5643853.
185. Immanuel C, Swamy R, Kannapiran M, Vijayalakshmi S, Sundaram V, Jagannath K, et al. Neopterin as a marker for cell-mediated immunity in patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 1997;1(2):175-80.
186. Cesur S, Aslan T, Hoca NT, Cimen F, Tarhan G, Cifci A, et al. Clinical importance of serum neopterin level in patients with pulmonary tuberculosis. *Int J Mycobacteriol*. 2014;3(1):5-8.
187. Kronberger P, Weiss G, Tschmelitsch J, Fuchs D, Salzer GM, Wachter H, et al. Predictive value of urinary neopterin in patients with lung cancer. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1995;33(11):831-7.
188. Melichar B, Solichova D, Svobodova I, Urbanek L, Vesely P, Melicharova K. Urinary neopterin in patients with liver tumors. *Tumori*. 2006;92(4):318-22.
189. Weiss G, Kronberger P, Conrad F, Bodner E, Wachter H, Reibnegger G. Neopterin and prognosis in patients with adenocarcinoma of the colon. *Cancer Res*. 1993;53(2):260-5.
190. Melichar B, Solichova D, Melicharova K, Malirova E, Cermanova M, Zadak Z. Urinary neopterin in patients with advanced colorectal carcinoma. *Int J Biol Markers*. 2006;21(3):190-8.

191. Altindag ZZ, Sahin G, Isimer A, Akpek G, Kansu E. Dihydropteridine reductase activity and neopterin levels in leukemias and lymphomas: is there any correlation between these two parameters? *Leuk Lymphoma*. 1999;35(3-4):367-74.
192. Murr C, Bergant A, Widschwendter M, Heim K, Schrocksnadel H, Fuchs D. Neopterin is an independent prognostic variable in females with breast cancer. *Clin Chem*. 1999;45(11):1998-2004.
193. Melicharova K, Kalabova H, Krcmova L, Urbanek L, Solichova D, Melichar B. Effect of comorbidity on urinary neopterin in patients with breast carcinoma. *Eur J Cancer Care (Engl)*. 2010;19(3):340-5.
194. Volgger BM, Windbichler GH, Zeimet AG, Graf AH, Bogner G, Angleitner-Boubenizek L, et al. Long-term significance of urinary neopterin in ovarian cancer: a study by the Austrian Association for Gynecologic Oncology (AGO). *Ann Oncol*. 2016;27(9):1740-6.
195. Manes G, Spada OA, Rabitti PG, Feola B, Misso S, Minerva A, et al. Neopterin serum levels in pancreatic adenocarcinoma. *Int J Pancreatol*. 1999;25(1):31-7.
196. Thein MS, Kohli A, Ram R, Ingaramo MC, Jain A, Fedarko NS. Chitotriosidase, a marker of innate immunity, is elevated in patients with primary breast cancer. *Cancer Biomark*. 2017;19(4):383-91.
197. Inancil SS, Caner S, Balkan F, Tam AA, Guler G, Ersoy R, et al. Urinary neopterin levels in patients with thyroid cancer. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014;66(3):302-8.
198. Beksac K, Sonmez C, Cetin B, Kismali G, Sel T, Tuncer Y, et al. Evaluation of proinflammatory cytokine and neopterin levels in women with papillary thyroid carcinoma. *Int J Biol Markers*. 2016;31(4):e446-e50.
199. Giovannoni G, Lai M, Kidd D, Thorpe JW, Miller DH, Thompson AJ, et al. Daily urinary neopterin excretion as an immunological marker of disease activity in multiple sclerosis. *Brain*. 1997;120 (Pt 1):1-13.
200. Khorami H, Neyestani T, Kadkhodae M, Lotfi J. Increased urinary neopterin: creatinine ratio as a marker of activation of cell-mediated immunity and oxidative stress in the Iranian patients with multiple sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2003;2(3):155-8.
201. Arshadi D, Nikbin B, Shakiba Y, Kiani A, Jamshidi AR, Boroushaki MT. Plasma level of neopterin as a marker of disease activity in treated rheumatoid arthritis patients: Association with gender, disease activity and anti-CCP antibody. *Int Immunopharmacol*. 2013;17(3):763-7.
202. Gurumurthy P, Borra SK, Yeruva RK, Babu S, Thomas J, Cherian KM. Estimation of serum neopterin in patients with acute coronary syndrome. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*. 2013;21(4):426-31.
203. Yamamoto E, Hirata Y, Tokitsu T, Kusaka H, Tabata N, Tsujita K, et al. The clinical significance of plasma neopterin in heart failure with preserved left ventricular ejection fraction. *ESC Heart Fail*. 2016;3(1):53-9.

204. Tomandlova M, Jarkovsky J, Tomandl J, Kubkova L, Kala P, Littnerova S, et al. Prognostic value of pentraxin-3 level in patients with STEMI and its relationship with heart failure and markers of oxidative stress. *Dis Markers*. 2015;2015:1-11.
205. Berg KS, Stenseth R, Pleym H, Wahba A, Videm V. Neopterin predicts cardiac dysfunction following cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2015;21(5):598-603.
206. Wietlicka-Kokoszane I, Jablecka A, Smolarek I, Bogdanski P, Chmara E, Korzeniowska K, et al. Neopterin as a prognostic marker in patients with chronic heart failure. *Med Sci Monit*. 2010;16(5):232-7.
207. Lyu Y, Jiang X, Dai W. The roles of a novel inflammatory neopterin in subjects with coronary atherosclerotic heart disease. *Int Immunopharmacol*. 2015;24(2):169-72.
208. Schumacher M, Halwachs G, Tatzber F, Fruhwald FM, Zweiker R, Watzinger N, et al. Increased neopterin in patients with chronic and acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(3):703-7.
209. Gurfinkel EP, Scirica BM, Bozovich G, Macchia A, Manos E, Mautner B. Serum neopterin levels and the angiographic extent of coronary arterial narrowing in unstable angina pectoris and in non-Q-wave acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1999;83(4):515-8.
210. Weiss MF, Rodby RA, Justice AC, Hricik DE. Free pentosidine and neopterin as markers of progression rate in diabetic nephropathy. Collaborative Study Group. *Kidney Int*. 1998;54(1):193-202.
211. Erten Y, Ozturk MA, Oktar S, Pasaoglu H, Reis KA, Derici U, et al. Association between neopterin and carotid intima-media thickness in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract*. 2005;101(3):134-8.
212. Godai K, Uemasu J, Kawasaki H. Clinical significance of serum and urinary neopterins in patients with chronic renal disease. *Clin Nephrol*. 1991;36(3):141-6.
213. Oda K, Arai T, Nagase M. Increased serum and urinary neopterin in nephrotic syndrome indicate cell-mediated immune dysfunction. *Am J Kidney Dis*. 1999;34(4):611-7.
214. Reibnegger G, Aichberger C, Fuchs D, Hausen A, Spielberger M, Werner ER, et al. Posttransplant neopterin excretion in renal allograft recipients--a reliable diagnostic aid for acute rejection and a predictive marker of long-term graft survival. *Transplantation*. 1991;52(1):58-63.
215. Chin GK, Adams CL, Carey BS, Shaw S, Tse WY, Kaminski ER. The value of serum neopterin, interferon-gamma levels and interleukin-12B polymorphisms in predicting acute renal allograft rejection. *Clin Exp Immunol*. 2008;152(2):239-44.
216. Muller TF, Vogl M, Neumann MC, Lange H, Grimm M, Muller MM. Noninvasive monitoring using serum amyloid A and serum neopterin in cardiac transplantation. *Clin Chim Acta*. 1998;276(1):63-74.
217. Taymur I, Ozdel K, Ozen NE, Gungor BB, Atmaca M. Urinary neopterin levels in patients with major depressive disorder: alterations after treatment with

paroxetine and comparison with healthy controls. *Psychiatr Danub*. 2015;27(1):25-30.

218. Celik C, Erdem M, Cayci T, Ozdemir B, Ozgur Akgul E, Kurt YG, et al. The association between serum levels of neopterin and number of depressive episodes of major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010;34(2):372-5.

219. Kuloglu M, Atmaca M, Onal S, Gecici O, Bulut V, Tezcan E. Neopterin levels and dexamethasone suppression test in obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res*. 2007;151(3):265-70.

220. Parker DC, Mielke MM, Yu Q, Rosenberg PB, Jain A, Lyketsos CG, et al. Plasma neopterin level as a marker of peripheral immune activation in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2013;28(2):149-54.

221. Hull M, Pasinetti GM, Aisen PS. Elevated plasma neopterin levels in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2000;14(4):228-30.

222. Savas S, Kabaroglu C, Alpman A, Sarac F, Yalcin MA, Parildar Z, et al. No relationship between lipoprotein-associated phospholipase A2, proinflammatory cytokines, and neopterin in Alzheimer's disease. *Exp Gerontol*. 2016;77:1-6.

223. Schroecksnadel K, Leblhuber F, Frick B, Wirleitner B, Fuchs D. Association of hyperhomocysteinemia in Alzheimer disease with elevated neopterin levels. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2004;18(3):129-33.

224. Blasko I, Knaus G, Weiss E, Kemmler G, Winkler C, Falkensammer G, et al. Cognitive deterioration in Alzheimer's disease is accompanied by increase of plasma neopterin. *J Psychiatr Res*. 2007;41(8):694-701.

225. Stoeck K, Zerr I. Cellular immune activation markers neopterin and beta2-microglobulin are not elevated in the cerebrospinal fluid of patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neuroimmunol*. 2011;233(1-2):228-32.

226. Campolo J, De Maria R, Cozzi L, Parolini M, Bernardi S, Proserpio P, et al. Antioxidant and inflammatory biomarkers for the identification of prodromal Parkinson's disease. *J Neurol Sci*. 2016;370:167-72.

227. Laganovska G, Martinsons A, Pitrans B, Widner B, Fuchs D. Kynurenine and neopterin in the aqueous humor of the anterior chamber of the eye and in serum of cataract patients. *Adv Exp Med Biol*. 2003;527:367-74.

228. Palmer HE, Giovannoni G, Stanford MR, Wallace GR, Graham EM. Urinary neopterin in idiopathic retinal vasculitis. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(1):30-3.

229. Durukan AH, Hurmeric V, Akgul EO, Kilic S, Bayraktar MZ. Urinary neopterin levels in uveitis: is it a new activity marker? *Ocul Immunol Inflamm*. 2007;15(4):303-8.

230. Nancey S, Perret-Liaudet A, Moussata D, Graber I, Boschetti G, Renaud B, et al. Urinary neopterin is a valuable tool in monitoring Crohn's disease activity. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14(11):1548-54.

231. Coppus AM, Fekkes D, Verhoeven WM, Tuinier S, van Duijn CM. Plasma levels of nitric oxide related amino acids in demented subjects with Down syndrome are related to neopterin concentrations. *Amino Acids*. 2010;38(3):923-8.
232. Coppus AW, Fekkes D, Verhoeven WM, Tuinier S, Egger JI, van Duijn CM. Plasma amino acids and neopterin in healthy persons with Down's syndrome. *J Neural Transm (Vienna)*. 2007;114(8):1041-5.
233. Mehta PD, Capone G, Jewell A, Freedland RL. Increased amyloid beta protein levels in children and adolescents with Down syndrome. *J Neurol Sci*. 2007;254(1-2):22-7.
234. Mehta PD, Patrick BA, Dalton AJ, Patel B, Mehta SP, Pirttila T, et al. Increased serum neopterin levels in adults with Down syndrome. *J Neuroimmunol*. 2005;164(1-2):129-33.
235. Alanbay I, Mutlu Ercan C, Coksuer H, Sakinci M, Karasahin KE, Ozturk O, et al. Neopterin: a promising marker for the inflammation in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28(11):879-83.
236. Barutcuoglu B, Bozdemir AE, Dereli D, Parildar Z, Mutaf MI, Ozmen D, et al. Increased serum neopterin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Ann Clin Lab Sci*. 2006;36(3):267-72.
237. Group BDW. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(3):89-95.
238. Zhao X, Modur V, Carayannopoulos LN, Laterza OF. Biomarkers in pharmaceutical research. *Clin Chem*. 2015;61(11):1343-53.
239. Swenberg JA, Fryar-Tita E, Jeong YC, Boysen G, Starr T, Walker VE, et al. Biomarkers in toxicology and risk assessment: informing critical dose-response relationships. *Chem Res Toxicol*. 2008;21(1):253-65.
240. Fowler BA. Biomarkers in Toxicology and Risk Assessment. Andreas L, editor. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Basel: Springer Basel; 2012.
241. Ziegler A, Koch A, Krockenberger K, Grosshennig A. Personalized medicine using DNA biomarkers: a review. *Hum Genet*. 2012;131(10):1627-38.
242. Schroecksnadel K, Fiegl M, Prassl K, Winkler C, Denz HA, Fuchs D. Diminished quality of life in patients with cancer correlates with tryptophan degradation. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2007;133(7):477-85.
243. Sulo G, Vollset SE, Nygard O, Midttun O, Ueland PM, Eussen SJ, et al. Neopterin and kynurenine-tryptophan ratio as predictors of coronary events in older adults, the Hordaland Health Study. *Int J Cardiol*. 2013;168(2):1435-40.
244. Keegan MR, Chittiprol S, Letendre SL, Winston A, Fuchs D, Boasso A, et al. Tryptophan metabolism and its relationship with depression and cognitive impairment among HIV-infected individuals. *Int J Tryptophan Res*. 2016;9:79-88.
245. Palego L, Betti L, Rossi A, Giannaccini G. Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans. *J Amino Acids*. 2016;2016:13.

246. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations University. Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition. Geneva: World Health Organization; 2007.
247. Strasser B, Gostner JM, Fuchs D. Mood, food, and cognition: role of tryptophan and serotonin. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2016;19(1):55-61.
248. Tryptophan [Internet]. [Erişim Tarihi 11 Eylül 2017]. Erişim adresi: https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/t2610000?lang=en®ion=TR&cm_sp=Insite-_-prodRecCold_xorders-_-prodRecCold2-1
249. Strasser B, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Kynurenine pathway metabolism and immune activation: Peripheral measurements in psychiatric and co-morbid conditions. *Neuropharmacology*. 2017;112(Pt B):286-96.
250. Gershon MD. Review article: serotonin receptors and transporters -- roles in normal and abnormal gastrointestinal motility. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;20 Suppl 7:3-14.
251. Baganz NL, Blakely RD. A dialogue between the immune system and brain, spoken in the language of serotonin. *ACS Chem Neurosci*. 2013;4(1):48-63.
252. Kaye WH, Frank GK, Bailer UF, Henry SE, Meltzer CC, Price JC, et al. Serotonin alterations in anorexia and bulimia nervosa: new insights from imaging studies. *Physiol Behav*. 2005;85(1):73-81.
253. Silber BY, Schmitt JA. Effects of tryptophan loading on human cognition, mood, and sleep. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010;34(3):387-407.
254. Kepser LJ, Homberg JR. The neurodevelopmental effects of serotonin: a behavioural perspective. *Behav Brain Res*. 2015;277:3-13.
255. Oxenkrug G. Serotonin-kynurenine hypothesis of depression: historical overview and recent developments. *Curr Drug Targets*. 2013;14(5):514-21.
256. Shajib MS, Khan WI. The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015;213(3):561-74.
257. Chen Y, Guillemin GJ. Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states. *Int J Tryptophan Res*. 2009;2:1-19.
258. Fatokun AA, Hunt NH, Ball HJ. Indoleamine 2,3-dioxygenase 2 (IDO2) and the kynurenine pathway: characteristics and potential roles in health and disease. *Amino Acids*. 2013;45(6):1319-29.
259. Lovelace MD, Varney B, Sundaram G, Lennon MJ, Lim CK, Jacobs K, et al. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology*. 2017;112(Pt B):373-88.
260. Schrocksnadel K, Wirleitner B, Winkler C, Fuchs D. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clin Chim Acta*. 2006;364(1-2):82-90.
261. Yeung AW, Terentis AC, King NJ, Thomas SR. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in health and disease. *Clin Sci (Lond)*. 2015;129(7):601-72.

262. Salter M, Pogson CI. The role of tryptophan 2,3-dioxygenase in the hormonal control of tryptophan metabolism in isolated rat liver cells. Effects of glucocorticoids and experimental diabetes. *Biochem J.* 1985;229(2):499-504.
263. Guillemin GJ, Smythe G, Takikawa O, Brew BJ. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase and production of quinolinic acid by human microglia, astrocytes, and neurons. *Glia.* 2005;49(1):15-23.
264. Gostner JM, Becker K, Kofler H, Strasser B, Fuchs D. Tryptophan metabolism in allergic disorders. *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;169(4):203-15.
265. Byrne GI, Lehmann LK, Kirschbaum JG, Borden EC, Lee CM, Brown RR. Induction of tryptophan degradation in vitro and in vivo: a gamma-interferon-stimulated activity. *J Interferon Res.* 1986;6(4):389-96.
266. Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Jaeger H, Reibnegger G, Werner-Felmayer G, et al. Tryptophan degradation in patients infected by human immunodeficiency virus. *Biol Chem Hoppe Seyler.* 1988;369(5):337-40.
267. Widner B, Werner ER, Schennach H, Wachter H, Fuchs D. Simultaneous measurement of serum tryptophan and kynurenine by HPLC. *Clin Chem.* 1997;43(12):2424-6.
268. Laich A, Neurauter G, Widner B, Fuchs D. More rapid method for simultaneous measurement of tryptophan and kynurenine by HPLC. *Clin Chem.* 2002;48(3):579-81.
269. Cinici E, Palabiyik SS, Sipahi H, Baydar T. Nitrite, neopterin levels and tryptophan degradation in allergic conjunctivitis. *Int Ophthalmol.* 2017.
270. Maneglier B, Rogez-Kreuz C, Cordonnier P, Therond P, Advenier C, Dormont D, et al. Simultaneous measurement of kynurenine and tryptophan in human plasma and supernatants of cultured human cells by HPLC with coulometric detection. *Clin Chem.* 2004;50(11):2166-8.
271. Higuchi K, Hayaishi O. Enzymic formation of D-kynurenine from D-tryptophan. *Arch Biochem Biophys.* 1967;120(2):397-403.
272. Yamamoto S, Hayaishi O. Tryptophan pyrrolase of rabbit intestine. D- and L-tryptophan-cleaving enzyme or enzymes. *J Biol Chem.* 1967;242(22):5260-6.
273. Yoshida R, Nukiwa T, Watanabe Y, Fujiwara M, Hirata F, Hayaishi O. Regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase activity in the small intestine and the epididymis of mice. *Arch Biochem Biophys.* 1980;203(1):343-51.
274. Takikawa O. Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2,3-dioxygenase-initiated l-tryptophan metabolism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;338(1):12-9.
275. Ball HJ, Yuasa HJ, Austin CJD, Weiser S, Hunt NH. Indoleamine 2,3-dioxygenase-2; a new enzyme in the kynurenine pathway. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41(3):467-71.
276. Shemer Y, Sarov I. Inhibition of growth of *Chlamydia trachomatis* by human gamma interferon. *Infect Immun.* 1985;48(2):592-6.

277. Byrne GI, Lehmann LK, Landry GJ. Induction of tryptophan catabolism is the mechanism for gamma-interferon-mediated inhibition of intracellular *Chlamydia psittaci* replication in T24 cells. *Infect Immun*. 1986;53(2):347-51.
278. MacKenzie CR, Hadding U, Daubener W. Interferon-gamma-induced activation of indoleamine 2,3-dioxygenase in cord blood monocyte-derived macrophages inhibits the growth of group B streptococci. *J Infect Dis*. 1998;178(3):875-8.
279. MacKenzie CR, Hucke C, Muller D, Seidel K, Takikawa O, Daubener W. Growth inhibition of multiresistant enterococci by interferon-gamma-activated human uro-epithelial cells. *J Med Microbiol*. 1999;48(10):935-41.
280. Pantoja LG, Miller RD, Ramirez JA, Molestina RE, Summersgill JT. Inhibition of *Chlamydia pneumoniae* replication in human aortic smooth muscle cells by gamma interferon-induced indoleamine 2, 3-dioxygenase activity. *Infect Immun*. 2000;68(11):6478-81.
281. Schrotten H, Spors B, Hucke C, Stins M, Kim KS, Adam R, et al. Potential role of human brain microvascular endothelial cells in the pathogenesis of brain abscess: inhibition of *Staphylococcus aureus* by activation of indoleamine 2,3-dioxygenase. *Neuropediatrics*. 2001;32(4):206-10.
282. Adams O, Besken K, Oberdorfer C, MacKenzie CR, Takikawa O, Daubener W. Role of indoleamine-2,3-dioxygenase in alpha/beta and gamma interferon-mediated antiviral effects against herpes simplex virus infections. *J Virol*. 2004;78(5):2632-6.
283. Kai S, Goto S, Tahara K, Sasaki A, Kawano K, Kitano S. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase suppresses NK cell activity and accelerates tumor growth. *J Exp Ther Oncol*. 2003;3(6):336-45.
284. Uyttenhove C, Pilotte L, Theate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med*. 2003;9(10):1269-74.
285. Kita T, Morrison PF, Heyes MP, Markey SP. Effects of systemic and central nervous system localized inflammation on the contributions of metabolic precursors to the L-kynurenine and quinolinic acid pools in brain. *J Neurochem*. 2002;82(2):258-68.
286. Guillemin GJ, Brew BJ, Noonan CE, Takikawa O, Cullen KM. Indoleamine 2,3 dioxygenase and quinolinic acid immunoreactivity in Alzheimer's disease hippocampus. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2005;31(4):395-404.
287. Guillemin GJ, Kerr SJ, Brew BJ. Involvement of quinolinic acid in AIDS dementia complex. *Neurotox Res*. 2005;7(1-2):103-23.
288. Frumento G, Rotondo R, Tonetti M, Damonte G, Benatti U, Ferrara GB. Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Exp Med*. 2002;196(4):459-68.
289. Terness P, Bauer TM, Röse L, Dufter C, Watzlik A, Simon H, et al. Inhibition of allogeneic T cell proliferation by indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells: mediation of suppression by tryptophan metabolites. *J Exp Med*. 2002;196(4):447-57.

290. Thomas SM, Garrity LF, Brandt CR, Schobert CS, Feng GS, Taylor MW, et al. IFN-gamma-mediated antimicrobial response. Indoleamine 2,3-dioxygenase-deficient mutant host cells no longer inhibit intracellular *Chlamydia* spp. or *Toxoplasma* growth. *J Immunol.* 1993;150(12):5529-34.
291. Fujigaki S, Saito K, Takemura M, Maekawa N, Yamada Y, Wada H, et al. L-tryptophan-L-kynurenine pathway metabolism accelerated by *Toxoplasma gondii* infection is abolished in gamma interferon-gene-deficient mice: cross-regulation between inducible nitric oxide synthase and indoleamine-2,3-dioxygenase. *Infect Immun.* 2002;70(2):779-86.
292. Hansen AM, Ball HJ, Mitchell AJ, Miu J, Takikawa O, Hunt NH. Increased expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in murine malaria infection is predominantly localised to the vascular endothelium. *Int J Parasitol.* 2004;34(12):1309-19.
293. Larrea E, Riezu-Boj JI, Gil-Guerrero L, Casares N, Aldabe R, Sarobe P, et al. Upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase in hepatitis C virus infection. *J Virol.* 2007;81(7):3662-6.
294. Katz JB, Muller AJ, Prendergast GC. Indoleamine 2,3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunol Rev.* 2008;222:206-21.
295. Soliman H, Mediavilla-Varela M, Antonia S. Indoleamine 2,3-dioxygenase: is it an immune suppressor? *Cancer J.* 2010;16(4):354-9.
296. Widner B, Wirleitner B, Baier-Bitterlich G, Weiss G, Fuchs D. Cellular immune activation, neopterin production, tryptophan degradation and the development of immunodeficiency. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2000;48(4):251-8.
297. Widner B, Laich A, Sperner-Unterwieser B, Ledochowski M, Fuchs D. Neopterin production, tryptophan degradation, and mental depression--what is the link? *Brain Behav Immun.* 2002;16(5):590-5.
298. Oxenkrug GF. Interferon-gamma-inducible kynurenines/pteridines inflammation cascade: implications for aging and aging-associated psychiatric and medical disorders. *J Neural Transm (Vienna).* 2011;118(1):75-85.
299. Schrocksnadel H, Baier-Bitterlich G, Dapunt O, Wachter H, Fuchs D. Decreased plasma tryptophan in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1996;88(1):47-50.
300. Bipath P, Levay PF, Viljoen M. The kynurenine pathway activities in a sub-Saharan HIV/AIDS population. *BMC Infect Dis.* 2015;15:346.
301. Ploder M, Spittler A, Kurz K, Neutrauer G, Pelinka LE, Roth E, et al. Accelerated tryptophan degradation predicts poor survival in trauma and sepsis patients. *Int J Tryptophan Res.* 2010;3:61-7.
302. Huang A, Fuchs D, Widner B, Glover C, Henderson DC, Allen-Mersh TG. Serum tryptophan decrease correlates with immune activation and impaired quality of life in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2002;86(11):1691-6.
303. Weinlich G, Murr C, Richardsen L, Winkler C, Fuchs D. Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients. *Dermatology.* 2007;214(1):8-14.

304. Sperner-Unterweger B, Neurauter G, Klieber M, Kurz K, Meraner V, Zeimet A, et al. Enhanced tryptophan degradation in patients with ovarian carcinoma correlates with several serum soluble immune activation markers. *Immunobiology*. 2011;216(3):296-301.
305. Schrocksnadel K, Widner B, Bergant A, Neurauter G, Schennach H, Schrocksnadel H, et al. Longitudinal study of tryptophan degradation during and after pregnancy. *Life Sci*. 2003;72(7):785-93.
306. Schrocksnadel K, Winkler C, Fuith LC, Fuchs D. Tryptophan degradation in patients with gynecological cancer correlates with immune activation. *Cancer Lett*. 2005;223(2):323-9.
307. Ozkan Y, Mete G, Sepici-Dincel A, Sepici V, Simsek B. Tryptophan degradation and neopterin levels in treated rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol*. 2012;31(1):29-34.
308. Schrocksnadel K, Winkler C, Duftner C, Wirleitner B, Schirmer M, Fuchs D. Tryptophan degradation increases with stage in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2006;25(3):334-7.
309. Widner B, Sepp N, Kowald E, Ortner U, Wirleitner B, Fritsch P, et al. Enhanced tryptophan degradation in systemic lupus erythematosus. *Immunobiology*. 2000;201(5):621-30.
310. Ozkan Y, Sukuroglu MK, Tulmac M, Kisa U, Simsek B. Relation of kynurenine/tryptophan with immune and inflammatory markers in coronary artery disease. *Clin Lab*. 2014;60(3):391-6.
311. Koenig P, Nagl C, Neurauter G, Schennach H, Brandacher G, Fuchs D. Enhanced degradation of tryptophan in patients on hemodialysis. *Clin Nephrol*. 2010;74(6):465-70.
312. Karu N, McKercher C, Nichols DS, Davies N, Shellie RA, Hilder EF, et al. Tryptophan metabolism, its relation to inflammation and stress markers and association with psychological and cognitive functioning: Tasmanian Chronic Kidney Disease pilot study. *BMC Nephrol*. 2016;17(1):171.
313. Brandacher G, Cakar F, Winkler C, Schneeberger S, Obrist P, Bosmuller C, et al. Non-invasive monitoring of kidney allograft rejection through IDO metabolism evaluation. *Kidney Int*. 2007;71(1):60-7.
314. Hainz U, Obexer P, Winkler C, Sedlmayr P, Takikawa O, Greinix H, et al. Monocyte-mediated T-cell suppression and augmented monocyte tryptophan catabolism after human hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood*. 2005;105(10):4127-34.
315. Mukherjee D, Krishnamurthy VB, Millett CE, Reider A, Can A, Groer M, et al. Total sleep time and kynurenine metabolism associated with mood symptom severity in bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2017.
316. Reininghaus EZ, McIntyre RS, Reininghaus B, Geisler S, Bengesser SA, Lackner N, et al. Tryptophan breakdown is increased in euthymic overweight individuals with bipolar disorder: a preliminary report. *Bipolar Disord*. 2014;16(4):432-40.

317. Sublette ME, Galfalvy HC, Fuchs D, Lapidus M, Grunebaum MF, Oquendo MA, et al. Plasma kynurenine levels are elevated in suicide attempters with major depressive disorder. *Brain Behav Immun*. 2011;25(6):1272-8.
318. Maes M, Meltzer HY, Scharpè S, Bosmans E, Suy E, De Meester I, et al. Relationships between lower plasma L-tryptophan levels and immune-inflammatory variables in depression. *Psychiatry Res*. 1993;49(2):151-65.
319. Widner B, Leblhuber F, Walli J, Tilz GP, Demel U, Fuchs D. Tryptophan degradation and immune activation in Alzheimer's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2000;107(3):343-53.
320. Wissmann P, Geisler S, Leblhuber F, Fuchs D. Immune activation in patients with Alzheimer's disease is associated with high serum phenylalanine concentrations. *J Neurol Sci*. 2013;329(1-2):29-33.
321. Stoy N, Mackay GM, Forrest CM, Christofides J, Egerton M, Stone TW, et al. Tryptophan metabolism and oxidative stress in patients with Huntington's disease. *J Neurochem*. 2005;93(3):611-23.
322. Leblhuber F, Walli J, Jellinger K, Tilz GP, Widner B, Laccone F, et al. Activated immune system in patients with Huntington's disease. *Clin Chem Lab Med*. 1998;36(10):747-50.
323. Widner B, Leblhuber F, Fuchs D. Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *J Neural Transm (Vienna)*. 2002;109(2):181-9.
324. Laganovska G, Martinsons A, Pitrans B, Widner B, Fuchs D. Neopterin and kynurenine concentrations in aqueous humour of the anterior chamber of the eye and in serum of cataract patients with pseudoexfoliation. *Pteridines*. 2000;11(3):94.
325. Clarke G, Fitzgerald P, Cryan JF, Cassidy EM, Quigley EM, Dinan TG. Tryptophan degradation in irritable bowel syndrome: evidence of indoleamine 2,3-dioxygenase activation in a male cohort. *BMC Gastroenterol*. 2009;9:6.
326. Brandacher G, Winkler C, Aigner F, Schwelberger H, Schroecksnadel K, Margreiter R, et al. Bariatric surgery cannot prevent tryptophan depletion due to chronic immune activation in morbidly obese patients. *Obes Surg*. 2006;16(5):541-8.
327. Ljubojevic V, Gajanin R, Amidzic L, Vujkovic Z. The expression and significance of p53 protein and Ki-67 protein in pterygium. *Vojnosanit Pregl*. 2016;73(1):16-20.
328. Yilmaz N, Ustundag Y, Kivrak S, Kahvecioglu S, Celik H, Kivrak I, et al. Serum indoleamine 2,3 dioxygenase and tryptophan and kynurenine ratio using the UPLC-MS/MS method, in patients undergoing peritoneal dialysis, hemodialysis, and kidney transplantation. *Renal Failure*. 2016;38(8):1300-9.
329. Hestad KA, Engedal K, Whist JE, Farup PG. The relationships among tryptophan, kynurenine, indoleamine 2,3-dioxygenase, depression, and neuropsychological performance. *Front Psychol*. 2017;8:1561.
330. Frick B, Schroecksnadel K, Neurauter G, Leblhuber F, Fuchs D. Increasing production of homocysteine and neopterin and degradation of tryptophan with older age. *Clin Biochem*. 2004;37(8):684-7.

331. Capuron L, Geisler S, Kurz K, Leblhuber F, Sperner-Unterweger B, Fuchs D. Activated immune system and inflammation in healthy ageing: relevance for tryptophan and neopterin metabolism. *Curr Pharm Des.* 2014;20(38):6048-57.
332. Deac OM, Mills JL, Gardiner CM, Shane B, Quinn L, Midttun O, et al. Serum immune system biomarkers neopterin and interleukin-10 are strongly related to tryptophan metabolism in healthy young adults. *J Nutr.* 2016;146(9):1801-6.
333. Oxenkrug G. Interferon-gamma – inducible inflammation: contribution to aging and aging-associated psychiatric disorders. *Aging Dis.* 2011;2(6):474-86.
334. Reyes Ocampo J, Lugo Huitron R, Gonzalez-Esquivel D, Ugalde-Muniz P, Jimenez-Anguiano A, Pineda B, et al. Kynurenines with neuroactive and redox properties: relevance to aging and brain diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:646909.
335. Gerding H, Cremer-Bartels G, Krause K, Busse H. Neopterin in patients with choroidal melanoma. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1993;31(4):221-4.
336. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı. Meslek Hastalıkları Rehberi, Ankara: Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı; 2011.

7. EKLER

Ek-1: Etik Kurul Onayı



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 747

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 16 MAYIS 2017 SALI
Toplantı No : 2017/13
Proje No : GO 17/435 (Değerlendirme Tarihi: 16.05.2017)
Karar No : GO 17/435- 47

Üniversitemiz Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Terken BAYDAR' ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Özlem Evren KEMER, Doç. Dr. Gözde GİRGİN, Uzm. Dr. Aziz ÇARDAK ile birlikte çalışacakları ve Ecz. Bilge KILIÇARSLAN' ın doktora tezi olan, GO 17/435 kayıt numaralı, "*Pterijum Hastalarında Pteridin ve İlişkili Yolakların Değerlendirilmesi*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- | | |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten AKARSU (Başkan) | 10 Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU (Üye) |
| 2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU (Üye) | 11 Yrd. Doç. Dr. Özay GÖKÖZ (Üye) |
| 3. Prof. Dr. M. Yıldırım SAKA (Üye) | İZİNLİ |
| 4. Prof. Dr. Neçmettin SAKALAM (Üye) | 12. Doç. Dr. Gözde GİRGİN (Üye) |
| 5. Prof. Dr. Hatice Doğan BUZOĞLU (Üye) | 13. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR (Üye) |
| İZİNLİ | 14. Doç. Dr. Can Ebru KURT (Üye) |
| 6. Prof. Dr. R. Köksal ÖZGÜL (Üye) | 15. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN (Üye) | İZİNLİ |
| 8. Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN (Üye) | 16. Öğr. Gör. Dr. Müge DEMİR (Üye) |
| 9. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL (Üye) | 17. Öğr. Gör. Meltem ŞENGEL (Üye) |
| | İZİNLİ |
| | 18. Av. Meltem ONURLU (Üye) |

8. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı: Bilge KILIÇARSLAN

Doğum Yeri ve Tarihi: Mersin, 22.08.1988

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

İletişim Adresi ve Telefonu: Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye/ANKARA, (0555) 809 6995.

II. Eğitim

Eğitim	Kurum	Yıl
Doktora	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	2012-
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2006-2012
Lise	İçel Anadolu Lisesi	2002-2006

III. Mesleki Deneyim

Unvan	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2013-

IV- Bilimsel Faaliyetler

Yayınlar

- Girgin Gözde, Sipahi Hande, Saziye S Palabiyik, Kılıçarslan Bilge, Elif S Sarac, Baydar Terken (2014). Erythrocyte folate levels in occupational zinc exposed workers. Pteridines, 25(3-4), 75-8.
- Abdallah Mohammed Fathi, Karacaoğlu Elif, Girgin Gözde, Kılıçarslan Bilge, Selmanoğlu Güldeniz, Baydar Terken (2015). Influence of subacute melatonin treatment on antioxidant factors in the liver of female rats. Journal of Experimental and Applied Animal Sciences, 1(3), 359-68.

3. Baydar Terken, Kemer Özlem Evren, Kılıçarslan Bilge, Çardak Aziz, Girgin Gözde (2016). Detection of neopterin in tear samples. Pteridines, 27(1-2), 13-6.

Bildiriler

1. Kılıçarslan Bilge, Palabıyık Şaziye Sezin, Girgin Gözde, Baydar Terken (2014). Effect of Occupational Zinc Exposure on Erythrocyte Folate Levels. 33rd Winterworkshop on Clinical, Chemical and Biochemical Aspects of Pteridines, Doi: 10.1515/pterid-2014-0004 (Sözlü Sunum).
2. Abdallah Mohammed Fathi, Karacaoğlu Elif, Kılıçarslan Bilge, Girgin Gözde, Selmanoğlu Güldeniz, Baydar Terken (2015). Preliminary Investigation of Subacute Melatonin Treatment on Rats. 11. International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS) (Poster).
3. Abdallah Mohammed Fathi, Kılıçarslan Bilge, Girgin Gözde, Baydar Terken (2016). Determination of aflatoxin M1 in raw milk samples from Assiut city, Egypt. 38th Mycotoxin Workshop (Poster).
4. Abdallah Mohammed Fathi, Kılıçarslan Bilge, Girgin Gözde, Baydar Terken (2016). Multi mycotoxins occurrence in maize and animal feed from Assiut Governorate Egypt. 5. International Symposium on Mycotoxins and Toxicogenic Moulds: Challenges and Perspectives (Poster).
5. Kılıçarslan Bilge (2017). Environmental and Occupational Evaluation of Asbestos. ISEEP-2017 VIII. International Symposium on Ecology and Environmental Problems (Poster).
6. Kılıçarslan Bilge, Girgin Gözde, Çardak Aziz (2017). An Extraordinary Approach: Detection of Neopterin in Tear. 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2017) (Poster).
7. Kılıçarslan Bilge, Baydar Terken (2017). Toxicological and Environmental Evaluation of Aflatoxins. ISEEP-2017 VIII. International Symposium on Ecology and Environmental Problems (Poster).

Projeler

Tamamlanan Projeler:

1. Hayvan Yemleri ve Sütlerde Çeşitli Mikotoksin Düzeylerinin Saptanması. Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Destek Projesi. Proje Yöneticisi: Doç. Dr. Gözde Girgin, Proje Ekibi: Prof. Dr. Terken Baydar, Ecz. Bilge Kılıçarslan. Proje Kodu: 014 D06 301 002-620. Başlangıç Tarihi: 18.06.2014, Bitiş Tarihi: 26.08.2016. Bütçe: 16748,92 TL.

Devam Eden Projeler:

1. Pterijum Hastalarında Pteridin ve İlişkili Yolakların Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi, Hızlı Destek Projesi. Proje Yöneticisi: Prof. Dr. Terken Baydar, Proje Ekibi: Doç. Dr. Gözde Girgin, Ecz. Bilge Kılıçarslan. Proje Kodu: THD-2017-16538. Başlangıç Tarihi: 11.12.2017. Bütçe: 29957,62 TL.

Bilimsel Etkinliklere Katılım

1. II. Ulusal Geriatri ve Gerontoloji Kursu, 11-12.10.2012, Ankara.
2. Eczacılık Eğitiminde Yeni Hedef: Akreditasyon, 15.05.2013, Ankara.
3. I. Spor Sağlığı ve Doping Sempozyumu, 30.05.2013, Ankara.
4. Kozmetik Ürünlerin Güvenlilik Değerlendirmesi, 07-09.06.2013, Ankara.
5. EUROTOX Advanced Toxicology Course, 06-10.10.2013, Volos, Yunanistan.
6. 33rd Winter Workshop on Clinical, Chemical and Biochemical Aspects of Pteridines, 25-28.02.2014, Innsbruck, Avusturya.
7. Kozmetik Ürünlerde Teknik Dosya Hazırlanması, Testler ve Değerlendirmeler, 19.06.2014, Ankara.
8. Kozmetik Analizleri Konferansı, 04.12.2014, Ankara.
9. Laboratuvar Güvenliği Eğitim Programı, 17-18.10.2014, Ankara.
10. I. International Congress and Workshop of Forensic Toxicology, 29-30.11.2014, Ankara.
11. International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS), 09-12.06.2015, Ankara.

12. Geriatrik Bilimler Sempozyumu, 15-16.10.2015, Ankara.
13. 9th Congress of the Turkish Society of Toxicology with the participation of the Hellenic Society of Toxicology (TurkHelTox), 21-24.10.2015, İzmir.
14. IV. Toksikoloji Sempozyumu, 21-22.01.2017, Eskişehir.
15. Diyet İlacın, İlacın Diyetin Olsun (FABAD), 11.2.2017, Ankara.
16. Her Yönüyle Alkol (H.Ü. Madde ve Alkol Bağımlılığı Araştırma ve Uygulama Merkezi), 6.4.2017, Ankara.
17. Klinik Toksikoloji Kursu, 19-21.04.2017, Eskişehir.
18. ISEEP-2017 VIII. International Symposium on Ecology and Environmental Problems, 04-07.10.2017, Çanakkale.
19. 2nd International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS-2017), 11-13.10.2017, Ankara.

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

1. Türk Toksikoloji Derneği (TTD)
2. European Society of Toxicology (EUROTOX)
3. International Union of Toxicology (IUTOX)