

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TAVŞAN GÖZÜNDE DENEYSEL OLARAK
ENDOTOKSİNLE OLUŞTURULAN ÜVEİT MODELİNDE
FARKLI YOLLARLA UYGULANAN İNFLİXİMAB’IN
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ERDEM YÜKSEL**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. BERATİ HASANREİSOĞLU**

**ANKARA
EKİM 2010**

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TAVŞAN GÖZÜNDE DENEYSEL OLARAK
ENDOTOKSİNLE OLUŞTURULAN ÜVEİT MODELİNDE
FARKLI YOLLARLA UYGULANAN İNFLİXİMAB'IN
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ VE
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ
DR. ERDEM YÜKSEL**

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. BERATİ HASANREİSOĞLU**

2010/50 numaralı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi ile desteklenmiştir

**ANKARA
EYLÜL 2010**

TEŞEKKÜR

Oftalmoloji eğitimi ve disiplinini kazanmamdaki değerli katkılarından dolayı tüm hocalarıma; tezimi hazırlamada her aşamada göstermiş oldukları yardım ve destek için tez danışmanım Prof. Dr.Berati Hasanreisoglu'na; birlikte çalışmaktan her zaman zevk duyduğum tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam sürecinde zamanlarını, bilgilerini ve emeklerini benimle paylaşan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ayşe Bilgihan'a, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Güldal Yılmaz'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi; eşime ve dünyaya gelmesini büyük bir heyecanla beklediğimiz bebeğimize armağan ediyorum.

Dr. Erdem Yüksel

Ankara- 2010

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Üveitler	4
2.1.1. Ön üveitler	4
2.1.2. Orta Üveitler	5
2.1.3. Arka Üveitler	5
2.2. Gözün Bağışıklık Sistemi	6
2.2.1. İntraoküler Enflamasyon Mekanizmaları	10
2.3. Tümör Nekroz Faktör Alfa	11
2.4. Tümör Nekroz Faktör Alfa ve Üveit	13
2.5. Anti TNF-α Tedavisi	14
2.6. Anti-TNF Ajanlarının Lokal Kullanımı	18
2.7. Amaç	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. Alınan Proje Desteği ve Etik Kurul Onayı	21
3.2. Kullanılan Hayvanların Özellikleri	21
3.3. Tedavi Prosedürü	21
3.3.1. Anestezi	21
3.3.2. Tedavi Grupları	22
3.4. Hümör Aköz ve Vitreus Örneklerinin Elde Edilmesi	23
3.5. Ötanazi ve Enükleasyon	23
3.6. Tedavi Gruplarının Değerlendirilmesi	24
3.6.1. Klinik Değerlendirme	24
3.6.2. HA ve Vitreus Örneklerinde Protein konsantrasyonunun Değerlendirilmesi	25
3.6.3. HA ve Vitreus Örneklerinde TNF- α konsantrasyonunun Değerlendirilmesi	25
3.6.4. Enükleasyon Yapılan Gözlerin Histopatolojik Değerlendirilmesi	26
3.7. Verilerin İstatistiksel Değerlendirmesi	27

4. BULGULAR	28
4.1. Klinik Değerlendirme	28
4.2. Verilerin İstatistiksel Değerlendirmesi	31
4.3. HA ve Vitreus TNF-α Değişiklikleri	33
4.4. Histopatolojik Değişiklikler	35
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	47
7. KAYNAKLAR	48
8. ÖZET	52
9. SUMMARY	54
10. ÖZGEÇMİŞ	56

Tablo 1. Çalışma gruplarının özellikleri	23
Tablo 2. Aköz ve Vitreus Ortalama Protein düzeyi	32
Tablo 3. Ortalama Aköz ve Vitreus TNF- α düzeyi	34
Tablo 4. Gruplara ait histopatolojik derecelendirme	38
Resim 1 ve 2. LPS enjeksiyonundan ve LPS-Sham enjeksiyonundan 24 saat sonra ön kamarada şiddetli flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi	28
Resim 3. a) İntravitreal infliximab enjeksiyonu öncesi ön kamarada şiddetli flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi b) İntravitreal infliximab enjeksiyonundan 24 saat sonra, ön kamarada; flare, fibrinöz reaksiyon ve iris hiperemisinin azalması	29
Resim 4. a) İntravenöz infliximab infüzyonu öncesi ön kamarada şiddetli flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi b) İntravenöz infliximab infüzyonundan 24 saat sonra, ön kamarada; flare, fibrinöz reaksiyon ve iris hiperemisinin azalması.	29
Resim 5. a) İntravitreal infliximab enjeksiyonu-intravenöz infliximab infüzyonu öncesi ön kamarada flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi b) İntravitreal infliximab enjeksiyonu-intravenöz infliximab infüzyonundan 24 saat sonra, ön kamarada; flare, fibrinöz reaksiyon ve iris hiperemisinin azalması.	30
Resim 6. 1. Grup, LPS enjeksiyonu sonrası 48. saat, HE ile boyanmış kesitler (x100) a) Silier proseslerde şiddetli nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu ile interstisyel dokuda ödem (Grade 4), b) Şiddetli retinal enflamasyon (Grade 4).	36
Resim 7. 2. Grup, sham enjeksiyonunun 24. saati, HE ile boyanmış kesitler (x100) a) Silier proseslerde şiddetli nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu ile interstisyel dokuda ödem (Grade 4), b) Şiddetli retinal enflamasyon (Grade 4).	36
Resim 8. 3. Grup, intravitreal infliximab enjeksiyonunun 24. saati, HE ile boyanmış kesitler (x100) a) Silier proseslerde, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda minimal azalma (Grade 3), b) Şiddetli retinal enflamasyon (Grade 4).	36
Resim 9. 4. Grup, intravenöz infliximab infüzyonunun 24. saati, HE ile boyanmış kesitler (x100) a) Silier proseslerde, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda azalma (Grade 2), b) Retinal enflamasyonda gerileme (Grade 2).	37
Resim 10. 5. Grup, intravitreal infliximab enjeksiyonu ve intravenöz infliximab infüzyonu sonrası 24. saat, HE ile boyanmış kesitler (x100) a) Silier proseslerde, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda azalma (Grade 2), b) Retinal enflamasyonda gerileme (Grade 2-3).	37
Grafik 1. Klinik Değerlendirme Skoru.	30
Grafik 2. Aköz ve Vitreus Protein Düzeyleri.	32
Grafik 3. Aköz ve Vitreus TNF- α düzeyindeki değişiklikler.	35

KISALTMALAR

anti-VEGF: anti-vasküler endotelyal growth faktör

BSA : standart çözelti

EIU : endotoksinle indüklenen üveit

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

HA : hümor aköz

HE : hematoksilen-eozin

ICAM : intercellular adhesion molecule

İV : intravitreal

kD : kiloDalton

kg : kilogram

KMÖ : kistoid makula ödemi

LPS : lipopolisakkarid

mg : miligram

µg : mikrogram

µL : mikrolitre

mm : milimetre

Nm : nanometre

NO : nitrik oksitin

Pg : pikogram

PPD : purified protein derivative

TNF-α : tümör nekroz faktör-alfa

TNFR : tümör nekroz faktör-alfa reseptörü

1. GİRİŞ

Üveit; gözün damar tabakası olan üveanın (iris, silier cisim ve koroid) primer olarak etkilendiği, bu yapılara vitreus, retina ve optik disk gibi çevre dokuların da iştirak edebildiği göz içi enflamasyonu olarak tanımlanır.

Son zamanlarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, üveit insidansı; genel popülasyonda 14-52/100,000 şeklinde belirtilmiş olup, prevalansı 1/1000'dür. Üveit, genel olarak 20-50 yaş arası popülasyonu etkilemekte olup, 10 yaşından küçük çocuklarda ve 70 yaşından büyük erişkinlerde nadir olarak görülür [1, 2]. Üveitin orta yaş grubunu etkilemesi sosyoekonomik bir problem haline getirmekle birlikte, üveit; kistoid makula ödemi, katarakt, glokom gibi ciddi sekillere neden olması legal körlüklerin %5-20 gibi önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Bu nedenle intraoküler enflamasyon fizyopatolojisini anlamaya ve tedavisini geliştirmeye yönelik çalışmalar halen devam etmektedir.

Endotoksinle indüklenen üveit (EIU); deney hayvanlarına çeşitli yollarla (intravenöz, intraperitoneal, intravitreal) sublethal dozda lipopolisakkarid (LPS) verilmesiyle genelde 24 saat sonra ortaya çıkan göze lokalize enflamatuvar cevapla karakterize akut fakat geçici olaydır. İlk olarak Lewis ratlarında gösterilmesine rağmen bugün birçok hayvana uygulanabilmektedir. EIU bir akut ön üveit modeli olup bu hastalığın hem patofizyolojisinin değerlendirilmesinde hem de potansiyel tedavi seçeneklerinin araştırılmasında kullanılmaktadır [3].

“Tümör nekroz faktör” (TNF- α), ilk olarak 1975 yılında, Carswell ve arkadaşları tarafından yapılan hayvan çalışmalarında, retiküloendotelyal

sistemlerinin uyarılması sonucunda saptanmıştır [4]. Bu proteinin, tümör dokularında çok hızlı bir şekilde nekrotik regresyona yol açtığı gösterilmiş, bu sebeble “tümör nekroz faktör” olarak adlandırılmıştır. TNF- α ’nın, biyolojik fonksiyonları çok değişkendir ve aktiveleşme mekanizması oldukça karmaşıktır. TNF- α ; endotoksinler, immün kompleksler, toksinler, fiziksel travma ve bazı enflamatuar mediatörler tarafından stimüle edilen makrofajlar, doğal öldürücüler ve T lenfositler tarafından sentezlenir ve birçok enflamatuar bozukluğun patogeneğinde, apoptoziste, hücre ömründe ve bağışıklıkta proenflamatuar sitokin olarak anahtar görevindedir [5]. TNF- α , endotelde “endotelial aktivasyon” olarak isimlendirilen bir grup değişkenliği stimüle eder. Bu değişkenlikler, adezyon moleküllerinin artması, bazı sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin sekresyonu, eikozanoidlerin ve nitrik oksit (NO) sentezlenmesi ve endotel trombojenitesinin artmasıdır. Ayrıca, TNF- α ; nötrofillerin agregasyonu ve aktivasyonunu stimüle eder; mezenkimal hücrelerden proteolitik enzimlerin salınımını uyararak doku hasarına neden olur, enfeksiyonlara ya da yaralanmalara eşlik eden sistemik akut faz reaksiyonlarının uyarır. Bu sistemik akut faz reaksiyonları; ateş, yorgunluk, karaciğerden bazı proteinlerin sentezi, metabolik yıkım olayları (kaşeksi), nötrofillerin dolaşıma katılımı, kortikosteroid sentez ve salınımının artmasına neden olan adrenokortikotropik hormonlarının salınmasıdır.

TNF- α ; bir çok oküler hastalıkta önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, TNF- α ’nın proenflamatuar özelliğinden dolayı gözdeki anjiogeneziste, yaşa bağlı neovasküler maküler dejeneresansında ve proliferatif vitreoretinopatide önemli patojenik role sahip olduğu gösterilmiştir [6-8].

EIU modelinde; iris kan damarlarında dilatasyon, kan-oküler bariyerde bozulma, damar geçirgenliğinde artış, plasma proteinlerinin sızıntısı, ön uveal dokulara enflamatuar hücrelerin infiltrasyonu, aköz hümörde sitokinlerin kemokinlerin, prostaglandinlerin, lökotrienlerin ve oksijen serbest radikallerin artmış olduğu izlenir. EIU patogenezinin birçok proenflamatuar mediatörün ilişkili olduğu düşünülse de, TNF- α , erken, kritik ve çok önemli rol oynamaktadır [8, 9]. TNF- α 'nın lokal enjeksiyonu, endotoksin enjekte edilen gözlerle benzer özellikler göstermektedir ve bu, TNF- α 'nın; adezyon moleküllerinin upregülasyonunu sağlayarak lökosit infiltrasyonunun başlatması, dendritik hücrelerin olgunlaşması, makrofajların aktivasyonu ve tip 1 yardımcı T hücrelerinin cevabını sağlaması ile açıklanmaktadır [10]. Hayvanlarda oluşturulan EIU modeli, insanlardaki akut üveit ile benzerlik göstermektedir ve insanlardaki üveit tedavisinin alternatifleri açısından araştırmacılara yardımcı olmaktadır. Oftalmolojide son zamanlarda, üveit tedavisinde, yapılan çalışmalar sonucunda, TNF- α aktivasyonunu hedef alan tedavilere ilgi artmaktadır. Fare-insan şimerik IgG1 antikoru olan Infliximab bu ajanlardan bir tanesidir. Yakın zamanda yayınlanmış çalışmalarda, sistemik infliximab'ın ön ve arka üveitte etkili olduğu gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar, sistemik olarak uygulanan infliximab'ın ciddi yan etkilerinden korunmak için, deneysel olarak oluşturulmuş üveit modellerinde infliximab'ı göz içine lokal olarak uygulamış ve etkili olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada, sistemik ve/veya lokal olarak infliximab tedavisi uygulandıktan sonra; hümör aközde ve vitreusta, TNF- α ve protein konsantrasyonunda meydana gelmiş değişiklikler ile histopatolojik değişiklikler ve bu değişikliklerde iki tedavi arasındaki farklılıklar araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Üveitler

Üvea sözcük olarak, Yunanca'da üzüm anlamına gelen “uva”dan gelmekte olup gözün kanlanması sağlayan iris, silier cisim ve koroid dokularını tanımlamaktadır. Üveit ise üvea dokusunun enflamatuvar hastalığı olarak tanımlanabilir. Üveit terimi günümüzde sadece üveyayı değil aynı zamanında çevre dokuları (vitreus, retina, optik disk) da etkileyebilen göz içi enflamasyonu tanımlamaktadır.

Üveit sınıflandırması birçok şekilde yapılabilmektedir. Hastalığın kliniği, anatomik lokalizasyonu, etyolojisi, ve patolojisi göz önünde bulundurularak çeşitli üveit sınıflanmaları yapılabilmektedir. Buna göre akut-kronik, eksojen-endojen, ön-orta-arka-pan ve granülomatöz-nongranülomatöz deyimleriyle ifade edilen sınıflandırmalar mevcuttur.

Literatürde en sık yapılan sınıflandırma, inflamasyonun yerleştiği anatomik bölgeye göre yapılan sınıflandırmadır [11]. Fakat çoğu hastalık, seyri sırasında birbirinin içine geçen bulgularla seyretmekte bu da sınıflandırmada güçlükler doğurmaktadır. Örneğin, arka üveit olarak sınıflandırılan bir hastalık seyri esnasında ön üveit bulgularını da gösterebilmektedir. Üveit tablosunun tanı, takip ve tedavisinde böyle bir sınıflama faydalı olsa da, bu sınıflamaların kesin sınırlarla birbirlerinden ayıramadığı bilinmelidir.

2.1.1 Ön Üveitler

Primer olarak iris ve silier cismin ön kısmının tutulduğu üveittir. Başlıca semptomları olan kızarıklık, sulanma, fotofobi, görme azalması ve ağrı, göz dışı

enflamasyonlarda da görülebildiği için hastalığın tanınması ve ayırıcı tanısının yapılması önemlidir.

2.1.2 Orta Üveitler

Esas olarak retina ve koroidin uç perifer noktaları ile silier cismin arka kısmını tutan üveit tipidir. Enflamasyonun vitreusta belirgin olduğu kronik üveitlerdir. Bununla birlikte, ön segment, retina, optik disk gibi yapılar da mevcut enflamasyondan etkilenebilmektedir.

Hastalar tipik olarak görmede azalma ve uçuşan noktalar görme (floaters) yakınmasıyla başvurur. Seyrek olarak ağrı, kızarıklık ve fotofobiden yakınır. Hastalar, kistoid makula ödeme (KMÖ) bağlı görme azlığı şikayetiyle de kliniğe başvurabilmektedir. Ön segment; muayenede sakın olup hücre sayısı +2'yi geçmez ve sineşi nadiren görülür. Enflamasyonun şiddetiyle korele vitritis tablosu izlenebilir. Bazen vitreustaki enflamuar hücreler bir araya gelerek vitreus tabanı ve pars plana bölgesine çökebilir (snow banks). Periferik venüllerde periflebitik değişiklikler ve pars plana üzerinde gevşek fibrovasküler membranlar izlenebilir.

Çoğu hastada izole göz hastalığı olarak ortaya çıkan orta üveitler bazen bir sistemik hastalığın göz tutulumu şeklinde ortaya çıkmaktadır. Orta üveit tablosunun eşlik ettiği bu sistemik hastalıklar; Sarkoidoz, Lyme hastalığı, Multiple Sklerozis, Bağ dokusu hastalıkları, Sifiliz, Tüberküloz ve Whipple hastalığıdır.

2.1.2 Arka Üveitler

Vitreus tabanının arka sınırının gerisinde lokalize olan üveit tipidir. Hastalar kliniğe genellikle görme azalması veya uçuşma şikayetiyle başvururlar. Fovea ve

papillomaküler demeti tutan aktif koroiditi olan hastanın öncelikle görme kaybı şikayeti olurken, daha periferdeki lezyon floaters şikayetine neden olur.

Bununla birlikte, üveit hastalarını değerlendirirken sistemik semptomların göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Çünkü, üveit, sistemik hastalıkların ilk belirtisi olabilmekle birlikte Behçet hastalığındaki gibi hastalığın kesin tanısının konulmasında da rol oynayabilir. Bu nedenle, üveit muayenesi yapan doktor tarafından, üveit ile ilişkili olabilecek sistemik semptomlar ve bulgular mutlaka sorgulanmalıdır.

2.2 Gözün Bağışlık Sistemi

Göz, hem oküler yüzey vasıtasıyla dış çevre ile direkt teması olduğu için, hem de iç bölümleri kan kaynaklı patojenlere açık olduğu için sürekli enflamatuvar ajanlara maruz kalır fakat bunların birçoğunu anatomik veya fonksiyonel bütünlüğünde değişim olmaksızın savuşturma kabiliyetine sahiptir.

Gözün kendine has bir immun yapısı vardır. Bunun nedeni, organın fonksiyonlarını ve yapısını korumak için sahip olduğu, göz içi enflamasyonu kontrol eden çeşitli mekanizmaların bulunmasıdır. Gözde bu farklılığın oluşması; 1. Kan-doku bariyeri 2. Lenfatik drenajın olmaması 3. Dolaşım sistemine göziçi sıvının drenajı 4. Parenkimal hücrelerde MHC 1 ve 2 moleküllerinin az miktarda ekspresyonu nedeniyledir. Gözdeki immun yanıtı kontrol eden diğer yapılar;

1. Kompleman İnhibisyonu: Kompleman sistemini kontrol eden membran kofaktör protein, CD 59 gibi faktörler göz dokularında tespit edilmiştir. Bu moleküllerin esas görevi, göz yapılarını komplemana bağımlı oluşan yıkımdan korumaktır.

2. Klonal Delesyon: İris, silier cisim, kornea ve retinada Fas ligandlar sürekli üretilmektedir. Doku greftleri ile yapılan in vivo çalışmalarda ve doku kültürlerinde, dokudaki Fas ligandların, bu bölgeye giren antijen tanıyan Fas-T lenfositlerinin yıkımına yol açtığı gösterilmiştir.
3. Klonal Aneji: Hümor aközde (HA), TGF- β 2 (T ve B hücre proliferasyonunu güçlü inhibe eder), serbest kortizol, IL-1 reseptör antagonisti gibi birçok immunomodulator molekül bulunmaktadır. Uyarılmış T lenfositleri aköz içerisinde kültüre edilip antijene maruz bırakıldığında proliferasyon olamamakta ve INF- γ gibi mediatörler sentezleyememektedir. Ortama TGF- β 2 reseptörü serbest TGF- β 2'yi inhibe etmek için konulduğunda normal INF- γ üretimi başlamaktadır.
4. İmmun Deviasyon: Ön kamarasına allojenik tümör hücreleri konan fareler allojenik donörden alınmış cilt greftini reddetme yeteneğini kaybetmektedir. Allojenik dokuya karşı gerçekleştirilecek ola geç tipte doku hipersensitivite reaksiyonu durdurulmaktadır. Yapılan son çalışmalarda, ön kamaraya yabancı protein enjeksiyonunun oküler immun sistemini yardımcı T₂ veya hümoral yanıtı doğru kaydırđıėı görülmüştür.
5. T-hücre süpresyonu:   n kamara ile ilişkili sapma (Anterior chamber-associated deviation (ACAID)) oluşturulmuş farelerde ACAID oluşturulan T hücrelerini içeren dalakların başka farelere nakledilmesi bu farelerde de antijene karşı gecikmiş hipersensitivite reaksiyonunun oluşmasını engellemektedir.   n kamaraya yerleştirilmiş olan antijen immun sistemin gecikmiş tipte immun yanıtı engelleyecek tarzda antikor   retmesine neden olmaktadır. Deneysel çalışmaların sonucunda, gözde eriyen bir sinyal yada

antijene bağı APC kana karışınca dalağa gitmektedir. Dalakta ACAID düzenleyen CD8 markırı taşıyan T hücreleri oluşmaktadır. Bunların bazıları TGF- β salgılamakta ve CD4+ T hücre aktivasyonunu lokal ve sistemik olarak engellemektedir. ACAID’de göz ve dalağın ortak fonksiyonunu gösteren çalışmalarda, antijenin ilk verilmesinden sonra 3 gün içerisinde göz veya dalağın alınması ACAID yanıtının oluşmasını engellemektedir.

HA dolaşımı, özellikle sitokinlerin ve bağışıklık hücrelerinin dolaşması, iris-silier cisim-kornea endoteli arasında iletişimin sağlanması açısından önemlidir. HA, kandakinin %1’i kadar protein bulundursa da ön kamaranın immün imtiyazında rol alan çeşitli immunosupresif sitokinler, nöropeptidler ve kompleman inhibitörleri bulundurmaktadır.

Ön kamarada oluşan bir enflamatuar yanıt, vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi meydana gelseydi belki enflamatuar etken hızlı ve şiddetli bir cevap ile etkin bir şekilde gözden uzaklaştırılacaktı ancak oluşan şiddetli enflamatuar yanıt yerel dokulara çok fazla hasar verecek ve gözde önemli fonksiyonel kayba neden olabilecekti. Bunu önlemek için vücutta, sadece ön kamaraya özgü ve normal bağışık yanıtın by-pass edilerek daha sessiz ama etkin olmasını sağlayan bir yol gelişmiştir. Ön kamaradaki bir antijen, bağışıklık sistemine lenfatik yol yerine Schlemm kanalı yoluyla sunulmaktadır. Bu durumda ise humoral immüitenin baskın olduğu ve hücrel immüitenin zayıf kaldığı bir immünolojik sapkın yanıt oluşmaktadır. Sonuç olarak ACAID, yani kompleman fikse edici antikor sentezleyen B hücrelerinin ve gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonuna aracılık eden T hücrelerinin inhibe edildiği, kompleman fikse etmeyen antikor sentezleyen B hücrelerinin ve sitotoksik T hücrelerinin ise desteklendiği ve ek

olarak dalak kaynaklı T reglatuar lenfositler ile karakterize bir immünite hali ortaya çıkar. Böylece seçici immün yanıt oluşurken görme korunur.

Üvea, alenfatik globun vasküler mimarisini oluşturmakta olup birçok immunolojik reaksiyon tarafından hedef alınmasına neden olan bazı özelliklere sahiptir. Koroidin bruch membranında ve koroidal stromada oldukça yoğun elastik doku bulunmaktadır. Kimyasal yapı ve fiziksel özellikler bakımından oküler dokular, eklem dokuları ile benzeşmektedir. Bu benzerlikler bazı üveitik sendromlarda her iki dokunun da yer almasını açıklayabilir.

Koroidin homojen temel yapısı, özellikle damarlar etrafında ve interkapiller ile subkapiller bölgelerde büyük miktarda elastik ve kollajen materyal içerir. İnterstisyel doku içerisinde mast hücreleri, plazma hücreleri, lenfositler ve fagositler bulunur. Pek çok melanosit ve fibroblast da damarlarla birlikte koroidal stromada yer alır. Koriokapillaris, retina pigment epitelinden (RPE) ayıran Bruch zarı, besin maddelerini geçirecek ve artık maddeleri uzaklaştıracak yapıdadır. Bileşimi dolayısıyla elastik ve kollajen dokuları etkileyen hastalıkların da hedefi durumundadır. Dış koroid daha büyük damarlara sahip olup ayrıca sinir pleksusları, ganglion hücreler, arterioller, küçük arter ve venüller, melanositler, makrofajlar ile mast hücreleri içerir. Koroid mast hücreleri bakımından çok zengin olup diğer tüm dokulardan daha fazla mast hücresi içerir. Mast hücreleri ile üveal fonksiyon arasındaki ilişki net olmayıp bu durumun muhtemelen rekürren üveal enflamasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir.

İris ve silier cisimde bol miktarda APC (makrofajlar ve dentritik hücreler) bulunmakta olup antijenik uyarı ile trabeküler ağdan gözü terk ederek ACAID cevabını oluştururlar.

Üveal doku ile yakın komşuluğu olan vitreus, kandan anatomik izolasyonu ve elektrostatik olarak yüklü proteinleri bağlayabilme özelliği nedeniyle bir antijen deposu işlevi görür. Aynı zamanda lökositlerin bağlanması için substrat olarak davranmaktadır. Vitrede tip 2 kollagen bulunması, artritlerle ilişkili çeşitli üveitlerde eklemlerle ortak bulunan tip 2 kollagen, nedeniyle otoantijen deposu görevi görmesine neden olur.

2.2.1 İntraoküler Eflamasyon Mekanizmaları

İntraoküler enflamasyonlar; travma, enfeksiyon gibi eksojen nedenlerle veya büyük çoğunluğunu patogenezi henüz tam aydınlatılamadığı otoimmün mekanizmaların oluşturduğu endojen yolla gelişebilir. Gözün dış yüzü, koruyucu ve immünolojik bir bariyer olan konjonktiva ile iç kısmı ise ön kamara ve retinaya makromoleküllerin girmesini önleyen vasküler yapıya sahip kan göz bariyeriyle sarılmıştır. Kan-aköz bariyeri nonpigmente epitel hücreleri arasındaki zonula occludens ve iris damarlarındaki endotel tarafından oluşturulmaktadır.

İnflamasyon gözde kan-aköz ve kan-retina bariyerinin kırılmasına neden olarak geçirgenlik artışına yol açar. Bu durum, enflamatuar hücrelerin ve makromoleküllerin vitreusa, subretinal alana, ön kamaraya geçişine, enflamatuar hücrelerce salınan sitokin ve kemokinler daha fazla hücrenin bölgeye gelmesine ve enflamasyonun şiddetlenmesine yol açar. Kan aköz bariyerinin kırılması intraoküler enflamatuar olaylarda en önde gelen etkilerden biridir. Örneğin endotoksin

enjeksiyonunu takiben 1-6 saat içinde kan aköz bariyerinin bozulduğu ve HA protein konsantrasyon artışı olduğu izlenmiştir. Bu olay birkaç gün göz içine hücre akışına neden olur.

Deneysel üveitlerin immunohistolojik incelemelerinde enflamasyonun erken döneminde baskın hücre tipini T hücrelerin oluşturduğu bununla birlikte makrofajlar ve lökosit gibi diğer enflamatuvar hücrelerin de göç ettiği izlenmiştir. Enflamatuvar hücrelerin yanı sıra bu hücreler arasındaki iletişimden sorumlu poplipeptidler olan sitokinler (IL-1, IL-4, IL-6, IL12, TNF- α , TGF- β , interferon- γ) bulunmaktadır. Sitokinlerin etkisi ile kan aköz engeli hızla bozulmakta ve göz içine lökosit göçü ve protein sızıntısı hızla artmaktadır. Bölgeye göç eden lenfositler ve lökositler vasküler endotele ‘intercellular adhesion molecule’ (ICAM-1) aracılığı ile yapışmaktadır.

2.3 Tümör Nekroz Faktör Alfa

“Tümör nekroz faktör” (TNF- α), ilk olarak 1975 yılında, Carswell ve arkadaşları tarafından yapılan hayvan çalışmalarında, retiküloendotelial sistemlerinin uyarılması sonucunda saptanmıştır [4]. Bu proteinin, tümör dokularında çok hızlı bir şekilde nekrotik regresyona yol açtığı gösterilmiş, bu sebeble “tümör nekroz faktör” olarak adlandırılmıştır. TNF- α ’nın, biyolojik fonksiyonları çok değişkendir ve aktifleşme mekanizması oldukça karmaşıktır. Bu protein, bir yanda enfeksiyonlara karşı direnç sağlarken, diğer yanda patolojik komplikasyonlara yol açmaktadır. TNF- α ’nın bu özelliği, birçok metabolik yolla ilişkili olması ile açıklanabilir. İlginç olarak, TNF- α geni yoksunlaştırılmış fare çalışmalarında leishmania’ya karşı direnç gelişmediği, dalakta germinal merkez oluşmadığı

gösterilmiştir. Bununla birlikte, farelerde TNF reseptörü (TNFR) yoksunlaştırıldığında, mikrobik enfeksiyonlara karşı artmış duyarlılığın ve bakteriyel endotoksinlere karşı azalmış enflamatuvar cevabın olduğu izlenmiştir.

TNF- α ; vücutta, immunstimülasyon, enfeksiyon ajanlarına ve tümör oluşumuna karşı direnç, uyku düzenlenmesi ve embriyonik gelişimi gibi teropatik görevleri vardır. Bunun yanında, TNF- α sayesinde; parazitik, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar çok daha zarar verici ve öldürücü hale gelmektedir. TNF- α , enfeksiyonlara karşı direnci sağlayan en önemli mediatördür ve deneysel leishmaniasisde TNF- α yokluğunun ilerleyici hastalık ve ölümle sonuçlandığı gösterilmiştir. TNF- α , enfeksiyonlara karşı direnci, nötrofil ve platelet aktivasyonu, makrofaj/doğal öldürücü hücrelerin öldürme yeteneklerini artırması ve immun sistemi uyarması ile sağlamaktadır. Ayrıca, TNF- α ; graft versus host hastalığı, romatoid artrit gibi birçok otoimmun hastalıkta patolojik rol oynamaktadır. Bunlara ek olarak, TNF- α interferon ile birlikte malign hücelere karşı sitotoksiktir. Yapılan çalışmalarda, TNF- α 'nın fizyolojik uyku düzeni üzerine de etkisi olduğu gösterilmiştir. TNF- α ekzojen olarak verildiğinde uykuyu arttırırken, TNF- α 'nın azaltıldığı durumlarda spontan uykuda azalma olduğu görülmüştür. Normal embriyonik gelişimde, TNF- α , apoptozisi sağlamaktadır.

TNF- α etkisini, birçok hücre membranında bulunan yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak gösterir. Ligand/reseptör kompleksinin etkisi, klatrin ile kaplı çukurcuklar yardımıyla hızlıca başlar ve ikincil lizomların parçalanmasıyla sonuçlanır. TNF- α ile ilişkili hücre ölümü ve sitotoksiste, 75kDa TNFR-2'den ziyade, 55kDa TNFR-1'e bağlanmasıyla gerçekleşir. 75kDa TNFR-2 reseptörü ile TNF- α , lenfoid hemostasisini ve lenfoid dokuların devamlılığını sağlar. TNF- α 'nın

reseptörüne bağlanması ile birçok ikincil proteinler (G-protein, transkripsiyon proteinleri (NF- κ B, AP-1), protein kinazlar (fosfolipaz A₂, fosfolipaz C, fosfolipaz D ve sfingomyelinaz), mitokondriyel proteinler (mangnanaz süperoksit dismutaz), kaspazlar (serin ve sistein proteazlar)) aktive olur ve sonucunda gen transkripsiyonu ve/veya reaktif oksijen ve nitrojen (örn. NO) üretimi gerçekleşir. TNF- α , reseptöre bağlanamadığı durumlarda ve düşük PH'lı ortamlarda fonksiyonel iyon kanalı olarak değişikliğe uğrar ve birçok farklı fonksiyona sahiptir. Bunlara ek olarak, TNF bağlanması, birçok anyon/kasyon kanal aktivitesini düzenleyerek nekroz/apoptoza yol açıp hücre hacminde değişikliğe yol açar.

2.4 TNF- α ve Üveit

Pleotrofik sitokin olan TNF- α ; enflamatuvar cevap sırasında, makrofajlar ve T lenfositleri tarafından salgılanır ve adezyon moleküllerinin upregülasyonunu sağlayarak lökosit infiltrasyonuna, dentritik hücrelerin olgunlaşmasına ve sağ kalımına, makrofaj aktivasyonuna ve dokularda Th1 T hücrelerin cevaplarının yönlendirilmesini sağlar. TNF- α , ayrıca, retina hücreleri olan mikroglia, retina pigment epitel ve Müller hücrelerinden de salgılanır ve bu doku homeostasisinde önemlidir. Tavşan ve farelerde yapılan EIU modellerinde, TNF- α , erken, kritik ve çok önemli bir rol oynamaktadır [9, 12] . TNF- α 'nın lokal enjeksiyonu sonrasında, endotoksin enjekte edilen gözlerle benzer özellikler gibi yüksek miktarda lökosit infiltrasyonu ve protein sızıntısı olduğu görülmüştür. Dokularda artmış TNF konsantrasyonu, devam eden T hücre efektör cevabını ve makrofaj aktivasyonunu kolaylaştırdığı izlenmiştir. TNF'in enflamasyondaki bu rolü, doku hasarından sorumlu olduğu ve anti-TNF tedavilerin, özellikle de p55 TNF resöptörüne etki yapanların, doku hasarını azaltacağı düşünülmektedir.

2.5 Anti TNF- α Tedavisi

TNF- α , enfeksiyöz olmayan üveit gibi birçok enflamatuvar bozukluğun patogeneğinde rol oynayan pro-enflamatuvar bir sitokindir. TNF- α 'nın enfeksiyöz olmayan arka üveitlerde anahtar rol oynadığı birçok deneysel otoimmün üveoretinit çalışmalarında gösterilmiştir ve üveiti olan hastaların gözlerinden alınan vitreus ve aköz örneklerinde yüksek TNF- α düzeyleri saptanmıştır. Anti TNF- α tedavisinde üç ajan kullanılmaktadır. 1. İnfliximab (TNF- α 'ya karşı fare-insan kaynaklı şimerik monoklonal IgG1 antikoru) 2. Adalimumab (TNF- α 'ya karşı insan kaynaklı monoklonal IgG1 antikoru) 3. Etanercept (TNF reseptörünün p75 parçasını oluşturan rekombinant füzyon proteinidir)

1. İnfliximab (Remicade®): Fare-insan kaynaklı şimerik monoklonal IgG1 antikoru olan infliximab, TNF- α 'ya yüksek afinite ile bağlanır ve nötralize eder. İnfliximab, TNF- α 'nın hem çözünen hem de transmembran formuna (hücre yüzeyi formu) bağlanır. Her bir infliximab molekülü, 2 TNF bağlar ve 3 tane infliximab molekülü, her bir TNF- α homotimerine bağlanabilir, böylece TNF- α 'nın reseptör bağlayan bütün bölgelerini bloke eder. Bundan başka, infliximab TNF- α 'nın monomer alt ünitesine de bağlanabilir, böylece TNF- α 'nın biyoaktif ünitesi olan trimerik TNF- α 'ya dönüşmesini yavaşlatır ve hatta engeller. Etanercepten farklı olarak, infliximab; çözünebilen TNF- α ile sabit kompleks oluşturur ve TNF- α 'nın hücrel reseptörlere bağlanmasını çok daha etkili bir şekilde engeller.

Yakın zamanda yapılan birçok çalışmada, infliximab'ın, ön ve arka üveitlerde etkili olduğu gösterilmiştir. İnfliximab; her infüzyonda, 3-10mg/kg olacak şekilde intravenöz olarak uygulanır. Sıklıkla başlangıç dozu 5mg/kg'dır. Behçet hastalığına bağlı arka üveitlerde, infliximab uygulanması sonrası çok daha hızlı cevap alınırken (1 gün-3 hafta), Behçet olmayan arka üveitlerde alınan cevap değişkendir (6 gün-2 ay). Son zamanlarda yapılan infliximab tedavisi ile ilgili çalışmalar, özellikle Behçet hastalarında yoğunlaşmışken, idiyopatik üveit, sarkoidoz, birdshot koroidoretinopati, multifokal koroidit, Vogt-Koyonagi-Harada hastalığı ve diffüz subretinal fibrozis sendromu ile ilgili de yapılmıştır. Bu çalışmalarda, şiddetli ve diğer tedavilere dirençli oküler enflamasyonda infliximab'ın etkili olduğu gösterilmiştir. Dirençli arka üveit hastalarındaki çalışmaların sonuçları toplandığında, ilk tedavi sonrası, %78-%100 hastada enflamasyonun azaldığı ancak büyük çoğunluğunda etkinin geçici olduğu ve remisyonun sağlanması için her 4-8 haftada bir tekrar eden tedavilerin gerekliliği görülmüştür. İnfliximab'ın dozu ve sıklığı klinik cevaba göre değişmektedir. İlk tedaviye iyi yanıt veren bazı hastalarda, tedavi dozu ve sıklığı arttırılmasına rağmen, relapslar görülürken, bazı hastalarda infüzyon ile ilişkili alerjik reaksiyonlar izlenebilir. Araştırmacılar, bunun, infliximab molekülünün fareden kaynaklanan kısmına karşı gelişen antikorların yol açtığını düşünmektedirler. Birçok araştırmacı, ilaca karşı oluşan antikor gelişimini azaltmak için, infliximab ile birlikte anti-metabolit veya glukokortikoid tedavisi uygulamaktadır.

İnfliximab tedavisi; malignite, tüberküloz, multipl skleroz ve lupusa benzer reaksiyon riskini arttırır. Bu sebeble, daha önce bu rahatsızlıkları geçirenlerin infliximab tedavisi alması kontraendikedir. İnfliximab tedavisi öncesi, latent tüberküloz için PPD (purified protein derivative) deri tesit yapılmalı, eğer pozitifse infliximab tedavisine izoniazid eklenmelidir. İnfliximab'ın diğer yan etkileri; infüzyona bağlı yumuşak doku hipersensitivite reaksiyonu, üst solunum yolu enfeksiyonu, selülit, kalp krizidir. Yapılan birçok çalışmada, tedaviyi bıraktıracak ciddi yan etkiler görülmezken [13, 14] ,bazı çalışmalarda, %26 hastada çalışmayı bıraktıracak yan etkiler ortaya çıkmıştır [15].

2. Adalimumab (Humira®): TNF- α 'ya karşı tamamen insan kaynaklı olan monoklonal IgG1 antikorudur. İnfliximab gibi, TNF- α 'nın hem çözünen hem de transmembran formuna (hücre yüzeyi formu) bağlanır. Adalimumab'ın avantajı, subkutan olarak uygulanır ve böylece daha sabit serum konsantrasyonu sağlanır ve hastalar ilacı kendi başlarına evde uygulayabilir. Genellikle, 1-2 hafta aralıklarla, 40 mg uygulanır, deri altına uygulanır. Adalimumab; tamamen insan kaynaklı olduğundan, ilaca karşı antikor oluşumu ve yan etkiler daha azdır. Adalimumab 'ın üveit hastalarında kullanımı ile ilgili 2006 yılına kadar herhangi bir çalışma yapılmazken, son zamanlarda yapılan çalışmalar artmaktadır. Behçet hastalığına bağlı panüveiti olan ve infliximab kullanan, remisyonunda olan 3 hastada adalimumab'a geçilmiş, bu hastaların 11-24 aylık takiplerinde remisyonları devam etmiş ve ciddi yan etki görülmemiştir [16]. Çocukluk çağı üveitleri ilgili yapılan diğer iki çalışmada, %80-88 oranında enflamasyonun gerilediği ve birçok hastada kullanılan steroid ve immunsupresan tedavilerinin azaltıldığı veya kesildiği

izlenmiştir. Bu iki çalışmada da, enjeksiyon bölgesinde ağrı ve yanma dışında ciddi yan etkiye rastlanılmamıştır [17, 18]. Yapılan bu çalışmalarla, adalimumab ve infliximab tedavilerini karşılaştıran çalışmalar olmasa da, adalimumab'ın infliximab'a alternatif tedavi olacağı düşünülmektedir.

3. Etanercept (Enbrel®): TNF reseptörünün p75 parçasını oluşturan füzyon proteinidir. TNF- α ile sabit olmayan kompleksler oluşturur ve bu sebeple nötralizasyon, adalimumab ve infliximab'ın aksine, geçicidir. Genellikle, 2 hafta aralıklarla, subkutan olarak 25 mg uygulanır. Yan etkileri, infliximab ile benzer olup, enjeksiyon bölgesinde reaksiyon ve enfeksiyonlardır. Tuberküloz reaktivasyonu daha nadir görülür. Etanercept; romatoid artrit, anklozan spondilit, juvenil idiyopatik artrit ve psöriyatik artrit'in romatolojik belirtilerinde etkili olmasına rağmen üveit tedavisinde etkili değildir. Yapılan, etanercept ile plaseboyu karşılaştıran, randomize kontrollü çalışmalarda, etanercept'in, nonenfeksiyöz üveitlerde [19], juvenil idiyopatik artritte [20], plaseboya üstünlüğü gösterilememiştir. Resrospektif çalışmalarda, üveit hastalarında, etanercept'in, adalimumab ve infliximab'a göre çok daha düşük etkili olduğu görülmüştür [21] [22]. Anklozan spondilit ile ilişkili olan üveit hastalarında yapılan son meta-analiz çalışmasında, infliximab ve etanercept tedavisinin, plaseboya göre üveite bağlı protein sızıntısını azalttığı, tedavi etkinliğini açısından infliximab'ın, etanercepten daha üstün olduğu saptanmıştır [23]. Romatolojik hastalıklarla ilişkili olsun veya olmasın üveitli hastalarda, etanercept tedavisi yerine, adalimumab veya infliximab tedavisi önerilmektedir.

2.6 Anti-TNF Ajanlarının Lokal Kullanımı

Son zamanlarda, diabetik retinopati, yaşa bağlı maküla dejenerasyonu ve üveit gibi göz hastalıklarında, intravitreal ilaç kullanımı, sıklıkla uygulanmaya başlanmıştır. Triamsinolon ve anti-vasküler endotelyal growth faktör (anti-VEGF) ajanları (ranibizumab, pegaptanib, bevacizumab), intravitreal olarak uygulanmaktadır ve uygulama sonrasında çok az yan etki görülmüştür [24].

TNF- α , proenflamatuar sitokin olarak, otoimmün üveitler rol oynamaktadır ve bir TNF- α antikor olan infliximab'ın üveitler gibi enflamatuar patolojilerde etkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir [25-27]. Ancak sistemik infliximab uygulaması; otoantikor oluşumu, otoimmün hastalıklar, demyelizan hastalıklar, enfeksiyonlara eğilim (tuberküloz, toxoplazma, listeriyozis), infüzyon reaksiyonları, nötropeni-trombositopeni, bilateral optik nöropati ve malignansiye yol açma riski gibi birçok ciddi yan etkiye sahiptir. Ciddi yan etkilerinin dışında, sistemik infliximab'ın, göz doktorlarının esas hedefi olan göz dokularına ne kadar ulaştığı bilinmemektedir. Sistemik uygulama sonrasında, tek taraflı üveitlerde her iki göze de eşit miktar da ilaç ulaşmaktadır. Sistemik infliximab uygulamalarının ciddi yan etkilerinden kaçınmak ve göze ulaşacak ilaç miktarını arttırarak daha etkin tedavi için son zamanlarda intravitreal infliximab ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

TNF- α 'nın, diabetik retinopati ve yaşa bağlı maküla dejenerasyonu gibi hastalıklarda önemli patojenik rolü olduğu anlaşıldıktan sonra [8, 28], intravitreal infliximab uygulaması ilk olarak, tavşan ve farelerde oluşturulmuş modellerde uygulanmış ve etkili olduğu izlenmiştir [29]. Daha sonra intravitreal infliximab tedavisinin tavşan gözlerinde, güvenilirlik çalışması yapılmıştır ve uygun doz aralığı saptanmıştır [30, 31]. En son, deneysel olarak, tavşan gözlerinde endotoksinle

oluşturulmuş üveit modelinde, intravitreal infliximab'ın etkili olduğu gösterilmiştir [32].

Ancak literatüre bakıldığında, intravitreal infliximab tedavisinin, sistemik infliximab tedavisinden daha güvenli olduğu düşünölse de, etkinlik bakımından hangi tedavinin üstün olduğu belirtilmemiş ve çalışılmamıştır.

2.7 Amaç

Biz bu çalışmada; sistemik ve/veya intravitreal olarak infliximab tedavisi uygulandıktan sonra; hü­mör aközde ve vitreusta, TNF- α ve protein konsantrasyonunda meydana gelen değişiklikler ile histopatolojik ve klinik değişiklikler ve bu değişiklerde tedaviler arasındaki farklılıkların araştırılmasını amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarında, Gazi Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda ve Gazi Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.1. Alınan Proje Desteği ve Etik Kurul Onayı

2010/50 numaralı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi desteği ile yapılmıştır. G.Ü.ET-09.071 numaralı ve “Tavşan Gözünde Deneysel Olarak Endotoksinle Oluşturulan Üveit Modelinde Farklı Yollarla Uygulanan İnflximab'ın Etkinliğinin Değerlendirilmesi ve Karşılaştırılması” başlıklı araştırma projesi kapsamında Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı alınmıştır.

3.2. Kullanılan Hayvanların Özellikleri

Bu çalışmada 14-16 haftalık ve ortalama ağırlığı 2000-2500 gr. olan 30 adet Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Her tavşanın 1 gözü çalışmaya dahil edildi.

3.3. Tedavi Prosedürü

3.3.1. Anestezi

Tavşanlara enjeksiyon ve cerrahi girişim öncesi, genel anestezi için 35 mg/kg %10'luk ketamin hidroklorür (Alfamine, Alfasan, Hollanda) ve 5 mg/kg xylazin hidroklorür (Alfazyne, Alfasan, Hollanda), intramüsküler yolla uygulanmıştır. Topikal anestezi için benzalkonyum klorür içeren proparakain hidroklorür damlaları (Alcaine, Alcon, Belçika) tedavi prosedürüne başlamadan 5

dakika önce 3 damla olacak şekilde işlemin yapılacağı sağ gözlere uygulandı. Sterilizasyon, sulandırılmış povidone iodine damlatılarak sağlandı.

Bütün solüsyonlar enjeksiyonlardan hemen önce hazırlandı.

3.3.2. Tedavi Grupları

Her bir grupta 6 hayvan olmak üzere hayvanlar 5 gruba ayrıldı. Anesteziyi takiben hayvanların hepsinin sağ gözüne limbusun 2,5 mm gerisinden 27-gauge iğne ile girilerek lens ve retina zedelenmeyecek şekilde vitreus ortasına 2 µg/0,1cc endotoksin (*Salmonella typhimurium*, Sigma Chemical Co.) içeren enjeksiyonlar yapıldı. 1. gruptaki hayvanlara, LPS enjeksiyonu dışında herhangi bir enjeksiyon uygulanmadı, bu hayvanlar kontrol grubunu oluşturdu. 2. gruptaki hayvanların sağ gözüne, LPS enjeksiyonu sonrası 24. saatte, vitreus içerisine sham enjeksiyonu uygulandı. 3. gruptaki hayvanlara, LPS enjeksiyonu sonrası 24. saatte, 2mg/0,1cc infliximab vitreus içerisine uygulandı. 4. gruptaki hayvanlara, LPS enjeksiyonu sonrası 24. saatte, 5mg/kg infliximab intravenöz uygulandı. 5. gruptaki hayvanlara, LPS enjeksiyonu sonrası 24. saatte, eş zamanlı olarak, 5mg/kg infliximab intravenöz ve 1mg/0,1cc infliximab vitreus içerisine uygulandı (Tablo 1).

Tablo 1: Çalışma gruplarının özellikleri

Grup	İşlem
1	LPS (Kontrol)
2	LPS+İV Sham
3	LPS+İV İnfliximab
4	LPS+İntravenöz İnfliximab
5	LPS+İV İnfliximab+ İntravenöz İnfliximab

LPS: Lipopolisakkarit, **İV:** İntravitreal

3.4 Hümör Aköz ve Vitreus Örneklerinin Elde Edilmesi

Enjeksiyonların 24. saatinde genel ve topikal anestezi altında sulandırılmış povidone iodine ile yüzey temizliğini takiben, tüm hayvanların sağ gözlerinden, 27 gauge iğne ile, iris ve lens hasarı oluşturulmayacak şekilde ön kamara parasentezi ile 0.2 ml hümör aköz (HA) ve limbusun 2,5 mm gerisinden girilerek lens ve retina zedelenmeyecek şekilde 0.4 ml vitreus örneği alındı. Alınan HA ve vitreus örneklerinden, TNF- α düzeyi ve protein konsantrasyonu değerlendirildi.

3.5 Ötenazi ve Enükleasyon

Ötenazi, yüksek doz (200 mg/kg) ksilazin hidroklorür enjeksiyonu ile gerçekleştirildi.

Tüm hayvanların sağ gözlerinin konjonktivası açılıp, kasları ekarte edildikten sonra, göz nazıkçe öne çekilip optik sinir çok kısa güdük kalmayacak şekilde kesilerek enükleasyon yapıldı ve enükleasyon materyali patolojik değerlendirme yapılmak üzere -80°C’de saklandı.

3.6 Tedavi Gruplarının Değerlendirilmesi

Endotoksin enjeksiyonu sonrası ve sistemik ve/veya intravitreal infliximab tedavisi uygulandıktan sonra meydana gelen değişiklikler, subjektif ve objektif testlerle değerlendirildi. Objektif testler, TNF- α düzeyinin ve protein konsantrasyonunun saptanması ve subjektif test, üveitin klinik değerlendirilmesi olarak belirlendi.

3.6.1 Klinik Değerlendirme

LPS enjeksiyonu uygulandıktan 24 saat sonra ve sistemik ve/veya intravitreal infliximab tedavisi uygulandıktan 24 saat sonra, ön üveit klinik olarak değerlendirildi. Bütün gözler, maskelenmiş gözlemci tarafından, damarsal, pupiller ve eksüdatif belirtiler açısından biyomikroskopik olarak muayene edildi. Göz içi enflamasyonun yoğunluğu, daha önce tanımlanmış klinik skor sistemi ile derecelendirildi [33]. Flare, myozis ve hipopyon; yoksa (0), varsa (1), iris hiperemisi ve hücre; yoksa (0), hafifse (1), varsa (2) olarak skorlandı. Maksimum üveit skoru, beş parametrenin toplamı olan 7’dir.

3.6.2 HA ve Vitreus Örneklerinde Protein Konsantrasyonunun Değerlendirilmesi

Lowry metodu kullanılarak HA ve vitreus örneklerinde total protein miktarı değerlendirilmiştir [34]. Lowry metodu, alkali ortamda proteinlerin peptid bağlarının ve tirozin artıklarının bakır ile kompleks oluşturması prensibine dayanmaktadır. Deney tüpüne analizi yapılacak örnekten 40 µL alınır üzerine 60 µL distile su eklenerek 100 µL' ye tamamlandı. Numune distile su karışımının üzerine üzerine 2 ml C solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Bu sürenin sonunda 200 µL Folin ciocalteau kimyasalı eklenip vortekslendi ve 45 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Ultraviole (UV) spektrofotometrede çözeltilerin 750 nm'deki absorbans değerleri okunarak protein miktarları saptandı. Standart eğrisi oluşturmak için tüplere örnek yerine standart çözeltiden (BSA) 20, 40, 60, 80, ve 100 mg konsantrasyonlarda eklenerek yukarıdaki işlem aynen uygulandı. 750 nm'de absorbans okutularak konsantrasyona karşı absorbans grafiği çizildi. Blank(kör) için ise yine örnek yerine 100 µL distile su koyularak örnek için uygulanan işlemin aynısı uygulandı. ELISA okuyucusunda da okunabilir hale getirilen modifiye Lowry metodu ile daha az numune ve kimyasal malzeme kullanılarak daha çok ve hızlı analiz yapılması olası hale getirilmiştir. Sonuçlar mg protein/ml aköz veya vitreus olacak şekilde verilmiştir.

3.6.3 HA ve Vitreus Örneklerinde TNF- α Düzeyinin Değerlendirilmesi

Vitreus ve HA TNF- α düzeyi, ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Kullanılan TNF- α kiti (No. E0133RB, USCN-

LIFE Science Inc, Wuhan, China), rekombinant tavşanlara spesifik olup 10 pg/ml'ye kadar TNF- α düzeyini tesbit edebilecek sensitiviteye sahiptir. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

3.6.4 Enükleasyon Yapılan Gözlerin Histopatolojik Değerlendirmesi

Deney süresi sonunda elde edilen sağ göz küreleri %10'luk tamponlu formalinde 48 saat süreyle tespit edildi. Her iki yarısında kornea, sklera, üvea ve optik sinirin izlenmesine olanak verecek şekilde longitudinal eksen boyunca kesit yapıldı ve dokular %50, %70, %80, %90 ve absolu alkol serilerinden 2 saat süreyle geçirildikten sonra, 4 saat ksilol, 2'şer saat ksilol+parafin ve parafinde bekletildikten sonra parafine gömüldü. Rotary mikrotom ile her parafin bloktan 4-5 μ m kalınlığında 3'er adet seri kesit alındı. Kesitler rutin olarak hematoksilen-eozin (HE) ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda (Olympus, Hamburg, Almanya, BX51) x200 büyütülerek değerlendirildi ve fotomikrografları çekildi.

İris, silier cisim, ve retinada meydana gelen patolojik değişiklikler aşağıdaki kriterlere göre derecelendirildi [35].

0 : Normal doku

1+: Her alanda 1-10 arası inflamatuvar hücre

2+: Her alanda 11-30 arası inflamatuvar hücre

3+: Her alanda 31-100 arası inflamatuvar hücre

4+: Her alanda 101-300 arası inflamatuvar hücre

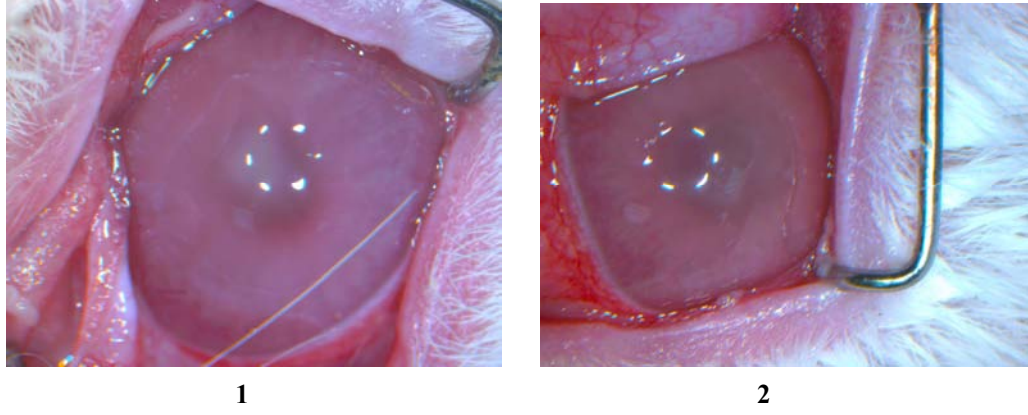
3.7 Verilerin İstatistiksel Değerlendirmesi

5 grup bulunmakta olup; gruplar, birbirleriyle, vitreus ve HA'da, TNF- α ve protein konsantrasyonu değişiklikleri açısından Mann Whitney U Testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırılarak 0.05'in altındaki p değerleri istatistiksel anlamlılık kriteri olarak alındı. Veri analizi SPSS 16.0 for Windows programı ile yapıldı.

4. BULGULAR

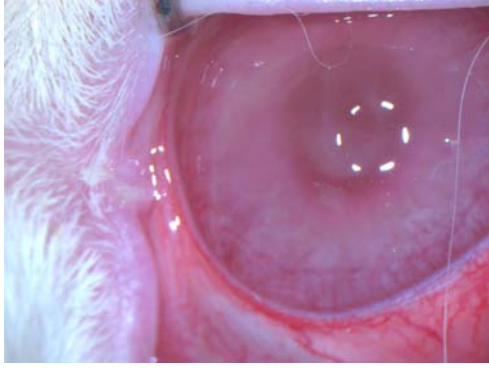
4.1 Klinik Değerlendirme

LPS ve LPS-Sham enjekte edilen gözlerde 24 saat sonra, ön kamarada fibrinöz eksüdasyon şiddetli flare izlendi (grup 1 ve 2, şekil 1 ve şekil 2).

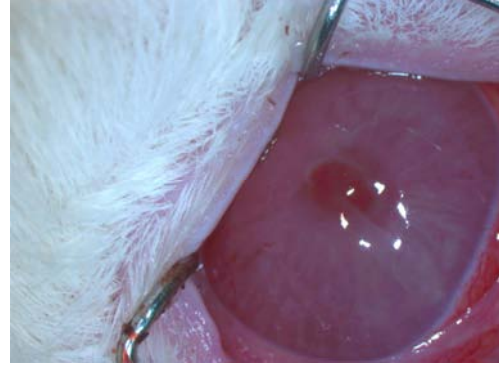


Resim 1 ve 2. LPS enjeksiyonundan ve LPS-Sham enjeksiyonundan 24 saat sonra ön kamarada şiddetli flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi

İntravitreal infliximab enjeksiyonu (grup 3, Şekil 3a, b), intravenöz infliximab infüzyonu (grup 4, Şekil 4a, b) ve intravitreal infliximab enjeksiyonu-intravenöz infliximab infüzyonundan (grup 5, Şekil, 5a, b) 24 saat sonra yapılan muayenede, fibrinöz reaksiyonun ve flarein azalmakla birlikte devam ettiği izlendi.

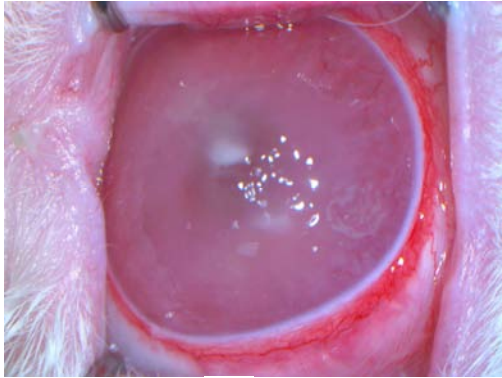


a

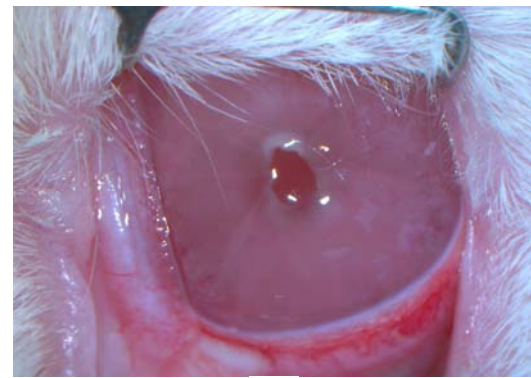


b

Resim 3. a) İntravitreal infliximab enjeksiyonu öncesi ön kamarada şiddetli flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi **b)** İntravitreal infliximab enjeksiyonundan 24 saat sonra, ön kamarada; flare, fibrinöz reaksiyon ve iris hiperemisinin azalması

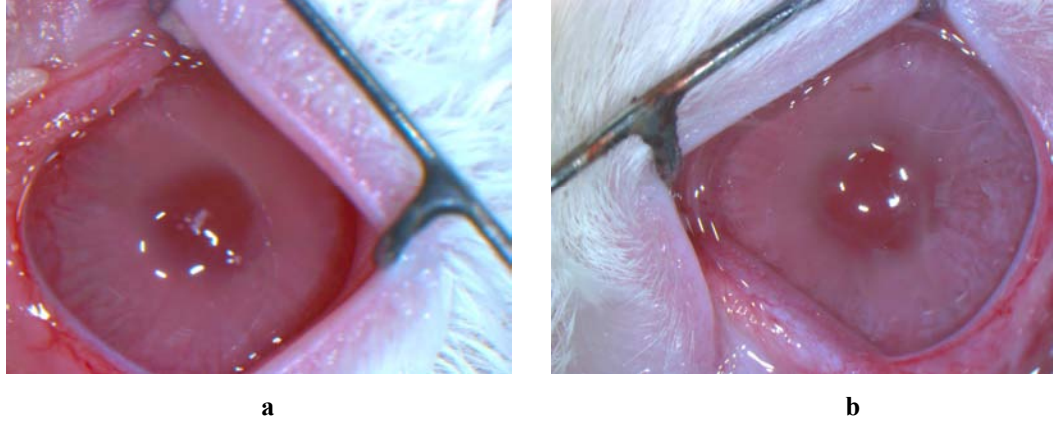


a



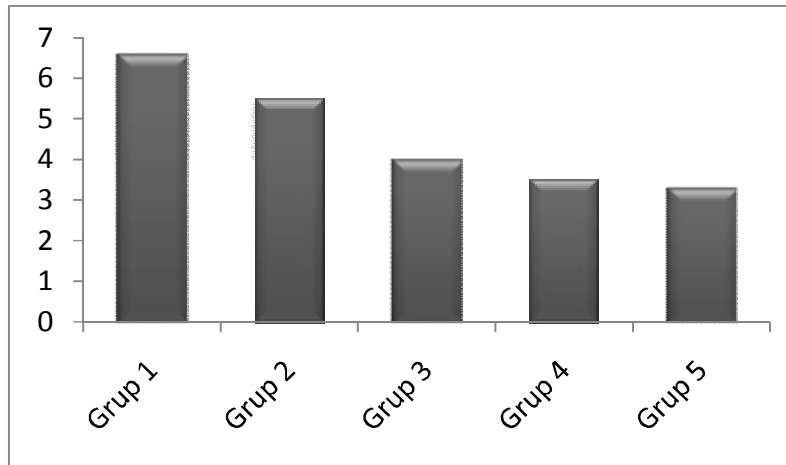
b

Resim 4. a) İntravenöz infliximab infüzyonu öncesi ön kamarada şiddetli flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi **b)** İntravenöz infliximab infüzyonundan 24 saat sonra, ön kamarada; flare, fibrinöz reaksiyon ve iris hiperemisinin azalması



Resim 5. a) İntravitreal infliximab enjeksiyonu-intravenöz infliximab infüzyonu öncesi ön kamarada flare ve fibrinöz reaksiyon, iris hiperemisi **b)** İntravitreal infliximab enjeksiyonu-intravenöz infliximab infüzyonundan 24 saat sonra, ön kamarada; flare, fibrinöz reaksiyon ve iris hiperemisinin azalması

Ortalama klinik değerlendirme skoru; grup 1’de $6,6 \pm 0,5$ grup 2’de $5,5 \pm 1,9$, grup 3’de $4 \pm 1,9$, grup 4’de $3,5 \pm 1,6$ ve grup 5’de $3,3 \pm 0,5$ idi. Grup 1 ve grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmazken ($p > 0,05$), grup 1 ile grup 3 ($p = 0,02$), grup 4 ($p = 0,05$) ve grup 5 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Grafik 1). Grup 3, grup 4 ve grup 5 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$).



Grafik 1: Klinik Değerlendirme Skoru

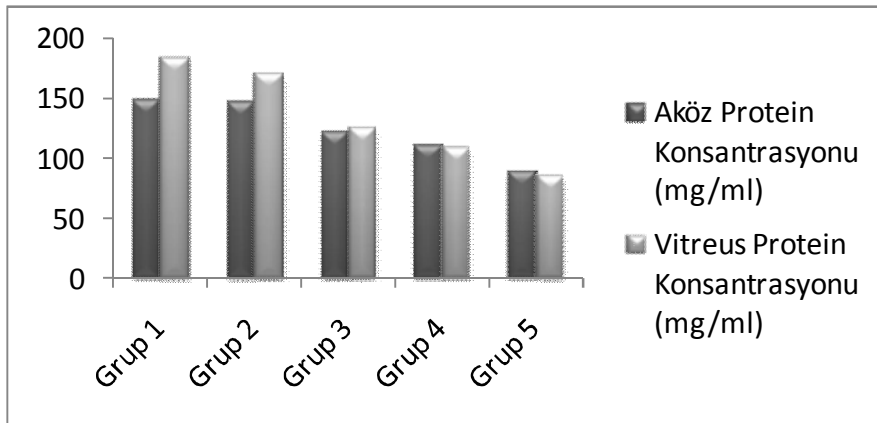
4.2 HA ve Vitreus Protein Değişiklikleri

Tüm deneklerden alınan aköz ve vitreus ortalama protein düzeyleri Tablo 2 ve Grafik 2’de sunuldu. Buna göre 1. gruptaki hayvanlarda ortalama aköz protein düzeyi $148,8 \pm 3,9$ mg/ml ve ortalama vitreus protein düzeyi $183,3 \pm 10,1$ olarak saptandı. 2. grupta ortalama aköz protein düzeyi $147,5 \pm 8,6$ mg/ml ve ortalama vitreus protein düzeyi $171,5 \pm 6,7$ olup, kontrol grubuna göre anlamlı olarak fark bulunmadı. ($p > 0.05$). 3. grupta ortalama aköz protein düzeyi $122,8 \pm 12,9$ mg/ml ve ortalama vitreus protein düzeyi $125,6 \pm 13,4$ mg/ml olup, kontrol grubuna göre aköz ve vitreus protein düzeyleri anlamlı olarak daha az saptandı (aköz; $p = 0.004$, vitreus; $p = 0,004$). 4. grupta ortalama aköz protein düzeyi $111,2 \pm 9,2$ mg/ml ve ortalama vitreus protein düzeyi $109,6 \pm 18,6$ olup mg/ml olup, aköz ve vitreus protein düzeyleri, 3. gruptan daha az saptanmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (aköz; $p = 0.065$, vitreus; $p = 0,092$). Kontrol grubuna göre, grup 4’deki aköz ve vitreus protein düzeyleri anlamlı olarak daha az olduğu saptandı (aköz; $p = 0.002$, vitreus; $p = 0,002$). 5. grupta ortalama aköz protein düzeyi $88,6 \pm 12,8$ mg/ml ve ortalama vitreus protein düzeyi $85,6 \pm 16,2$ olup mg/ml olup, ortalama aköz ve vitreus protein düzeyleri, kontrol, 3. ve 4. gruptan daha az saptandı. 3. (aköz; $p = 0.006$, vitreus; $p = 0,004$) , 4. (aköz; $p = 0.02$, vitreus; $p = 0,016$) ve kontrol gruplarına (aköz; $p = 0.002$, vitreus; $p = 0,002$) göre 5. gruptaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi.

Tablo 2. Aköz ve Vitreus Ortalama Protein düzeyi

Grup	İşlem	Aköz Protein Konsantrasyonu (mg/ml)	Vitreus Protein Konsantrasyonu (mg/ml)
1	LPS (Kontrol)	148,8±3,9	183,3±10,1
2	LPS+İV Sham	147,5±8,6	171,5±6,7
3	LPS+İV İnfliximab	122,8±12,9	125,6±13,4
4	LPS+İntravenöz İnfliximab	111,2±9,2	109,6±18,6
5	LPS+İV İnfliximab+İntravenöz İnfliximab	88,6±12,8	85,6±16,2

LPS: Lipopolisakkarid, **İV:** İntravitreal



Grafik 2. Aköz ve Vitreus Protein Düzeyleri

4.3 HA ve Vitreus TNF- α Değişiklikleri

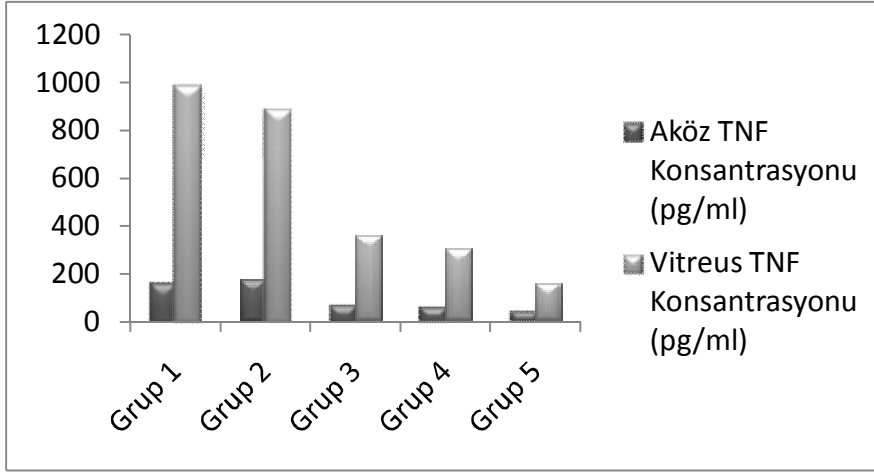
Tüm deneklerden elde edilen aköz ve vitreus TNF- α düzeyleri Tablo 3 ve Grafik 3 'de sunuldu. Buna göre 1. gruptaki hayvanlarda ortalama aköz TNF- α düzeyi $159,83 \pm 40,77$ pg/ml ve vitreus TNF- α düzeyi $990 \pm 132,24$ olarak saptandı. 2. grupta ortalama aköz TNF- α düzeyi $179,7 \pm 40,48$ pg/ml ve vitreus TNF- α düzeyi $884,48 \pm 24,29$ olup, kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). 3. grupta ortalama aköz TNF- α düzeyi $71,61 \pm 15,6$ pg/ml ve vitreus TNF- α düzeyi $363,4 \pm 31,42$ olup, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük düzeyde bulundu (aköz; $p = 0,004$, vitreus; $p = 0,004$). 4. grupta ortalama aköz TNF- α düzeyi $61,64 \pm 23,62$ pg/ml ve vitreus TNF- α düzeyi $302,23 \pm 76,06$ olup, 3. gruba göre daha az saptanmasına rağmen, iki grup arasında anlamlı fark olmadığı ($p > 0,05$) ve kontrol grubuna göre aköz ve vitreus TNF- α düzeylerinin anlamlı olarak daha az olduğu saptandı (aköz; $p = 0,002$, vitreus; $p = 0,002$). 5. grupta ortalama aköz TNF- α düzeyi $41,02 \pm 8,6$ pg/ml ve vitreus TNF- α düzeyi $162,29 \pm 94,41$ olup, 3. (aköz; $p = 0,006$, vitreus; $p = 0,006$) 4. (aköz; $p = 0,025$, vitreus; $p = 0,05$) ve kontrol (aköz; $p = 0,002$, vitreus; $p = 0,002$) gruplarına göre 5. gruptaki azalma istatistiksel olarak anlamlı idi.

Tablo 3. Ortalama Aköz ve Vitreus TNF- α düzeyi

Grup	İşlem	Aköz Konsantrasyonu (pg/ml)	TNF- α Vitreus Konsantrasyonu (pg/ml)
1	LPS (Kontrol)	159,8 $\pm$ 40,7	990,0 $\pm$ 132,24
2	LPS+İV Sham	179,7 $\pm$ 40,48	888,5 $\pm$ 18,53
3	LPS+İV İnfliximab	71,6 $\pm$ 15,6	363,4 $\pm$ 31,42
4	LPS+İntravenöz İnfliximab	61,6 $\pm$ 23,62	302,3 $\pm$ 76,06
5	LPS+İV İnfliximab+ İntravenöz İnfliximab	41,0 $\pm$ 8,6	162,2 $\pm$ 94,44

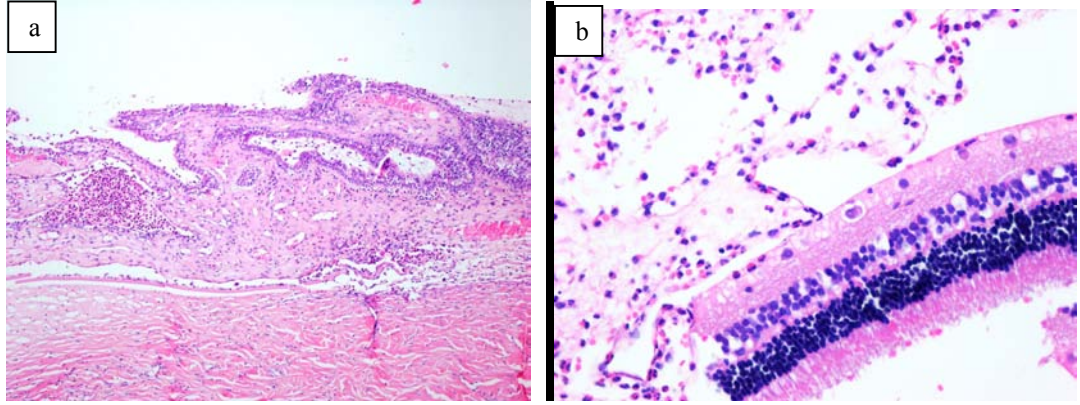
LPS: Lipopolisakkarid, **İV:** İntravitreal

Grafik 3. Aköz ve Vitreus TNF- α düzeyindeki değişiklikler

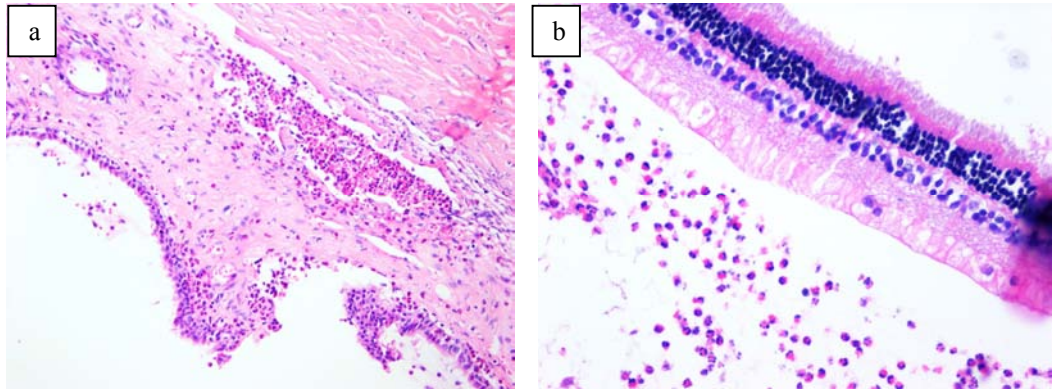


4.4 Histopatolojik Değişiklikler

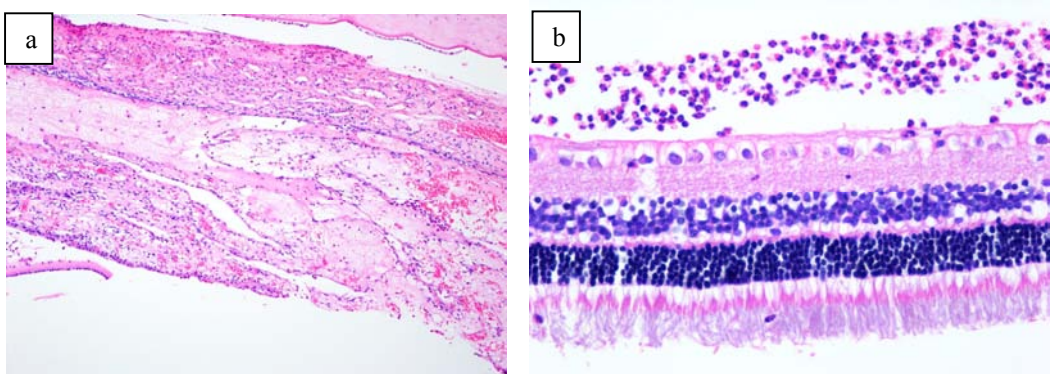
Enükleasyon uygulanan gözlerde, histopatolojik değerlendirme, iris-silier cisim ve retinada ayrı ayrı yapıldı. Grup 1’de iris-silier cisimdeki ortalama enflamasyon derecesi 3,5, retinada 3,6, grup 2’de iris-silier cisimdeki ortalama enflamasyon derecesi 3,6, retinada 3,6, grup 3’de iris-silier cisimdeki ortalama enflamasyon derecesi 3,6, retinada 3,4, grup 4’de iris-silier cisimdeki ortalama enflamasyon derecesi 2,6, retinada 2,6, grup 5’de iris-silier cisimdeki ortalama enflamasyon derecesi 2,6, retinada 2,1 olarak saptandı. İris-silier cisim ve retinadaki enflamasyon, grup 1, grup 2 ve grup 3’te benzerken ($p>0,05$), grup 4 ve grup 5’de diğer gruplardakinden anlamlı olarak daha azdı ($p=0,14$) (Resim 6, 7, 8, 9, 10,). Gruplara ait histopatolojik enflamasyon dereceleri tablo IV’te görölmektedir.



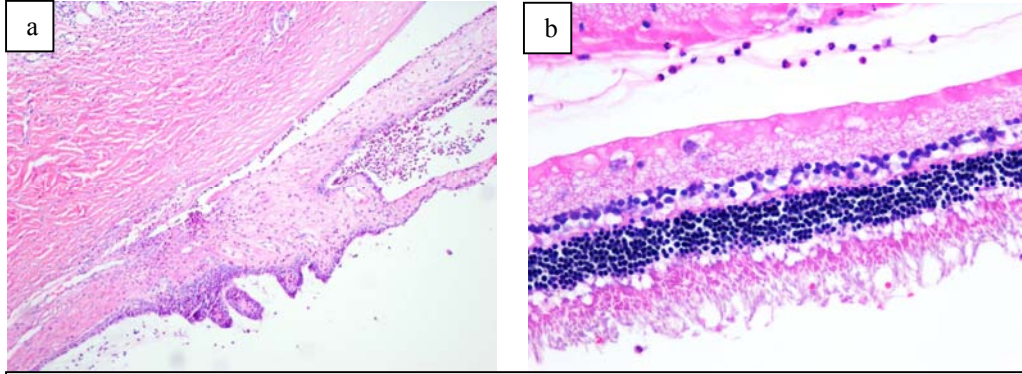
Resim 6. 1. Grup, LPS enjeksiyonu sonrası 48. saat, HE ile boyanmış kesitler (x100) **a)** Silier proseslerde şiddetli nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu ile interstisyel dokuda ödem (Grade 4), **b)** Şiddetli retinal enflamasyon (Grade 4)



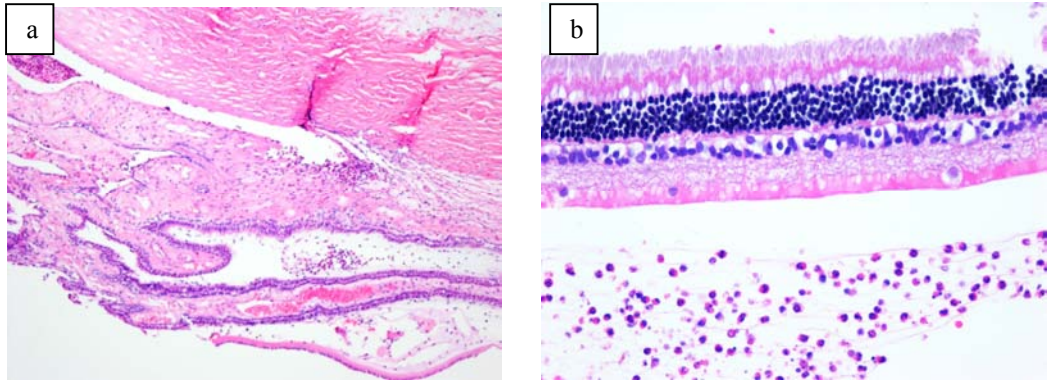
Resim 7. 2. Grup, sham enjeksiyonunun 24. saati, HE ile boyanmış kesitler (x100) **a)** Silier proseslerde şiddetli nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu ile interstisyel dokuda ödem (Grade 4), **b)** Şiddetli retinal enflamasyon (Grade 4)



Resim 8. 3. Grup, intravitreal infliximab enjeksiyonunun 24. saati, HE ile boyanmış kesitler (x100) **a)** Silier proseslerde, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda minimal azalma (Grade 3), **b)** Şiddetli retinal enflamasyon (Grade 4)



Resim 9. 4. Grup, intravenöz infliximab infüzyonunun 24. saati, HE ile boyanmış kesitler (x100) **a)** Silier proseslerde, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda azalma (Grade 2), **b)** Retinal enflamasyonda gerileme (Grade 2)



Resim 10. 5. Grup, intravitreal infliximab enjeksiyonu ve intravenöz infliximab infüzyonu sonrası 24. saat, HE ile boyanmış kesitler (x100) **a)** Silier proseslerde, nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda azalma (Grade 2), **b)** Retinal enflamasyonda gerileme (Grade 2-3)

Tablo 4. Gruplara ait histopatolojik derecelendirme

Grup	İşlem	İris-Silier Cisim	Retina
1	LPS (Kontrol)	3,5	3,6
2	LPS+İV Sham	3,6	3,6
3	LPS+İV İnfliximab	3,6	3,4
4	LPS+İntravenöz İnfliximab	2,6	2,6
5	LPS+İV İnfliximab+ İntravenöz İnfliximab	2,6	2,1

LPS: Lipopolisakkarid, **İV:** İntravitreal

5. TARTIŞMA

Üveit; gözün damar tabakası olan üveanın (iris, silier cisim ve koroid) primer olarak etkilendiği, bu yapılara vitreus, retina ve optik disk gibi çevre dokuların da iştirak edebildiği, göz dokularının tahribi, görme keskinliğinde azalma ve körlükle sonuçlanabilen, göz içi enflamasyonu olarak tanımlanır. Üveitin kanıtlanmış kesin mekanizması olmasada, immunolojik ve enflamatuvar cevaplarda rol oynayan sitokinlerin büyük rol oynadığı saptanmıştır. İntraokuler enflamasyonda birbiriyle bağlantılı pek çok enflamatuvar olayın iç içe geçmiş olması hastalığın patogenezinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Üveit patogenezindeki bu karmaşık mekanizmaların aydınlatılması ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesi için yakın geçmişte hayvanlarda birçok deneysel üveit modelleri geliştirilmiştir ve bunlardan en önemlilerinden bir tanesi de endotoksin ile oluşturulan üveit modelidir.

Deney hayvanına sublethal dozda lipopolisakkarid (LPS) verilmesiyle, serumda bulunan lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LBP), LPS ile bağlanmakta ve bu kompleks makrofajlara bağlanarak makrofajları uyarmaktadır. Makrofajların uyarılması ile pek çok sitokin (IL-1, TNF, interferon, endotelin), serbest oksijen radikalleri, protein ve lipidler salınmaktadır. Bunların sonucunda, genelde 24 saat sonra, hayvanlarda miyozis, iris hiperemisi, kan aköz bariyerinin kırılmasına bağlı HA'ya protein sızıntısı, ön üveada, ön kamarada ve vitreusta hücre infiltrasyonu ile karakterize oküler hastalık ortaya çıkar.

Bizim çalışmamızda, grup 1'de, intravitreal LPS (*S. Thphimurium*) enjeksiyonu sonrası 24. saatte, aköz ve vitreusta, protein ve TNF- α seviyeleri, diğer tedavi edilen gruplara göre çok daha yüksek düzeylerde saptanmış ve histopatolojik olarak üveit tablosunun olduğu izlenmiştir. Bu veri literatür ile uyumlu olup,

intravitreal LPS verilen tavşan gözlerinde, kontrol grubuna göre anlamlı olarak TNF- α ve protein seviyelerinin daha yüksek olduğu ve histopatolojik olarak üveit tablosunun olduğu görülmüştür [32, 36, 37].

EIU modelinde, patogeneizde birçok proenflamatuar medyatör rol oynasada, bunlardan en önemlisi, en kritiği ve erken evrede rol oynayanı TNF- α 'dır. TNF- α , birçok enflamatuar olayda rol oynayan bir glikoproteindir ve enflamasyonda doku hasarından sorumludur. Enflamasyon sırasında, oküler enflamatuar hücreler tarafından, TNF- α ortama salınır [38] ve birçok oküler enflamatuar hücrelerce (makrofajlar, nötrofiller, T lenfositler, B lenfositler ve doğal öldürücü hücreler) TNF- α reseptörleri eksprese edilir. TNF- α , birçok etkisini T lenfositler üzerindeki TNF reseptörüne (TNF-R) bağlanarak gerçekleştirir. T lenfositlere bağlanan TNF- α , T lenfositlerce, çözünebilen TNF-R sentezlenmesini sağlar ve çözünebilen TNF-R, TNF- α sentezlenmesini sağlayarak proenflamatuar sitokin olarak davranan TNF- α , IL-2 reseptör afinitesini [39] ve IL-1 sentezini artırır ve sonucunda prostaglandin sentezi sağlanır [40] ve sonucunda, vazodilatasyona ve endotelde adezyon moleküllerinin artmasına yol açarak enflamasyon bölgesinde nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyonunu sağlar. Yapılan çalışmalarda, tavşan gözlerine, intravitreal insan TNF- α enjekte edildiğinde, yoğun lökosit infiltrasyonu ve protein sızıntısı olduğu görülmüştür (15).

Bu nedenle, TNF- α 'yı inhibe eden biyolojik ajanlar, enfeksiyona bağlı olmayan üveitlerin tedavisinde faydalı olmaktadır [41]. Birçok deneysel üveit modelinde ve insan üveitlerinde uygulanan sistemik anti TNF- α tedavilerinin, özellikle de TNF- α 'nın transmembran ve çözünebilen formuna bağlanabilen

infiximab ve adalimumab'ın, etkili olduğu gösterilmiştir [14, 16-18, 25, 26, 36, 42-44].

Diaz-Llopis ve arkadaşlarının çalışmasında, endotoksinle oluşturulan üveit modelinde profilaktik amaçlı yüksek doz infiximab (20mg/kg) verilen tavşan gözlerinde; klinik aktivite skorunun, aköz protein ve TNF- α seviyelerinin ve histopatolojide enflamasyonun kontrol grubuna göre anlamlı olarak çok daha düşük olduğu saptanmıştır [36]. Johnsen-Soriano ve arkadaşlarının, adalimumab ve infiximab'ın akut etkinliğini karşılaştıran üveit modeli oluşturulan rat gözlerinde yaptıkları başka bir çalışmada, LPS ile aynı anda infiximab infüzyonu yapılan gözlerde 24. saatin sonunda, aköz protein seviyeleri ve histopatolojide enflamasyon anlamlı derecede daha düşük saptanmış [45]. Bizim çalışmamızda, LPS ile üveit oluşturduktan 24 saat sonra, 5mg/kg olacak şekilde intravenöz infiximab uygulanan grup 4'de ise tedaviden 24 saat sonra, klinik derecelendirme skorunun, aköz ve vitreustan elde edilen örneklerde, TNF- α ve protein seviyelerinin ve histopatolojik değerlendirmede enflamasyon derecesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu saptandı. Ratlar üzerinde yapılan bir diğeri üç ayrı çalışmada, sistemik ve lokal olarak uygulanan başka bir anti TNF- α antikorunun, hastalığı etkilemediği veya şiddetlendirdiği gösterilmiştir [46-48]. Ancak bu çalışmalarda, infiximab dışında başka bir anti TNF- α antikor kullanılmıştır ve infiximab'ın, bu antikorlardan çok daha etkili ve spesifik olduğu bilinmektedir. TNF- α , etkisini molekül ağırlığı 55 ve 75 kDa olan TNF-R p55 ve TNF-R p75 olan reseptörlerle gerçekleştirmektedir. Birçok enflamatuvar cevap, TNF-R p55 tarafından gerçekleştirilmektedir ve bu çalışmalarda kullanılan anti TNF- α antikorlarının, bu reseptörleri inhibe edemediği veya bu reseptörlere yeteri kadar ve yeteri zamanda ulaşamadığı için etkili olamadığı düşünülmektedir [36].

Sistemik infliximab tedavisi, oküler enflamasyonların tedavisinde ümit verici olsada, özellikle de uzun süreli kullanımlarda; tüberküloz, fırsatçı enfeksiyonlar, multipl skleroz gibi demyelizan hastalıklar, otoimmün hastalıklar, infüzyon reaksiyonu, otoantikör oluşumu, nötropeni-trombositopeni, bilateral anterior optik nöropati, solid organ tümörleri gibi ciddi yan etkilere yol açabilmektedir [49-58]. Sistemik infliximab tedavisinin bu ciddi yan etkilerinden korunmak için, son zamanlarda, intravitreal ilaçların (triamsinolon ve anti-VEGF ajanların (ranibizumab, pegaptanib, bevacizumab)) çok sık ve minimal yan etkilerle uygulanmalarıyla, araştırmacılar infliximab tedavisinin de intravitreal olarak uygulanması ile ilgili çalışmalar yapmaktadır. Ayrıca, infliximab'ın lokal olarak uygulanması ile göze ulaşacak ilaç miktarını arttırarak daha etkin tedavi sağlanabileceği düşünülmektedir.

Göz içine uygulanan ilaçlarda en önemli problem retinal toksisitedir. Giansanti ve arkadaşlarının, değişik dozlarda göz içine verilen infliximab'ın oküler toksisitesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, retinal fonksiyonu ve morfolojisi, elektoretinografik (ERG) ve histolojik olarak araştırılmış ve tavşan modelinde 1,7mg/0,1cc 'ye kadar dozlarda intravitreal infliximab'ın güvenli olduğu saptanmıştır [30].

Theodossiadis ve arkadaşları tarafından yapılan, infliximab'ın oküler toksisitesi ile ilgili başka bir güvenlik çalışmasında, tavşan gözlerinde, 45 günlük takip sonrasında, klinik muayenede ve elektrofizyolojik testlerde 1mg /0,1cc veya 2 mg/0,1 cc intravitreal infliximab'ın toksik olmadığı tespit edilmiş [31].

Biz çalışmamızda, LPS ile oluşturulmuş üveitli tavşan gözlerine, 2 mg/0,1cc intravitreal infliximab uyguladık (Grup 3). İntravitreal infliximab uygulandıktan 24 saat sonra, klinik derecelendirme skorunun, aköz ve vitreustan elde edilen örneklerde, TNF- α ve protein seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu saptandı. Ancak, histopatolojik değerlendirmede, enflamasyon

derecesi açısından, kontrol grubu ile arasında fark bulunmadı. Hosseini ve arkadaşları tarafından tavşan gözlerinde yapılan çalışmada, endotoksin ile birlikte intravitreal infliximab (1mg/0,1cc) uygulananlarda, klinik olarak; kontrol grubuna göre, 1. gün sonunda fark bulunmazken, 3., 5., 7. günlerde anlamlı olarak daha az saptanmış. 7. günde, alınan aköz örneklerinde ve histopatolojik değerlendirmede, intravitreal infliximab uygulanan gözlerde, protein seviyeleri ve enflamasyon derecesi, kontrol grubuna göre, anlamlı olarak daha az saptanmış [32]. Yapılan deneysel çalışmalarda, ümit verici sonuçlar alınması ile intravitreal infliximab tedavisi, yakın zamanda insanlarda da kullanılmaya başlandı. Farvardin ve arkadaşlarının kronik nonenfeksiyöz üveitli hastalarda ve Theodossiadis ve arkadaşlarının yaşa bağlı maküla dejenerasyonuna bağlı koroidal neovasküler membranı olan 3 hastada yaptıkları çalışmalarda, intravitreal infliximab tedavisinin görme keskinliğinde artışa ve santral retinal kalınlıkta azalmaya neden olduğu saptanmıştır [59, 60]. Ancak Monica ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, diyabetik ödem veya yaşa bağlı maküla dejenerasyonuna bağlı koroidal neovasküler membranı olan 4 hastada intravitreal infliximab kullanılmış (0,5mg/0,05ml), ve tedavi sonrasında hiçbir hastada iyileşme görülmemiş, yapılan ERG’de tüm hastalarda cevaplarda azalma görülmüş ve 3 hastada, infliximab’a karşı oluşan sistemik antikor saptanmış [61]. Bu çelişkili çalışmalar, intravitreal infliximab kullanımı açısından çok daha geniş, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç duyurmaktadır.

Bizim çalışmamızda, LPS ile üveit oluşturduktan 24 saat sonra, infliximab, intravenöz (5mg/kg) ve intravitreal (1mg/0,1cc) olarak uygulandı (grup 5) ve intravitreal infliximab’ın 2 mg yerine 1 mg olarak verilmesinin nedeni; infliximab infüzyonu hazırlanırken 100 mg’lık infliximab flakonuna 10cc eklenmesi gerekmektedir ve eklendiğinde flakonda 0,1cc’sinde 1 mg olur, infliximab

flakonunda oluşturulan çözelti hem sistemik tedavide hem de intravitreal tedavide kullanılabilir ve böylece zaten maliyet olarak pahalı bir tedavide, göz içi infliximab'ın hazırlanması için ekstra bir maliyetten kaçınılmasıdır.

Grup 5'de, tedaviden 24 saat sonra, klinik derecelendirme skorunun, aköz ve vitreustan elde edilen örneklerde, TNF- α ve protein seviyelerinin ve histopatolojik değerlendirmede enflamasyon derecesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu saptandı.

Literatürde; LPS ile oluşturulan üveit modelinde, intravenöz ve intravitreal infliximab kombine tedavisi hiç uygulanmamış. Bu tedavi şeklinin, özellikle akut üveit atağı ile gelen hastalarda alternatif olabileceğini düşünmekteyiz.

Literatürde, oluşturulan deneysel üveit modellerinde ve insan üveitlerinde, sistemik ve intravitreal infliximab tedavisinin etkili olduğu vurgulanmaktadır. İntravitreal infliximab tedavisinin, sistemik infliximab tedavisinden, yan etkileri bakımından daha güvenli olduğu düşünülse de, literatüre bakıldığında, etkinlik bakımından hangi tedavinin üstün olduğu belirtilmemiş ve çalışılmamıştır. İnfliximab'ın intravitreal uygulamalar sonrasında, sistemik emilim olmadığı için göz içinde daha fazla konsantrasyonlarda bulunacağı tahmin edilse de, iç-dış kan-retina bariyeri ve ilacın moleküler büyüklüğü nedeniyle ilacın dokuya girerek direk olarak etki etmeyeceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, sistemik ve/veya lokal tedaviler arasındaki farklılıkların araştırılmasını amaçladık.

Aköz ve vitreustan elde edilen örneklerde, TNF- α ve protein seviyeleri ve histopatolojik değerlendirmede enflamasyon derecesi, grup 4'de, grup 3'den daha az saptandı. Daha önce de açıkladığımız gibi, enflamasyonda yani LPS enjeksiyonu sonrası, LPS; makrofajlar tarafından tanınır ve TNF- α ortama salınır. Daha sonra,

TNF- α , dokularda nötrofil ve mononükleer hücre infiltrasyonunu neden olur. Ortamdaki TNF- α , azaltılmadıkça enflamasyon şiddetlenecektir. Grup 3’de, TNF- α seviyelerinin düşmesine rağmen, henüz histopatolojik olarak enflamasyonun gerilemeye başlamadığını bunun yanında grup 4’de ise TNF- α seviyelerinin düşmesi ile birlikte histopatolojik olarak enflamasyonda gerileme gördük. Grup 4’de, TNF- α seviyesinde azalma, grup 3’den daha fazla idi. Araştırmamızda, 24 saat sonra enükleasyon uyguladık. 24. saatin sonunda, intravitreal infliximab uygulanan grup 3’de, TNF- α seviyeleri azalmasına rağmen, histopatolojik değişiklik saptamadık, ancak Hosseini ve arkadaşları, bizden daha az dozda intravitreal infliximab (1mg/0,1cc) uygulamalarına rağmen, 7. günde yaptıkları histopatolojik değerlendirmede, enflamasyonun azaldığını göstermişler [32].

Histopatolojik değerlendirmeyi daha geç dönemde yapsaydık, histopatolojide enflamasyonun gerilediğini görebilecektik diye düşünmekteyiz. Histopatolojik olarak enflamasyonun daha geç düzelmesinin sebeplerini şu şekilde yorumladık; 1) Histopatolojik olarak enflamasyonun daha geç düzelmesi, infliximab’ın moleküler büyüklüğü ile açıklanabilir. İnfliximab’ın moleküler ağırlığı (149 kD), bevacizumab (144.1kD) ile benzerdir. Bevacizumab gibi büyük moleküllerin retinaya penetre olamayacağını düşünen Ferrara ve arkadaşları, ranibizumab’ın etkinliğini araştırmak için yaptıkları çalışmada, ranibizumab (48 kD) ile büyük molekül ağırlıklı antikorları (transtuzumab (herseptin reseptörü 2), 145,5 kD) karşılaştırmış ve ranibizumab’ın penetrasyonunun çok daha fazla olduğunu saptamıştır [62]. Ancak bevacizumab’ın moleküler ağırlığı fazla da olsa, preretinal, retinal ve koroidal neovaskülerizasyonda etkili olduğu bilinmektedir. Bu da, bevacizumab ile aynı moleküler ağırlığa sahip infliximab’ın moleküler ağırlığı büyük de olsa, nasıl etkili (geç de olsa) olduğunu

açıklamaktadır. Ayrıca Liarakos ve arkadaşlarının yaptığı immünohistokimyasal çalışmada, infliximab'ı tanıyan anti-idyotip antikor kullanılmış ve infliximab, intravitreal enjeksiyondan 5 gün sonra, en az proksimal retinal tabakalarda saptanmıştır (Liarakos VS ve arkadaşları, basılmamış).

2) İntravenöz yolla verilen infliximab, direk ve hızlı şekilde gözdeki uvea dokusuna (damar dokusu) ulaşmakta, böylece TNF- α seviyesindeki düşme ve histopatolojide enflamasyonda iyileşme çok daha hızlı olmaktadır.

Grup 5'de, 24. saatte, TNF- α ve protein seviyeleri, grup 3 ve grup 4'e göre anlamlı olarak çok daha düşük saptandı ancak histopatolojik değerlendirmede enflamasyon derecesi, grup 3'den anlamlı olarak daha iyi olsada, grup 4 ile aynı bulundu. Bunu da intravenöz olarak uygulanan infliximab'ın hızlı olan etkisine bağlandı.

6. SONUÇ

Sonuç olarak, intravenöz infliximab infüzyonu, intravitreal olarak uygulanan infliximab'tan, akut dönemde çok daha etkin olduğunu, akut üveit atağı ile gelen olgularda, intravenöz infliximab infüzyonu ile birlikte intravitreal infliximab uygulamasının iyi bir alternatif tedavi olacağını düşünmekteyiz. Bu tedavi seçeneğinin, klinik olarak uygulanmadan önce, bağka deneysel alığmalarla da desteklenmesi gerektiği kanısındayız. Ayrıca, iki tedavi seçeneğinin uzun dönemdeki sonuçlarının karėılaėtırılması için ek deneysel alığmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Gritz DC, Wong IG: Incidence and prevalence of uveitis in Northern California; the Northern California Epidemiology of Uveitis Study. *Ophthalmology* 2004;491-500; discussion 500.
2. McCannel CA, Holland GN, Helm CJ, Cornell PJ, Winston JV, Rimmer TG: Causes of uveitis in the general practice of ophthalmology. UCLA Community-Based Uveitis Study Group. *Am J Ophthalmol* 1996;35-46.
3. Rosenbaum JT, McDevitt HO, Guss RB, Egbert PR: Endotoxin-induced uveitis in rats as a model for human disease. *Nature* 1980;611-613.
4. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B: An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975;3666-3670.
5. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ: The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001;487-501.
6. Armstrong D, Augustin AJ, Spengler R, Al-Jada A, Nickola T, Grus F, Koch F: Detection of vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor alpha in epiretinal membranes of proliferative diabetic retinopathy, proliferative vitreoretinopathy and macular pucker. *Ophthalmologica* 1998;410-414.
7. Majka S, McGuire PG, Das A: Regulation of matrix metalloproteinase expression by tumor necrosis factor in a murine model of retinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;260-266.
8. Spranger J, Meyer-Schwickerath R, Klein M, Schatz H, Pfeiffer A: [TNF-alpha level in the vitreous body. Increase in neovascular eye diseases and proliferative diabetic retinopathy]. *Med Klin (Munich)* 1995;134-137.
9. de Vos AF, van Haren MA, Verhagen C, Hoekzema R, Kijlstra A: Kinetics of intraocular tumor necrosis factor and interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;1100-1106.
10. Nakamura S, Yamakawa T, Sugita M, Kijima M, Ishioka M, Tanaka S, Ohno S: The role of tumor necrosis factor-alpha in the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;3884-3889.
11. Jabs DA, Nussenblatt RB, Rosenbaum JT: Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol* 2005;509-516.
12. Yoshida M, Yoshimura N, Hangai M, Tanihara H, Honda Y: Interleukin-1 alpha, interleukin-1 beta, and tumor necrosis factor gene expression in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;1107-1113.
13. Benitez-del-Castillo JM, Martinez-de-la-Casa JM, Pato-Cour E, Mendez-Fernandez R, Lopez-Abad C, Matilla M, Garcia-Sanchez J: Long-term treatment of refractory posterior uveitis with anti-TNFalpha (infliximab). *Eye (Lond)* 2005;841-845.
14. Abu El-Asrar AM, Abboud EB, Aldibhi H, Al-Arfaj A: Long-term safety and efficacy of infliximab therapy in refractory uveitis due to Behcet's disease. *Int Ophthalmol* 2005;83-92.

15. Suhler EB, Smith JR, Wertheim MS, Lauer AK, Kurz DE, Pickard TD, Rosenbaum JT: A prospective trial of infliximab therapy for refractory uveitis: preliminary safety and efficacy outcomes. *Arch Ophthalmol* 2005;903-912.
16. Mushtaq B, Saeed T, Situnayake RD, Murray PI: Adalimumab for sight-threatening uveitis in Behcet's disease. *Eye (Lond)* 2007;824-825.
17. Biester S, Deuter C, Michels H, Haefner R, Kuemmerle-Deschner J, Doycheva D, Zierhut M: Adalimumab in the therapy of uveitis in childhood. *Br J Ophthalmol* 2007;319-324.
18. Vazquez-Cobian LB, Flynn T, Lehman TJ: Adalimumab therapy for childhood uveitis. *J Pediatr* 2006;572-575.
19. Foster CS, Tufail F, Waheed NK, Chu D, Miserocchi E, Baltatzis S, Vredevelde CM: Efficacy of etanercept in preventing relapse of uveitis controlled by methotrexate. *Arch Ophthalmol* 2003;437-440.
20. Smith JA, Thompson DJ, Whitcup SM, Suhler E, Clarke G, Smith S, Robinson M, Kim J, Barron KS: A randomized, placebo-controlled, double-masked clinical trial of etanercept for the treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2005;18-23.
21. Galor A, Perez VL, Hammel JP, Lowder CY: Differential effectiveness of etanercept and infliximab in the treatment of ocular inflammation. *Ophthalmology* 2006;2317-2323.
22. Guignard S, Gossec L, Salliot C, Ruysen-Witrand A, Luc M, Duclos M, Dougados M: Efficacy of tumour necrosis factor blockers in reducing uveitis flares in patients with spondylarthropathy: a retrospective study. *Ann Rheum Dis* 2006;1631-1634.
23. Braun J, Baraliakos X, Listing J, Sieper J: Decreased incidence of anterior uveitis in patients with ankylosing spondylitis treated with the anti-tumor necrosis factor agents infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum* 2005;2447-2451.
24. Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET, Jr.: Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina* 2004;676-698.
25. Theodossiadis PG, Markomichelakis NN, Sfikakis PP: Tumor necrosis factor antagonists: preliminary evidence for an emerging approach in the treatment of ocular inflammation. *Retina* 2007;399-413.
26. Hale S, Lightman S: Anti-TNF therapies in the management of acute and chronic uveitis. *Cytokine* 2006;231-237.
27. Lindstedt EW, Baarsma GS, Kuijpers RW, van Hagen PM: Anti-TNF-alpha therapy for sight threatening uveitis. *Br J Ophthalmol* 2005;533-536.
28. Oh H, Takagi H, Takagi C, Suzuma K, Otani A, Ishida K, Matsumura M, Ogura Y, Honda Y: The potential angiogenic role of macrophages in the formation of choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;1891-1898.
29. Olson JL, Courtney RJ, Mandava N: Intravitreal infliximab and choroidal neovascularization in an animal model. *Arch Ophthalmol* 2007;1221-1224.
30. Giansanti F, Ramazzotti M, Vannozzi L, Rapizzi E, Fiore T, Iaccheri B, Degl' Innocenti D, Moncini D, Menchini U: A pilot study on ocular safety of intravitreal infliximab in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;1151-1156.

31. Theodossiadis PG, Liarakos VS, Sfrikakis PP, Charonis A, Agrogiannis G, Kavantzias N, Vergados IA: Intravitreal administration of the anti-TNF monoclonal antibody infliximab in the rabbit. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009:273-281.
32. Hosseini H, Safaei A, Khalili MR, Nowroozizadeh B, Eghtedari M, Farvardin M, Nowroozizadeh S, Tolide-Ie HR: Intravitreal infliximab in experimental endotoxin-induced uveitis. *Eur J Ophthalmol* 2009:818-823.
33. Hoekzema R, Verhagen C, van Haren M, Kijlstra A: Endotoxin-induced uveitis in the rat. The significance of intraocular interleukin-6. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992:532-539.
34. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951:265-275.
35. Verma MJ, Mukaida N, Vollmer-Conna U, Matsushima K, Lloyd A, Wakefield D: Endotoxin-induced uveitis is partially inhibited by anti-IL-8 antibody treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999:2465-2470.
36. Diaz-Llopis M, Garcia-Delpech S, Salom D, Udaondo P, Bosch-Morell F, Quijada A, Romero FJ, Amselem L: High-dose infliximab prophylaxis in endotoxin-induced uveitis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007:343-350.
37. Mo JS, Matsukawa A, Ohkawara S, Yoshinaga M: Involvement of TNF alpha, IL-1 beta and IL-1 receptor antagonist in LPS-induced rabbit uveitis. *Exp Eye Res* 1998:547-557.
38. Demir T, Godekmerdan A, Balbaba M, Turkcuoglu P, Ilhan F, Demir N: The effect of infliximab, cyclosporine A and recombinant IL-10 on vitreous cytokine levels in experimental autoimmune uveitis. *Indian J Ophthalmol* 2006:241-245.
39. Panzer S, Madden M, Matsuki K: Interaction of IL-1 beta, IL-6 and tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human T cells activated by murine antigens. *Clin Exp Immunol* 1993:471-478.
40. Fleisher LN, Ferrell JB, McGahan MC: Ocular inflammatory effects of intravitreally injected tumor necrosis factor-alpha and endotoxin. *Inflammation* 1990:325-335.
41. Nussenblatt R: Treating intraocular inflammatory disease in the 21st century. *Arch Ophthalmol* 2005:1000-1001.
42. Sobrin L, Kim EC, Christen W, Papadaki T, Letko E, Foster CS: Infliximab therapy for the treatment of refractory ocular inflammatory disease. *Arch Ophthalmol* 2007:895-900.
43. Ardoin SP, Kredich D, Rabinovich E, Schanberg LE, Jaffe GJ: Infliximab to treat chronic noninfectious uveitis in children: retrospective case series with long-term follow-up. *Am J Ophthalmol* 2007:844-849.
44. Richards JC, Tay-Kearney ML, Murray K, Manners P: Infliximab for juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Clin Experiment Ophthalmol* 2005:461-468.
45. Johnsen-Soriano S, Sancho-Tello M, Arnal E, Diaz-Llopis M, Navea A, Miranda M, Bosch-Morell F, Romero FJ: Comparison of the acute effects of anti-TNF-alpha drugs on a uveitis experimental model. *Ocul Immunol Inflamm* 2010:208-215.
46. Rosenbaum JT, Boney RS: Failure to inhibit endotoxin-induced uveitis with antibodies that neutralize tumor necrosis factor. *Reg Immunol* 1993:299-303.

47. Kasner L, Chan CC, Whitcup SM, Gery I: The paradoxical effect of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993:2911-2917.
48. De Vos AF, Van Haren MA, Verhagen C, Hoekzema R, Kijlstra A: Systemic anti-tumor necrosis factor antibody treatment exacerbates endotoxin-induced uveitis in the rat. *Exp Eye Res* 1995:667-675.
49. Atzeni F, Turiel M, Capsoni F, Doria A, Meroni P, Sarzi-Puttini P: Autoimmunity and anti-TNF-alpha agents. *Ann N Y Acad Sci* 2005:559-569.
50. Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Munoz S, Soria N, Galiana D, Bertolaccini L, Cuadrado MJ, Khamashta MA: Autoimmune diseases induced by TNF-targeted therapies: analysis of 233 cases. *Medicine (Baltimore)* 2007:242-251.
51. Sicotte NL, Voskuhl RR: Onset of multiple sclerosis associated with anti-TNF therapy. *Neurology* 2001:1885-1888.
52. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM: Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 2001:1098-1104.
53. Lee JH, Slifman NR, Gershon SK, Edwards ET, Schwieterman WD, Siegel JN, Wise RP, Brown SL, Udall JN, Jr., Braun MM: Life-threatening histoplasmosis complicating immunotherapy with tumor necrosis factor alpha antagonists infliximab and etanercept. *Arthritis Rheum* 2002:2565-2570.
54. Slifman NR, Gershon SK, Lee JH, Edwards ET, Braun MM: *Listeria monocytogenes* infection as a complication of treatment with tumor necrosis factor alpha-neutralizing agents. *Arthritis Rheum* 2003:319-324.
55. Cheifetz A, Smedley M, Martin S, Reiter M, Leone G, Mayer L, Plevy S: The incidence and management of infusion reactions to infliximab: a large center experience. *Am J Gastroenterol* 2003:1315-1324.
56. Vidal F, Fontova R, Richart C: Severe neutropenia and thrombocytopenia associated with infliximab. *Ann Intern Med* 2003:W-W63.
57. ten Tusscher MP, Jacobs PJ, Busch MJ, de Graaf L, Diemont WL: Bilateral anterior toxic optic neuropathy and the use of infliximab. *BMJ* 2003:579.
58. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V: Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA* 2006:2275-2285.
59. Theodossiadis PG, Liarakos VS, Sfrikakis PP, Vergados IA, Theodossiadis GP: Intravitreal administration of the anti-tumor necrosis factor agent infliximab for neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2009:825-830, 830 e821.
60. Farvardin M, Afarid M, Mehryar M, Hosseini H: Intravitreal infliximab for the treatment of sight-threatening chronic noninfectious uveitis. *Retina* 2010:1530-1535.
61. Giganti M, Beer PM, Lemanski N, Hartman C, Schartman J, Falk N: Adverse events after intravitreal infliximab (Remicade). *Retina* 2010:71-80.
62. Ferrara N, Damico L, Shams N, Lowman H, Kim R: Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina* 2006:859-870.

8. ÖZET

Tavşan Gözünde Deneysel Olarak Endotoksinle Oluşturulan Üveit Modelinde Farklı Yollarla Uygulanan İnfliximab'ın Etkinliğinin Değerlendirilmesi ve Karşılaştırılması

Bu çalışmada, sistemik ve/veya intravitreal olarak infliximab tedavisi uygulandıktan sonra; HA ve vitreusta, TNF- α ve protein konsantrasyonunda meydana gelen değişiklikler ile histopatolojik ve klinik değişiklikler ve bu değişikliklerde tedaviler arasındaki farklılıkların araştırılmasını amaçladık.

Otuz adet Yeni Zelanda beyaz tavşanın 30 gözü çalışmaya dahil edildi. Her bir grupta 6 hayvan olmak üzere hayvanlar 5 gruba ayrıldı. Grup 1'e intravitreal (İV) lipopolisakkarit (LPS), grup 2'ye İV LPS ve İV sham enjeksiyonu, grup 3'e İV LPS ve İV 2mg/0,1cc infliximab, grup 4'e İV LPS ve intravenöz 5mg/kg infliximab ve grup 5'e İV LPS ve eş zamanlı olarak, intravenöz 5mg/kg infliximab ve İV 1mg/0,1cc infliximab uygulandı. Enflamasyon; klinik, aköz ve vitreusta protein ve TNF- α düzeyi ve histopatolojik olarak değerlendirildi.

Klinik değerlendirme, grup 3, grup 4 ve grup 5'de daha az saptandı ve bu istatistiksel olarak anlamlı idi ancak birbirleri arasında anlamlı fark yoktu. HA ve vitreusta protein ve TNF- α düzeyi; grup 3, grup 4 ve grup 5'de anlamlı olarak daha azdı, grup 4'de, grup 3'e göre daha az saptanmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup 5'de ise, diğer bütün gruplara göre protein ve TNF- α düzeyi daha düşük saptandı ve bu istatistiksel olarak anlamlı idi. Histopatolojik

değerlendirmede; grup 1, grup 2 ve grup 3 arasında anlamlı fark yokken, grup 4 ve grup 5’de enflamasyon daha az saptandı ve bu istatistiksel olarak anlamlı idi.

İntravenöz infliximab infüzyonu, intravitreal olarak uygulanan infliximab’tan, akut dönemde çok daha etkindir, akut üveit atağı ile gelen olgularda, intravenöz infliximab infüzyonu ile birlikte intravitreal infliximab uygulaması alternatif tedavi olarak uygulanabilir.

Anahtar Kelimeler: Endotoksinle oluşturulmuş üveit, intravitreal infliximab, sistemik infliximab, TNF

9. SUMMARY

Which one is effective in experimental endotoxin-induced uveitis: Sistemic Infiximab, Intravitreal infliximab or Combine?

The aim of this study was to evaluate the efficacy of sistemic, intravitreal and sistemic-intravitreal infliximab and to compare different treatment modalities.

Thirty white New Zealand rabbits were divided into 5 groups, each group had 6 rabbits. Grup 1 received intravitreal (IV) injection of lipopolysaccharid (LPS), grup 2 received IV injection of LPS and IV saline, grup 3 received IV LPS and IV 2mg/0,1cc infliximab, grup 4 received IV LPS and 5mg/kg intravenous infliximab and grup 5 received IV LPS and intravenous 5mg/kg infliximab and IV 1mg/0,1cc infliximab simultaneously. Inflammation was determined by clinical examination, measuring the protein and TNF- α concentration and histopathologic examination.

Clinical examination score was lower in group 3, group 4 and group 5 and when compared group 1 and 2 ($p < 0,05$). However, there was no statistically significant difference between group 3, 4 and 5 with regard to clinical examination. In group 3, 4 and 5; the protein and TNF- α concentration in aqueous and vitreus was measured lower than grup 1 and 2 ($p < 0,05$). Although group 4 had lower protein and TNF- α concentration than group 3, there was no statistically significant difference. The lowest protein and TNF- α concentration was detected in group 5 and the difference was statistically significant when compared the other groups. In histopathologic examination, there was no statistically significant

difference between grup 1, 2 and 3, however enflamation was determined lower in group 4 and 5 ($p=0,14$).

Intravenous infliximab infusion was effective than intravitreal infliximab in an acute period, in additon simultane intravenous infliximab infüision and intravitreal infliximab injection can be used as an alternative therapy for acute uveitis.

Key Words: endotoxin-induced uveitis, intravitreal infliximab, systemic infliximab, $\text{TNF-}\alpha$

11. ÖZGEÇMİŞ

Dr. Erdem Yüksel

Doğum Yeri ve Tarihi : Hatay / 07.05.1981

Eğitim Durumu

2005-2010	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Araştırma Görevlisi Doktor
2008 (04'-06')	Harward University, Massachusetts Eye Research and Surgery Institution, Observer
1999-2005	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Lisans
1996-1999	Gaziantep Vehbi Dinçerler Fen Lisesi, mezuniyet
1992-1996	İstiklâl Makzume Anadolu Lisesi, ortaokul

Yabancı Dil İngilizce (ileri düzey)

Kurslar ve Sertifikalar

2010	Türk Oftalmoloji Derneği, Katarakt Cerrahisi İleri Teknikler
2008	Türk Oftalmoloji Derneği, Kontakt Lens Uygulamaları

Bilimsel Çalışma ve Yayınlar

Makale:

- Yuksel E, Ozdek S, Gurelik G, Hasanreisoglu B. Comparison of Different Surgical Technics in Pseudophakic Retinal Detachment. Journal of Retina-Vitreus 2008; 16 (4):263-268
- Yuksel E, Ozdek S, Yuksel N, Korkmaz S, Hasanreisoglu B. Intraocular Lymphoma Masquerading as Multifocal Choroiditis with Panuveitis. TOD Journal 2010; 40: 46-50
- Yuksel E, Ozdek S, Gurelik G, Hasanreisoglu B. Meme ca tanısı olan bir olguda seröz retina dekolmanı: metastaz? Santral seröz koryoretinopati? Retina-Vitreus. Basım aşamasında.

Derleme:

- Foster CS, Yuksel E, Anzaar F, Ekong AS. Dry Eye Syndrome: Follow-up. eMedicine Ophthalmology May 13, 2009

Sözlü Sunum:

- Ünlü M. Aktaş Z, Yüksel E, Önel M, Akata F, Hasanreisoglu B. Dirençli Glokom Olgularında Transskleral Diod Lazer Siklodekstrüksiyon Etkin ve Güvenilir bir Tedavi mi? Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2010;S:105

- Yüksel N, Yıldız B, Yüksel E, Hondur A, Bilgihan K. Myopi Tedavisinde Epi-LASIK ve LASEK Uzun Dönem Sonuçlarının Karşılaştırılması. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2010;S:110
- Yüksel E, Özdek S, Gürel G, Hasanreisoglu B. Psödotakik Retina Dekolmanlarının Tedavisinde Farklı Cerrahi Tekniklerin Karşılaştırılması. Türk Oftalmoloji Derneği 40. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2006;S:161.

Poster:

- Yüksel E, Özdek S. Chorioretinectomy for Perforating Eye. 4th Mediterranean Retina Meeting.
- Yüksel E , Özdek Ş. Perforan Göz Yaralanmalarında Koroidoretinektomi. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2010;S:429.
- Ünlü M. Aktaş Z, Yüksel E, Önoğlu M, Hasanreisoglu B. Posttravmatik Spontan Kistik Bleb Oluşumuna Bağlı Glokom ve Tedavisi. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2010;S:430.
- Yüksel E, Hondur A, AKÇAM HT, Özdek Ş, Bilgihan K. Bilateral Panüveit, Optik Disk Ödemi ve Böbrek Fonksiyon Bozukluğu. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2010;S:421.
- Akata F, Yüksel E, Başbağ B, Gümüşlüderelioğlu M. Kornea Greft Reddinin Önlenmesinde CSA'nın PCL İmplantlarından Uzun Süreli Salınım Modeli. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2009;S:133.

- Yüksel E, Konuk O, Ünal M. Gözyaşı Drenaj Sisteminin Bikanalikül Kesilerinde Uygulanan Cerrahi Yaklaşım ve Sonuçları. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2009;S:149.
- Yüksel E, Özdek S, Gürelık G, Hasanreisoglu B. Dirençli Diyabetik Maküler Ödem’de İntravitreal Bevacizumab Tedavisi. Türk Oftalmoloji Derneği 43. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2009;S:165.
- Yüksel E, Bhat P, Hinkle D, CS Foster. Pars Plana Vitrektomi ve Göz İçi Lens Eksplantasyonu Sonrasında İnateçli Sklerit. Türk Oftalmoloji Derneği 42. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2008;S:235.
- Özturk N, Yüksel E, Akata F. İnsan kaynaklı doku yapıştırıcısının antibakteriyel etkinliğı ve antibiyotik geçirgenliğı. Türk Oftalmoloji Derneği 41. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2007;S:228.
- Yüksel E, Özdek S, Gürelık G, Hasanreisoglu B. Dirençli diyabetik maküler ödem’de (DMÖ) İntravitreal Bevacizumab Tedavisi. Türk Oftalmoloji Derneği 41. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2007;S:261.
- Yüksel E, Özdek S, Gürelık G, Hasanreisoglu B. Meme ca tanısı olan bir olguda seröz retina dekolmanı: metastaz? Santral seröz koryoretinopati? Türk Oftalmoloji Derneği 41. Ulusal Kongresi Program Kitabı 2007;S:273.