

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**TAVŞAN GÖZÜNDE DENEYSEL OLARAK ENDOTOKSİNLE
OLUŞTURULAN ÜVEİT MODELİNDE NEOPTERİN
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. NİGAR ŞERİF

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. GÖKHAN GÜRELİK

ANKARA-2006

TEŞEKKÜR

Oftalmoloji eğitimi ve disiplinini kazanmamda çok kıymetli katkıları olan tüm hocalarıma; tezimi hazırlamada her aşamada göstermiş oldukları yardım ve destek için tez danışmanım Doç Dr. Gökhan Gürelık'e; bu çalışmanın yapılması için gerekli maddeleri, donanımı ve fikirleri sağlayarak, bizlere laboratuvarını açan GATA Biyokimya ve Klinik Biyokimya Anabilim Dalından sayın Y. Doç Dr. Halil Yaman'a; GATA Deney Hayvanları bölümünden Vet. Hekim Tayfun İde ve Vet Hekim İbrahim Akyazı'ya; histopatolojik değerlendirmeyi yapan Dr. Nalan Altınyürek'e teşekkürü borç biliyorum.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ.....	4
GENEL BİLGİLER	
Üveitler.....	6
Bağışıklık Sistemi	13
İntraoküler İnflamasyon Mekanizmaları.....	21
Neopterin.....	33
GEREÇ VE YÖNTEM.....	48
BULGULAR.....	52
TARTIŞMA.....	58
ÖZET.....	63
İNGİLİZCE ÖZET.....	64
KAYNAKLAR.....	65

GİRİŞ

Üveitler legal körlüğün önde gelen nedenlerinden birisidir. Yaklaşık 38/100000 prevalansla gelişmiş ülkelerdeki legal körlüklerin %10'undan sorumludur. Bu oran glokoma ve diabete bağlı gelişen körlük oranlarına yaklaşıktır. Bunların ve legal körlüğün en önemli nedeni kabul edilen yaşa bağlı makula dejenerasyonunun tersine üveitler ileri yaş ile pozitif korele değildir. Relatif olarak yaş dağılımı olsada her yaşta görülebilir ve büyük sekeller yaratabilir. Bu nedenle intraokuler inflamasyon fizyopatolojisini anlamaya ve tedavisini geliştirmeye yönelik çalışmalar halen devam etmektedir.

Guanozin trifosfat'tan derive edilen, 250 dalton moleküler ağırlığında, bir pyrimidine-pyrimidine bileşiği olan neopterin, gamma interferon tarafından stimüle olan makrofajlar tarafından üretilir. Gama interferon ise aktive olmuş T lenfositlerinden salınmaktadır. Kısaca neopterin, T lenfosit – makrofaj etkileşiminin hassas bir göstergesi olarak görülür. Dolayısıyla neopterin serum değerlerinin ölçülmesi, özellikle in vivo hücrel immünite aktivasyonunun derecesi hakkında fikir vermektedir. Sağlıklı erişkin bireylerde serum neopterin konsantrasyonları 5.3 ± 2.7 nmol/L'dir. Sağlıklı insanlarda serum neopterin düzeylerinin yaşa göre değişiklik gösterdiği fakat cinsiyete bağlı olmadığı gösterilmiştir (51). Neopterin'in normal üst sınırının 10 nmol/l olarak belirtilmesine rağmen, her çalışmacının kendi laboratuvarının üst sınırını kendisinin belirlemesi gerektiği de vurgulanmıştır (50).

Neopterin sellüler immunitenin erken döneminde ortaya çıkan markerlarından biridir. IFN- γ ve TNF- α tarafından uyarılarak makrofajlardan salınmaktadır. Neopterin düzeyi çeşitli malignansilerde, SLE ve Graves gibi otoimmün hastalıklarda, multibl skleroz, enfeksiyon durumlarında, vaskülitlerde serumda yüksek olarak bulunmuştur. Ayrıca neopterin düzeyi oksidatif stres durumlarında serumda ve aközde yüksek bulunmuştur. Interferon- γ (INF- γ) otoimmün üveitlerin merkezi sitokinidir.

Endotoksinle indüklenen üveit (EIU); deney hayvanına sublethal dozda lipopolisakkarid (LPS) verilmesiyle genelde 24 saat sonra pik yapan göze lokalize inflamatuvar cevapla karakterize akut fakat transient olaydır. İlk olarak Lewis ratlarında gösterilmesine rağmen bugün birçok hayvana uygulanabilmektedir. EIU bir akut ön üveit modelidir ve bu hastalığın hem patofizyolojisinin hem de potansiyel tedavisini araştıran çalışmalarda kullanılmaktadır .

Bu çalışmada:

1. Tavşanda intraoküler ve sistemik neopterin seviyelerinin endotoksinle tetiklenmiş üveit modelinde ne kadar anlamlı olabileceği
2. Ne şekilde değişkenlik göstermekte olduğu araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

ÜVEİTLER

Üveit sözcük olarak değerlendirildiğinde, üvea dokusunun inflamatuvar hastalığı olarak tanımlanabilir. Aslında üvea sözcüğü Yunanca’da üzüm anlamına gelen “uva”dan gelmekte ve esas olarak gözün kanlanması sağlayan iris, silier cisim ve koroid dokularını tanımlamakta ve “-it” veya “-itis” ekleri ile de bu dokuların inflamasyonu anlatılmaktadır. Bununla birlikte bu terim günümüzde sadece üveyayı değil aynı zamanında komşuluğunda bulunan yapıları da tutan birçok intraoküler inflamasyon formunu tanımlamak için kullanılır.

Sınıflandırma çok faktörlü olarak ele alınabilir. Burada hastalığın seyri, etyolojisi, lokalizasyonu ve patolojisi rol oynar. Buna göre akut-kronik, eksojen-endojen, ön, orta, arka, pan ve granülomatöz-nongranülomatöz deyimleriyle ifade edilen sınıflandırmalar bahis konusudur. Sınıflandırma bu nedenle klinik teşhis dışında hastalığın genel bir ifadesidir.

Literatürde en sık yapılan sınıflandırma, inflamasyonun yerleştiği anatomik bölgeye göre yapılan sınıflandırmadır (2). Fakat hastalıkların çoğu zaman birbirinin içine geçen bulgularla seyretmesi sınıflandırmada güçlükler doğurur. Yani esas olarak arka üveit olarak sınıflandırılan bir hastalık seyri esnasında ön üveit bulgularını da gösterebilmektedir. Bu durumda da hastalığı panüveit sınıfında incelemek neredeyse hastalıkların tümünün bu gruba dahil edilmesi gibi bir sonuca yol açabilmektedir. Hastalıkların tanımlanmasında,

takip ve tedavisinde böyle bir sınıflama faydalı olsa da, hastalıkların kesin sınırlarla ayrımının yapılamayacağı bilinmelidir (53).

Ön Üveitler:

Esas olarak iris ve silier cismin ön kısmı tutulur. Kırmızı göz grubunun bir üyesi olarak gözün acilen müdahale edilmesi gereken hastalıklarından birini oluştururlar. Bu nedenle tanınmaları ve ayırıcı tanıları önemlidir. Başlıca semptomları olan kızarıklık, sulanma, fotofobi, görme azalması ve ağrı ya tek tek yada değişik derecelerde diğer göz dışı inflamasyonlarda ve akut açılı kapanması glokomunda da gözlenmektedir. Bu nedenle tanı koymada bulguların önemi semptomların önündedir denebilir. Ön üveit semptomları ve bulguları:

Ağrı: Genellikle silier cismin spazmıyla ilgilidir ve spazmın şiddetiyle artar. Yani iridosiklitte siklit komponenti ne kadar ağır basarsa ağrı da o kadar şiddetli olur. Ağrı trigeminal sinirin yayıldığı bölgeye ve periorbital alana yayılır. Sikloplejikler silier cismi istirahate sevk ettiklerinden ağrıyı da azaltırlar. Ayrıca uyum ve pupilla hareketleri de ağrıya yol açtıklarından dilatasyon ağrıyı azaltıcı etkiye sahiptir.

Fotofobi ve Lakrimasyon: Fotofobi ışığın sebep olduğu ağrıdır. Bu nedenle ışığın yol açtığı kamaşma ve benzeri rahatsızlıklardan ayrılmalıdır. Keratitlerde de görülebilir. Burada ışık pupilla hareketine yol açtığından silier cismin kasılmasına yol açarak ağrıyı başlatabilir. Lakrimasyon ise trigeminal irritasyon sonucudur.

Görme Azalması: Orta seviyelerdedir. Nedeni ortamdaki iltihabi hücre ve reaksiyonlara bağlı bulanıklıktır. Makula ödemi görme azalmasının önemli bir nedenidir ve bu nedenle arka kutup mutlaka değerlendirilmelidir.

Hiperemi: Buradaki hiperemi silier enjeksiyon adını alır. Özelliği genişlemiş damarların limbustan ışınal olarak ayrılmasıdır. Bunlar ön silier arterlerin rekürren dallarından oluştukları için derin hiperemi de denir ve vazokonstrüktör damlalara cevap vermemesiyle yüzeysel hiperemiden ayrılır. Dilatasyon histamin, serotonin gibi maddelerin açığa çıkmasının sonucudur.

Pupiller Değişiklikler ve İris: Miyozis tipiktir ve bundan prostaglandinler sorumludur. Ayrıca iris stromasında ortaya çıkabilecek ödem iris yapısını silikleştirebilir. İris atrofisi kendisini sektöryal olarak herpetik üveitte gösterir. Atrofik bölgelerde depigmentasyon görülür ve denervasyon olduğu için miyozis muntazam olmayabilir. Yaygın depigmentasyon heterokromik iridosiklit için tipiktir. İris üzerindeki veya pupilla kenarındaki nodüller genellikle granülatöz hastalık belirtisi olarak kabul edilirler ve sarkoide bağlanırlar. Fakat sarkoid dışında da Harada, tuberküloz, sifiliz ve lense bağlı üveitlerde (LIU) de görülebilirler. Pupil kenarındakiler Koeppe, iris yüzeyindekiler Busacca nodülleri adını alırlarsa da ikisi arasında yerleşme yeri dışında bir fark yoktur. İrise yapışan inflamatuvar hücreler büyük kümeler yaparlar. Nadiren stromada hakiki granülom görülebilir.

Keratik Presipitatlar (KP): Ön kamarada mevcut iltihabi hücreler, iris pigmentleri, fibrin gibi maddelerin kornea endoteline oturmasıdır. Burada hümör aköz (HA) akışkanlığının azalması ve sirkülasyonunun yavaşlaması mevcuttur. Granülatöz

iridosiklitlerde beyaz-gri renkte, daha iri yapıda ve daha az sayıda olabilirler. KP'ler genellikle remisyon dönemlerinde soluklaşır ve kaybolurlar, bazıları iz bırakabilir.

Ön Kamara: HA son derece düşük seviyede protein ihtiva eder (10mg/100ml). Üveal damarların geçirgenliğinin bozulması sonucu damar dışına çıkan protein HA'ya bulanık bir manzara verir (Tyndall fenomeni). Kan aköz bariyerinin kalıcı olarak bozulduğu kronik üveitlerde topikal steroidlere cevapsız bir bulanıklık sebat eder. Bu nedenle bu durumda bulanıklığı akut bir iltihap bulgusu olarak almamalıdır. Üveitlerde HA'ye proteinle beraber hücreler de geçer. Hücre iltihabi aktivitenin şiddetini göstermesi bakımından önem taşır. Midriyazis sonrası önkamarada görülen 1-2 hücre iltihabi belirti olmayabilir. Ön kamara bulanıklığının ve hücresinin değerlendirilmesi 0'dan +4'e doğru tasnif edilir.

Lens: Katarakt üveitte oldukça sıktır. İltihapın kendisi ve steroid tedavisi neden olabilir. Arka subkapsüler kesafet olarak başlar ve ilerler. Steroid kullanımının süre ve dozajının kataraktın ortaya çıkması üzerine herhangi bir etkisi bulunmamıştır.

Vitreus: Silier cisim ve koroid iltihapları sıklıkla iltihabi hücrelerin vitreusa geçmelerine yol açarlar. Genel olarak vitreustaki hücre yoğunluğunun en fazla iltihabi odak civarında olduğu söylenebilir. Ön üveitlerde hücre yoğunluğu lens arkasında toplanmışken arka üveitlerde arka vitreus ve alt kadrana toplanır. Akut iltihaplarda genellikle sıvı vitreus içinde kümelenmemiş ve hücreler tek tek görülebilirken, bu manzara kronik iltihaplarda kümelere ve kartopu görünüşüne dönüşür.

Göziçi Basıncı (IOP): IOP hastanın her muayenesinde mutlak ölçülmelidir. Genellikle ön üveitlerin başlangıcında IOP düşük ölçülebilir. Bunun nedeni silier cismin

inflamasyonu dolayısıyla HA sekresyonunun azalmasıdır. Trabeküler ağ civarındaki inflamasyon veya açının hücre ve debrilerle blokajı IOP'yi yükseltebilir. Diğer nedenler ise ön yapışıklıklar ve pupilla bloğudur. Diğer bir önemli neden steroidlerdir. Sistemik steroid alan hastaların başlangıçta steroide cevap vermeseler bile uzun tedavi süreleri sonunda steroide hassas duruma geçebilecekleri unutulmamalıdır.

Orta Üveitler

Ön planda retina ve koroidin en uç perifer noktaları ile silier cismin arka kısmının tutulmasıyla karakterizedir. İnflamasyonun vitreusda belirgin olduğu kronik üveitlerdir. Bununla birlikte ön segment , retina, optik disk de olaya katılabilmektedir.

Hastaların tipik yakınması görme bulanıklığı ve görüş alanında hareketli yuvarlak görüntülerdir (floaters). Seyrek olarak ağrı ve fotofobiden yakınabilirler. Bazı hallerde hastanın kistoid makula ödeminin (KMÖ) yol açtığı görme keskinliğinde azalma şikayetiyle geldiğine de rastlanılmaktadır. Ön segment genellikle sakindir. Ön kamarada hücre olsa bile +2'den fazla değildir. Ender de olsa posterior sineşiler görülse bile iris genellikle olaya katılmaz. İnflamasyonun olduğu tarafta inflamasyonun ağırlığına göre; vitreusda bulanıklık, hücre ve fibrin birikintileri gözlenir. Bazı olgularda inflamatuvar birikintiler altta vitreus tabanı, periferik retina ve pars plana bölgesinde bir araya gelerek kar bankları (snow banks) görünümüne neden olur. Periferik venüllerde periflebitik değişiklikler ve pars plana üzerinde gevşek fibrovasküler membranlar izlenebilir.

Orta üveitler çoğu hastada yalnız göz hastalığı olarak çıkar. Bazı hastalarda ise sistemik hastalıklarla birlikte olabilir. Söz konusu sistemik hastalıklar Sarkoidozis, Multiple Sklerozis, Lyme hastalığı, Whipple hastalığı, Sifiliz, Tüberküloz, Bağ dokusu hastalıkları ve gençlerde Astım ve Atopik hastalıklardır.

Arka Üveitler

Vitreus tabanının arka sınırının gerisinde yerleşmiş inflamasyonlarla karakterizedir. Semptomları arasında sinek uçuşması ve görme azalması yer almaktadır. Periferde inflamatuvar lezyonu olan bir hasta sinek uçuşmaları gördüğünden şikayet edecek ve görmesinde ancak minimal seviyede azalma olabilecektir. Öte yandan foveayı ve papillomaküler demeti tutan aktif bir koroidit öncelikle görme kaybıyla neticelenecek ve hasta bu esnada vitreus opasitelerinin varlığını dahi farketmeyebilecektir. Hastalığın belirtileri:

Vitreus: Vitreus değişiklikleri arasında hücreler, flare, opasiteler ve sıklıkla arka vitreus dekolmanı (AVD) yer alır. Bazı vakalarda arka hyaloid yüz, KP'lerle mukayese edilecek şekilde inflamatuvar presipitatlarla kaplanmış olabilir.

Koroid: Koroidit nisbeten belirli sınırlara sahip denebilecek, sarı veya grimsi renkte yama tarzında lezyonlar ile karakterizedir. İnaktif lezyonlar, pigmentli sınırlarla seyreden belirgin, beyaz koryoretinal atrofi sahaları olarak görülürler. Retinadaki kan damarları lezyonların üzerinden herhangi bir değişikliğe uğramaksızın geçerler.

Retina: Retinit retinaya beyaz ve bulanık bir görünüm verir. İnflamatuvar odağın dış hatları belirsiz olduğu için sağlıklı ve tutulum gösteren retina arasındaki kesin demarkasyon hattını tesbiti zor olabilir

Damarlar: Vaskülit retinadaki kan damarlarının inflamasyonudur. Retina venleri çok daha sık tutulurken , bazı hallerde arteriyoller de etkilenebilir. Aktif periflebit, kan sütununu çevreleyen, beyaz renkli, tüylü bir görüntüye sahip, bulanık bir lekeyle karakterizedir. Tutulum damar duvarının dışında düzensiz uzantılarla seyreden yama tarzında bir görünümdeyir. Ağır periflebitlerde, granüloamatöz dokunun damar etrafında birikmesi “balmumu damlaları” benzeri bir görüntü yaratır.

Ayrıca üveitlerin değerlendirilmesinde sistemik semptomların göz ardı edilmemesi gerektiği bir kere daha vurgulanmalıdır. Bu nedenle kendisine üveit tanısı konan her hastada muhakkak bazı sistemik beraberliklerin olabileceği unutulmamalı ve değişik organlardaki muhtemel semptom ve bulgular muayeneyi yapan doktor tarafından sorgulanmalıdır. Gerektiğinde konsültasyon istenmelidir.

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİNDEKİ TEMEL KAVRAMLAR

Genel olarak bağışıklık cevabı patolojik bir organizma, toksik bir madde, hücresel artık yada neoplastik hücre gibi saldırgan bir durumdan vücudun kendini korumak için kullandığı bir dizi hücresel ve moleküler olayı içermektedir.(29,49)

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİNİN ELEMANLARI

1-NÖTROFİLLER , PMNL lökositde denir. Kanda en fazla bulunan granüositlerdir. Belirgin granülleri ve lizozomları vardır. Etkili fagositoz kapasiteleri ile dokuları temizlerler. Bağışıklık sisteminin ve diğer mekanizmalarla hasar gören bölgeye çekilirler. Deneysel modellerde konjonktiva, sklera, kornea, vitrenin bakteriel enfeksiyonlarında dokuları infiltre ederler. Ayrıca korneadaki hepes simpleks keratitinde, HSV retinitinde de dokularda bolca bulunurlar. Ayrıca LPS tarafından uyarılan inflamasyonda ve oküler dokuların çeşitli bölgelerine sitokin enjeksiyonu yapıldıktan sonra da ortaya çıkan inflamasyonda temel hücreleridir.

2-BAZOFİL ve MAST HÜCRELERİ Bazofiller dokulardaki mast hücrelerinin kandan gelen karşılıklarıdır. Mast hücreleri doku ve mukoza kaynaklı olarak iki tipdir.

Bağ dokusundakiler histamin ve heparin içerirler. Uyarıyla beraber PGD2 sentezler. Mukozal mast hücreleri ise T hücrelerince sitokinler aracılığıyla aktive olduktan sonra senteze başladığından histamin az oranda içerirler. Uyarıyla bunlar genelde lökotrienler salgırlar. Normal insan konjunktivasında mast hücreleri substansia propriada bulunurken

epitelde bulunmazlar. Ancak atopik ve alerjik olaylarda örneğin vernal konjunktivitte substansia propriadaki mast hücresi sayısı arttığı gibi epitelde de bol miktarda bulunmaktadır. Detaylı histolojik incelemeler koroid ve ön uveada belirgin miktarda bağ dokusu tipinde mast hücrelerinin olduğunu ortaya koymuşken korneada hiç bulunamamıştır.

3-MONOSİT ve MAKROFAJLAR Monositler dokudaki makrofajların kan dolaşımındaki eşdeğerleridir. Hemen hemen tüm dokularda dokuda kalan ve kan kaynaklı olmak üzere iki tip makrofaj topluluğu vardır. Kalıcı olan makrofajlar embriyolojik yaşamda yerleştiklerinden dokuya özgü özellikler ve belirgin hücre markerları taşımaktadır. Karaciğerdekilerine kupfer hücresi, akciğerde alveolar makrofajlar, beyin ve retinada mikrogliya adları verilmektedir. Kan kaynaklı monositler gelişmiş olan dokulara sonradan gelen hücreleri ifade etmektedir.

3 esas görevi:

1-Hücre artıkları ve atıkların ortadan kaldırılması

2-T lenfositlerine antijen sunucu hücre görevi

3-İnflamatuvar efektör hücre şeklindedir.

Dokularda bekleyen monositler çeşitli sinyaller ile ''antijen presenting cell''(APC) haline gelmekte, ek bazı sinyaller ilede efektör hücre halini almaktadır. Bakteriyel toksinler, antibody yada kompleman ile kaplı antijenlerin fagosite edilmesi, İL-1 yada İNF γ gibi inflamasyonda salınan mediatörler aktive etmektedir. Makrofajlar çok önemli efektör hücreler olduğundan hemen bütün akut oküler inflamasyonlarda bulunabilmektedir.

4-LENFOSİTLER Küçük çaplı, büyük yoğun nükleuslu, kemik iliğindeki kök hücreden kaynak alan hücrelerdir. Yüzeylerindeki markerlara göre farklı tiplere ayrılmaktadır. B, T ve Non B Non T lenfositlere ayrılmaktadır.

Gecikmiş Hipersensitivitede rol alan T lenfositleri; CD4 marker taşır. $INF \gamma$ ve TNF β salgırlar. Dokularda yer aldıktan sonra antijenle karşılaşınca APC olarak davranır, aktive olur, nötrofil, bazofil, monosit gibi etken hücrelerin toplanmasını sağlarlar.

Sitotoksik T lenfositleri; CD8 taşırlar üzerlerinde ve tümör hücreleriyle ve virüslerle enfekte hücreleri sitotoksik sitokinler ve delik oluşturan özel moleküllerle öldürürler.

NonB Non T hücreler; Doğal öldürücü hücreler, lenfokin aktive eden ve öldürücü hücreler

Bağışıklık sistemi cevabının 3 farklı fazı vardır:

1-Antijen lenfatikler ve APC tarafından lenf noduna götürülür ve antijen tanınır

2-Afferent: Burada antijenik sinyal işlenir ve immun haberciler salınır.(antibodiler, T ve B hücreleri)

3-Etki : İmmun kompleks oluşumu veya gecikmiş hipersensitivite oluşur.

Gözün kendine has bir immun yapısı vardır. Bunun sebebi organın fonksiyonlarını ve yapısını korumak için bulundurduğu intraoküler enflamasyonu kontrol eden çeşitli mekanizmaların bulunmasıdır. Çeşitli deneyler göstermektedirki diğer bölgelerde cilt altına yerleştirildiğinde reddedilen çeşitli doku greftleri ve tümör hücreleri ön kamaraya

yerleştirildiğinde reddedilmemektedir. Doku uyumsuzluğu belirgin seviyede olsada korneal transplantasyonunun farelerde ve insanlarda çok başarılı olması bunun bir başka göstergesidir. Gözde bu farklılığı oluşturan yapılar şunlardır: 1- kan-doku bariyeri, 2- lenfatik drenajın olmaması, 3- dolaşım sistemine intaoküler sıvının drenajı, 4- parenkimal hücrelerde MHC 1 ve 2 moleküllerinin az miktarda ekspresyonu. Gözdeki diğer immun yanıtı kontrol eden yapılar:

1-Kompleman inhibisyonu: Membran kofaktör protein, decay accelerating factor, CD 59 gibi kompleman sistemini kontrol eden faktörler oküler dokularda tespit edilmişlerdir. Bu moleküllerin esas görevi göz yapılarını komplemana bağımlı oluşan yıkımdan korumaktır.

2- Klonal delesyon: Fas ligand iris, silier cisim, kornea ve retinada sürekli üretilmektedir. Doku greftlerinin in vivo çalışmaları ve doku kültürleri göstermektedirki dokudaki Fas ligand bu bölgeye giren antijen tanıyan Fas+ T-hücrelerinin yıkımına yol açmaktadır.

3-Klonal anerji: HA de birçok immunomodülatör molekül bulunmaktadır: TGF β 2 (T ve B hücre proliferasyonunu güçlü inhibe eder), serbest kortizol, İL-1 reseptör antagonisti. Uyarılmış T-hücreleri aköz içerisinde kültür edilip antijene maruz bırakıldıklarında proliferolamamakta ve İNF γ gibi mediatörler sentezleyememektedir. Ortama TGF β 2 reseptörü serbest TGF β 2'i inhibe etmek için konulduğunda normal İNF γ üretimi başlamaktadır.

4-İmmün deviasyon: Ön kamarasına allojenik tümör hücreleri konan fareler allojenik donörden alınmış cilt greftini reddetme yeteneğini kaybetmektedir. Allojenik dokuya karşı gerçekleştirilecek olan geç tipte doku hipersensitivite reaksiyonu durdurulmaktadır. Son çalışmalarda ön kamaraya yabancı protein enjeksiyonunun oküler immün sistemini TH 2 yada hüморal bir yanıtı doğru kaydırıldığı gözlenmiştir. Buna örnek deneysel otoimmün uveoretinitte gözlenmiştir. Üveiti oluşturacak olan uyaran verilmeden önce ön kamaraya otoantijenin yerleştirilmesi uveitin gelişmesini engellemiştir.

5- T-hücre supresyonu: ‘Anterior chamber-associated deviation’ (ACAID) oluşturulmuş olan farelerde ACAID oluşturan T-hücrelerini içeren dalaklarının başka farelere nakledilmesi bu farelerde antijene karşı gecikmiş hipersensitivite reaksiyonunun oluşmasını engellemektedir. Ön kamaraya yerleştirilmiş olan antijen immün sistemin gecikmiş tipte immün yanıtı engelleyecek tarzda antikor üretmesine neden olmaktadır. Deneysel çalışmalar göstermektedir ki gözde eriyen bir sinyal yada antijene bağlı APC kana karışınca dalağa gitmektedir. Dalakta ACAID düzenleyen T-hücreleri (CD8 +) oluşmaktadır. Bunların bazıları TGF β salgılamakta ve CD4+ T hücre aktivasyonunu lokal ve sistemik engellemektedir. ACAID’de göz ve dalağın ortak fonksiyonunu gösteren çalışmalarda antijenin ilk verildiğinden sonraki 3 gün içerisinde göz yada dalağın alınması ACAID yanıtının oluşmasını engellemektedir.

Ön kamara,ön uvea ve vitreusun bağışıklık yanıtı:

Bağışıklık ortamının özellikleri:

HA dolaşımı, özellikle sitokinlerin ve bağışıklık hücrelerinin dolaşması, iris- silier cisim- kornea endoteli arasında iletişimin sağlanması açısından önemlidir. Kandakinin %1'i kadar protein bulundursa da aköz içinde imunsupresif sitokinler, nöropeptidler, kompleman inhibitörleri bulundurmaktadır. Gözün içinde lenfatikler gelişmemiştir. Genelde aköze ve trabeküler ağda endotel hücrelerinin ve makrofajların fagositozuna bağlıdır. Genelde ön kamaraya antijen verilmesi sistemik yanıt oluşturacaktır.

İris ve silier cisim bol miktarda makrofaj ve dendritik hücre bulundurur. Bağışıklık yanıtının işlenmesi göz içinde gerçekleşmez. APC'ler trabeküler ağ ile gözü terk ederler ve dalakta TH 2 ve CD 8 supresör T hücre yanıtı oluşturular. Vitreus ön kamara kadar anlaşılammıştır.Vitreus elektrostatik olarak yüklü proteinleri bağlayarak muhtemelen antijen deposu ve lökosit hücre bağlanması için substrat olarak davranmaktadır. Vitrede tip 2 kollagen bulunması, artritlerle ilişkili çeşitli üveitlerde eklemlerle ortak bulunan tip2 kollagen, nedeniyle otoantijen deposu görevi görmesine neden olur.

Ön uvea bağışıklıktan arındırılmış bir yapı gösterir. Bunun tanımı böyle bölgelerde beklenmedik şekilde tümör implantlarının ve allograftların daha uzun süre korunması ancak aynı maddenin vücudun diğer yerleinde çabucak reddedilmesi şeklinde yapılabilir.

Bu özellik afferent ve efferent faza yapılan etkilerle sağlanır. Ön segmentteki primer bağışıklık yanıt ör.lens proteinlerine yada otoantijenlere karşı, normal cilltte görülen yanıtan farklı olarak ön kamarayla ilişkili bağışıklık farklılığı (ACAID)'na neden olur (20).

Ön kamaraya antijen verilince afferent faz iristeki makrofajın bunu yutmasıyla başlar. Aközde bulunan özellikle TGF β 2 gibi sitokinlerle uveal makrofajların davranışı değiştirilmiştir. Hangi faktörlerin makrofajı ACAID indükleyen APC haline getirdiği bilinmemektedir. TGF β 2 ile uyarılan makrofajlar trabeküler ağdan venöz dolaşıma katılır ve dalağa giderler. Burada helper T ve B hücrelerinin yanında supresör T hücreleride uyarılır. CD8 supresörler dalakta CD4 helper cevaplarını tüm vücutta geçerli olacak şekilde baskılar. Bunun sonucunda antijene özgü gecikmiş yanıtın oluşması ve kompleman fikse edici antikor sentezi azalır. Sitotoksik T hücreleri ve diğer antikor salınımı etkilenmez. Bir klinisyen için önemli olan ise immun cevabın ikincil fazının fazıdır çünkü ilk faz gözün haricinde bir yerlerde oluşmuş olabilmektedir. Ancak ön kamaradaki efektör faz bloke edilmiştir. T-Helper, sitotoksik T hücreleri, doğal öldürücü hücreler, kompleman aktivasyonu ön uveada diğer bölgelere göre daha zayıftır. Buna neden olan mekanizmalar:

- İmmunosupresif sitokinler
- Oküler sinirler tarafından oluşturulan nöropeptidler
- Kendine has özellikleri olan APC'ler
- Aközde bulunan kompleman inhibitörleri

Son çalışmalar iris ve kornea endotelinde Fas Ligand (FasL, cd95 ligand) adı verilen bir molekül tespit etmişlerdir. Bu madde normalde timus yada testis gibi diğer özel bağışıklığı olan dokularda bulunmaktadır ve lenfositlerin apoptozisine neden olmaktadır. Bu da lenfositlerin efektör fonksiyon göstermesine neden olmaktadır. Üveit gelişiminden önce bu koruyucu mekanizmaların kaybı düşünülmektedir.

Vitreusun bağışıklık durumu tam olarak incelenmediyse de özellikle post vitrektomi gözlerde ACAID benzeri bir durum vitreusta da bulunabilmektedir ve vitrektominin bunu tetiklediği düşünülmektedir. Üveit bulunan gözlerde vitrektominin yapılması düşünülebilen durumlar şunlardır:

- Jelde bulunan tip 2 kollagen gibi antijenleri temizlemek
- Hücre adezyon moleküllerini temizleyip, lökosit yapışmasını önlemek
- HA'deki immunsupresif faktörlerin gelmesi.

İmmün Ayrıcalığın terapötik potansiyeli: ACAID'in herhangi bir klinik öneminin olup olmadığı bilinmese de katarakt cerrahisi sonrası lens kristalinin tolere edilmesi ve kornea transplantının reddedilmemesinde rolü olduğu düşünülmektedir (41,55).

İNTRAOKÜLER ENFLAMASYON MEKANİZMALARI

İntraoküler enflamasyon travma, enfeksiyon gibi eksojen nedenlerle meydana gelebilir. Endojen kaynaklı üveitlerin büyük çoğunluğunun otoimmün kaynaklı olduğu düşünülür. Gözde enflamatuvar bir cevabın tam olarak başlayabilmesi için kendine özgü yapıların ve kan akımının makromoleküllerin ve enflamatuvar hücrelerin organa geçişine izin vermesi gerekir. Gözün dış yüzü koruyucu ve immünolojik bir bariyer olan konjonktiva ile kaplanmıştır. Gözün iç kısmı ise ön kamara ve retinaya makromoleküllerin girmesini önleyen düzenli vasküler ağa sahip kan göz bariyeriyle sarılmıştır. Kan göz bariyeri hasarlanırsa lökositler göze infiltre olur ve enflamatuvar mediatörleri salgılar. Retinanın yapısının çok kompleks olmasının yanısıra rejenerasyonunun da sınırlı olması nedeniyle göz içi enflamasyon kalıcı hasara ve görme kaybına yol açabilir.

Doğal öldürücü hücrelerin antijeni yakalamasıyla non-spesifik immün cevap oluşur. Bu cevapla antijen elimine edilir ve daha fazla enflamatuvar hücre bölgeye gelir. Antijenin yakalanıp spesifik T lenfositlerine sunulmasıyla spesifik immün cevap oluşur. T hücreleri aktive olunca efektör hücrelere dönüşürler ve o antijen için spesifik immün cevap oluştururlar. Göz içi enflamasyon gelişiminde, infiltre olan hücreler, MHC Class II antijen presente eden hücreler ve o bölgedeki mast hücreleri önemli rol oynar.

İnflamasyon gözde kan-aköz ve kan-retina bariyerinin kırılmasına neden olur. Bu durum hücresel yapıştırıcı moleküllerin (CAM) artmasına, hücrelerin ve makromoleküllerin vitreusa, subretinal alana, ön kamaraya geçişine, sitokin ve kemokinler daha fazla hücrenin bölgeye gelmesine ve enflamasyonun şiddetlenmesine yol açar. Kan-göz bariyerinin hasarlanmasına yol açabilecek travma ve enfeksiyon gibi bir çok neden vardır. Enflamasyon

seviyesinin artışıyla paralel sitokin, kemokin, CAM artışı; kan göz bariyeri hasarının ve geçirgenliğinin artışına yol açar. Bu olay birkaç gün göz içine hücre akışına neden olur. Adoptif transfer sonrası antijen spesifik T hücreleri kan göz bariyerini geçebilir. Bu hücrelerin infiltrasyonu 24. saatte ve 96. saatte pik yapacak şekilde bifaziktir (5, 15, 31).

İris ve silier cisimde bol miktarda makrofajlar ve dentritik hücreler vardır ve bunlar göz içinde antijen sunan hücre görevini görmekte ama bunlar gözü trabeküler ağ yolu ile terk ederek değişik bir bağışık yanıtın oluşmasına yol açmakta ve bu nedenle de daha çok Th2 yanıtın oluşmasına ve CD8 hücrelerinin aktive olmasına neden olmaktadır. Normal şartlarda B hücrelerinin, eozinofillerin, polimorfonükleer lökositlerin(PNL) olmadığı ve nadir T hücrelerinin ve mast hücrelerinin ön uveada izlenebildiği bilinmektedir. Arka uveanın immunolojik özellikleri ise ön uveada olduğu kadar iyi bilinmemektedir. Burada da iyi gelişmiş bir lenfatik drenaj olmamasına rağmen hem retina hem de koroid antijen sunan hücreler açısından zengin bir yapıya sahiptir. Retina pigment epitelinin (RPE), sınıf II MHC moleküllerini içermesi bu hücrelerin de immunolojik yanıtı oluşturmak üzere T hücreleri ile etkileşime girebildiklerini düşündürmektedir.

Kanlarında beyaz kürelerin olduğu tüm canlılarda hücrelerde, bunları tanımlamaya yarayan ve hücre yüzeyinde yer alan birtakım glikoprotein yapıları izlenmektedir ve bunlar ‘major histocompatibility complex’ olarak adlandırılmaktadır. İnsanlardaki MHC proteinleri ise ‘human leukocyte antijen’ (HLA) olarak anılmaktadır. Bunlar hücre yüzeyinde yer alıp çeşitli immunolojik işlevlere doğrudan katılmak yolu ile insan bağışıklığında önemli bir yer tutmaktadır. Bu HLA moleküllerinin şekillenmesine yol açan genetik yapıda yoğun bir ilgi

odağı olmaktadır. Bu moleküllerin nükleik asit yapısının ortaya çıkarılması ile bu glikoproteinler hakkındaki bilgilerimiz giderek artmaktadır.

BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ve ÜVEİT

Otoimmun mekanizmalarla oluşan üveitlerin patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Otoimmun üveitlerin yaklaşık %50 si organa özgüdür yani burada oluşan otoimmun yanıt sadece gözle sınırlıdır. Bağışık yanıtın ortaya çıkmasında bir antijenik yanıtın ortaya çıkması ve bunun tanınması, bu antijenin bağışık yanıtın ortaya çıkacağı ve bununla mücadele edecek hücrelerin ve etken maddelerin üretileceği ana merkezlere taşınması ve de yanıt oluştuktan sonra da esas olarak antijenin olduğu bölgede oluşan ve hatta vücudun diğer bölgelerini etkileyen mücadele evresi vardır. İşte otoimmun hastalıklar bu evrelerin her birindeki aksaklıklardan ortaya çıkabileceği gibi tamamen bunların dışında ve bu mekanizmaları devre dışı bırakarak da oluşabilmektedir.

ACAID olarak adlandırılan ön kamara ile ilgili bağışık sapma ön kamaranın kendi özgül anatomik özelliklerinden kaynaklanmakta ve göz içinde oluşan bağışık yanıtın gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Ön kamarada oluşan bir enflamatuar yanıt, vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi meydana gelseydi belki enflamatuar etkenin hızla ve çok etkin bir şekilde gözden uzaklaştırılması olası olacaktı, fakat bu durumda oluşan şiddetli enflamatuar yanıt yerel dokulara çok fazla hasar vereceği için gözde önemli ölçüde işlev kaybına yol açabilecekti. Bunu önlemek için 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 akım yollarını kullanarak değil, Schlemm kanalından geçirilerek sunulmaktadır. Bu durumda ise humoral immunitenin baskın olduğu ve hücresel immunitenin zayıf kaldığı bir immunolojik sapkın yanıt oluşmaktadır. Bu arada aköz humörün kendisinde immunsupresif özellikleri olduğu bilinen bir özelliktir. Aköz humör moleküler düzeyde incelendiğinde tespit edilen bazı antienflamatuar etkenlerden özellikle TGF- β üzerinde önemle durulmaktadır. Son zamanlarda TGF- β nın bağışıklık sistemi içinde hücre çoğalması ve gelişmesi üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu düşünülmektedir. Bütün bunların yanı sıra deneysel çalışmalarda apoptozis yoluyla immun sistem baskılanmasının söz konusu olabileceği gösterilmiştir. Ön kamarada etkin olan bağışıklık sistem hücreleri ölmekte ve böylelikle ön kamarada oluşan enflamatuar yanıt azalmaktadır. IL-10 salgılanması ile birlikte apoptozis ön kamara ile ilgili bağışık sapmanın oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Fas (CD95) ve Fas ligand (FasL) hücre yüzey molekülleridir ve bunlar ‘tumor necrosis factor’ ailesinin üyeleridir. Fas hücre yüzeyinde yer alarak apoptotik işaretleri hücre içine iletir ve FasL nin reseptörüdür. FasL ve Fas bağlantısı olduğu zaman hedef hücre hızla apoptozise gider. Bir çalışmada hem normal bireylerde hemde üveitli hastaların retinalarında bol miktarda FasL ve Fas moleküllerinin bulunduğu gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada hasta olmayan bireylerin ön kamara sıvısında belli ölçüde çözülmüş FasL (sFasL) tespit edilirken özellikle aktif üveiti olan hastalarda sFasL ve sFas miktarında belirgin artış tespit edilmiştir.

Tüm immunolojik hastalıklarda olduğu gibi üveitlerinde bir takım HLA özellikleri ile ilişkisi ilgi odağı olmuştur. Çeşitli etnik topluluklarda değişik oranlarda gösterilen HLA-B51 ve Behçet hastalığı ilişkisi özellikle bazı ırklarda (Japonlar, Yunanlılar ve İspanyollar) ve de özellikle HLAB*51 sub grubunda neredeyse %98 lere varan oranlarda pozitif olarak

gösterilmiştir. Bu HLA tiplerinin genetik özellikleri ile ilgili yapılan çalışmalar hastalığın genetik yatkınlığının daha ayrıntılı değerlendirilmesine yol açmıştır. MICA geni MHC sınıf I zinciri ile ilintili bir gendir ve Behçet hastalığına olan genetik yatkınlık ile en kuvvetli bağlantı kurulan gendir. Aslında HLA tiplendirmesi ile üveit ilişkisinin çok kuvvetli olarak bulunduğu beklide en eski hastalık akut ön üveittir. Bu hastaların yaklaşık %50 sinde HLA-B27 pozitif olarak bulunmaktadır.

Deneysel üveitlerin immunohistolojik incelemelerinde erken dönemde baskın olan hücre tipinin T hücreleri olduğu fakat, makrofajlar gibi enflamasyonun diğer bileşenlerinin de bölgeye göçünün söz konusu olduğu gösterilmiştir. Enflamasyon olan bölgede CD4+(Th1)T hücrelerinin yanı sıra bol miktarda proenflamatuar sitokinler, interferon- γ , IL2, TNF- α ve IL12 tespit edilmektedir. Bu deneysel modellerde antijen göz içinde yer alan antijen sunan hücrelerce T lenfositlere sunulmakta ve buna ek olarak salınan sitokinlerle bölgeye lenfosit göçü hızlanmaktadır. Bölgeye göç eden lenfositler RPE ne ve retinal vasküler endotele ‘intercellular adhesion molecule’ (ICAM-1) aracılığı ile yapışmaktadır.

Lökositlerin enflamasyon bölgesine toplanması, bu bölgede endotele yapışması ve endotelden migrasyon yapıp enflamasyonlu dokuda yerleşmesinde önemli rol oynayan bir takım özgül hücre yüzeyi proteinleri vardır. Bunlar hücre yapışma molekülleri ‘cell adhesion molecules’ (CAM) olarak adlandırılmaktadır. Bunların 3 anagrubu tespit edilmiştir; selektinler (L,P ve E selektin), integrinler (LFA-1 ve MAC-1) ve immunglobulin supergen ailesinin bazı bireyleri (ICAM-1 ve 2). Selektinler damar duvarında yer alıp enflamatuar hücrelerin vasküler endotele erken dönemdeki yapışmalarından sorumludur. Daha sonra vasküler endotel üzerinde bulunan bir takım immunglobulin supergen aile

bireyleri ile enflamatuvar hücrelerin üzerindeki integrinler etkileşime girerek enflamatuvar hücrelerin vasküler endotele daha sıkı yapışmasına ve hücrenin damar dışına migrasyonuna yol açar. Yapılan çalışmalarda üveitli gözlerde normal gözlere göre hücre yüzeyinde ICAM-1 in görüldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca enflamasyon olduğunda yalnızca vasküler endotel yüzeyinde değil, silier cisim epitelinde ve kornea endotelinde ICAM-1 miktarında bir artış olmaktadır (77, 78).

Sitokinler enflamatuvar olaylarda hücreler arası iletişimi sağlamak üzere çeşitli hücreler tarafından üretilip ortama salınan bir takım çözünür polipeptitlerdir. Üveit patogenezinin ortaya çıkarılması amacı ile yapılan çeşitli çalışmalarda çok çeşitli sitokinlerin çeşitli oranlarda olaya katılımı olduğu tespit edilmiştir. IL-1, IL-4, IL-6, TNF- α ve TGF- β üveitlerinde aralarında bulunduğu bir takım akut ve kronik oküler hastalıklarda ön kamara sıvısı ve vitreusta tespit edilmiştir (36, 37, 43). IL-1 in üveit gelişiminde anahtar bir rolü söz konusu olabilir. tavşanlarda intravitreal enjeksiyonu ile göz içine lökosit göçü ve protein sızıntısı olduğu tespit edilmiştir (79). Gene IL-8 de PNL için kuvvetli bir uyaran olarak karşımıza çıkmaktadır. Akut ön üveitlerde ön kamara sıvısında IL-8 inde dahil olduğu bir takım sitokinlerin bol miktarda bulunduğu saptanmıştır.

İmmun-kompleks oluşumu ve dokularda çökmesi dokuda bağışık yanıtı tetiklemekte ve doku hasarına yol açarak morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır. Deneysel olarak immün-kompleks aracılığı ile üveit modeli oluşturmak için lokal olarak göz içine antikor enjeksiyonu ve intravenöz olarak antijen enjeksiyonu yapılmakta ve göz içinde immün-kompleks oluşumu tetiklenerek buna bağlı enflamatuvar olaylar incelenabilmektedir. İmmün-kompleksler tarafından tetiklenen enflamasyon hücre yüzeyinde yer alan Fc reseptörleri

veya kompleman sisteminin uyarılması ile başlamaktadır. Bu oluşan erken yanıt daha sonra ortama birtakım sitokinlerin salınması ile hızla alevlenmektedir. Sitokinlerin etkisi ile kan aköz engeli hızla bozulmakta ve göz içine lökosit göçü ve protein sızıntısı hızla artmaktadır. Kan aköz engelinin ortadan kalkması belki intraoküler enflamatuvar olaylarda en önde gelen etkilerden biridir. Örneğin endotoksin enjeksiyonundan 1-6 saat sonra kan aköz engelinin bozulduğu tespit edilmiştir. Bu sitokinlerin çok ayrıntılı incelenmesinin sonucu olarak bunları ve bunları etkisiz hale getirecek bir takım etken maddeleri kullanarak bir takım tedavi metodları geliştirilmeye çalışılmaktadır. Fakat denene yöntemlerde kısmi etkiler elde edilmekte ise de tam olarak enflamasyon baskılaması sağlanamamaktadır. Bir diğer sitokin olan ‘makrofaj inhibitör faktör’ (MIF) geçikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonlarında kritik bir yer tutan maddedir. Üveitli hastaların serumunda MIF miktarında belirgin artış gözlenmektedir ve MIF miktarı hastalığın gidişi hakkında bir fikir verebilmektedir.(64, 76)

DeneySEL Üveit Modelleri

İntraoküler enflamasyonun; multiple mekanizmaları içermesi nedeniyle hastalığın değişik formlarının patogenezinin ve tedavi yaklaşımlarının anlaşılması için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. İnsan üveitlerine paralel hayvan modelleri yakın geçmişte oluşturulmuştur. Bu modeller deneysel otoimmün üveitlerdeki (EAU) gibi otoimmün geçişli hastalıklara veya toksoplazma modelindeki gibi enfeksiyöz hastalıklara benzemektedir. Bu hayvan modelleri, üveit patogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve yeni terapötik ajanların geliştirilmesine ve test edilmesine imkan sağlamıştır.

Endotoksinle indüklenen üveit (EIU); deney hayvanına sublethal dozda lipopolisakkarid (LPS) verilmesiyle genelde 24 saat sonra pik yapan göze lokalize

enflamatuvar cevapla karakterize akut fakat transient olaydır. İlk olarak Lewis ratlarında gösterilmesine rağmen bugün birçok hayvana uygulanabilmektedir. EIU bir akut ön üveit modelidir ve bu hastalığın hem patofizyolojisinin hem de potansiyel tedavisini araştıran çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu modellerden biri olan EIU özellikle CAM up-regülasyonu, sitokin sekresyonu ve hücre ekstrasvazasyonu gibi okuler immüitenin non-spesifik mekanizmalarını anlamaya yardımcı olmuştur. EIU gözdeki endotoksinler gibi non-spesifik toksik, inflamatuvar ürünlerin etkilerini çalışmak için faydalı bir modeldir. Köpekler, kediler ve tavşanlarda intravenöz endotoksin enjeksiyonunun okuler inflamasyonu indüklediğinin anlaşılması üzerine EIU ilk kez 1943'te tanımlanmıştır. Daha sonra bu yöntemle intraokuler inflamasyonun indüklenmesi başarılı bir şekilde Lewis ve Columbia-sherman ratları ve yakın zamanda C3H/Hen farelerine uygulanmıştır (61).

Endotoksinin değişik yollardan uygulanması mümkündür. Örneğin intraokuler, intravenöz, intraperitoneal, subkutan veya intra-footpad. İntra-footpad uygulama farelerde ve ratlarda en popüler yoldur. İntra-footpad endotoksin uygulamasından 24 saat sonra hayvanlarda miyozis, iris hiperemisi, BOB'un kırılmasına bağlı HA'ya protein sızıntısı, ön üveada, ÖK'da ve vitreusta hücre infiltrasyonu ile karakterize okuler hastalık ortaya çıkar. Farelerde hücreler optik sinir başına infiltre olur. Bu infiltrasyonu PMNL, monositler ve T lenfositler oluşturur. Aktive olmuş hücrelerden algılanan sitokinler aracılığıyla geliştiği düşünülmektedir. LPS gibi endotoksinler sitokinleri, oksijen metabolitlerini, PGE-2, LTB-4'ü indükler. TNF- α , IL-1, IL-6 ve IL-8 endotoksinler tarafından uyarılır.

Endotoksin enjeksiyonundan sonra HA'da tespit edilen ilk sitokinler IL-6 ve TNF'dir. TNF'nin EIU'da inflamatuvar etkilerinden daha fazla etkisi olabilir. Çünkü bu

modelde bu sitokine yönelik nötralizan antikorlar hastalığın gelişimini alevlendirirler. EIU'da CAM'lar artmıştır ve daha önce gösterildiği gibi ICAM-1 ve LFA-1'e karşı monoklonal antikorlar hastalığı inhibe edebilir. Ayrıca kortikosteroidler ve antiinflamatuvar ajanlar inflamasyonu azaltabilir. Bu da bu modeli non-spesifik intraoküler inflamasyona terapötik yaklaşımları çalışmak için uygun kılmaktadır.

Melaninle İndüklenen DeneySEL Üveit (EMIU)

Son yıllarda geliştirilen bu model özellikle gözün ön segmentini etkiler ve insanlardaki ön üveiti taklit eder. Pertussis toksini ile emülsifiye edilmiş öküz ve farklı kökenli üveitojenik melanin proteinleri ile immünize edilmiş Lewis ratlarında oluşturulabilir. İmmünizasyondan 2 hafta sonra ratlarda ön üveit gelişir. EMIU'da insan ön üveitlerindeki gibi hiperemi, miyozis, flare ve HA'da hücreler izlenir. Histopatolojik olarak ön ve arka kamarada eksuda ve hücreler izlenir. İris ve silier cisimde mononükleer ve PMNL hücre infiltrasyonu izlenir. Koroidit olmasına rağmen retina etkilenmez. EMIU'nun T hücre bağımlı bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Hastalığın serumla transferi mümkün olmasada CD4+ T hücreleri ile adoptif transferi mümkündür. Ayrıca T hücre supresörü bir ilaç olan siklosporin ile hastalık inhibe edilmektedir. İdiopatik insan ön üveitlerinin otoimmün kökenli olduğu düşünülmektedir ve EMIU bu hastalığın mekanizmasının anlaşılmasında yararlı bir modeldir.

Lensin İndüklediği Üveitler (LIU)

Klinik olarak lense bağlı üveitler, lens kapsülünün hasarlanmasını takiben büyük miktarda lens proteininin immün sistemle karşılaşp reaksiyon oluşturmasıyla başlar. Bu reaksiyon örneğin travmatik intraokuler yaralanmaları takiben ortaya çıkabilir. Ortaya çıkan inflamatuvar reaksiyonun lens proteinine otoimmün cevap olarak meydana geldiği düşünülmektedir. Hayvan modelleri ile lens proteiniyle immünizasyon sonrası lens kapsülü yapay olarak parçalanarak bu model çalışılmıştır. Klinik olarak deneysel LIU ÖK'da inflamasyon ve flare ile karakterizedir.

Hayvanlardaki hastalık antijen-antikör kompleksi ve komplemanı içeren bir tip III reaksiyonu tarafından indüklenmektedir. Sensitize hayvanlardan elde edilen serumların pasif transferi yoluyla hastalık saf hayvanlara aktarılmaktadır. Allojenik ve ksenojenik lens kristalleri ile immünize edilen tavşanlar allojenik lens antijenlerine karşı hücresel immüniteyi indüklemişler ve siklosporin LIU'yu inhibe etmemiştir. Bu araştırmalar tip III hipersensitivite reaksiyonu olduğunu desteklemektedir.

Son yıllarda hücre-bağımlı yeni LIU modelleride tarif edilmektedir. İmmünizasyon sonrası alıcılarda ön ve arka segmentte, lens çevresinde belirgin proteinöz eksuda ve hücre infiltrasyonu izlenmiştir.

Deneysel Otoimmün Üveit (EAU)

Otoimmün göz hastalıkları için EAU önemli bir modeldir. İnsan arka üveitlerine benzerlik gösterir ve klinik olarak arka segmentin muayenesine izin vermesinden ötürü yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine imkan sağlar. EAU; fareler, ratlar, tavşanlar ve

primatlar gibi birçok hayvanda indüklenmiştir. Retinal antijenlerin subkutan uygulanmasıyla duyarlı hayvanlarda indüklenebilmektedir.

Retinal S-Ag, IRBP, rodopsin, recoverin ve fosfodusun major üveitojenik retinal antijenlerdir. Bu antijenlerin 50 µg gibi küçük miktarları ile immunizasyonu spesifik T hücre aktivasyonuna neden olur. Kullanılan hayvana bağlı olarak immünizasyondan 10-21 gün sonra aktive olan bu hücreler deney hayvanlarının gözlerindeki retinal proteinlere saldırırlar.

EAU T hücre bağımlı bir hastalıktır ve bu hastalıkta T hücre ailesinin subtipleri rat retinalarında gösterilmiştir. Hastalık sensitize lenf nodu hücreleri, CD4+ T hücreleri, MHC Class II bağımlı T hücrelerinin adoptif transferiyle indüklenebilir. Buna karşın S-Ag spesifik antikorların transferiyle indüklenmesi mümkün değildir.(17)

Klinik olarak, hayvanlarda iris damarlarında genişleme ve sineşi gelişimi izlenir. Ratlarda inflamatuvar hücrelerin ön kamaraya infiltrasyonu opasitelere neden olur. Ağır vakalarda hifema bile görülebilir. Farelerde ön segment tutulumu daha hafiftir fakat fundus muayenesinde perivasküler infiltratlar, disk ödemi ve retinal hemorajilerle birlikte vaskülitik bulgular izlenir.

Histopatolojik olarak; fotoreseptör tabakanın infiltrasyonu, retinal foldlar, granülom formasyonu, perivaskülitis, retina dekolmanı ağır vakalarda retinal hücrelerin destrüksiyonu izlenir ve 0.5 ile 4 arasında bir skora yapılabilir. Akut fazda T lenfositler ve PMNL'ler dominant hücrelerdir fakat infitre olan makrofajlar bulunabilir.

İnsan üveitlerinden spesifik olarak hangi antijenlerin sorumlu olduğu bilinmemektedir. İn vitro çalışmalarda üveitli hastalardan alınan lenfositler S-Ag ve IRBP'ye karşı lenfoproliferatif cevap oluşturmaktadır. Bu antijenlerin immünodominant üveitojenik peptidleri hayvanda 0.1 µg gibi küçük dozlarda bile hastalık oluşturabilmektedir. Ayrıca sentetik peptidlerle bile inflamatuvar cevaplar oluşturulmaktadır.

Hastalık gelişiminde genetik yatkınlıkta önemli rol oynamaktadır fakat başka faktörlerinde hastalığa yatkınlığa ve hastalığın prognozuna katkıları vardır. Yüksek ve düşük yatkınlığa sahip ratlar ortak MHC gen ürünlerine sahip olabilirler. Bu bize hastalığın gelişiminde başka faktörlerin olduğunu gösterir. Ayrıca farelerde non-MHC genlerin hastalığın seyrinin şiddetinden sorumlu tutulduğu varsayılmaktadır.

Sonuç olarak üveitte yeterli sayıda inflamatuvar hücre ulaştıktan sonra dokularda hasar oluşabilmektedir. Rekürren ataklar görmenin giderek daha fazla kaybedilmesine neden olmaktadır. Otoimmün hastalıkların mekanizmasının daha fazla anlaşılmasıyla immun regülasyon kolaylaşacak ve tedavi planlamaları spesifik etki mekanizmalarına yönelik olacaktır. Hastalığın kronik seyride engellenerek göz dokuları korunup daha iyi bir görme sağlanabilecektir.

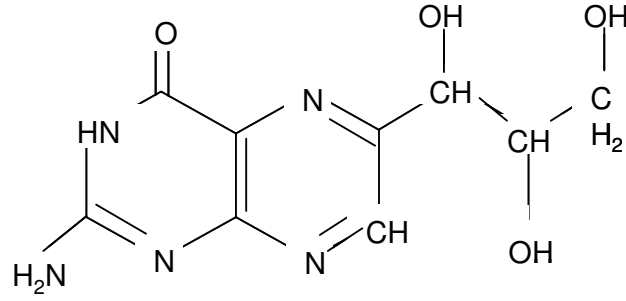
NEOPTERİN

Neopterin 1963 yılında, arıların larvalarında bulunmuştur. İnsanlarda da ilk olarak, 1967 yılında idrardan elde edilmiştir (62). Daha sonra, atipik fenilketonürlü çocukların idrarlarında yüksek konsantrasyonlarda neopterin bulunmuştur (21). 1979 yılında malign hastalıklı ve viral enfeksiyonu bulunan hastaların idrarlarında fazla idrar neopterin atılımı bildirilmiştir. 1982 ve 1983 yıllarında antijenik stimülasyondaki kültüre edilmiş insan periferik kan mononükleer hücrelerinin süpernatantlarında neopterin biriktiği gözlenmiştir (41). Bu çalışmaların sonucunda gama-interferonun insan makrofajlarında in vitro olarak büyük miktarlarda neopterin üretimine ve salınımına neden olduğu görülmüştür (64). Daha sonraları çok sayıda klinik ve deneysel çalışmalar, klinik tıpta neopterin potansiyel değerini araştırmaya rehberlik etmiştir. Günümüze kadar neopterin biyosentezinin, hücrel immün sistem aktivasyonu ile yakından ilişkili olduğunu gösteren destekleyici in vitro ve in vivo çeşitli araştırmalar yapılmıştır (26,34).

NEOPTERİNİN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

Neopterin düşük moleküler ağırlıklı (253.22) bir maddedir. Kimyasal yapısı şekil-1'de görülmektedir. D-eritro, L-eritro, D-treo ve L-treo olmak üzere dört izomeri vardır (27). Nötral ya da alkali çözeltilerde güçlü mavi floresans, asidik çözeltilerde zayıf floresans vermektedir (10). Neopterin, vücutta dihidroneopterin ve tetrahidroneopterin şeklinde bulunur. Neopterin d-izomeri olan türevleri insan metabolizmasında önemlidir (14).

Neopterin sadece insan ve primatlarda bulunmuştur. Sıçan, kobay ve hamsterlerde ise neopterine rastlanmamıştır (18,28).



Neopterin
(d-eritro-1',2',3'-trihidroksi-propil-pterin)

Şekil-1: Neopterinin kimyasal yapısı.

NEOPTERİN BİYOSENTEZİ

Neopterin ([6-D-erythro-trihydroxypropyl] pterin), guanozin trifosfat (GTP)-siklohidrolaz-I'n etkisiyle GTP'den sentezlenen bir yapıdır. GTP-siklohidrolaz-I (GCH-1), pteridinlerin biyosentezinde anahtar enzimdir. GTP, önce ara bir ürün olan 7,8-dihidroneopterin trifosfat'a dönüşür.

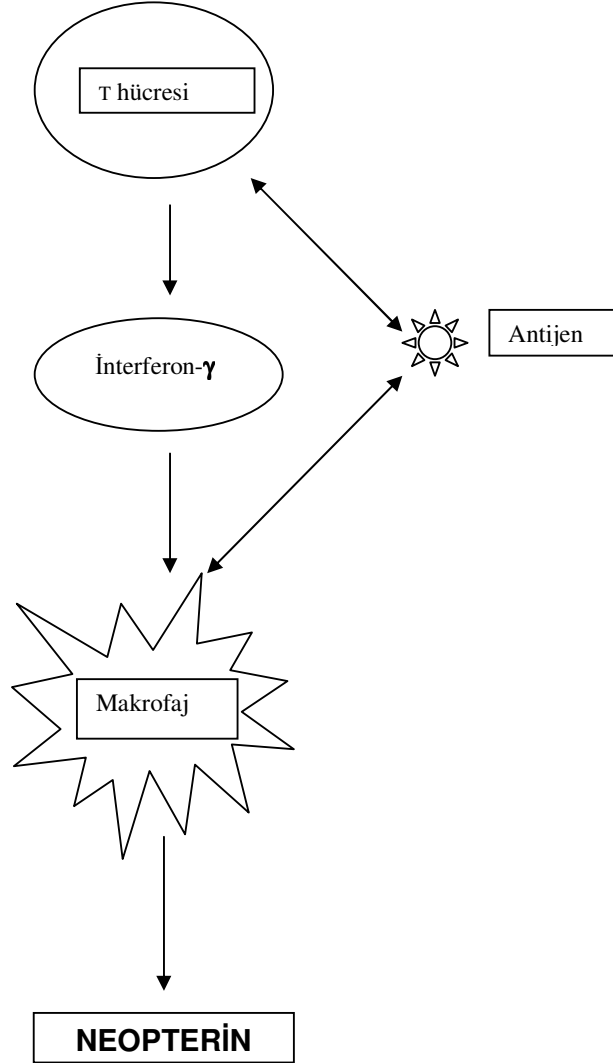
NEOPTERİNİN İMMÜNOLOJİK ROLÜ

Artmış üriner neopterin atılımı, malign hastalıklara sahip insanlarda ve viral hastalıklı kişilerde gösterilmiştir. Bu durum hücre büyümesi ile neopterin oluşumunun birlikte olduğu hipotezinin ortaya atılmasına neden olmuştur. Bu hipotez belli bakteri ve mikroorganizmaların proliferasyonunun, belirli bazı pteridinlerin oluşumdaki artış ile birlikte olduğunu gösteren in vitro deneylerle desteklenmektedir. Ancak benign tümörlerdeki çalışmalarda normal neopterin konsantrasyonları elde edilmiştir. Bu durum neopterin yüksekliğinin, kaynak olarak malign hücreler veya viruslarla enfekte hücrelerden ziyade konakçının cevabı ile ilişkili olduğu görüşünü ortaya koymuştur(2).

1981 yılında in vitro çalışmalar ilk olarak zenginleştirilmiş periferik kan lenfositlerinin mitojenler ve allojenlerle uyarılması ile yapılmıştır. Daha sonra trasplantasyon sonrası dönemde hastalarda idrar neopterin konsantrasyonlarında artış olduğu, artmış konsantrasyonlarla ilişkili olarak da red olayı gözlenmiştir. Böylece hem in vitro hem de in vivo veriler, hastalarda neopterin oluşumunun hücrel immün sistem aktivasyonu ile oluştuğunu göstermektedir (39).

Neopterin konsantrasyonu, hücrel immün sistemin aktivasyonunu saptamak için kullanılabilir. Hücrel immün sistem, özellikle viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, diğer inflamatuvar hastalıklar, transplant reddi ve kanser gibi yaygın bir hastalık türünün sebebi ve gelişiminde merkezi bir faktördür. Son çalışma bulguları, redoks-duyarlı metabolik yollarda neopterin türevlerinin muhtemel bir etkisini göstermiştir. Bu nedenle neopterin miktarlarında, hücrel immün cevap sırasında artış görülür. Neopterin, oksidatif stresin faydalı bir belirtecidir (27).

T-lenfositler, yabancı hücreleri ve değişmiş gerçek hücre yapılarıyla karşılaştıklarında farklı mediatörler veya lenfokinler salarlar. Bunlardan interferon- γ , insan makrofajlarından neopterinin üretimini ve salınmasını uyarır (şekil 2).



Şekil-2: Hücresel immün yanıt sırasında aktive T-lenfositler tarafından interferon- γ salınımı ve bunun etkisine bağlı olarak makrofajlar tarafından neopterin üretiminin uyarılması.

Başlıca aktive T-lenfositler tarafından üretilen interferon- γ , neopterin sentezi için anahtar stimulustur. Aksine, siklosporin-A gibi immünosupressif ajanlar T-lenfositlerinden sitokin salınımını suprese ettiğinden dolayı neopterin üretimini azaltır.

Neopterin, düşük moleküler ağırlığı nedeniyle böbrekler yoluyla atılır. Neopterin seviyesi, immünolojik uyarıya hızla yanıt verir. İnflamatuvar hastalığa sahip kişilerde, eritrosit sedimentasyon hızından veya çözünür sitokin reseptör konsantrasyonlarından daha hızlı saptanabilir (59).

NEOPTERİNİN FİZYOLOJİK ROLÜ

Neopterinin enterohepatik bir döngüsü vardır. Neopterin, aktive makrofajların sitotoksik etki mekanizmaları ile ilgili olabilir. Çünkü reaktif oksijen ve kloramin türlerinin etkilerini arttıracak ve antimikrobiyal toksisitelerini de arttıracak bulunmuştur. Neopterin, oksijen radikallerinin biyokimyasal yollarını etkileyebilir ve belki de insan makrofajlarındaki nitrik oksidin sitotoksik etkilerinin yerini de alabilir (75). Biopterinin tetrahidro formu, belirli amino asit hidroksilazlar için bir kofaktördür.

Yapılan son çalışmalar, makrofajların sitotoksik mekanizmaları ve neopterin üretimi arasında muhtemel bir ilişkinin varlığını ortaya koymuştur. Neopterin üretimi, reaktif oksijen bileşiklerini serbestleştirmek için makrofajlar/monositlerin kapasitesi ile yakından ilişkilidir (63). Bu nedenle, neopterin üretimi immünolojik olarak uyarılmış oksidatif stresin büyüklüğünün indirekt bir ölçümü olarak yorumlanabilir. Hatta neopterin türevleri, oksidan maddelerin etkilerini düzenleyebilir. Kemiluminesans çalışmalar, hidrojen peroksit, kloramin, peroksinitrit gibi çeşitli reaktif maddelerin etkilerini neopterinin güçlü bir şekilde

arttırdığını göstermektedir (74,75). Bu bulgular, neopterin türevlerinin üretiminin yeni bir önemini göstermektedir. Neopterin, aktive makrofajların sitotoksik etki fonksiyonlarının endojen düzenleyicileri olarak etki ettiği gösterilmiştir (23).

Memelilerin idrarlarında biopterin, neopterin'e ilaveten ksantopterin, dihidroksantopterin, izoksantopterin, 3'-hidroksisepiapterin, pterin, pterin-6-karboksilik asit, 6-hidroksimetilpterin'den oluşan bir takım pterinler saptanmıştır. Pterin-6-karboksilik asit, 6-hidroksimetilpterin konjuge olmayan pterinlerden ziyade folatlardan oluşmaktadır. Tetrahidrobiopterin veya tetrahidroneopterin ratlara verilmesinden sonra pterin ve 6-hidroksimetilpterin'e dönüşüm yoktur. Hücre kültür ortamlarına, folik asidin eklenmesi ortamda pterin, pterin-6-karboksilik asit ve 6-hidroksimetilpterin oluşumu ile sonuçlanır. Ortama guanin eklendiği zaman önemli miktarlarda pterin ve biopterin bulunurken pterin-6-karboksilik asit ve 6-hidroksimetilpterin'e hiç rastlanmamıştır. Yüksek miktarlarda idrar dihidroksantopterin fenilketonüri'de bulunmuştur ve pterinin ölçümü bu hastalığın tanısının konulmasında faydalı olabilir. İdrardaki neopterin ve biopterin seviyelerindeki değişiklikler, biyosentez hızlarındaki değişiklikleri yansıtır (66).

Vücut Sıvılarında Neopterin

Neopterin, vücut sıvılarında stabildir. Bu nedenle rutin laboratuvar testlerinde neopterin seviyelerini ölçmek çoğunlukla zor değildir. Neopterin düşük moleküler ağırlığından dolayı böbrekler tarafından atılır. Serum neopterin konsantrasyonundaki değişiklikler, idrar neopterin konsantrasyonunda paralel bir değişikliğe yol açar (68).

Neopterin ışığa duyarlıdır. Bu nedenle örnekler transport veya saklama sırasında direkt güneş ışığından korunmalıdır.

Alınan venöz kan örneklerinden serum ve plazmanın ayırımı sırasında neopterin kaybı olmadığı tahmin edilmektedir. Serum ve plazma neopterin içerikleri, oda ısısında üç güne kadar stabildir. Eğer örnekler toplandığı gün test edilmeyecekler ise üç güne kadar karanlık bir yerde 4-8 °C'de saklanmalıdırlar. Eğer daha uzun süre (üç aya kadar) saklanacak ise dondurularak (-20 °C'de) saklanmalıdır. Tekrar dondurma ve çözmelerden sakınılmalıdır. Bu durum, neopterin içeriğini azaltabilir (73).

Sağlıklı erişkin bireylerde serum neopterin konsantrasyonları 5.3 ± 2.7 nmol/L'dir. Sağlıklı insanlarda serum neopterin düzeylerinin yaşa göre değişiklik gösterdiği fakat cinsiyete bağlı olmadığı gösterilmiştir (51).

Günlük neopterin atılımında önemli bir değişiklik olmadığı için; sonuçların idrar kreatinin konsantrasyonları bakımından açıklanması koşuluyla rastgele idrar örnekleri kullanılabilir. İdrardaki neopterin konsantrasyonları kreatinin düzeylerine göre değerlendirilmektedir (7). Ortalama idrar neopterin/kreatinin oranının erkeklerde kadınlara kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farkın erkeklerde kreatinin düzeylerinin kadınlardakine oranla daha yüksek olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Örneğin 26-35 yaşları arasında neopterin konsantrasyonu (μmol neopterin / mol kreatinin) erkeklerde 101 ± 33 iken; kadınlarda ise 124 ± 33 'tür (73).

Sağlıklı erişkin bireylerde BOS neopterin konsantrasyonları 4.2 ± 1.0 nmol/l'dir (41).

Lokal makrofaj aktivasyonunun bir göstergesi olarak neopterin, diğer vücut sıvılarında da bulunmaktadır. Romatoid artritli hastalarda eklem sıvısında, pankreas graft rejeksiyonunda pankreatik sıvıda, hamilelerde amniyotik sıvıda neopterin düzeylerine bakılmıştır(8,17).

KLİNİK TANIDA NEOPTERİN

Klinik tanı için bir laboratuvar parametresi olarak neopterinin kullanıldığı klinik durumlar tablo-I’de sunulmuştur.

Tablo-I: Klinikte neopterinin yeri

ENFEKSİYONLAR

- Viral enfeksiyonlar ve hücre içi bakteriyel ve paraziter enfeksiyonlar
- HIV enfeksiyonu
- Viral ve bakteriyel enfeksiyonların ayırımı

OTOİMMÜN HASTALIKLAR VE DİĞER ENFLAMATUAR HASTALIKLAR

- Romatoid artrit
- Sistemik Lupus Eritematozus
- Wegener’s granulomatozu
- Crohn’s hastalığı

- Ülseratif kolit
- Osteoartrit ile romatoid artrit ayrımı
- Behçet hastalığı

MALİGN HASTALIKLAR

- Jinekolojik neoplaziler
- Hematolojik neoplaziler
- Bronşial karsinoma
- Prostat kanseri
- Gastrointestinal tümörler

TRANSPLANTASYON SONRASI TAKİP

- Transplant reddi ve enfeksiyonlar gibi immünolojik komplikasyonların takibi

İMMÜNOMODÜLATÖR TEDAVİ VE TEDAVİ TAKİBİ

- İmmünomodülatör sitokin tedavisi
- HIV enfeksiyonu için antiretroviral tedavi, tüberkülozda antibakteriyel tedavi gibi yüksek neopterin seviyeleri ile ilişkili hastalıklarda tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi

Organ Transplantasyonunda Neopterin

Kemik iliği graftlarının yanı sıra böbrek, karaciğer, pankreas, kalp, akciğer gibi solid organ alıcılarının vücut sıvılarındaki neopterin ölçümleri, organ reddi ve enfeksiyonlar gibi komplikasyonların tahmininde klinik öneme sahiptir. Ölçülen neopterin konsantrasyonları ile organ reddinin şiddeti arasında paralel bir ilişki bulunmuştur (27). Graft reddi episodları sırasında neopterin konsantrasyonları artar. Bir çok hastada reddin klinik belirtileri ortaya çıkmadan önce neopterin seviyeleri artar. Buna karşı düşük ve sabit neopterin atılımı immünolojik problemleri düşündürmez, kalıcı veya yüksek neopterin atılımı reddin enfeksiyondan ayırımını sağlamaz. Ayırıcı tanı için başka bilgilere ihtiyaç vardır (7). Neopterin konsantrasyonlarının artması enfeksiyonların şiddetine bağlıdır. En yüksek değerler, hastalığı bakteriyel süper enfeksiyonlarla komplike olmuş hastalarda görülür (69).

Otoimmün Hastalıklarda Neopterin

Romatoid artrit (RA)'li hastalarda, hastalığın her evresinde idrar ve serum neopterin konsantrasyonları belirgin şekilde yükselir. Hastalığın ileri evrelerinde, neopterin seviyeleri de yükselir, buna karşılık immünolojik atağı olmayan osteartiritli hastalarda neopterin seviyeleri normaldir. RA'de neopterin konsantrasyonları radyolojik evrelerle korele olmakla birlikte, belirgin şekilde klinik aktiviteye bağımlıdır. Hastaların takibinde, klinik aktivitenin artış ve azalışına cevap olarak neopterin düzeyleri hızla değişir (71).

Sinoviyal sıvıda neopterin konsantrasyonlarının ölçümünün özel bir önemi vardır. Hastalığın inflamatuvar ataklarında sinoviyal sıvı konsantrasyonları belirgin olarak serumdan

daha yüksektir. Sinoviyal sıvı düzeyleri hastalığın sistemik aktivitesi ve sinoviyal sıvı immün kompleksleriyle korelasyon gösterir (51).

Aktif sistemik lupus eritematozus hastalarında, neopterin düzeylerinin aşırı yüksek olduğu gözlenir. Kortikosteroid tedavisiyle klinik iyileşme sağlanan hastalarda neopterin düzeyleri düşer. İnaktif hastalığı olanlarda neopterin düzeyleri kontrollere göre kısmen daha yüksektir (35).

Multipl sklerozlu hastalarda, BOS neopterin düzeyleri kontrollere göre hafifçe yüksektir. Ancak serum ve idrar konsantrasyonları genellikle normal seyreder.

BOS neopterin konsantrasyonu ve BOS mononükleer hücre sayımı arasında korelasyon vardır. Multipl sklerozun klinik atakları sırasında, intratekal neopterin konsantrasyonları hastalık belirtileri gerileyen hastalarinkinden daha yüksektir. Hastalığın yeniden nüksettiği hastalarda da yüksek değerler bulunur. Bununla birlikte, atak ve remisyon gösteren aynı hastalarda serum düzeyleri farklılık göstermez (21).

Behçet hastalarında, uyarılmış T-lenfositlerinden gama interferon sekresyonu artmış bulunmuştur (47). Behçet hastalığının aktivasyonu ile idrar neopterin konsantrasyonları arasında bir korelasyon gösterilmiştir. Behçet hastalığının patogenezinde aktive T-lenfositlerinin ve makrofajların önemli bir role sahip olacağı da gösterilmiştir (3).

Malign Hastalıklarda Neopterin

Neopterin düzeyleri, malign tümörün gelişim safhalarına bağlı olarak değişim gösterir. Hastalığı gerileme evresinde olan hastalarda neopterin ya yükselir ya da normal kalır (50,56).

Tümör evresinin neopterin salınımı üzerinde anlamlı bir etkisi vardır. Serviks ve over kanseri olan hastalarda, neopterin konsantrasyonları ile prognoz anlamlı bir ilişki içindedir. Hastalar tümör evresi ve temel cerrahi tedaviye göre ayrıldığında, neopterin düzeyleri önemli derecede aynı kalmaktadır (62,75).

Böbrek kanserli hastaların %65 kadarı yüksek neopterin salınımı göstermekte; ancak düzeylerde evrelere göre farklılık gözlenmemektedir. Testis kanserli hastalarda ise yüksek evrelerle artan neopterin düzeyleri arasında pozitif bir ilişki varken; I. ve II. devrelerde artan neopterin konsantrasyonlarının sıklığında düşüş vardır, III. ve IV. evrelerde tüm hastalarda neopterin düzeyleri artmıştır (8) .

Aktif akciğer kanserli hastaların %75'i yüksek neopterin düzeyleri göstermektedir (12). Akciğer kanserinin histolojik tipleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Adenokarsinoma IV. evrelerdeki hastalarda I. ve II. evrelere göre daha yüksek ortalama değerler bulunmuştur. Ayrıca küçük hücre akciğer kanserli hastalarda düzey daha yüksektir. Adenokarsinoma ve küçük hücreli akciğer kanserli hastalarda tedavi öncesi neopterin değerleri önceden bilinebilen değerlerdir (70).

Hastalık sırasında yapılan neopterin ölçümleri göstermiştir ki neopterin düzeyindeki artış hastalarda tümörün kötüye gidişi, metastaz ya da mortalite için önemli bir işaretir.

Jinekolojik kanserlerde ölümden 5 ay öncesine kadar anlamlı olarak artış göstermektedir(11,1,70).

Enfeksiyon Hastalıklarında Neopterin

Değişik tipteki viral enfeksiyonlarda ölçülen neopterin düzeyleri birbirine benzerdir. Örneğin, sitomegalovirüs enfeksiyonunda neopterin konsantrasyonu inkübasyon periyodunda artar, klinik semptomlarda pik verir ve iyileşme döneminde antikor titrelerinin dolaşımında ölçülebilir hale geldiği anda hızla düşer (69). Epstein-Barr virüs ve sitomegalovirüs enfeksiyonlarında oldukça yüksek serum neopterin konsantrasyonlarına rastlanır. Benzer şekilde küçük çocuklardaki suçiçeği enfeksiyonlarına yüksek neopterin konsantrasyonları eşlik eder. Konsantrasyonlar hastalığın klinik semptomları ile birlikte yükselir ve taze eksantemanın sonunda pik düzeyler görülür. Daha sonra neopterin konsantrasyonunda oldukça hızlı bir düşüş gözlenir. Kızamıklı çocuklarda neopterin, küçük lekelerin görülmesinden bir ila üç gün sonra en yüksek düzeyine ulaşır ve bu yükseklikte iki ila üç hafta kalır (33). Kızamık-ensefalomiyelitli hastalarda neopterin ayrıca BOS'ta artmaktadır.

Akut viral hepatit A ve B ile non-A ve non-B hastalarında yüksek neopterin konsantrasyonlarına rastlanmıştır. Ancak bu düzeyler enfeksiyöz mononükleoz hastalarında olduğu kadar yüksek değildir. Klinik olarak sağlıklı HBs Ag taşıyıcıları normal düzeylere sahiptir. Kronik viral hepatitli hastalarda neopterin düzeyleri anlamlı olarak yüksektir ve kronik non-A ile non-B hepatitin ve yağlı karaciğerin tanılarının ayrılmasında yardımcı olur (65).

Prodromal dönemindeki AIDS ve lenfadenopati sendromlu hastaların çoğunda ve AIDS'li hastalarda dramatik olarak artmış neopterin düzeyleri bulunur. Neopterin, HIV virüsü olan hastalarda klinik bulgu oluşmadan çok önce ve hızla artış gösterir. HIV virüsü almış homoseksüel erkekler, ilaç bağımlıları ve hemofilik hastalarda klinik bulgularla neopterin düzeyi arasında genellikle iyi bir korelasyon gözlenir. Neopterin düzeyi ile hem CDC sınıflama sistemi hem de Walter Reed sınıflandırmasıyla anlamlı ilişki bulunmuştur. Hatta asemptomatik HIV-1 seropozitif bireylerde pozitif virus kültürünün daha yüksek sıklığı ve daha yüksek neopterin konsantrasyonları arasında bir korelasyon mevcuttur (22,27,71).

Oftalmolojide Neopterin

Oftalmolojide oküler inflamasyonda, Behçet hastaları, üveitlerde, psödoexfoliasyon ve retinal vaskülitlerde serumda ve idrardaki düzeyleri değerlendirilmiştir.

Anterior üveiti bulunan hastaların serumlarında neopterin düzeyi ölçümü yapılmış ve sadece klinik olarak aktif olan grupta neopterin düzeyinde anlamlı yükseklik tespit edilmiştir ve hastalık aktivitesi ile neopterin düzeyinin ilişkili olduğu söylenmiştir. Yine yapılan benzer bir çalışmada üveitli olgularda idrar neopterin seviyesi ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkinin değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda aktif ve inaktif üveitli hastaların idrar neopterin seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve üveitli olguların klinik olarak aktif olduğu dönemlerde, idrar neopterin seviyesinde yükselme olduğu tespit edilmiştir. Yine retinal vaskülit olgularda kontrol grubuna göre neopterin düzeylerinde anlamlı yükseklik tespit edilmiş fakat klinik olarak

relapsların olduğu dönemlerle inaktif dönem arasında fark anlamlı bulunmamıştır (1,46,54,19).

NEOPTERİN ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

1) Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemleri

Günümüz klinik laboratuvarlarında pterinlerin kromatografik analizi hemen hemen tamamiyle HPLC tekniklerine dayanmakta ve çalışmaların pek çoğu çeşitli hastalıklarda neopterinlerin ve biopterinlerin ölçülmesini gerekli kalmaktadır. Floresans, elektrokimyasal ve floresansla bağlantılı olarak elektrokimyasal deteksiyon ile bu pterinler katyon-değişimi, ters-faz ve ters-fazlı iyon çifti kromatografisi ile ayrıştırılmaktadır (25).

2)İnce tabaka kromatografisi

3)Elektroforez

4)Radioimmunoassay (RIA)

Bir çok örnek eşzamanlı ölçülebildiği gibi sadece neopterin veya biopterin ölçümü yapılacaksa, RIA bir çok avantaja sahiptir. Örneğin sadece küçük hacimleri gereklidir ve bir çok durumda örneklerin oksidasyon işlemi dışında, önceden işleme tabi tutulması gerekmez. İçinde immün sistem simülasyonunun mevcut olduğu hastalıkların kontrolü amacıyla serum ve idrardaki neopterin RIA'sı bir çok grup tarafından kullanılmaktadır. Neopterin RIA tespiti için çeşitli ticari kitler bulunmaktadır.

GEREC VE YÖNTEM

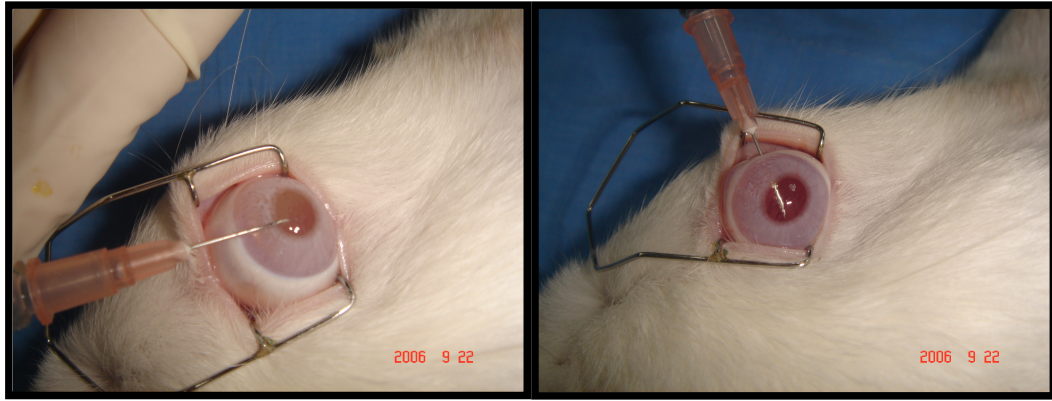
Bu çalışmada 4 aylık ve ortalama ağırlığı 2500 gr. olan 14 adet Yeni Zelanda beyaz tavşanı kullanıldı. Çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu kurallarına uygun olarak gerçekleştirildi (HÜBA 2002-24).

Tavşanlara enjeksiyon ve cerrahi girişim öncesi intramüsküler ketamin hidroklorür (25 mg/kg) ve ksilazin hidroklorür (5 mg/kg) uygulanarak genel anestezi ve proparakain hidroklorid ve sulandırılmış povidone iodine damlatılarak topikal anestezi ve sterilizasyon sağlanmıştır. Her tavşanın 2 gözü çalışma için kullanıldı.

Herbiri 7 göz içerecek şekilde hayvanlar 2 gruba ayrıldı. Bütün solüsyonlar enjeksiyonlardan hemen önce hazırlandı. Anesteziyi takiben bütün sağ gözlere limbusun 2.5 mm gerisinden 27-gauge iğne ile girilerek lens ve retina zedelenmeyecek şekilde vitreus ortasına 0.5 cc 100 ng LPS (E.Coli 055:B5) içeren enjeksiyonlar yapıldı, sol gözler kontrol grubu olarak değerlendirildi.

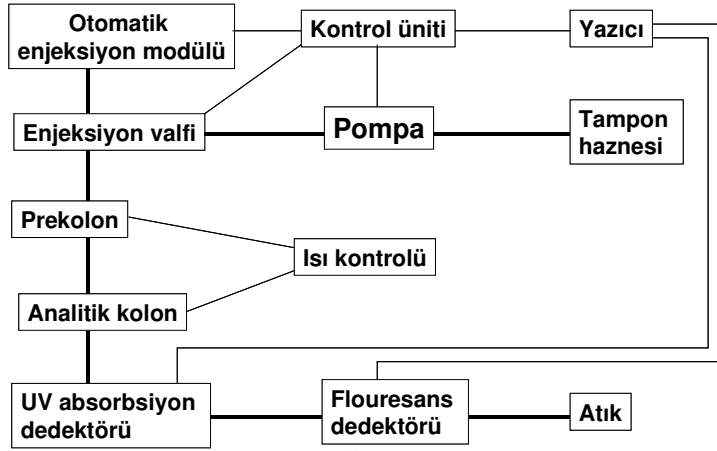
Enjeksiyonlardan 1. grupta 24 saat sonra, 2. grupta 72 saat sonra kalpten yüksek doz (200 mg/kg) ksilazin hidroklorür enjeksiyonu ile hayvanlar sakrifiye edildi. Neopterin düzeylerinin ölçümü için 1. grupta 24 saat, 2. grupta 72 saat sonra tavşanların her iki gözünden 27 gauge iğne ile parasentez yapıp HA örneği , limbusun 2.5 mm gerisinden 27-

gauge iğne ile girilerek vitreus örneği ve serum örnekleri alındı. Ayrıca alınan bu örneklerde total protein miktarının ölçümü de yapıldı. (Resim 1). Takiben konjonktiva açılıp, kaslar ekarte edildikten sonra göz nazıkçe öne çekilip optik sinir çok kısa güdük kalmayacak şekilde kesilerek enükleasyon yapıldı. Enükleasyon materyali patolojik değerlendirmeye gönderildi.



Resim 1: Parasentez ile hümoraköz örneğinin ve vitreus örneğinin alınması

Neopterin ölçümü için gerekli olan minimum HPLC ekipmanı izokratik pompa, enjeksiyon valfi, seperasyon kolonu florometrik detektör ile kreatinin ölçümü için gerekli olan UV absorpsiyon detektörüdür. UV absorpsiyon ölçümü 235 nm dalga boyunda monokromatör veya 229 nm dalga boyunda ölçüm yapabilen filtre sistemleri olabilir. Flouresans ölçümü 353 nm eksitasyon ve 438 nm emisyon dalga boylarında yapıldı. Rutin ölçümler için şekil 3 'de önerilen sistem izlenmektedir. Bu sistemlere GATA Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarında bulunan HPLC cihazında autosampler, iki farklı integratör ve gradient ölçümler için gerekli olan programlanabilir pompa bulunmaktadır (Resim 2).



Şekil-3: Önerilen HPLC sistemi



Resim-2 : Kullanılan HPLC sistemi

Tüm örnekler ışıktan korunarak alındı ve çalışma yapılınca kadar -80°C 'de saklandı. Çalışma sırasında deproteinize etmek için 70 örnek üzerine $100\ \mu\text{L}$ $2\ \text{mol/L}$ trikloroasetik asit (TCA) ilave edilerek vortekslendi ve 10,000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant ölçüm için kullanıldı.

Dokular formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra her iki gözden ön kamara, silier cisim, koroid ve retinadan geçen kesitler alındı ve her bir olgudan alınan kesitler rutin patolojik doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafinle bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler, hematoxilen-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. İris, silier cisim, koroid ve retinada meydana gelen patolojik değişiklikler; *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, July 1994, Vol:35, No:8'e uygun olarak aşağıdaki kriterlere göre derecelendirildi.

0 : Normal doku

1+: Genişlemiş iris damarları ve eksudat-protein ile kalınlaşmış iris stroması ve/veya ön kamarada az sayıda inflamatuvar hücre infiltrasyonu

2+: İris stroması ve/veya silier cisimcikte inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ön kamarada değişen sayıda inflamatuvar hücre infiltrasyonu

3+: İris stroması ve silier cisimde yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, ön kamarada çok sayıda inflamatuvar hücre infiltrasyonu.

Çalışma grubu ile kontrol grubu nonparametrik wilcoxon testi, aynı gruba ait HA ve vitreus örnekleri mann whitney testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. 0.05'in altındaki p değerleri istatistiksel anlamlılık kriteri olarak alındı. Veri analizi SPSS 11.0 for Windows programı ile yapıldı.

BULGULAR

Tüm deneklerde 24 saat sonra klinik olarak ön üveit tablosunun geliştiği gözlemlendi. Tavşanların serumdaki enflamasyonun pik yaptığı 24. saatte ve azaldığı 72. saatteki neopterin düzeyleri Tablo II' de sunuldu.

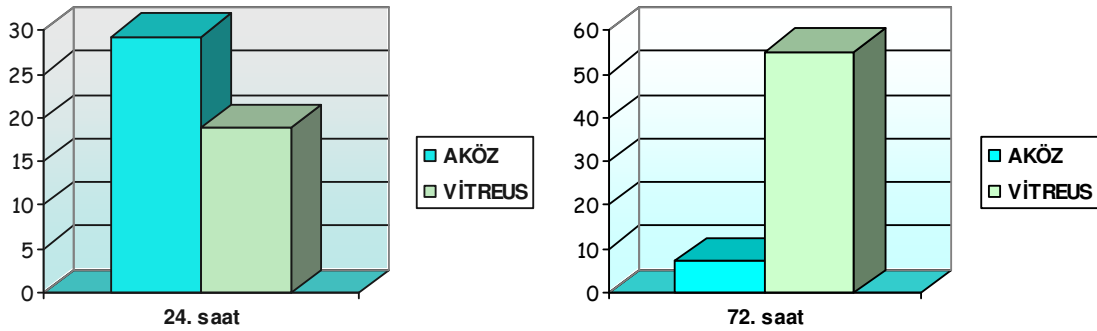
Tablo II. 24. saat ve 72. saatteki serumda neopterin düzeyleri

24 Saat		72 Saat	
NO	Neopterin (nmol/L)	NO	Neopterin (nmol/L)
1	1,33	1	0,39
2	4,21	2	1,93
3	3,83	3	1,47
4	3,37	4	1,47
5	6,76	5	1,65
6	4,38	6	1,43
7	4,27	7	1,44

Buna göre 24. saatin ortalama serum neopterin düzeyi 4.02 ± 1.6 iken 72. saatin ortalama neopterin düzeyi 1.39 ± 0.4 'dir ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

24. saatte HA'de neopterin düzeyleri çalışma grubunda ortalama 29.32 ± 6.25 iken kontrol grubunda ortalama 1.81 ± 0.97 idi ve iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Vitreusta 24. saatte çalışma grubunda ortalama 18.84 ± 6.35 iken kontrol grubunda ortalama 2.80 ± 0.57 idi ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.0001$) (Tablo III).

Tablo III. 24 ve 72. saatte vitreus ve aközdeki neopterin düzeyleri



Serum, HA ve vitreus örneklerinde ölçülen protein konsantrasyonu kontrol grubuyla kıyaslandığında tüm gruplarda neopterin düzeylerine benzer düzeylerde saptandı ve çalışma grubunda belirgin olarak yüksekti. (Tablo IV)

Tablo-IV. 24 ve 72. saatte serum, vitreus ve aközdeki protein konsantrasyonları

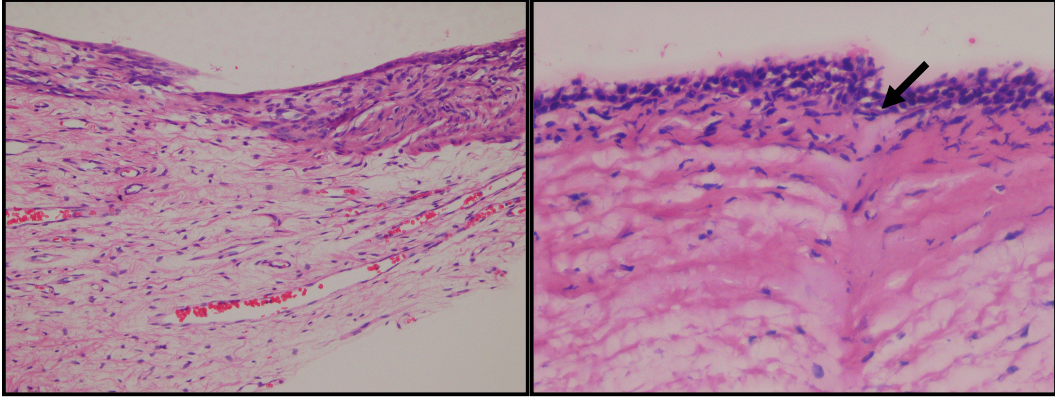
24. SAAT		72. SAAT	
	PROTEİN		PROTEİN
SERUM (gr/dL)	4.3	SERUM (gr/dL)	5.3
AKÖZ(çalışma)(mg/dL)	298	AKÖZ(çalışma)(mg/dL)	291
VİTREUS(çalışma)(mg/dL)	208	VİTREUS(çalışma)(mg/dL)	248
AKÖZ(kontrol)(mg/dL)	35	AKÖZ(kontrol)(mg/dL)	34
VİTREUS(kontrol)(mg/dL)	30	VİTREUS(kontrol)(mg/dL)	55

Grupların histopatolojik enflamasyon dereceleri tablo-V’te görülmektedir. Histopatolojik değerlendirmede kontrol grubundaki gözlerde ön ve arka kamarada hücre izlenmedi ve enflamasyon saptanmadı. Kesitlerde iris, silier cisim, koroid ve retina normaldi ve vasküler değişiklik yoktu.

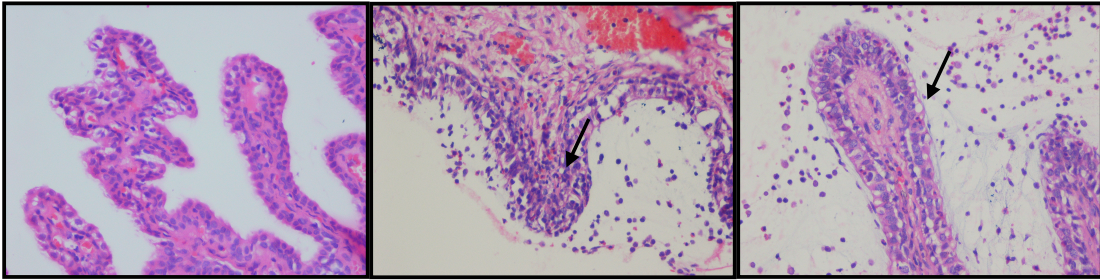
Tablo-V. Grupların gözlerinde saptanan histopatolojik değişikliklerin skorları.

	24. SAAT	72. SAAT
İRİS	+	+
SİLİER CİSİM	++	+
KOROİD	+++	+
RETİNA	- Ganglion Hc kaybı, iç nükleer tabakada (İNL) kayıp ve vakuolizasyon	+ Ganglion Hc kaybı, İNL kayıp ve vakuolizasyon

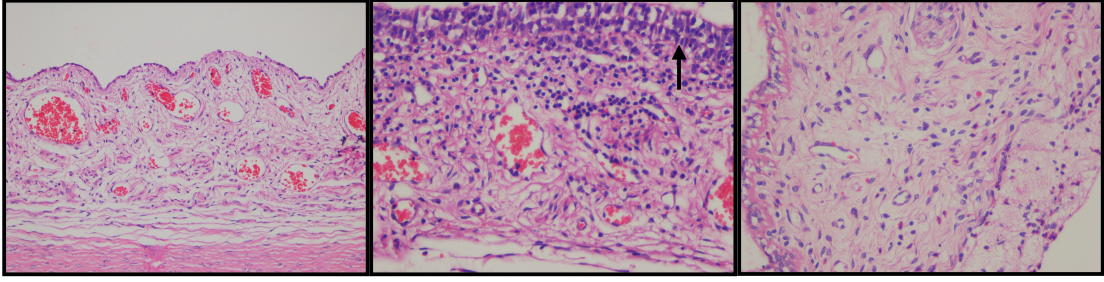
Enflamasyonun pik yaptığı 24. saatte iriste az sayıda, silier cisimde orta düzeyde nötrofil infiltrasyonu gözlenirken enflamasyon yoğun olarak koroidde tespit edildi. 72 saatte ise tüm kesitlerde +1 düzeyinde enflamatuvar hücre mevcut idi. (Resim 3, 4, 5)



Resim 3: Solda normal iris dokusu, sağda 24. saatte iriste +1 düzeyinde nötrofil infiltrasyonu izleniyor (ok) (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x200 büyütme).

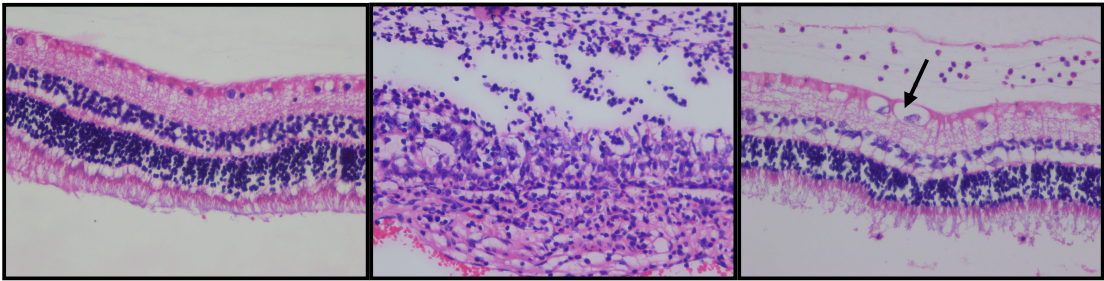


Resim 4: Solda normal silier cisim dokusu (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x200 büyütme), ortada 24. saatte silier cisimde +2 düzeyinde nötrofil infiltrasyonu(ok), sağda ise 72. saatte +1 düzeyinde nötrofil infiltrasyonu (ok) izleniyor (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x400 büyütme).



Resim 5: Solda normal koroid dokusu (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x200 büyütme), ortada 24. saatte koroidde +3 düzeyinde nötrofil infiltrasyonu (ok), sağda ise 72. saatte +1 düzeyinde nötrofil infiltrasyonu izleniyor (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x400 büyütme).

Retinada 24. saatte nötrofil infiltrasyonu gözlenmezken az sayıda ganglion hücre kaybı ve İNL'da kayıp ile birlikte belirgin olmayan vakuolizasyon izlendi. 72. saatte ise retinada da enflamatuar hücreler tespit edildi ve aynı zamanda de ganglion hücre kaybı ve İNL de kayıp, vakuolizasyon belirgin idi. (Resim 6)



Resim 6: Solda normal retina dokusu (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x200 büyütme), ortada 72. saatte +1 düzeyinde nötrofil infiltrasyonu, sağda ise 72. saatte İNL, ganglion hücre kaybı ve vakuolizasyon (ok) izleniyor (Hematoksilen-eozinle boyanmış, x400 büyütme).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Neopterin, guanozin trifosfattan biopterinin de-novo sentezinde rol alan ve insan monosit ve makrofajlarının interferon- γ ile uyarılması sonucu salınan bir metabolittir. İnterferon- γ T hücrelerinin uyarılmasının derecesine bağılı olarak salınır. Bu nedenle biyolojik fonksiyonu tam olarak bilinmemesine rağmen, neopterin uyarılmış hücressel immün yanıtın özgül olmayan bir biyokimyasal belirteci olduğu kabul edilmektedir.

Değişik kanser hastalarının idrarlarında neopterin artışının saptanması immünolojik aktivasyon belirteci olarak neopterin ayrı bir önem verilmesine neden olmuştur. Bununla birlikte araştırmalar daha da genişletilerek farklı grup hastalarda çalışmalar yapılmaya başlamıştır. Neopterin seviyesi, immünolojik uyarıya hızla yanıt verir. İnflamatuvar hastalığa sahip kişilerde daha önceki çalışmalarla neopterin eritrosit sedimentasyon hızından veya çözünür sitokin reseptör konsantrasyonlarından daha hızlı saptanabildiği tespit edildi (52).

Gözde yapılan çalışmalarda hücressel bağışıklık sisteminin aktivasyonunun biyokimyasal bir göstergesi olan neopterin idrar ve serum seviyesi ile üveitli olgularda hastalık aktivitesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Üveitli olguların klinik olarak aktif olduğu dönemlerde, idrar ve serumda neopterin seviyesinde yükselme olduğu tespit edilmiştir. Neopterin bu özelliği ile, üveitli olgularda klinik bulguları destekleyen, biyokimyasal bir aktivasyon göstergesi olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (1,19). Bizim çalışmamızda ise enflamasyonun pik yaptığı 24. saat ile eser miktarda enflamatuvar hücrenin tespit edildiği

72. saatteki serum neopterin düzeyleri karşılaştırıldığı da 24. saatteki düzeyin 72. saat ile kıyaslaması sonucunda anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmesine rağmen düzeyler 10 nmol/L'nin altındadır. Bizim çalışmamıza göre serum neopterin düzeylerinin, ön üveit modelinde aktivasyon göstergesi olarak kullanılamayacağı sonucunu doğurmaktadır. İdiyopatik retina vaskülitte T helper hücrelerinin aktivasyonu aracılığıyla meydana gelen bir hastalıktır ve bu hastalıktada yapılan bir çalışmada da hastalığın aktif olduğu dönemlerde idrar neopterin düzeylerinde anlamlı artış gösterilmemiştir.

Lokal makrofaj aktivasyonunun bir göstergesi olarak neopterin, diğer vücut sıvılarında da bulunmaktadır. Romatoid artritli hastalarda eklem sıvısında, pankreas graft rejeksiyonunda pankreatik sıvıda, hamilelerde amniyotik sıvıda neopterin düzeylerine bakılmıştır(8,17). Sinoviyal sıvıda neopterin konsantrasyonlarının ölçümünün özel bir önemi vardır. Hastalığın inflamatuvar ataklarında sinoviyal sıvı konsantrasyonları belirgin olarak serumdan daha yüksektir. Sinoviyal sıvı düzeyleri hastalığın sistemik aktivitesi ve sinoviyal sıvı immün kompleksleriyle korelasyon gösterir (51). Multipl sklerozlu hastalarda, BOS neopterin düzeyleri kontrollare göre hafifçe yüksektir. Ancak serum ve idrar konsantrasyonları genellikle normal seyreder. BOS neopterin konsantrasyonu ve BOS mononükleer hücre sayımı arasında korelasyon vardır. Multipl sklerozun klinik atakları sırasında, intratekal neopterin konsantrasyonları hastalık belirtileri gerileyen hastalarinkinden daha yüksektir. Hastalığın yeniden nüksettiği hastalarda da yüksek değerler bulunur. Bununla birlikte, atak ve remisyon gösteren aynı hastalarda serum düzeyleri farklılık göstermez (21).

Göz sıvılarında 2003 yılında Laganovska ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada pseudoexfoliasyonu olan ve olmayan katarakt hastalarının aköz ve serumlarında kynurenine ve neopterin düzeylerine radyoimmunoassay yöntemi kullanarak bakmışlar ve sadece pseudoexfoliasyonu olan matür kataraktlı grupta serum (8.49 ± 0.59 nmol/L) ve aközde (1.33 ± 0.22 nmol/L) neoperin düzeyinde diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı yükseklik saptamışlardır (46). Yine bu çalışmada aköz ve serumda neopterin düzeylerinde pozitif bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da aköz ve serumdaki neopterin seviyelerindeki artış paralellik göstermektedir.

Vitreus ön kamara kadar anlaşılamamıştır. Vitreus elektrostatik olarak yüklü proteinleri bağlayarak muhtemelen antijen deposu ve lökosit hücre bağlanması için substrat olarak davranmaktadır. Vitrede tip 2 kollajen bulunması, artritlerle ilişkili çeşitli üveitlerde eklemlerle ortak bulunan tip 2 kollajen, nedeniyle otoantijen deposu görevi görmesine neden olur. Retina, RPE ve koroidin bağışılık mekanizmalarının durumu tam olarak anlaşılamamıştır. Retinal kan dolaşımı sıkı bağlantılarla endotel hücreleri seviyesinde bariyer oluşturmaktadır. Koryokapiller damarları makromoleküllerin ekstrasvasküler alana sızmasına neden olmaktadır. RPE hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar retina ve koroid arasındaki esas duvarı oluşturmaktadır. Lenf dokusu yoktur ancak bol miktarda APC bulunmaktadır. Retinada mikrogliya ve monositler, koroidde makrofaj ve dendritik hücreler vardır. RPE, çeşitli retinal hücreler ve koroid sitokin salabilmektedir (ör:TGF-Beta). Doku düzeyinde yapılan çalışmalarda öküz gözünde RPE hücrelerinde açığa çıkan major pterinin biopterin olduğu gösterilmiş ve HPLC metoduyla RPE'deki neopterin düzeyi 4.2 ± 1.8 ng/mg DNA olarak ölçülmüştür (30). Rao ve ark. nin yaptığı çalışmada rat ve insan gözünde lens,

retina ve silier cisim dokularındaki neopterin düzeyleri Tablo VI'daki gibi bildirmişlerdir (57).

Tablo VI. Neopterin, sepiapterin ve biopterinin göz dokularındaki aktiviteleri (nmol/g çözülebilir protein/saat)

	Neopterin	Sepiapterin	Biopterin
Silier cisim			
Rat	274±16	91±15	53±6
İnsan	182±31	34±3	38±4
Lens			
Rat	20±5	24±4	30±6
İnsan	45±12	22±3	27±4
Retina			
Rat	422±27	135±12	76±10
İnsan	260±24	118±14	68±8

Bizim çalışmamızda neopterin düzeyi 72. saatte aközde azalma gösterirken vitreusta belirgin artış göstermekteydi. Vitreustaki bu artışın sebepleri vitreusta neopterin salgılayan hücrelerin daha fazla olması veya ortama salınan neopterin yarı ömrünün uzun olması olabilir (kümülatif etki). Aközdeki azalmanın sebepleri ise 72. saatte aközde enflamasyonun azalması ve neopterin ortamdan hızlı uzaklaştırılması olabilir. Flow sitometri ile alt hücre

gruplarının ve sayısının belirlenmesi sağlanarak 72. saatte vitreustaki bu artışın sebebinin daha net aydınlatılabileceği kanısındayız.

Bu çalışma deneysel ön üveit modelinde neopterin kullanıldığı ve enflamasyonda göz sıvılarında neopterin ölçümünün yapıldığı ilk çalışmadır. İnflamasyonun erken ve geç dönemlerinde neopterin salınımının göz sıvılarında aktivite ile ilişkisi araştırılmıştır. Neopterin düzeyinde tüm göz sıvılarında inflamasyon süresince anlamlı yükseklik göstermiştir. Neopterin düzeyleri 24. saatte aközde, 72. saatte ise vitreusta belirgin artış göstermiştir. Daha geniş kapsamlı çalışmalarda inflamasyonun tamamen kaybolduğu 1. haftadaki neopterin düzeylerinin ölçümü, tedaviye neopterin cevabı ve farklı etkenlerle oluşan üveit modellerinde çalışılması ile progresyonu değerlendirmede ve üveitte idyopatik grupta etken saptamada tanısal amaçlı kullanımının söz konusu olabileceği kanısındayız. Sonuç olarak neopterin oküler inflamasyonda marker olarak kullanılabilir ve geliştirilmesi gereklidir. Bu çalışma ileriki yıllarda oküler inflamasyona neden olan durumlarda neopterin düzeylerinin takibinin yapılacağı çalışmalara ışık tutacaktır.

ÖZET

Neopterin sellüler immunitenin erken döneminde ortaya çıkan markerlarından biridir. Üveitler üvea dokusunun inflamatuvar hastalığıdır ve legal körlüğün önde gelen nedenlerinden birisidir. Bu çalışmada intraoküler ve serum neopterin seviyelerinin endotoksinle tetiklenmiş üveit modelinde ne kadar anlamlı olabileceği araştırılmıştır.

Ondört tavşanın sağ gözlerine endotoksinle tetiklenmiş ön üveit modeli oluşturmak amacıyla 0.05 ml E.Coli lipopolisakkariti verilmiştir. Sol gözler ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Birinci gruptaki 7 tavşandan 24 saat sonra, 2. gruptaki 7 tavşandan 72 saat sonra aköz, vitreus ve serum örnekleri alınarak HPLC metodu ile neopterin seviyeleri ve total protein miktarı ölçümü yapılmıştır. Bilateral enükleasyon gerçekleştirilerek bu sürede indüklenen histopatolojik değişiklikler incelenmiştir. Ortalama neopterin düzeyleri 24. saatte serumda 4.02 ± 1.6 , aközde 29.32 ± 6.25 , vitreusta 18.84 ± 6.35 , 72. saatte serumda 1.39 ± 0.4 , aközde 7.30 ± 5.20 , vitreusta 55.16 ± 31.11 olup iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$). Total protein miktarlarında neopterin düzeyleri ile paralellik göstermiştir. Histopatolojik incelemede enflamasyonun, 24. saatte koroid ve silier cisimde, 72. saatte ise retinada belirgin olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışma deneysel ön üveit modelinde neopterin kullanıldığı ve göz sıvılarında neopterin ölçümünün yapıldığı ilk çalışma olmasının yanısıra, inflamasyonun erken ve geç dönemlerinde göz sıvılarında aktivite ile ilişkisini gösteren ilk çalışma olması açısından da önemlidir.

İNGİLİZCE ÖZET

Neopterin is one of the markers emerging in the early stages of the cellular immunity. Uveitis is the inflammatory disease of the uveal tissue and one of the leading causes of the legal blindness. In this study neopterin levels of intraocular fluids and serum were analyzed in the endotoxin-induced uveitis model.

To produce endotoxin-induced anterior uveitis model, 0.05 ml E.Coli lipopolysaccharide have been injected into the right eyes of 14 rabbits while left eyes have been evaluated as control group. From 7 rabbits in the first group aqueous fluid, vitreous and serum samples were drawn in the 24th hour while from the other 7 in the 2nd group samples were drawn in the 72th hour. Total protein and neopterin levels of these samples were measured by HPLS method. Simultaneously, eyes were bilaterally enucleated and uveitis induced histopathological changes were examined. Mean levels of neopterin in serum, aqueous fluid and vitreous were 4.02 ± 1.6 , 29.32 ± 6.25 , and 18.84 ± 6.35 respectively in the 24th hour samples. In the 72th hour samples mean levels were 1.39 ± 0.4 in serum, 7.30 ± 5.20 in aqueous fluid and 55.16 ± 31.11 in vitreous and difference between two groups were statistically significant ($p=0.001$). Total protein levels were also parallel with neopterin. Histopathologic evaluation revealed that in the first 24 hour inflammation is significant in choroid and ciliary body and in 72 hour it is significant in retina.

This study is important not only because it is the first study measuring neopterin in intraocular fluids and analyzing neopterin levels in the experimental anterior uveitis model but also it is first study demonstrates neopterin level and activity correlation in the early and late stages of inflammation.

KAYNAKLAR

1. Abi Hanna D, Wakefield D. Increased serum neopterin levels in patients with acute anterior uveitis. Curr Eye Res. 1988 May;7(5):497-502.
2. Akbatur H, Şengün A. Behçet Hastalığı, Endoftalmiler ve Üveitler (Ankara) 2002. S:1-50
3. Altındağ Z, Şahin G, Akpek G, Koç Y, Işimer A, Kansu E, Duru S: Urinary Neopterin Levels as an Indicator of Disease Activation in Behçet's Disease, Pteridines. 6:79-83,1995
4. Aulitzky W, Frick J, Fuchs D: Significance of Urinary Neopterin in Patients With Malignant Tumors of the genito-urinary Tract. Cancer. 55:1052-1055,1985
5. Baatz H, Pleyer U, Thiel HJ, Hammer C. In vivo study of leukocyte-endothelium interaction in endotoxin-induced uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 36: 1960-7, 1995.
6. Bacon TH, Ozbakir F, Elms CA, Denman AM: Interferon-gamma Production By Peripheral Blood Mononuclear Cell from Patients With Behçet's Syndrome. Clin. Exp Immunol. 57:541-547,1984
7. Bichler A, Fuchs D, Hausen A, Hetzel H, Reibnegger G; Watcher H: Measurement of Urinary Neopterin in Normal Pregnant and Non-pregnant women and in Women with Benign and Malign Genital Tract Neoplasma. Arch. Gynecol: 233: 121-130,1983
8. Brattsrom C, Tyden G, Reinhold FP. Markers for Pancreas-graft Rejection in Humans. Diabetes, 38:57-62,1989

9. Brew BJ, Bhalla RB, Paul M: Cerebrospinal fluid Neopterin in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *Ann Neurol*, 28:556–560, 1990
10. Budavari S, O'Neil MJ, Smith A, Heckelman PE: The Merck Index 8th Ed. Merck & Co inc. Rahway N.J., S. 161- 840, 1976
11. Caspi R, Roberge F, Chan CC, Wiggert B. A new model of autoimmune disease. Experimental autoimmune uveoretinitis induced in mice with two different retinal antigens. *J Immunol* 140: 1490-95, 1988
12. Conrad F, Fuchs D, Hausen A: Prognostic Value of Neopterin in Patients With Lung Cancer : Biochemical and Clinical Aspects of Pteridines. 233-241, 1987
13. Coppen A, Swade C, Jones SA, Armstrong RA, Blair JA, Leeming RJ: Depression and Tetrahydrobiopterin: The Folate Connection. *J. Aff. Disord.* 16: 103-107, 1989
14. Danks DM, Cotton RGH, Schlesinger P: Variant Forms of Phenylketonuria: *Lancet* 1: 1236-1237, 1976
15. De Vos, AF, Klaren VN, Kijlstra A. Expression of multiple cytokines and IL-1RA in the uvea and retina during endotoxin-induced uveitis in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 35, 3873–3883, 1994
16. Denz H, Fuchs D, Hausen A, Value of Urinary Neopterin in the Differential Diagnosis of Bacterial and Viral Infections. *Clin Wochenschr* , 68:218 – 222, 1990

17. Dhondt JL, Hayte JM, Forzy G, Deleroix M, Farriaux JP: Unconjugated Pteridines in Amniotic Fluid During Gestation. *Clinical Chemistry Acta* 161:269-273,1936
18. Duch DS, Bowers SW, Woolf JH, Nichol CA: Biopterin Cofactor Biosynthesis: GTP Cyclohydrolase, Neopterin and Biopterin in Tissues and Body Fluids of Mamalian Species. *Life Sci.* 35, 1895-1901, 1984
19. Durukan AH, Hürmeriç V, Akgül EÖ, Erdem Ü, Kılıç S, Erbil K, Bayraktar MZ. Üveitli olgularda idrar neopterin seviyesi ile hastalık aktivitesi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Medikal Network Oftalmoloji*, Eylül 2004 238-242.
20. Ferguson TA, Griffith TS. A vision of cell death: insights into immune privilege. *Immunol Rev.* 1997;156:167-184
21. Fredrikson S, Link H, Enerot P: CSF Neopterin as Marker of Disease Activity in Multiple Sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 75:352-355,1987
22. Fuchs D, Albert J, Asjö B. Association Between Serum Neopterin Concentrations and in Vitro Replicative Capacity of HIV-1 Isolates. *J Infect Dis* ,160:724-725, 1989
23. Fuchs D, Baier BG, Wede I, Wachter H. Reactive Oxygen and Apoptosis: Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defenses. Scandalios J, ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 139-167,1997
24. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G: Neopterin Levels in Long Term Hemodialysis. *Clin Nephrol* 30:220-224,1988

25. Fuchs D, Werner ER, Wachter H: Soluble Products of Immune Activation: Neopterin in: Rose RR, deMacario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM: Manual of Clinical Laboratory Immunology. 4th ed. Washington, D.C., American Society for Microbiology, 251-255, 1992
26. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G: Neopterin as a Marker for Activated Cell-Mediated Immunity. Application in HIV Infection. *Immunol Today*: 9: 150-155, 1988
27. Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H: The Role of Neopterin as a Monitor of Cellular Immune Activation in Transplantation, Inflammatory, Infectious and Malignant Diseases.: *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*: 29(3,4) 307-341, 1992
28. Fukushima T, Nixon JC: Analysis of Reduced Forms of Biopterin in Biological Tissues and Fluids. *Anal. Biochem.* 102,176-188, 1980
29. Gallin JL, Snyderman R, eds. *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999
30. Gerding HR, Vollmer E, Cremer-Bartels G, Rokos H, Krause K, Busse H. Immunoenzymatic labeling of biopterin and neopterin in the pigment epithelium of bovine retina. *Adv Exp Med Biol.* 1993;338:347-50.
31. Greenwood J, Howes R, Lightman S: The blood-retinal barrier in experimental uveoretinitis. Leukocyte interactions and functional damage. *Lab Invest* 70: 39-52, 1994
32. Hagihara M, Nagatsu T., Ohhashi M., Miura T.: Concentrations of Neopterin and Biopterin in Serum from Patients with Rheumatoid Arthritis or Systemic Lupus

Erythematosus in synovial Fluid from patients with Rheumatoid or Osteoarthritis. Clin Chem 36, 705-706, 1990

33. Hausen A, Fuchs D, Grunewald K: Urinary Neopterin in the Assessment of Lymphoid and Myeloid Neoplasia and Neopterin Levels in haemolytic Anaemia and benign monoclonal gammopathy. Clin Biochem. 15:34-37, 1982

34. Hausen A, Fuchs D, Reibnegger G: Neopterin in Clinical Use. Pteridines 1: 3-10, 1989

35. Havel M, Jakovics A, Teufelsbauer H; Neopterin as a New Marker to Detect Acute Rejection after Heart Transplantation. J Heart Transplant. 8:167-70, 1989

36. Hoekzema R, Murray PI, Van Harren MAC, Helle M, Kijlstra A. Analysis of interleukin-6 in endotoxin induced uveitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 32: 88-95, 1991

37. 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. 33, 532-539, 1992

38. Hönliger M, Fuchs D, Reibnegger G: Neopterin Screening and Acute Cytomegalovirus Infections in Blood Donors. Clin Invest, 70:63, 1992

39. Huber C, Baatchelor JR, Fuchs D: Immune Response-Associated Production of Neopterin Release from Macrophage: Primarily under Control of Interferon Gamma. J. Exp. Med: 160: 310-316, 1984

40. Huber C, Fuchs D, Hausen A: Pteridines as a New Marker to Detect Human T Cells Activated by Allogenic or Modified Self Major Histocompatibility Complex (MHC) Determinants. J. Immunol: 130. 1047- 1050, 1983

41. Intraocular Inflammation and Uveitis. American Academy of Ophthalmology Part I, Chapter 1-5. 9-97, 2005-2006

42. Irschick EU, Sgonc R, Bock G, Wolf H, Fuchs D, Nussbaumer W, Gottinger W, Huemer HP. Retinal pigment epithelial phagocytosis and metabolism differ from those of macrophages. Ophthalmic Res. 2004 Jul-Aug;36(4):200-10.

43. Kansler L, Chan CC, Whitcup SM, Gery I. The paradoxical effect of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in endotoxin-induced uveitis. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 34, 2911–2917, 1993.

44. Kawasaki H, Watanabe H, Yamada S: Prognostic Significance of Urinary Neopterin Levels in Patients with Hepatocellular Carcinoma. Tohoku J. Exp. Med, 155 : 311 – 8, 1988

45. Kwan NS, Nathan CF, Stuehr DJ: Reduced Biopterin as Cofactor in the Generation of Nitrogen Oxide by Murine Macrophages. J. Biol. Chem: 264, 20496-20500, 1989

46. 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.

47. Lehner T. State of art in Behçet's Disease. Proceedings of the International Conference on Behçet's Disease held in Tunis. Ed Hamza M. 7-14, 1996

48. Leohirun L, Thuvasethakul P, Sumethkul V: Urinary Neopterin in Patients with Systemic Lupus Erythematosus Clin.Chem., 37:47-50,1986
49. Medzhitov R, Janeway C. Innate immunity. N Engl J Med. 2000;343:338-344
50. Millner MM, Frantal W, Thalhammer GH, et al. Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. Clinical Chemistry (1998), 44, 161-167
51. Muller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH: Neopterin in Clinical Practica. Clin Chem Acta, 201:1-16,1991
52. Nichol CA, Smith GK, Duch DS: Biosynthesis and Metabolism of Tetrahydrobiopterin and Molybdopterin Ann. Rev. Biach. 54: 729-764,1985
53. Nussenblatt RB, Whitcup SM, Paetsine AG: Uveitis: Fundamentals and Clinical Practice, ed 2. St Louis, Mosby-Year Book, 1996
54. Palmer HE, Giovannoni G, Stanford MR, Wallace GR, Graham EM. Urinary neopterin in idiopathic retinal vasculitis. Br J Ophthalmol. 2001 Jan;85(1):30-3
55. Pepose JS, Holland GN, Wilhelmus KR, eds. Ocular Infection and Immunity. St Louis: Mosby;1996
56. Prior C, Fuchs D, Hausen A. Potential of Urinary Neopterin Excretion in Differentiating Chronic Non- A, Non – B Hepatitis from Fatty Liver. Lancet, 2:1235 – 1237, 1987

57. Rao GN, Cotlier E. Biosynthesis of neopterin, sepiapterin, and biopterin in rat and human ocular tissues. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1985 May;26(5):768-70.
58. Reibnegger G, Ballbach R, Fuch D; A Simple Index Relating Clinical Activity in Crohn's disease With T Cell Activation: Hematocrit, Frequency of Liquid Stools and Urinary Neopterin as Parameters. *Immunobiology*. 173:1-11,1986
59. Reibnegger G, Egg D, Fuch D; Urinary Neopterin Reflects Clinical Activity in Patients With Rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 29:1063-1070,1986
60. Reibnegger G, Hetzel H, Fuchs D: Clinical Significance of Neopterin for Prognosis and Follow-up in Ovarian Cancer. *Cancer Res*: 47:4977-4981,1987
61. Rosenbaum JT, McDevitt HO, Guss RB, Egbert PR. Endotoxin-induced uveitis in rats as a model for human disease. *Nature* 286: 611–613, 1980
62. Sakuari A, Goto M: Neopterin Isolation from Human Urine: *Journal Biochemistry*. 61: 142-145, 1967
63. Schuster V, Reibnegger G, Wachter H: Neopterin and Endogenous Interferon Gamma in Serum of Patients with Epstein – Barr Virus Associated Lymphoproliferative Diseases. *Pteridines*, 2: 189 –191,1990
64. Streilein JW : *Immune Response and the Eye* (Boston). 1999. S:90-119
65. Strohmaier W, Redl H, Schlag G. D-erythro-Neopterin Plasma Levels in Intensive Care Patients with and without Septic Complications. *Crit Care Med*,15:757–760, 1987

66. Tayeh MA, Marletta MA.: Macrophage Oxidation of L-arginine to Nitric Oxide Nitrite and Nitrate. J.Biol. Chem: 264: 19654-19658, 1989
67. Tetzber F, Rabl H, Korsika K: Elevated Serum Neopterin Levels in Atherosclerosis. Atherosclerosis. 89:203-208,1991
68. Tilg H, Margreiter R, Scriba M: Cilinical Presentation of CMV İnfection in Solid Organ Transplant Recipients and its İmpact on Graft Rejection and Neopterin Excretion . Clin. Transplantation, 1: 37 – 43,1987
69. Tilg H, Margreiter R, Scriba M; Clinical Presentation of CMV infection in solid organ Transplant Recipients and its Impact on Graft Rejection and Neopterin Excretion Clinical Transplantation, 48:37-43,1987
70. Von Ingersleben G, Souchon R, Fitzner R: Serum Neopterin Levels in Lung and Breast Cancer Patients Undergoing Radiotheapy and for Chemotherapy. Int J biol Markers. 3: 135-139,1988
71. Wachter H, Fuchs D, Hausen A: Elevated Urinary Neoptein Levels in Patients with the Acquired İmmunodefficiency Syndrome. Hoppe–Seyler’s Z Physiol Chem,364:1345–1346,1983
72. Watcher H,Fuchs D, Hausen A: Neopterin as a Marker for Activated Cell- Mediated Immunty: Immunologic Basis Anol Clinical Application. Adv. Clin. Chem: 27: 81-141,1989

73. Watcher H, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Werner ER: Neopterines as Marker for Activation of Cellular Immunity . Immuologic Basis and Clinical Application. Adv. Clin. Chem., 27: 81-141, 1989
74. Wede I, Baier BG, Wachter H, Fuchs D: Effects of Neopterin and 7,8-Dihdroneopterin on Luminol-Dependent Chemiluminescence Induced by Reactive intermediates Formed from Hydrogen Peroxide,Chloramine-T,Hypochloride and Nitrite. Pteridines, 6,35,1995
75. Weiss G, Glaser K, Kronberger P, Ambach E, Fuchs D, Bodner E, Wachter H: Distinct Distribution of D-erythroneopterin in Arteries and veins and its Recovery by an Enterohepatic Circulation.: Biol.Chem. Hoppe Seyler. 373, 289-294, 1992
76. Whitcup S, Nussenblatt RB: Immunologic mechanisms of uveitis. Arch Ophthalmol 115: 520-5, 1997
77. Whitcup SM, DeBarge LR, Caspi RR, Harning R, Nussenblatt RB, Chan CC. Monoclonal antibodies against ICAM-1 (CD54) and LFA-1 (CD11a/CD18) inhibit experimental autoimmune uveitis. Clin Immunol Immunopathol 67: 143–50, 1993
78. Whitcup SM, Hikita N, Shirao M, Miyasaka M, Tamatani T, Mochizuki M, Nussenblatt RB, Chan CC. Monoclonal antibodies against CD54 (ICAM-1) and CD11a (LFA-1) prevent and inhibit endotoxin-induced uveitis. Exp Eye Res 60: 597–601, 1995
79. Yoshida M, Yoshimura N, Hangai M, Tanihara H, Honda Y. Interleukin-1a, Interleukin-1b, and tumor necrosis factor gene expression in endotoxin-induced uveitis. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 35, 1107–1113, 1994.