

141580

T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DENEYSEL KATARAKT AMELİYATI SONRASI
ÖN KAMARA SIVISINDAKİ NİTRİK OKSİD VE SİTOKİNLER
ÜZERİNE L-ARGİNİNE METHYL ESTER, TOPIKAL STEROİD
VE NONSTEROİD ANTI-İNFLAMATUAR İLAÇLARIN ETKİSİ

141580

UZMANLIK TEZİ

Dr. Abuzer Gündüz

T.C. YATIRIM MENKUL DEĞERLER A.Ş.
BANKAMERASİYON MENKUL DEĞERLER A.Ş.

TEZ YÖNETİCİSİ

Doç. Dr. Hamdi Er

MALATYA-1999

TEŞEKKÜR

Tezimin danışmanlık görevini ũstlenen, tez konusunun seğiminde yardımcı olan, tez çalışmamdaki hoşgrl yaklaşımları ve hiçbir zaman göz ardı edilmeyecek yardımları nedeniyle sayın hocam Doç. Dr. Hamdi Er'e, ve tezimin yazımında, dilbilgisi ve imla kuralları yönünden büyük katkıları olan eşim Dr. Ayten Gündüz'e Őukran duygularımı ifadeyi görev sayarım.

Asistanlığım süresince, güzellik, dostluk ve yardımlarını esirgemeyen Göz Hastalıkları Anabilim Dalındaki hocalarımdan Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Bayramlar, Yrd. Doç. Dr. İbrahim F. Hepşen, Yrd. Doç. Dr. Yüksel Totan ve tez çalışmama katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Yusuf Trkz, Yrd. Doç. Dr. Ahmet ığlı ve Uzm. Biolog Nuran İşçi'ye sonsuz teŐekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca yardımlarından dolayı tüm uzman ve asistan doktor arkadaşlarıma teŐekkürlerimi sunarım.

Dr. Abuzer Gündüz

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Teşekkür.....	i
İçindekiler.....	ii
Şekil ve tablo listesi.....	iii
1. Giriş ve amaç.....	1
2. Genel bilgiler.....	3
<i>Nitrik Oksit</i>	3
<i>Sitokinler</i>	9
3. Gereç ve Yöntem.....	21
4. Bulgular.....	24
5. Tartışma.....	31
6. Özet.....	39
7. Kaynaklar.....	41

ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. NO biyosentezi	5
Şekil 2. İNOS aktivasyonu	7
Şekil 3. IL-1 β 'nın 30 günlük zaman dilimindeki seyri	29
Şekil 4. IL-6'nın 30 günlük zaman dilimindeki seyri	29
Şekil 5. TNF- α 'nın 30 günlük zaman dilimindeki seyri	30
Şekil 6. NO'in 30 günlük zaman dilimindeki seyri	30
Tablo 1. NO ve sitokinlerin ameliyat öncesi ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri.....	24
Tablo 2. NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 1. gün ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri.....	25
Tablo 3. NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 3. gün ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri.....	27
Tablo 4. NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 7. gün ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri.....	28
Tablo 5. NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 30. gün ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri.....	29

GİRİŞ ve AMAÇ

Son yıllarda nitrik oksit (NO) ve sitokinlerden özellikle de interlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-2R (IL-2R), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α) kuvvetli inflamasyon mediyatörleri olarak dikkatleri çekmektedir.

15-20 yıl öncesine kadar NO basit bir atmosfer atığı olduğu düşünölmekteydi. Ancak 1987 yılında, damar endotelinden endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak bilinen yapı izole edilmiş, nitrik oksit sentetaz (NOS) keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu tespit edilmiştir. İnsanların NO üretebildiklerinin ortaya konması ile, 1987 yılına kadar insan vücudunda bulunma nedeni ve metabolizması hakkında çok az şey bilinen NO'in fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmıştır.

Sitokinler, çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan, konağın inflamatuvar cevabı ile süresini kontrol edebilen ve hücre sel sinyalleri düzenleyen polipeptid yapısında moleküllerdir. Sitokinler, inflamasyon, hücre büyümesi iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenlerler.

Bütün bu bilgiler ışığında yaptığımız deneysel tavşan çalışmasında, katarakt ameliyatı sonrası oluşan göz içi inflamasyonda önemli rol oynayan bu mediyatörlerin

L-NAME (N-nitro-L-arginin methyl ester), topikal steroid ve NSAİ (nonsteroid antiinflamatuvar) uygulamalarında ne kadar etkilendiği ön kamaradaki seviyelerine bakılarak değerlendirildi. Diğer bir deyişle, bu deneysel çalışmada katarakt ameliyatı sonrası oluşan inflamasyonu baskılamak için rutinde kullanılan tedavi protokolleri ile araştırma safhasındaki yeni tedavi protokollerinin karşılaştırılması yapıldı.



GENEL BİLGİLER

NİTRİK OKSİT (NO)

NO'nun bilimsel popülerite kazanması nitratlara olan ilgiden kaynaklanmıştır. Yaklaşık olarak 140 yıldan beri kullanılmakta olan nitratlar güçlü vazodilatör etkileri nedeniyle bilim adamlarının sürekli ilgisini çekmişlerdir. Ancak 1987 yılında, damar endotelinden EDRF olarak bilinen yapı izole edilmiş, NOS keşfedilmiş ve daha sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu tespit edilmiştir (1,2). Birkaç saniyede dekompoze olması bu endojen maddenin keşfinin gecikmesinin başlıca nedenidir.

Yakın zamanlara kadar toksik olarak kabul edilen çevresel bir zehirin, endojen bir kontrol ajanı olarak vücudun her yerinde saptanması oldukça şaşırtıcı bir olay olmuştur. İnsanların NO üretebildiklerinin ortaya konması ile insan vücudundaki fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolü anlaşılmıştır (1,3).

NO'nun Fizikokimyasal Özellikleri

NO, azot monoksit veya nitrik oksit olarak tanımlanmaktadır. NO tek sayıda elektron içeren, renksiz gaz şeklinde bulunan inorganik serbest bir radikaldir (4,5). Diğer serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken, NO düşük konsantrasyonda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır (6). NO diğer serbest radikaller gibi çok kısa yarılanma süresine sahip olup 2-30 saniye içinde daha stabil bir yapı olan nitrate oksitlenir (7,8). NO elektron eksilmesi ile NO⁺ (nitrozonyum katyonu) ve

elektron ilavesi ile de NO⁻ (nitroksil anyonu) oluşturabilir (9). NO'in üzerinde yük taşımaması ve ortaklanmamış elektron bulundurması, hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçmesini sağlamaktadır (8). Yine NO lipofilik (4,5,10), kimyasal stabilitesi olmayan (4,5), reseptöre bağımlı olmadan kolayca diffüze olabilen (11) ve bilinen en düşük moleküler ağırlıklı biyoaktif memeli hücresi sekresyon ürünüdür (12). NO, bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanmaktadır.

NO'in Biyolojik Etkileri

Biyolojik yarı ömrü saniyeler düzeyinde olan NO, insan fizyolojisi ve fizyopatolojisinde önemli bir yer işgal etmektedir (13). Başlıca rol oynadığı olaylar şunlardır:

- Vasküler düz kas relaksasyonu ile vazodilatasyon
- Nörotransmitter (santral ve periferik sinir sisteminde)
- Antiproliferatif etki (endotel hücresi ve vasküler düz kas hücresinde)
- Trombosit adezyon ve agregasyonunda inhibisyon, tPA artışı, fibrinolitik
- İmmünomodülatör etki (lökosit adezyonunun inhibisyonu, makrofaj aracılıklı

nonspesifik immün yanıt)

- Düşük konsantrasyonda eritrosit deformitesinde artış
- NO, hedef hücrede (bakteri, parazit, tümör hücresi) DNA sentezinin hız

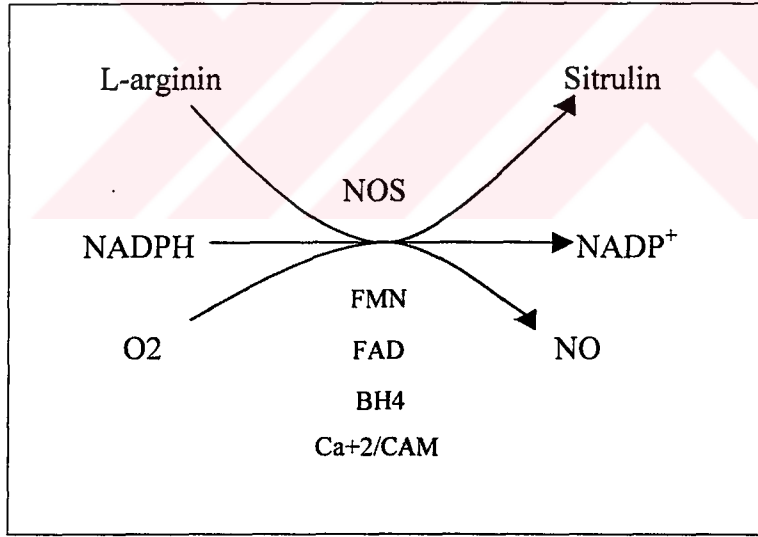
kısıtlayıcı enzimi olan ribonükleotid redüktazı bloke eder ve hücre DNA'sının deaminasyonu ile bu hücrelerde sitostatik etki meydana getirir (14,15).

- Bazı virüslerde viral replikasyonu inhibe ederek antiviral etki oluşturmaktadır

(16,17).

NO Biyosentezi

NO, vertebralılarda sitokrom p-450 redüktaz homologu olan ve NOS olarak adlandırılan enzimlerce enzimatik olarak oluşturulur (Şekil 1). Sitokrom p-450'ye benzer olarak enzim, muhtemelen sisteinin aksiyel ferrik (3) ligandı olduğu, demir-protoporfirin 9 içerir. Argininin terminal guanido nitrojeninin beş elektron oksidasyonu redükte NADPH ve flavinler (FAD, FMD) tarafından desteklenir. Bu olayda tetrahidrobiopterin de (BH4) kofaktör olarak rol oynar. Sitokrom p-450'dekine benzer şekilde moleküler oksijen bağlamadan önce, Fe⁺³ ün redüksiyonunun gerektiği düşünülmektedir. Son görüşler, iki oksijen molekülünün aktivasyonu ile bir çift oksijen atomunun arginin substratına girerek NO ve sitrulinin oluşması şeklindedir. N-hidroksi arginin NO biyosentezinde bir erken ara üründür, ancak bunun oksidatif yıkımı konusunda ayrıntılı bilgi bulunmamaktadır (9).



Şekil 1: NO biyosentezi

L-argininden NO oluşturan enzimler NOS'lar olarak bilinmektedir. Bunlar fiziko-kimyasal ve kinetik özelliklerine göre iki gruba ayrılmaktadır.

NOS İzoenzimleri

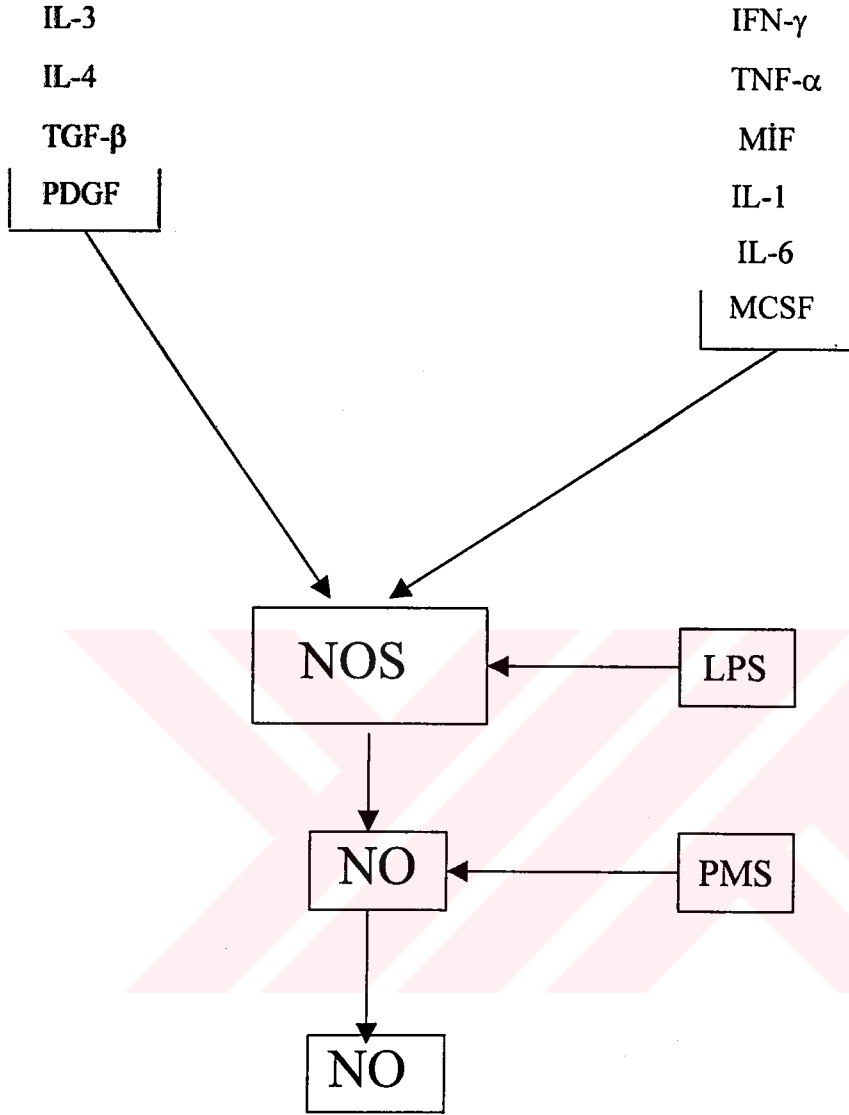
1.Yapısal nitrik oksit sentetaz (cNOS) : Bu izoenzim özellikle damar endoteli, idrar yolu dokuları, periferik ve santral sinir sistemi gibi dokularda lokalize olmuştur. NOS, bu dokularda her zaman mevcuttur, ancak aktif değildir. Hücre içi iyonize Ca kalmodulinle birleşerek NOS enzimini aktive eder ve L-argininden NO sentezi gerçekleşir. Ancak sentez süresinin çok kısa olması, sentezlenen NO miktarının çok düşük olmasına neden olmaktadır. Çünkü hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonu azalmaya başladığı an enzim inaktif forma geçerek NO sentezi durmaktadır. Enzim, kalsiyum-kalmodulinle aktive olması nedeni ile kalsiyuma bağımlı-NOS veya yapısal-NOS olarak sınıflandırılmıştır (2,6,18,19).

2.İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) : Bu tip NOS, yapısal tipin aksine hücre içinde bulunmaz. Özellikle makrofaj (monosit, nötrofil, hepatosit ve diğerleri) ve damar endotel hücrelerinde sentez edilmektedir (3,6). Bu hücrelerin spesifik sitokinlerle aktivasyonu, NOS'ın indüksiyonu ve NO sentezine yol açmaktadır (Şekil 2).

Özellikle bakteri lipopolisakkaritleri, interferon- γ veya yüksek konsantrasyonda lipopolisakkaritle uyarılan makrofajlar çok miktarda NO üreterek yabancı hücrelerde (bakteri, parazit, tümör hücresi) sitostatik ve/veya sitotoksik etki meydana getirirler (20). İndüksiyon sonrası NO sentezi günlerce devam edebilir. Ancak uzun süreli aşırı miktarda NO sentezi makrofaj ve diğer dokularda harabiyete yol açar. Enzim indüksiyonu L-arginin analogları ve glukokortikoidlerce inhibe edilebilmektedir. Bu indüksiyon, nonspesifik hücre immünitesi ile ilişkili bir mekanizmayla meydana gelmektedir. Enzim, bilinen bu özelliklerinden dolayı indüklenebilir veya kalsiyumdan bağımsız-NOS olarak isimlendirilmiştir (3,19).

TC YEREL YÖNETİMLERİN KURULU
BECERİ YATIRIM VE İZLENİMLERİ

Yavaş etkili uyarıcılar



Şekil 2: iNOS aktivasyonu. TGF-β: transforme edici growth faktör, PDGF: trombosit kaynaklı growth faktör, MDF: makrofaj deaktivasyon faktörü, MIF: migrasyon inhibe edici faktör, MCSF: makrofaj koloni stimüle edici faktör, PMA: forbol miristat asetat, LPS: lipopolisakkarid.

NOS İnhibitörleri

NOS enzim inhibitörleri L-arjinin/NO yolağını araştırmada önemli araçlardır.

Ancak bunların terapötik amaçla kullanımları sınırlıdır. NO'in aşırı yapımının eşlik ettiği patolojilerde yararlı olup olmadıkları hala tartışmalıdır. Bu maddelere terapötik

amaçla umut bağlanan en temel bozukluk doku perfüzyon yetersizliğiyle karakterize olan septik şoktur. Bakteriyel endotoksinler ile TNF, IL-1, gamma interferon gibi sitokinler makrofajlardaki indüklenebilir NOS'ı aktive eder ve mikrobik patojeni veya tümör hücrelerini haraplamak üzere fazla miktarda NO salıverirler. Aynı uyarılar endotel hücresi ve vasküler düz kasta da NOS aktivitesini artırır, bu olay aşırı bir NO üretimine yol açar. Temelde NO yapımını azaltmak için uygulanabilecek iki temel girişim söz konusudur:

1. NOS indüksiyonunun inhibisyonu: NOS indüksiyonunu inhibe edilmesi için kullanılacak en uygun ajanlar deksametazon gibi glukokortikoidler, TNF antikorları, IL-1 reseptör agonistleri veya PAF antagonisti gibi maddelerdir (21). Ancak bu maddelerin bakteriyel lipopolisakkarid veya sitokinlerin etkisi başlamadan uygulanması gerekir, çünkü bir kez indüksiyon başladıysa bu maddelerden yarar sağlanamamaktadır. Deneysel şok modellerinde bakteriyel endotoksin verildikten 90 dakika sonra uygulanan deksametazonun etkisiz olduğu saptanmıştır (22).

2. NOS Aktivitesinin inhibisyonu: Enzim aktivitesinin inhibisyonu ya enzimin kendisinin direkt olarak inhibe edilmesiyle veya gerekli kofaktörlerin inhibisyonuyla sağlanabilir. NOS aktivitesinin direkt inhibitörleri olarak tanımlanan, yapıcı birbirine benzer olan maddeler aslında L-argininin kimyasal analoglarıdır. Enzimi kompetatif olarak inhibe eden bu ilaçlar aşağıda belirtilmiştir:

- N-monomethyl-L-arginin L-NMMA
- N-nitro-L-arginin methyl ester L-NAME
- N-nitro-L-arginin L-NA
- N-amino-L-arginin L-NAA
- N-iminoetil-L-orнитin L-NIO

Üzerinde en fazla çalışılmış olan sentez inhibitörü L-NMMA'dır. Bu madde, in vitro olarak NOS'a spesifik inhibisyon yapmaktadır ve arginaz ile arginin dekarboksilaza etkisi yoktur. İzole damar preparatlarında direkt olarak endotele bağımlı kontraksiyon yaptığı gibi asetilkolin, kalsiyum iyonofor, P maddesi gibi endotele bağımlı gevşeme yapan ajanların etkisini de inhibe etmektedir. Diğer taraftan in vivo i.v. olarak uygulanan L-NMMA kan basıncını yükseltmekte, asetilkolinin hipotansif etkisini ise kısmen inhibe etmektedir. L-NAME, L-NA, L-NAA ve L-NIO gibi diğer sentez inhibitörlerinin vasküler etkileri de yaklaşık olarak L-NMMA'e benzerdir (23).

NOS'ı L-arginin metil türevleri dışında, imidazol türevleri ve aminoguanidin gibi kimyasal ajanlarda inhibe etmektedir (24).

SİTOKİNLER

Sitokinler, hem immünolojik hem de immünolojik olmayan pek çok biyolojik işleve aracılık yapan hücre içi düzenleyici proteinlerdir. Bu proteinler özgül uyarıların başlatmasıyla dönüşürler, etki yapan hücrelerin işlevini güçlendirirler ve geribeslenme inhibisyonu ya da başka sitokinlerin üremesiyle düzenlenirler. Normal koşullar altında tek başlarına sitokinlerin çok küçük miktarları istenilen yanıtı aracılık etmede yeterlidir (25). Sitokinler, inflamasyon, hücre büyümesi iyileşmesi ve yaralanmaya karşı sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve inflamatuvar olayları düzenlerler. Sitokinler hormona benzemekle beraber tam hormon değildirler (26).

Sitokinlerin genel özellikleri

Sitokinler çok geniş bir protein grubu olmakla birlikte bu moleküllerin ortak birçok özellikleri vardır (26-28).

1. Sitokinler naturel ve spesifik immunitenin efektör fazında üretilirler. Bağışıklığı, inflamatuvar yanıtların oluşmasını ve düzenlenmesini sağlarlar.

2. Sitokin salınımı kısa, kendini sınırlayan bir olgudur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde hızla salınırlar.

3. Sitokinler çeşitli hücreler tarafından üretilir.

4. Sitokinler birçok hücre tipine etki ederler.

5. Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı bir çok etkileri vardır. Bazı etkiler aynı anda meydana gelirken, bazı etkiler farklı zaman aralıklarıyla oluşabilir.

6. Sitokin etkinliği genellikle gerektiğinden fazladır.

7. Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini etkiler.

8. Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize eder veya additif etki gösterebilir ya da bazı durumlarda sinerjik etki gösterebilirler.

9. Sitokinler, diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Söz konusu hücre, sitokini salgılayan hücrenin kendisi olabilir (otokrin etki), komşu hücre olabilir (parakrin etki) veya diğer gerçek hormonlarda olduğu gibi dolaşıma salınan sitokinler tarafından uyarılan uzaktaki bir hücre olabilir (endokrin etki).

10. Sitokinlere verilen hücresel yanıtların çoğu yeni mRNA ve protein sentezini gerektirmektedir.

11. Bir çok hedef hücre içi sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler yani büyüme faktörü gibi etki ederler.

12. Birçok sitokin reseptörünün ekspresyonu özel sinyaller tarafından üretilir.

Sitokinlerin sınıflandırılması

Temel etkilerine göre sitokinler dört gruba ayrılırlar (26).

1) Doğal immüniteye aracılık eden sitokinler.

- Tip 1 interferonlar (IFN)
- Tümör nekrotizan faktör (TNF)
- İnterlökin-1
- İnterlökin-6
- Kemokinler

2) Lenfosit aktivasyonu, büyüme, farklılaşmayı düzenleyici olarak T lenfositlerinin özel antijenleri tanımalarına yanıtı temin eden sitokinler.

- İnterlökin-2 (T-hücresi büyüme faktörü)
- İnterlökin-4 (IgE sentez regülatörü)
- Transforming büyüme faktörü-beta

3) Bağışıklık aracılığıyla inflamasyonu düzenleyen sitokinler.

- İnterferon-gamma (mononükleer fagositlerin birincil aktivatörü)
- Lenfotoksin (nötrofil aktivatörü)
- İnterlökin-10 (nötrofil aktivatörü)
- İnterlökin-5 (mononükleer fagositlerin negatif regülatörü)
- İnterlökin-12 (Naturel Killer ve T hücre uyarıcısı)

4) İmmatür lökosit büyüme ve farklılaşmasına aracılık eden sitokinler.

- İnterlökin-3 (koloni uyaran faktör)
- Granulosit-makrofaj koloni uyaran faktör
- Monosit-makrofaj koloni uyaran faktör
- İnterlökin-7
- İnterlökin-9

- İnterlökin-11

Tüm sitokinler arasında inflamasyonun fizyopatolojisinde başlıca önemli rol oynayanlar TNF, IL-1, IL-2 ve IL-6'dır.

Tümör Nekrotizan Faktör (TNF)

TNF'ün hücrel kaynağı lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. T hücreleri, aktive NK hücreleri ve aktive mast hücreleri de bu proteini salgırlar. İnsan TNF'ü nonglikolize bir transmembran proteini olup, molekül ağırlığı 17 kD'dır. İki çeşit TNF vardır. Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (orijinal olarak kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β ' (lenfotoksin) dır (26-29).

TNF- α geni, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunur ve majör histokompatibilite kompleksine (MHC) bağlıdır. TNF- α , hücreden salınmadan önce 157 amino asitlik işlevsel molekülden kopan 233 amino asitlik büyük bir prekürsör molekül olarak sentezlenir (30). Sağlıklı bireylerde plazma TNF düzeyleri 0-35 pg/ml arasında değişmektedir. Endotoksin enjeksiyonundan sonra 90 ila 120 dk. içinde serumda düzeyi hızla artmakta ve yarı-ömrü 14 ile 18 dk. sürmektedir (31). Karaciğer, deri ve böbrekte katabolize olmaktadır (31).

TNF, düşük yoğunluklarda lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir.

TNF'ün başlıca biyolojik etkileri şunlardır (26-28,32):

1. Lökositlere karşı endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri aracılığı ile daha yapışkan hale getirerek, damar endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörlerini dışa salmalarına neden olur.

2. İnflamatuar lökositleri özellikle nötrofilleri mikropları öldürecek şekilde aktive eder.

3. IL-1, IL-6, kemokinleri ve TNF'ün kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir.

4. Viruslara karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterir.

5. Endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Bu etkiyi IL-1 ile yapar.

6. Mononükleer fagositler ve vasküler endotel hücrelerine etki ederek IL-1 ve IL-6'nın dolaşıma salınımını uyarır.

7. Hepatositlere etki ederek akut faz proteinlerinin (kompleman faktör 3, haptoglobulin, C-reaktif protein, faktör-B gibi) sentezini uyarır.

8. Damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan aktiviteleri arasındaki dengeyi değiştirerek pıhtılaşma sistemini aktive eder.

9. Kemik iliğini baskılayarak ana hücre bölünmesini engeller.

10. Deney hayvanlarına uzun süre verildiğinde kaşektik metabolik değişikliklere neden olur. Kaşeksi, TNF ile uyarılan iştah azalması sonucu oluşur.

11. Damar düz kasını gevşeterek kan basıncını ve doku perfüzyonunu azaltır. Bu etkiyi prostasiklin ve NO gibi damar genişleticileri uyararak indirekt yoldan yapar.

12. İntravasküler koagülasyona neden olarak doku perfüzyonunu azaltır.

13. Miyokard kasılabilirliğini azaltarak doku perfüzyonunu azaltır.

İnterlökin-1 (IL-1)

Timosit yanıtını arttıran, poliklonal aktivatör olarak mononükleer fagositlerden türeyen bir polipeptiddir (26,33,34).

IL-1, mononükleer fagositlerden salgılanan iki temel polipeptidden oluşur. Bunlardan biri IL-1 α diğeri IL-1 β 'dir. Bu ikisi iki farklı genin ürünüdür. Fakat her ikisi de aynı hücre yüzey reseptörlerine bağlanırlar ve biyolojik etkileri temelde özdeştir. İn vivo şartlarda IL-1 β formu hakim olan şeklidir ve dolaşımdaki IL-1 aktivitesinin çoğu bu forma aittir. IL-1 β 32 kD mol ağırlığında prekürsör olarak

sentezlenmekte ve serin proteazlar ile hücre içinde 17 kD peptit şekline çevrilmektedir (32).

IL-1'in temel kaynağı aktive mononükleer fagositler olmakla birlikte çok sayıda hücreden sentezlenmektedir. TNF gibi IL-1 de endokrin hormon şeklinde etki etmektedir (26-28,32).

IL-1'in biyolojik etkileri TNF ile benzerdir ve serbestleşen sitokin miktarına bağlıdır. Düşük yoğunlukta bölgesel inflamatuvar olaylara aracılık eder. Özel olarak IL-1, mononükleer fagositler ve damar endoteline etkiyle IL-1'in daha sonraki sentezini artırır ve IL-6'nın sentezini tetikler. IL-1 aynı zamanda TNF'ün bir çok inflamatuvar özelliğini de paylaşır. IL-1 direkt olarak nötrofil gibi inflamatuvar lökositleri aktive etmez. Mononükleer ve endotel hücrelerine etki ederek lökositleri aktive eden kemokinlerin sentezine neden olur.

IL-1 daha yüksek miktarlarda salgılandığında, kan dolaşımına girer ve endokrin etkiler gösterir. Sistemik IL-1, TNF ile birlikte vücut ısısının artışına neden olur. Karaciğer tarafından akut faz proteinlerin sentezini artırır ve metabolik zayıflamanın başlamasına neden olur (27,28). IL-1, hipotalamusa etki ederek CRF'ün salınmasına neden olur. CRF de adrenal kortekse etki ederek steroidlerin salınımını artırır. Kortikosteroidler de IL-1 ve TNF'ün salınımını inhibe eder. Bu özellik TNF ve IL-6'da da mevcuttur.

IL-1, doğal olarak var olan inhibitörler içinde günümüzde bilinen tek sitokindir. Bu inhibitörlerin iyi tanımlanmasının nedeni mononükleer fagositler tarafından üretilmeleridir. Doğal olarak var olan inhibitörler, yapısal olarak IL-1'e benzerler ve IL-1 reseptörlerine bağlanırlar. Biyolojik olarak inaktiftirler. Bu şekilde IL-1'i kompetatif olarak engelleyici etkileri vardır ve bu nedenle IL-1 reseptör antagonisti (IL-1-ra) olarak adlandırılırlar.

IL-1 ve TNF, mezenşimal hücrelere etkiyle IL-6, IL-8 ve kollajen sentezini başlatırlar. IL-1 böbrek epitel hücrelerine etkiyle hücre kültürlerinde tip IV kollajenin üretimine etki eder (26,35).

İnterlökin-2 (IL-2)

IL-2, insanın 4. kromozomunda bulunan tek genle kodlanan, T-lenfositleri tarafından antijenik uyarı sonucu sentezlenen ve yine T-hücrelerinin proliferasyonuna yol açan 15 kD ağırlığında glikoprotein yapısında bir mediyatördür. Yine T-hücrelerinin hücre siklusunun G1 fazından S fazına ilerlemesinden sorumlu olan sitokindir. IL-2, CD4+T hücreleri tarafından daha fazla miktarda üretilmesine rağmen az miktarda CD8+T hücreleri tarafından üretilir. IL-2, kendisini üreten hücrelere etki edip kendi oluşumunu sağlar, bu onun otokrin büyüme faktörü işlevini gösterir. Ayrıca parakrin büyüme faktörü olarak da etkisi mevcuttur (27,28).

IL-2'nin temel etkisi lenfositler üzerinedir. T-lenfositleri için büyüme faktörüdür. IL-2, IFN- γ ve lenfotoksin gibi T hücresinden kökenini alan sitokinlerin sentezini uyarır. IL-2 reseptörü iki polipeptid zincirden meydana gelir. İlk saptanan IL-2R α olup 55 kD'luk bir polipeptittir ve T hücresi aktivasyonunda rol oynar. İkincisi IL-2R β olup 70-75 kD'luk kısımdır. IL-2'nin bu reseptöre bağlanma eğilimi daha yüksektir.

IL-2, NK hücrelerinin büyümesini uyarır ve onların sitolitik fonksiyonlarını artırır. Bunu lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hücreler (LAK) üreterek yapar. IL-2 diğer sitokinlere sinerjik etkiyle NK hücreleri tarafından IFN- γ salgısını artırır. Ayrıca IL-2 insan B lenfositlerine etki ederek hem büyüme faktörü hem de antikor sentezi uyarıcı olarak etki gösterir.

İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentez edilen, yaklaşık 26 kD ağırlığında bir proteindir (26,28,36).

IL-6'nın reseptörü 60 kD'luk bağlayıcı bir protein ile 130 kD'luk sinyal ileten alt birimden oluşur.

IL-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerinedir. IL-6, fibrinojen, hemopeksin, sistein proteinaz inhibitör, α_1 -antikimotripsin, α_2 -makroglobulin gibi akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur (26,36). IL-6, B lenfositlerinin immunglobulin salınımı için bir kofaktör olarak rol oynar. Yani B lenfositlerinin ayrışma sıralamasının geç dönemlerinde B lenfositleri için büyüme faktörü olarak rol oynar (36).

IL-6'nın monositler tarafından sentezi, TNF ve IL-1 gibi IL-10 tarafından baskılanır (37).

Diğer önemli sitokinler ise IL-4, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, TGF- β , IFN, INF- γ ve Lenfotoksindir.

İnterlökin-4 (IL-4)

Ağırlığı 20 kD olan bir glikoproteindir. Temel fizyolojik etkisi allerjik olayları düzenlemektir. B ve T lenfositlerinin büyüme, etkinlik ve farklılaşmasından sorumludur. Aktive mast hücreleri, bazofil, CD4+ T ve bazı CD8+ T hücreler tarafından üretilirler (26,27). IL-4'ün çeşitli hücre tipleri üzerinde önemli etkileri vardır (26-28):

1. IL-4, IgE üretimi için gereklidir.
2. Makrofaj aktivasyonunu inhibe eder. Ayrıca IL-1, nitrik oksit ve prostoglandinlerin makrofaj inhibe edici etkilerini bloke eder.

3. T hücrelerinin büyüme ve ayrışımında rol oynar.

4. Yüksek lokal konsantrasyonda monosit ve eosinofilden zengin inflamatuvar reaksiyonları başlatır.

5. IL-4 mast hücrelerinin büyüme faktörüdür. IgE ve eosinofil aracılığıyla gelişen inflamatuvar reaksiyonlarda kritik rol oynar.

İnterlökin-8 (IL-8)

IL-8, proinflamatuvar bir mediatör kabul edilen ve nötrofiller için kemotaktik etkiye sahip bir moleküldür. Sentezi IL-1 ve TNF gibi sitokinler tarafından hızla başlatılabilir. Endotoksemi sonrası polimorfonükleer lökositler, monosit ve makrofajlardan salındığı gösterilmiştir. IL-8 uyarımı sonrası nötrofillerin endotel hücrelerine yapışmaları ve daha sonra parenkim içine geçmelerini sağlar (27).

İnterlökin-10 (IL-10)

CD4+ yardımcı hücrelerinin TH2 alt grubu tarafından üretilir. Ağırlığı 18 kD'dur. Ayrıca aktive B hücreleri, bazı TH1 hücreleri, aktive makrofajlar ve keratinositler tarafından üretilir. IL-10'un iki önemli etkisi vardır: Birincisi, makrofajlar tarafından sitokinlerin (örn: TNF, IL-1, IL-12 gibi) üretimini engellemek, ikincisi ise makrofajların T hücresi aktivasyonundaki işlevlerini durdurmaktadır. Bu etkilerin sonucunda, T hücresi aracılığı ile gelişen bağışıklık yanıtı inhibe edilir. IL-10'nun B lenfositleri üzerine uyarıcı etkileri vardır (26,28,37).

İnterlökin-12 (IL-12)

T ve B lenfositleri, NK hücreleri ve monositler dahil birçok hücre tarafından üretilir. 70 kD ağırlığında olup iki polipeptid zincirinden oluşur. NK ve T lenfositlerine etkisi nedeniyle hücrel bağışıklık yanıtının önemli bir düzenleyicisidir (28). Başlıca özellikleri:

1. İnflamasyonun güçlü NK hücresi uyarandır. NK hücresinin sitotoksik aktivitesini artırır. IL-2 ile sinerjizm gösterir.

2. Olgunlaşmamış CD4+T hücrelerinin TH1 alt grubunun farklılaşmasını uyarır. Ayrıca CD8+T hücrelerinin, olgun işlevsel olarak aktif sitolitik T lenfositlere farklılaşmasını uyarır.

İnterlökin-13 (IL-13)

Hücrel kaynağı TH2 hücreleri olup, birçok özellikleri IL-4 ile ortaktır. IgE sentezi yönünden B hücrelerine yardımcı olur, monosit adhezyonuna katkısı vardır (26).

Transforming büyüme faktörü- β (TGF- β)

TGF- β 'nın özgün tanımı tümör biyolojisi alanında yapılmıştır. TGF ailesinde beş üye vardır (β 1- β 5) (28). Antijenle aktive olan T hücreleri ve LPS ile aktive olan mononükleer fagositler aktif TGF- β salgırlar (27). TGF- β hemen hemen bütün hücrelerde bulunan yüksek affiniteli hücre yüzey reseptörlerine bağlanır (27,28).

TGF- β çok yönlü bir sitokindir. İmmün etkisi inhibisyon şeklindedir. B lenfositlerin Ig üretimini baskılar. Ayrıca hücre tipine bağlı olarak TGF- β , hücre proliferasyonunda inhibitör yada stimülatör etkilidir. Epitel hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar, T ve B lenfositleri üzerine hücre proliferasyonunu inhibe edici etki gösterir. Yüksek konsantrasyonda TGF- β hücre büyümesini önlerken, düşük konsantrasyonda mitojenik etki yapmaktadır. TGF- β , tip IV kollajenazın aktivitesini artırır, hücre adhezyonunu ve protein reseptörlerinin dışa salınımını uyarır (26).

Tip I interferonlar (IFN)

İki farklı gruptan proteinleri kapsar. Brinci grup; IFN- α adını alır. Yaklaşık 18 kD ağırlığındadır. Esas kaynağı fagositler olup lökosit interferon da denilmektedir

(26). İkinci grup; IFN- β 'dır. Kaynağı fibroblastlardır ve fibroblast interferon adını da alır.

Tip I IFN'nin üç temel biyolojik etkisi vardır (28):

1. Viral replikasyonu inhibe eder. Antiviral etkisi parakrin tarzdadır.
2. Hücelere etki ederek hücre proliferasyonunu önler.
3. NK hücrelerinin litik potansiyelini artırır. Tip I IFN'nin tüm bu etkileri viral enfeksiyonları yok etmek için oluşturulur.

İnterferon- γ (INF- γ)

21-24 kD'luk subünitlerden oluşan homodimer glikoproteindir. TH0, TH1 CD4+ yardımcı T hücreleri ve CD8+ T hücreleri tarafından üretilir. INF- γ , antiviral etkiyi artırır, antiproliferatif etkiyi aktive eder (27,28). Başlıca işlevleri şunlardır:

1. Mononükleer fagositlerin güçlü bir aktivatörüdür.
2. Class-I MHC molekül dışa salınımını artırır.
3. Nötrofilleri aktive eder.
4. Direk olarak T ve B lenfositlerine etkiyle onların farklılaşmasına yardımcı olur.
5. NK hücrelerinin sitolitik aktivitelerini uyarır.
6. Damar endotel hücrelerinin aktivatörüdür. Ayrıca TNF'nin endotel hücrelerine olan etkilerini güçlendirir.

Lenfotoksin (LT)

Lenfotoksin 21-24 kD'luk bir glikoproteindir. Aktive T hücreleri tarafından üretilir. Yaklaşık %30 oranında TNF'e benzerdir. İnsan LT'si, TNF'ün aksine bir ya

da iki N bağlı oligosakkarid içerir. TNF ile aynı hücre yüzey reseptörüne bağlanmak için yarışır (28,29). LT ile TNF'n biyolojik etkileri arasında önemli fark yoktur. LT henüz dolaşımda saptanamamıştır. Bu nedenle LT genellikle lokal etki gösteren parakrin faktördür ve sistemik inflamasyonun aracısı değildir. LT, nötrofillerin ve damar endotel hücrelerinin uyarıcısı olup aynı zamanda, lökosit adezyonu, sitokin üretimi ve lökositlerin damar dışına çıkışını kolaylaştırıcı morfolojik değişikliklerin artmasına da neden olmaktadır (27).



GEREÇ ve YÖNTEM

Cerrahi Teknik

Çalışmada ağırlıkları 1.5-2 kg arasında değişen tek cins (pigmentli ada tipi) on beş adet erkek tavşan kullanıldı. Tüm tavşanların her iki gözü steril şartlarda katarakt ameliyatına hazırlandı. Ameliyatlar etik koşullara uygun olarak, genel anestezi ile gerçekleştirildi. Genel anestezi intramüsküler ketamin HCl (5 mg/kg, Ketalar, Eczacıbaşı) ve xylazine HCl (2mg/kg, Rompun, Eczacıbaşı) ile sağlandı. Gerektiğinde ameliyatlar sırasında idame dozlar yapıldı. Katarakt ameliyatları için Performa (Ophthalmed, Ca) fakoemülsifikasyon cihazı kullanıldı. Pupil dilatasyonu ameliyat öncesi beşer dakika arayla iki üç kez %1'lik sikloptolat HCl ve %10'luk fenilefrin HCl her iki göze damlatılarak sağlandı. Gerektiğinde topikal anestezi için de %0.5'lik proparakain HCl (Alcain) kullanıldı. Ameliyata başlamadan önce %5'lik betadin topikal olarak ameliyat edilecek göze damlatıldı. Şeffaf korneadan 3.2 mm keratom ile korneal valv oluşturularak ön kamaraya girildi. Viskoelastik madde (Healon) ön kamaraya verildikten sonra ön kapsülotomi 30 gauge kistotom ile kapsülöreksis tarzında sağlandı. Hidrodiseksiyon ve hidrodeliniasyon yapıldı. Takiben tüm deney hayvanlarında aynı fakoemülsifikasyon parametreleri ve şişe seviyesi (65 cm) altında nükleus emülsifiye edildi. Korteks materyali irrigasyon-aspirasyon kanülü ile aspire edildi. Viskoelastik madde irrigasyonla temizlendi. Korneal kesi 10/0 nylon ile bir veya iki x suture ile kapatıldı. Ameliyat sonrası 5 mg gentamisin ve 1 mg betametazon

sodyum fosfat subkonjoktival olarak enjekte edildi. Ayrıca bir antibiyotikli pomat ve %1'lik atropin sülfat damla uygulandı. Yine tüm tavşanlara postoperatif on beş gün süreyle 4x1 topikal %0.3'lük siprofloksasin damla (Ciloxan) damlatıldı.

Tavşanlar dört gruba ayrıldı. Üç grup dörder tavşandan oluşmaktaydı ve bunlar tedavi grupları olarak kabul edildi. Diğer grupta ise üç tavşan vardı ve kontrol grubu olarak alındı.

- 1. Grup:** Topikal olarak %1'lik prednizolon asetat (Pred forte) damla günde 5x1 olacak şekilde bir hafta süreyle alt fornikse uygulandı.
- 2. Grup:** Topikal olarak %0.03'lik flurbiprofen (Ocufen) damla günde 5x1 olacak şekilde bir hafta süreyle alt fornikse uygulandı.
- 3. Grup:** Subkonjoktival olarak 0.1 cc L-NAME (150 mg/kg) postoperatif 1. ve 3. günlerde uygulandı.
- 4. Grup:** Subkonjoktival olarak 0.1 cc BSS postoperatif 1. ve 3. günlerde uygulandı.

Ön Kamara Parasentezi

Göz ön kamara sıvısı preoperatif ve postoperatif 1, 3, 7 ve 30 günlerde alındı. Parasetez yapılmadan önce hayvanlara genel anestezi yapıldı ve 30 gauge'luk kanülle ön kamaradan sıvı alındı. Her tavşanın iki gözünün ön kamara sıvısı birleştirilerek tek numune haline getirildi.

Ön kamara sıvısı alınırken ön kamaradaki diğer yapılara temasın olmaması ve sıvının kanla kontamine olmaması için azami dikkat gösterildi. Test için alınan sıvılar kullanıma kadar -40° C de muhafaza edildi.

NO, IL-1 β , IL-2R, IL-6 ve TNF- α 'nın ölçümleri Turgut Özal Tıp Merkezi Biyokimya Laboratuvarında yapıldı. NO'nin ölçümü Orpana ve arkadaşlarınca tanımlanmış metoda göre gerçekleştirildi (38). Bu metoda göre alınan numuneler önce

nitrat redüktaz ile enzimatik reaksiyona tabi tutulur. Ardından Greiss reaktifi ile nitrat daha stabil bir form olan nitrite dönüştürülür. Ölçümler spektrofotometrik Greiss reaksiyonu ile yapılır. Ölçülen miktar ise sodyum nitrit için hazırlanmış standart eğrilere göre saptanmaktadır (1-100 µg/L). Saptanan bu değerler dilüsyon oranı ile çarpılıp gerçek değerler tespit edilmektedir.

IL-1 β , IL-2R, IL-6 ve TNF- α 'nın ölçümleri ise özel kitler (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) kullanılarak enzyme-linked immunoadsorbant assay (ELISA) yöntemiyle tespit edildi.

Nümerik parametrelerden elde edilen verilerin ortalama ve standart hata değerleri hesaplandı. Tedavi grupları ile kontrol grubu arasındaki ortalama değerlerin istatistiksel analizi için Mann Whitney-U testi kullanıldı. P<0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde "SPSS" bilgisayar programı kullanıldı.

BULGULAR

Ameliyat esnasında üç gözde (2 göz grup 1, 1 göz grup 4) kapsülöreksis başarısız oldu. Beş gözde (2 göz grup 2, 1 göz grup 3, 2 göz grup 4) arka kapsül rüptürü meydana geldi. Dört gözde (1 göz grup 1, 2 göz grup 3, 1 göz grup 4) minimal korteks bakiyesi kaldı. Ameliyat sonrası hiç bir gözde komplikasyon görülmedi.

Gruplar arasında ameliyat öncesi NO ve sitokinlerin (IL-1 β , IL-2R, IL-6 ve TNF- α) göz ön kamara sıvısındaki seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (P>0.05). NO ve sitokinlerin ameliyat öncesi göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri aşağıda verilmiştir (Tablo 1).

Gruplar	IL-1 β (pg/ml)	IL-2R (U/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	NO (μ Mol/L)
Grup 1	5.68 \pm 2.1	<50	12.13 \pm 3.7	11.29 \pm 4.8	28.5 \pm 11.1
Grup 2	5.35 \pm 2.4	<50	12.52 \pm 4.1	12.22 \pm 3.4	29.12 \pm 13.5
Grup 3	5.54 \pm 3.2	<50	13.05 \pm 4.3	10.97 \pm 4.2	27.56 \pm 10.7
Grup 4	6.05 \pm 4.3	<50	11.95 \pm 3.8	11.45 \pm 3.8	28.65 \pm 12.2

Tablo 1: NO ve sitokinlerin ameliyat öncesi göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri

Ameliyat sonrası 1. gün NO ve sitokinlerin göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyelerine (Tablo 2) bakıldığında, IL-1 β ve IL-6 seviyeleri grup 1 ve grup 3'te, grup 2 ve grup 4'e göre düşüktü. Fakat tüm gruplarda ameliyat öncesi değerlere göre yüksek seviyeler tespit edildi. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık sadece grup 2 ve 3 ile kontrol grubu arasında saptandı (P<0.05). TNF- α ve NO seviyeleri grup 1 ve 3'te, grup 2 ve kontrol grubuna göre belirgin olarak düşüktü (P<0.05).

<i>Gruplar</i>	IL-1β (pg/ml)	IL-2R (U/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	NO (μ Mol/L)
Grup 1	25.24 \pm 8.8	<50	30.18 \pm 11.1	12.47 \pm 3.8	138.5 \pm 29.7
Grup 2	35.42 \pm 12.3	<50	36.40 \pm 13.8	42.96 \pm 15.2	388.37 \pm 35.9
Grup 3	10.73 \pm 4.7	<50	17.40 \pm 10.1	9.57 \pm 3.1	113.06 \pm 26.5
Grup 4	42.67 \pm 14.1	<50	50.12 \pm 14.9	81.17 \pm 21.1	593.66 \pm 98.7

Tablo 2: NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 1. gün göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri

Ameliyat sonrası 3. günde (Tablo 3), IL-1 β ve IL-6 göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri grup 2 ve kontrol grubunda oldukça yüksek saptandı. Bunların maksimuma ulaştığı değerler sırası ile 39.86 \pm 13.2, 55.17 \pm 12.7 pg/ml ve 41.18 \pm 13.5, 59.12 \pm 16.2 pg/ml idi. Bu değerlerin daha sonra tedricen azalarak ameliyat sonrası 30.

günde sırası ile IL-1 β 'da 13.16 \pm 3.8, 17.14 \pm 9.1 pg/ml ve IL-6'da 18.61 \pm 12.1, 31.60 \pm 12.8 pg/ml kadar düştüğü tespit edildi (Şekil 3,4).

Ameliyat sonrası 3. günde, kontrol grubundaki yüksek değerler diğer gruplara göre oldukça belirgin olarak saptandı (P<0.05). Ancak bu farklılık daha sonraki ölçümlerde istatistiksel açıdan anlamlı değildi (P>0.05). Buna rağmen IL-1 β ve IL-6 seviyeleri grup 1 ve 3'te grup 2 ve kontrol grubuna göre düşük olarak saptandı, fakat bu farklılık da anlamlı bulunmadı (P>0.05).

<i>Gruplar</i>	IL-1β (pg/ml)	IL-2R (U/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	NO (μ Mol/L)
Grup 1	28.12 \pm 7.9	<50	28.46 \pm 8.6	9.12 \pm 2.3	112.12 \pm 66.7
Grup 2	39.86 \pm 13.2	<50	41.18 \pm 13.5	40.96 \pm 15.4	325.12 \pm 81.3
Grup 3	11.76 \pm 8.1	<50	19.11 \pm 7.7	8.86 \pm 2.8	58.62 \pm 18.3
Grup 4	55.17 \pm 12.7	<50	59.12 \pm 16.2	77.18 \pm 11.8	549.18 \pm 80.5

Tablo 3: NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 3. gün göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri

Grup 1 ve 3'teki TNF- α ve NO seviyeleri ameliyat sonrası 3. günde oldukça düşük değerde saptandı, bu değerler TNF- α 'da 9.12 \pm 2.3, 8.86 \pm 2.8 pg/ml ve NO'te 112.12 \pm 66.7, 58.62 \pm 18.3 μ Mol/L şeklindeydi. Ancak bu değerler hafifçe yükselerek ameliyat sonrası 30. günde TNF- α 'da 14.16 \pm 3.8, 21.66 \pm 12.1 pg/ml ve NO'te 127.16 \pm 48.7, 78.42 \pm 16.83 μ Mol/L seviyelerine ulaştı (Şekil 5,6). Ameliyat sonrası 3. ve 7. (Tablo 4) günlerde, bu farklılık istatistiksel olarak grup 1 ve 3'de, grup 2 ve

kontrol grubuna göre düşük olarak saptandı ($P<0.05$). Fakat ameliyat sonrası 30. (Tablo 5) gündeki değerlere göre anlamlı fark olmadı ($P>0.05$). Bununla birlikte grup 2 ve 4 arasında tüm ölçümlerde az bir farklılık gözlenmesine rağmen, aradaki fark anlamlı değildi ($P>0.05$).

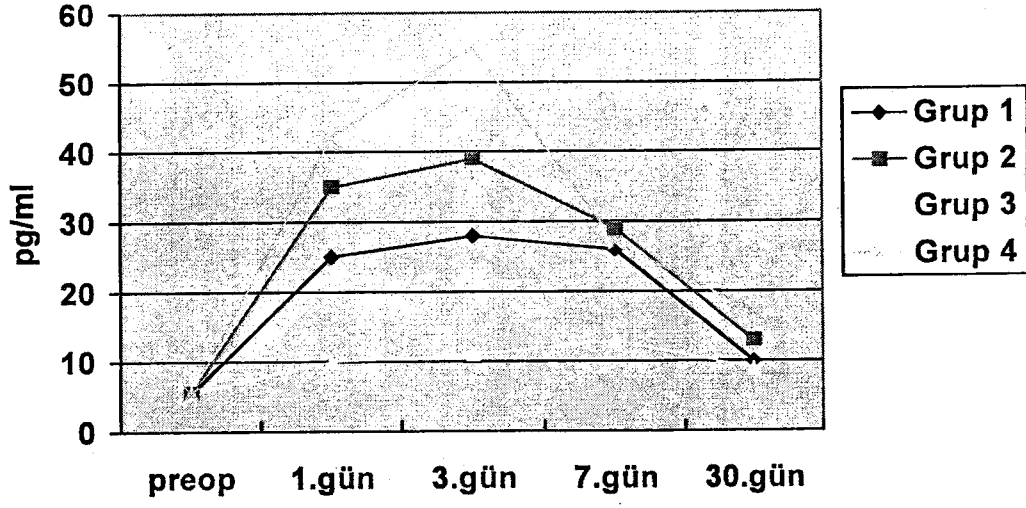
IL-2R'nin seviyesi tüm gruplarda ve tüm ölçümlerde tespit edilebilecek olan limitin altında kaldı (<50 U/ml).

<i>Gruplar</i>	IL-1β (pg/ml)	IL-2R (U/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	NO (μ Mol/L)
Grup 1	26.8 \pm 7.9	<50	27.32 \pm 6.3	10.40 \pm 5.1	120.40 \pm 49.6
Grup 2	29.17 \pm 10.5	<50	34.68 \pm 11.1	44.62 \pm 12.5	225.66 \pm 67.6
Grup 3	13.18 \pm 3.5	<50	20.19 \pm 11.5	9.88 \pm 4.5	69.50 \pm 23.3
Grup 4	27.42 \pm 6.1	<50	44.62 \pm 14.3	74.66 \pm 16.6	405.62 \pm 91.7

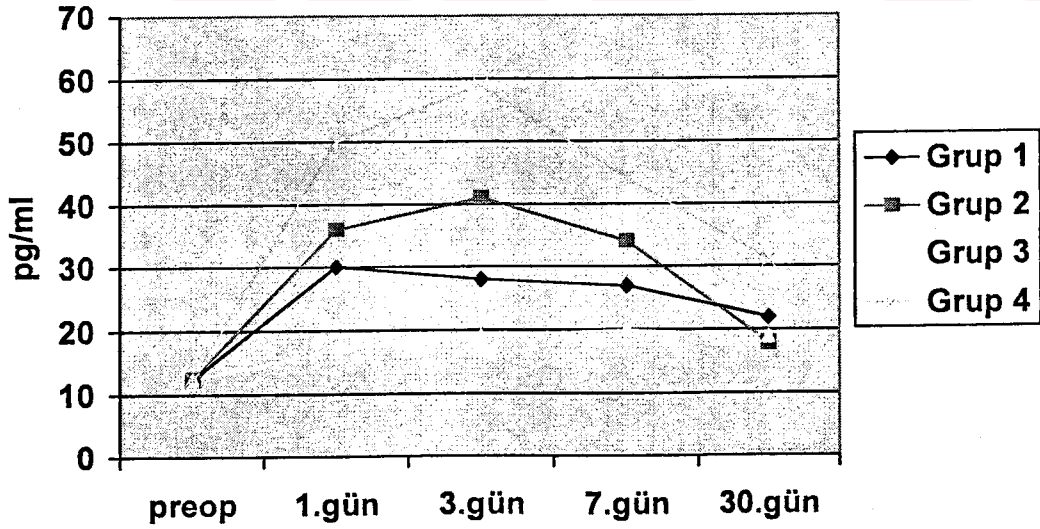
Tablo 4: NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 7. gün göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri

<i>Gruplar</i>	IL-1β (pg/ml)	IL-2R (U/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)	NO (μ Mol/L)
Grup 1	10.98 \pm 3.1	<50	22.28 \pm 8.10	14.16 \pm 3.8	127.16 \pm 48.7
Grup 2	13.16 \pm 3.8	<50	18.61 \pm 12.1	24.40 \pm 14.1	138.62 \pm 57.9
Grup 3	9.82 \pm 2.5	<50	19.21 \pm 13.1	21.66 \pm 12.1	78.42 \pm 16.8
Grup 4	17.14 \pm 9.1	<50	31.60 \pm 12.8	42.10 \pm 14.8	156.65 \pm 49.8

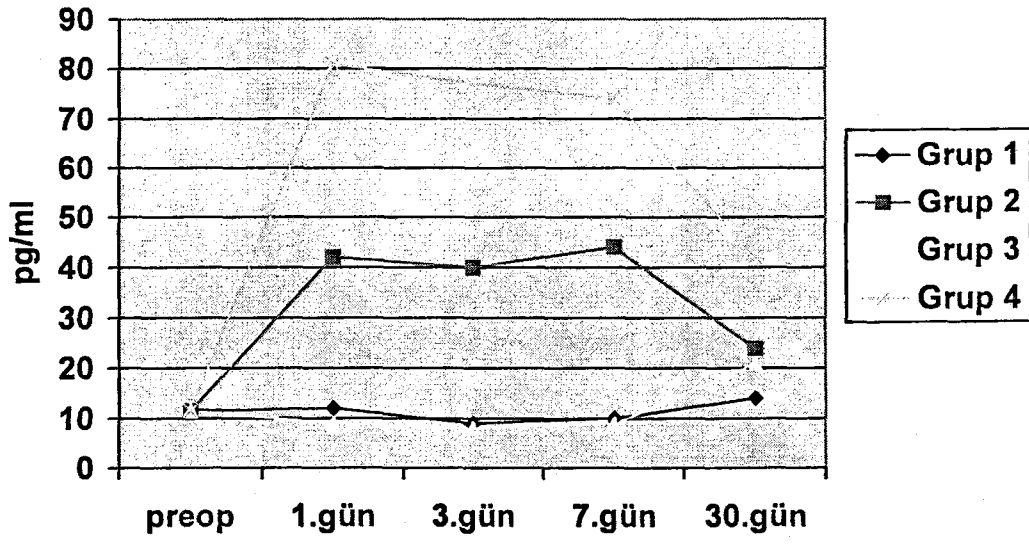
Tablo 5: NO ve sitokinlerin ameliyat sonrası 30. gün göz ön kamara sıvısındaki ortalama seviyeleri



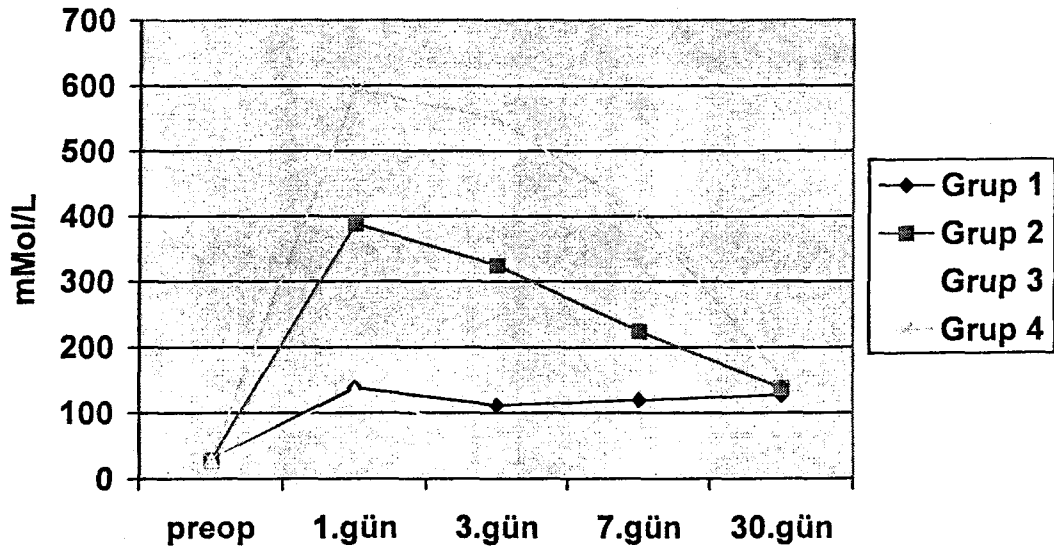
Şekil 3: IL-1 β 'nin 30 günlük zaman dilimindeki seyri



Şekil 4: IL-6'nın 30 günlük zaman dilimindeki seyri



Şekil 5: TNF- α 'nın 30 günlük zaman dilimindeki seyri



Şekil 6: NO'in 30 günlük zaman dilimindeki seyri

TARTIŞMA

NO, IL-1 β , IL-2R, IL-6 ve TNF- α immünolojik cevap ve inflamasyonda önemli rol oynamaktadırlar. Herhangi bir immünolojik veya inflamatuvar uyarı NO'in üretimini ve salınımını, indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) izoformu aracılığı ile başlatmaktadır (3). iNOS değişik hücrelerce üretilmektedir. Bunların başlıcaları ; endotel hücresi, düz kas hücresi, makrofaj, lenfosit, fibroblast, hepatosit, mast hücresi, retina, retina Müller hücresi, renal mezenzimal hücresi, iris ve silier cisimdir (39-41). NO'in göz fonksiyonları üzerinde, fizyolojik ve/veya fizyopatolojik önemli rolleri olduğu bilinmektedir (3-42).

Araştırmalar göstermiştir ki sitokinler retina pigment epiteli, Müller hücresi, kornea epitel ve stroma hücreleri, lens epitel hücresi ve silier cisim epitel hücresi tarafından üretilmektedir (43-45). IL-1 farklı oküler hücreler ve lens epitel hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Katarakt ameliyatı sonrası oluşan inflamasyonda özellikle cerrahi travma ve reziduel lens hücrelerinin aktivasyonu sorumludur (43). IL-1 tavşanlarda göz içi lensi (GİL) uygulamasından sonra, ön kamara sıvısında tespit edilmiştir (44). IL-2 ve TNF'ün üveitli hastalarda inflamasyon oluşumunda kuvvetli rol oynadıkları bilinmektedir (45,46). IL-2 ve interferon- γ 'nın göz inflamasyonlarında etkili oldukları saptanmıştır (47). IL-6 da proinflamatuvar sitokin olarak bilinmekte ve monosit, makrofaj, keratosit, endotelial hücreler ve fibroblastlar gibi değişik hücreler tarafından salınmaktadır (48,49). Katarakt ameliyatı sonrası oluşan inflamasyonda, IL-

6 ameliyat öncesine göre yüksek olarak ölçülmüştür (49). İntraokuler inflamasyonlu hastaların ön kamara sıvısında değişik sitokinler tespit edilmiştir. Deneysel hayvan çalışmaları göstermiştir ki rekombinant sitokinlerin göz içine enjeksiyonu üveite sebep olmaktadır (50-52).

Katarakt ameliyatında insanın kataraktöz hal almış doğal lensi alınıp yerine değişik maddelerden yapılmış yapay GİL konulmaktadır. GİL implantasyonundan sonra, ön kamaraya lökosit infiltrasyonu ile inflamatuvar cevap oluşmaya başlamaktadır. Hasarlı doku bölgesine ilk ulaşan hücreler nötrofil granülositlerdir. Bunlar immün cevabın başlatılmasında ve immün mediatörlerin salınımında önemli rol oynarlar. Ancak zamanla GİL etrafında dev hücrelerden oluşan yabancı cisim reaksiyonu görülebilmektedir. Bu yabancı cisim reaksiyonundaki hücrelerin çoğunluğunu monosit-makrofajlar oluştururlar. Makrofajlar özgül olmayan konak savunma faktörleri ve sitokinleri salgılayarak inflamasyonu, immün cevabı ve doku onarımını sağlamaktadır (53,54). Hücre hasarı ve immün komplekslerin uyarısıyla makrofajlardan IL-1 salgılanmaktadır.

Hücrel ve biyokimyasal olaylarla tetiklenen üveit, göz içi inflamasyonunu oluşturan değişik mediatörler ve bir dizi kompleks hücrel reaksiyonu içermektedir. Bu önemli mediatörler (sitokinler) immün ve inflamatuvar cevaptan sorumludur. Üveitte önemli rol oynayan bu mediatörlerin başlıcaları IL-1, TNF ve diğer mediatörlerdir (43). Bu mediatörlerin ortaya çıkmasının, göz içi inflamasyonun yayılmasında ve hücre hasarının oluşmasında oldukça önemli payı vardır. İnflamasyonu oluşturan mediatörlerin sebep olduğu hücrel olayların belirlenmesinden ve onların etkilerinin açığa çıkmasından sonra, inflamasyonda yapılacak tedaviye yaklaşımda önemli değişiklikler olmuştur (55). Kortikosteroidler sitokinlerin oluşturduğu inflamasyonun kuvvetli inhibitörleri olmakla birlikte, uzun süre kullanımda glokom ve katarakt gibi

önemli yan etkileri mevcuttur (56). Bundan dolayı inflamasyonda rolleri olan sitokinlerin inhibisyonu için özgül tedavilerin geliştirilmesi gereği doğmuştur.

Diabet, yüksek tansiyon, düşük tansiyonlu glokom, retina iskemisi, üveit ve keratit gibi değişik fizyolojik ve patolojik olayların izahında NOS'ın önemli rol oynadığına dikkat çekilmektedir (42,57,58). NO inflamasyonun alevlenmesinde kilit rol oynamaktadır. Bazı immünolojik ve inflamatuvar uyanlar NO üretimini başlatırlar. Mandai ve arkadaşları (59) ön kamara inflamasyonu esnasında göz dokularında NOS'ın aktivitesinde belirgin olarak yükselme tespit etmişlerdir. NO; makrofaj, nötrofil, damar düz kas hücresi gibi değişik hücreler ve bu hücreleri ilgilendiren patolojik olaylar tarafından üretilmektedir (60). Mulligan ve arkadaşları (61) vaskülitik bir modelde nötrofil infiltrasyonu olmaksızın, inflamasyonu ve doku hasarının her ikisini iNOS inhibitörlerini kullanarak başarılı bir şekilde kontrol etmişlerdir. NO sentezi ile sitokinler arasında sıkı bir ilişki mevcuttur. NO'nun büyük kısmı IL-1 β , IL-2R, IL-6 ve TNF- α tarafından uyarılan iNOS tarafından üretilmektedir. iNOS'ın bilinen en iyi uyarıcıları interferon- γ , TNF- α , IL-1 ve LPS/endotoksindir (39). Damar endoteli ve düz kaslarında bulunan iNOS bazı sitokinler veya sitokin salınımını artıran maddelerce indüklenir. İndüksiyon sonucu vazodilatasyon meydana gelir. Buna örnek olarak hayvanlarda endotoksik ve septik şokta, NO sentezinin aşırı artışı ve buna bağlı olarak hipotansiyon meydana geliş verilebilir (2,62). Yine kanserli hastalarda sitokin tedavisi de bu yolla hipotansiyona neden olmaktadır (63). Vazodilatasyona yol açan patolojik durumların tedavisi, NO sentezinin tamamen durdurulması ile mümkün olabilmektedir. Derin septik şoklu iki hastada yapılan bir çalışmada; i.v. sıvı replasmanı, dopamin veya noradrenalin infüzyonu gibi klasik tedaviye yanıt saptanmazken, steril serum fizyolojikte eritilmiş ve bakteriyel filitreden geçirilmiş L-NMMA ve L-NAME ile sistolik, diastolik ve ortalama kan basıncında hızla ve doza bağımlı bir yükselme

oluşmuş, vasküler direnç artmıştır. Ancak kardiyak output ve pulmoner kapiller wedge basıncında değişiklik olmamıştır (64). Deneysel çalışmalarda hayvana NOS inhibitörü (L-NMA, L-NAME ve diğerleri) verilmesi hipertansif cevabı artırmaktadır. Bu durumda glomerüler hasar ve sodyum atılımında azalma meydana gelmektedir (65,66). Hipertansiyona meyilli hayvanlara L-arginin verilmesi hipertansiyon oluşumunu kuvvetle engellemektedir (67). Gerçek hipertansiyonlu ve sağlıklı insanlara L-arginin infüzyonu sistolik ve diastolik basıncı kısa sürede düşürmektedir (68). Anjiyotensin-konverting enzim inhibitörleri ile tedavide bradikinin, endotelden NO salınımını uyararak NO konsantrasyonunu artırmakta ve vasodilatasyona neden olmaktadır.

Bazı akciğer hastalıklarında hastaya inhalasyonla NO verilmesinin, akciğer fonksiyon bozukluklarının düzeltilmesinde yardımcı olduğu ortaya konulmuştur. Bunlara örnek olarak, inhalasyonla NO verilmesi ile düzelme sağlanan yenidoğan pulmoner hipertansiyonu ve yetişkin respiratuar distres sendromunu verebiliriz (69,70).

iNOS damar düz kas hücrelerinde ve inflamatuvar hücrelerde bulunmaktadır. Makrofaj inflamatuvar süreçte merkezi rol oynamakta ve glukokortikoidler için yüksek afiniteli reseptörler taşımaktadır. Aktive edilen makrofajlar büyük miktarda NO sentez etmektedirler. Sentezlenen ve salınan NO mikrobik patojeni veya tümör hücrelerini haraplamaktadır. Aktivasyonun olmadığı durumlarda makrofajlarda iNOS bulunmamaktadır (6). İndüksiyon sonrası enzim sentezi ve dolayısıyla NO sentezi meydana gelmektedir. Kortikosteroidler iNOS'ın indüksiyonunu inhibe etmekte, fakat cNOS'ın aktivitesi üzerine böyle bir etkileri bulunmamaktadır (71). Oluşturulan deneysel şok modelinde bakteriyel endotoksin verildikten 90 dakika sonra uygulanan deksametazonun etkisiz olduğu saptanmıştır (22). Ayrıca iNOS IL-4, IL-8, IL-10 ve TGF- β tarafından inhibe edilmektedir (39). L-NAME'in intra-arteriel infüzyonu,

normal ve ödemli tavşan dizlerinde bazal kan akımını azalttığı ve sempatik vazokonstriksiyonu artırdığı gözlenmiştir (72). Ratlarda yapılan bir çalışmada NO inhibitörlerinin nörojenik inflamasyonu azalttığı görülmüştür (73). Bu da göstermektedir ki NO nörojenik inflamasyonda önemli rol oynamaktadır. Ratlarda yapılan başka bir çalışmada intraperitoneal uygulanan L-NAME'in gözdeki NO oluşumunu azalttığı saptanmış ve buna bağlı olarak üveitin klinik ve histolojik bulgularının önlendiği görülmüştür (40).

IL-1 β , IL-2R, IL-6, TNF- α ve diğer sitokinler, immünitinin düzenlenmesinde, inflamasyonda ve konağın hasara karşı cevabında rol alan peptid yapısında mediatörlerdir (74). Bu sitokinlerin göz dışı dokularda sinerjist etki gösterip birbirlerinin aktivitelerini artırdıkları gösterilmiştir (75).

IL-1'in temel kaynağı aktive mononükleer fagositlerdir (32). IL-1, mononükleer fagositler ve damar endoteline etkiyle IL-1'in daha sonraki sentezini artırır ve IL-6'nın sentezini tetikler. IL-1 katarakt ameliyatı sonrası oluşan inflamasyonda anahtar rol oynamaktadır. IL-1 gibi bazı sitokinler kan-aköz bariyerini bozan prostaglandin E₂ (PGE₂) sentezini artırır (76). PGE₂ göz içi lens (GİL) implantasyonundan sonra oluşan inflamasyonda önemli rol oynamaktadır (77). Deneysel çalışmalarda, IL-1 reseptör antagonisinin (IL-1ra, ilk tespit edilen endojen sitokin reseptör antagonisti) GİL implantasyonu sonrası oluşan inflamasyonu baskılamada etkili olduğu görülmüştür. Septik şok gibi sitokinlerin aşırı ve düzensiz üretildiği durumlarda, sitokin inhibitörleri biyolojik yanıtın düzenleyicileri olarak kullanılabilirler (26). IL-1ra ayrıca PGE₂ üretimini ve etkisini inhibe etmektedir (44). Retina pigment epitelinin (RPE), doğal antagonist olan IL-1-ra'yı salgılayarak, gözün posterior segment inflamasyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (78,79).

IL-2'nin bilinen fizyolojik etkisi T lenfositleri için büyüme faktörü olduğudur. İlk araştırmacılar, IL-2'nin ameliyat sonrası oluşan inflamasyonu artırmada sorumlu olduğunu gözlemişlerdir. Göz tutulumlu Behçet hastalarında yapılan bir çalışmada, serum IL-2 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (80). Üveitlerde IL-2 reseptör düzeylerinin arttığı saptanmıştır (81). Bir başka çalışmada da üveitik gözde IL-2 ve IFN- γ saptanmıştır (81).

IFN- α , göz tutulumlu Behçet hastalarında başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Fakat plasebo-kontrollü klinik çalışmalar henüz yayınlanmamıştır. Farelerde oluşturulan otoimmün üveitte IFN- γ 'nın üveiti baskıladığı gösterilmiştir, ancak anti-IFN- γ antikorları ile tedavide hastalığın kötüleştiği saptanmıştır (81).

İnsanda ve tavşanlarda sitokinlerin moleküler ve biyolojik etkileri benzerdir (82). Oküler bariyerin patogeneğinde IL-1 β ve TNF'nin varlığı, oküler-kan bariyerini bozduğu ve oküler antijenlerin sistemik olarak yayılmasını sağladığı gösterilmiştir (83). Epiretinal membran için vitreoretinal cerrahi uygulanan hastalardan alınan vitreus örneklerinde %80 oranında TNF- α saptanmıştır. Yine proliferatif vitreoretinopati veya diabetik retinopati için vitreoretinal cerrahi uygulanan hastalardan alınan vitreus örneklerinde IL-6 ve IL-8 gibi sitokinlerin saptanması, bunların bu hastalıkların patogeneğinde rol alabileceklerini akla getirmiştir (81).

IL-6, IL-1 ve TNF'ün etkisiyle üretilmektedir (84). IL-6, hepatositlere etkiyle akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin sentezine neden olmaktadır (36). IL-6'nın monositlerde sentezi IL-10 tarafından baskılanmaktadır (37). Akut bakteriyel enfeksiyonlarda ve ciddi yanıklarda IL-6'nın serum seviyesinin arttığı tespit edilmiştir (85). Romatoid artritli hastaların sinovyal sıvısında IL-6'nın lokal üretimi saptanmıştır (86). İnsanlarda GİL implantasyonundan sonra IL-6'nın göz ön kamara sıvısında arttığı ölçülmüştür (87). Malecaze ve arkadaşları (87), katarakt cerrahisi

sonrası ön kamarada oluşan inflamasyonda, IL-6'nın seviyesinin ameliyat öncesi değerlere göre arttığını saptamışlardır. IL-6'nın intravitreal enjeksiyonundan sonra, akut inflamasyona sebep olduğu ve inflamatuvar cevaptan sorumlu IL-1 tarafından uyarıldığı bilinmektedir (88). Araştırmacılar göz ön kamara sıvısında IL-6 seviyesini düşük bulmuşlardır. Bu da göstermektedir ki IL-6'nın gözde lokal üretimi mevcuttur (87).

Son yıllarda üzerinde çalışılan bir tedavi protokolü de anti-TNF tedavisidir. Bu tedavi protokolü ile yapılan çalışmalar da oldukça yenidir. Anti-TNF tedavisi romatoid artritli hastalarda başarılı olarak uygulanmıştır. Fakat EİÜ'li (endotoxin-induced üveitis) deneysel bir çalışmada paradoksal etki yapmış ve üveiti daha da kötüleştirmiştir (81). Yine septik şoktaki hastalarda anti-TNF monoklonal antikoru ile yapılan bir çalışmada, dolaşımında en yüksek TNF- α düzeyi olanların yaşam oranlarının daha iyi olduğu bildirilmiştir (89). Ancak anti-TNF tedavisinin günümüzde yararlı olduğuna dair kanıtlar azdır. Randomize-plasebo kontrollü bir çalışmada ise anti-TNF uygulamasının insanda zararlı olabileceği kanaatine varılmıştır (90).

Rekombinant protein sentezi, doğal olarak düzenleyici olan IL-1-ra, anti-inflamatuar sitokinler (IL-4, IL-10, IL-13) ve anti-viral interferon üretimine olanak sağlayarak, bunların keratit, sklerit, kuru göz, korneal allograft rejeksiyonu, Graves oftalmopati, proliferatif vitreoretinal hastalık, cerrahi sonrası inflamasyon ve üveit gibi inflamatuvar göz hastalıklarında kullanımına imkan sağlayacaktır. Lewis ratlarında oluşturulan otoimmün üveitte IL-4'ün verilmesi ile üveitin arttığı, yani paradoksal bir etkinin olduğu gözlenmiştir (81).

Antiinflamatuvar etkilere sahip IL-10'un da bakteriyel sepsis patogeneğinde rolü olabileceği üzerinde durulmaktadır. IL-10'nun IL-1, IL-6 ve TNF salınımını azaltarak fareleri sepsisin olumsuz etkilerinden koruduğu gösterilmiştir (91). Lipopolisakkarid verilmesini takiben IL-10'un uygulanması, TNF salınımını ve diğer

proinflamatuvar sitokin sentezini geciktirmektedir. IL-10'nun monositlerin deaktivasyonuna yol açarak sepsiste koruyucu bir rol oynadığı ve potansiyel terapötik bir ajan olabileceği üzerinde durulmaktadır (92). IL-10'un EİÜ'ti baskıladığı gösterilmiştir (81).

Sitokinlerin göz içi inflamasyonundaki etkileri bilinmesine rağmen, bunların katarakt ameliyatı sonrası seviyeleri ve etkileri hakkında çok az bilgi mevcuttur.

Biz bu deneysel çalışmada, göz ön kamara sıvısındaki NO ve sitokinler üzerine L-NAME ve topikal steroidin terapötik etkilerini araştırdık. L-NAME ile NO sentezinin baskılanması sonucu, TNF- α ve NO seviyelerinin düştüğü, fakat IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde bir değişiklik olmadığını saptadık.

Kortikosteroidlerin bazı organlarda iNOS'ı baskıladığı gösterilmiştir. Kortikosteroidlerin bu etkileri onların antiinflamatuvar ve immünosüpresif özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bizim elde ettiğimiz bulgulara göre NO ve TNF- α , L-NAME ve kortikosteroidlerce baskılanmaktadır. Baskılanmanın L-NAME ile tedavi edilen grupta, kortikosteroidle tedavi edilen gruba göre daha kuvvetli olduğunu saptadık. Her iki ilacın da IL-1 β ve IL-6 üzerinde baskılayıcı etkileri gözlenmedi.

Sonuç olarak, inflamasyonda önemli rol oynayan bu mediatörlerin baskılanması için özellikle bu yönde yoğunlaşarak daha etkili ve daha özgül tedavi yöntemleri bulunmalıdır. Bu temele dayalı olarak yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

ÖZET

Amaç: Katarakt ameliyatı sonrası göz ön kamara sıvısında oluşan inflamatuvar mediatörlerden nitrik oksid (NO) ve sitokinler üzerine N-nitro-L-arginin methyl ester (L-NAME), topikal steroid ve nonsteroid anti-inflmatuar (NSAI) etkilerini objektif olarak değerlendirmeyi amaçladık.

Yöntem: On beş tavşanın her iki gözüne endokapsüler fakoemülsifikasyon yapıldı. Tavşanlar dört gruba ayrıldı. Üç grup dörder tavşandan oluşmaktaydı ve bunlar tedavi grupları olarak kabul edildi. Diğer grupta ise üç tavşan vardı ve kontrol grubu olarak alındı. 1. gruba topikal olarak %1'lik prednizolon asetat damla günde 5x1 dozda bir hafta süreyle, 2. gruba topikal olarak %0.03'lik fluribiprofen damla günde 5x1 dozda bir hafta süreyle alt fornikse damlatıldı. 3. gruba subkonjoktival olarak 0.1 cc L-NAME (150 mg/kg) postoperatif 1. ve 3. günlerde uygulandı. 4. gruba subkonjoktival olarak 0.1 cc BSS postoperatif 1. ve 3. günlerde uygulandı. Göz ön kamara sıvısı ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası 1, 3, 7 ve 30. günlerde alındı. Bu sıvıda NO, interlökin-1beta (IL-1 β), interlökin-2R (IL-2R), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α) düzeylerine bakıldı. İstatistiksel analizi için Mann Whitney-U testi kullanıldı.

Bulgular: Grup 2 ve 4'te yüksek değerde saptanan IL-1 β ve IL-6 tüm ölçümlerde grup 1 ve 3'le karşılaştırıldı. Bu farklılık anlamlı bulunmadı (P>0.05).

Ameliyat sonrası 1, 3 ve 7. günlerde NO ve TNF- α , grup 1 ve 3'te grup 2 ve 4'e göre düşük saptandı. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.05).

Sonuç: Bu bulgulara göre, kortikosteroidler ve NOS inhibitörlerinin göz ön kamara sıvısındaki NO ve TNF- α üzerine kuvvetli inhibitör etki yaptıklarını belirledik. İnhibitör etkinin L-NAME ile tedavi edilen grupta, kortikosteroidlerle tedavi edilen gruba göre daha kuvvetli olduğunu saptadık. Ancak her iki ilacın da IL-1 β ve IL-6 üzerinde inhibitör etkilerinin olmadığını gözlemledik.



KAYNAKLAR

1. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9265-9269.
2. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-666.
3. Nussler AK, Billiar TR. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol* 1993;54:171-178.
4. Kharitonov VG. Kinetics of nitric oxide autoxidation in aqueous solution. *J Biol Chem* 1994;269(8):5881-5883.
5. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological mols. *Faseb J* 1993;7:349-360.
6. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-237.
7. Star RA. Nitric oxide. *Am J Med Sci* 1993;306(5):346-358.
8. Tayeh MA, Marletta MA. Macrophage oxidation of L-arginine to nitric oxide, nitrite and nitrate: Tetrahydrobiopterin is required as a cofactor. *J Biol Chem* 1989;264:19654-19658.
9. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science* 1992;26:1898-1902.

10. Stefanovic-Racic M. Nitric oxide and arthritis. *Arthritis and Rheum* 1993;36(8):1036-1044.
11. Moncada S. Nitric oxide: mediator, modulator and pathophysiologic entity. *J Lab Clin Med* 1992;120(2):187-191.
12. Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *Faseb J* 1992; 6:3051-3064.
13. Gibaldi M. What is nitric oxide and why are so many people studying it?. *Clin Pharmacol* 1993;33:488-496.
14. Lepoivre M, Feisch F, Coves J, Thelander L, Fontecave M. Inactivation of ribonucleotide reductase by nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;179:442-448.
15. Kwon NS, Stuehr DJ, Nathan CF. Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage derived nitric oxide. *J Exp Med* 1991;174:761-768.
16. Croen KD. Evidence for antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus type 1 replication. *J Clin Invest* 1993;91:2446-2452.
17. Karupia G, Xie Q, Buller RML, Nathan C, Duarte C, MacMicking JD. Inhibition of viral replication by interferon-gamma induced nitric oxide synthase. *Science* 1993;261:1445-1448.
18. Andersson KE, Persson K. Nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated effect in lower urinary tract muscle. *World J Urol (Germany)* 1994;12(5):274-280.-34
19. Marletta MA. Approaches toward selective inhibition of nitric oxide synthase in mammals. *J Med Chem* 1994;37:1899-1907.
20. Cendan JC, Topping L, Pruitt J, Snowdy J, Copeland EM, Lind DS. Inflammatory mediators stimulate arginine transport and arginine-derived nitric oxide production in a murine breast cancer line. *J Surg Res (USA)* 1996;60(2):248-288.

21. Tesfamariam B, Halpern W. Endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilation in resistance arteries from hypertensive rats. *Hypertension* 1988;11:440-444.
22. Thiemermann C. Cardiovascular controversies: drugs which modulate nitric oxide homeostasis are likely to provide therapeutic benefit in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 1993;27:2104.
23. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-142.
24. Corbett JA, McDaniel ML. Does nitric oxide mediate autoimmune destruction of beta-cells? Possible therapeutic interventions in IDDM. *Diabetes (USA)* 1992;41(8):899-903.
25. Fernandez-Botran R. Soluble cytokine receptor: their role in immunoregulation. *Faseb J* 1991;5:2567-2574.
26. Güner İ, Özmen D, Bayındır O. Sitokinler. *T Klin Tıp Bilimleri* 1997; 17:65-74.
27. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AL, eds. *Basic and Clinical Immunology* 1993; chap11:571-611.
28. Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. *Cellular and Molecular Immunology*. Philadelphia: WB Saunders Company 1994:240-261.
29. Jaatela M. Biologic activities and mechanism of action of tumor necrosis factor- α /cachectin: *Lab Invest* 1991;64:724-742.
30. Beutler B. Tumor necrosis factor. The molecules and their emerging role in medicine. New York: Raven Press; 1992.
31. Beutler B, Milsark IW, Cerami A. Cachectin/Tumor Necrosis Factor: Production, distribution and metabolic fate in vivo. *J Immunol* 1985;135:3972.
32. Dinarello CA. IL-1 and IL-1 antagonism. *Blood* 1991;77:1627.

33. Dinarello CA. Interleukin-1 in infections diseases. *Immunological Reviews* 1992;127:119-146.
34. Fanslow WC, Sims JE, Sassenfeld H. Regulation of alloreactivity in vivo by soluble form of the interleukin-1. *Science* 1990;248:739-742.
35. Pereina O BJK. Implication of cytokine measurements during in vitro and clinical haematodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10(Suppl):18-26.
36. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood* 1989;74:1.
37. Wang P, Wu P, Siegel MI, Ergan RW, Billah MM. IL-10 inhibits transcription of cytokine genes in human peripheral blood mononuclear cell. *J Immunol* 1994;153:811-816.
38. Orpana AK, Avela K, Ranta V, Viinikka L, Ylikorkala O. The calcium-dependent nitric oxide production of human vascular endothelial cells in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1056-1060.
39. Farrell AJ, Blake DR. Nitric oxide. *Ann Rheum Dis* 1996;55:7-20.
40. Goureau O, Bellot J, Thillaye B, Courtois Y, De Kozak Y. Increased nitric oxide production in endotoxin-induced uveitis: Reduction of uveitis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Immunol* 1995;154:6518-6523.
41. De Kozak Y, Naud MC, Bellot J, Faure JP, Hicks D. Differential tumor necrosis factor expression by resident retinal cells from uveitis-susceptible and resistant rat strains. *J Neuroimmunol* 1994;55:1-9.
42. Wang ZY, Hakanson R. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation. *Br J Pharmacol* 1995;116:2447-2450.
43. Kijlstra A. The role of cytokines in ocular inflammation. *Br J Ophthalmol* 1994;78:885-886.

44. Nishi O, Nishi K, Ohmoto Y. Effect of interleukin 1 receptor antagonist on the blood-aqueous barrier after intraocular lens implantation. *Br J Ophthalmol* 1994;78:917-920.
45. Amples JR, Boney RS, Rosenbaum JT. Ocular inflammatory effects of intravitreally injected interleukin-2. *Curr Eye Res* 1993;12:649-654.
46. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF: A primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol* 1989;7:625-655.
47. Hooks JJ, Chan CC, Detrick B. Identification of the lymphokines, interferon-gamma and interleukin-2, in inflammatory eye diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988;29:1444.
48. Wong GG, Clark SC. Multiple actions of interleukin-6 within a cytokine network. *Immunology Today* 1989;9:137-139.
49. Malecaze F, Chollet P, Cavrois E, Vita N, Arne JL, Ferrara P. Role of interleukin 6 in the inflammatory response after cataract surgery, an experimental and clinical study. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1681-1683.
50. Hoekzema R, Murray PI, Haren MAC, Helle M, Kijlstra A. Analysis of interleukin 6 in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:88-95.
51. Katayama T. The effect of interleukin-1 on ocular inflammation in rabbit ocular tissue. *Acta Soc Ophthalmol Jpn* 1991;95:635-643.
52. Fleisher LN, Ferrell JB, McGahan MC. Inflammatory properties of intravitreally injected tumor necrosis factor-alpha. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30(Suppl):446.
53. Ohara K. Biomicroscopy of surface deposits resembling foreign-body giant cells on implanted intraocular lenses. *Am J Ophthalmol* 1985;99:304-311.

54. Puck A, Tso MO, Yue B. Cellular deposits on intraocular lenses. *Acta Ophthalmol* 1985;170(Suppl):54-60.
55. Bazan NG, De Abreu MT, Bazan HE, Belfort RJ. Arachidonic acid cascade and platelet-activating factor in the network of inflammatory mediator: therapeutic implication in uveitis. *Int Ophthalmol* 1990; 14:335-344.
56. Suttorp-Schulten MSA, Jager MJ, Kijlstra A. Recent developments in the treatment of posterior uveitis. *Ocul Immunol Inflamm* 1996;4:207-217.
57. Defrawy SR. Nitric oxide: a unique biologic mediator. *Can J Ophthalmol* 1997;32:12-16.
58. Er H, Türköz Y, Özerol İH, Üzmez E. Effect of nitric oxide synthase inhibition in experimental *Pseudomonas* keratitis in rabbits. *Eur J Ophthalmol* 1998;8:137-141.
59. Mandai M, Yoshimura N, Yoshida M, Iwaki M, Honda Y. The role of nitric oxide synthase in endotoxin-induced uveitis: effects of NG-nitro L-arginine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3673-3679.
60. Mandai M, Mittag TW, Kogishi J, Iwaki M, Hangai M, Yoshimura N. Role of nitric oxide synthase isozymes in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:826-832.
61. Mulligan MS, Moncada S, Ward PA. Protective effects of inhibition of nitric oxide synthase in immune complex-induced vasculitis. *Br J Pharmacol* 1992;107:1159-1162.
62. Wolfe TA, Dasta JF. Use of nitric oxide synthase inhibitors as a novel treatment for septic shock. *Ann Pharmacother (USA)* 1995;29:36-46.
63. Hibbs JB Jr, Westenfelder C, Taintor R, et al. Evidence for cytokine-inducible nitric oxide synthesis from L-arginine in patients receiving interleukin-2 therapy. *J Clin Invest* 1992;89:867-877.

64. Petros A, Bennett D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors in patients with septic shock. *Lancet* 1991;338:1557-1558.
65. Balis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest* 1992;90:278-281.
66. Yukimura T, Yamashita Y, Miura K, Okumura M, Yamanaka S, Yamamoto K. Renal effects of the nitric oxide synthase inhibitor; L-GN-nitroarginine, in dogs. *Am J Hypertens* 1992;5:484-87.
67. Creager HA, Gallagher SJ, Girerd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolaemic humans. *J Clin Invest* 1992;90:1248-1253.
68. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Eng J Med* 1990;323:22-27.
69. Roberts JD, Ploaner DM, Lang P, Zapol WM. Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 1992;340:818-819.
70. Rossaint R, Falke KJ, Lopez F, Salzman K, Psion U, Zapol WM. Inhaled nitric oxide for the adult respiratory distress syndrome. *N Eng J Med* 1993;328:399-405.
71. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1990;87:10043-10047.
72. Najatipour H, Ferrell WR. Nitric oxide modulates sympathetic vasoconstriction and basal blood flow in normal and acutely inflamed rabbit knee joints. *Exp Physiol* 1993;78:615-624.

73. Lippe IT, Stabentheiner A, Holzer P. Participation of nitric oxide in the mustard oil induced inflammation of the rat paw skin. *Eur J Pharmacol* 1993;232:113-120.
74. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, eds. *Basic Human Immunology*. East Norwalk, CT, Appleton & Lange, 1991; chap 7:78-100.
75. Fleisher LN, Ferrell JB, McGahan MC. Synergistic uveitic effects of tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1-beta. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2120.
76. Miyake K, Mibu H, Horiguchi M, Shirasawa E. Inflammatory mediators in postoperative aphakic and pseudophakic baboon eyes. *Arch Ophthalmol* 1990;108:1764-1767.
77. Törnngren L, Rolfsen W, Lundgren B. PGE2 and leucocytes level in aqueous humor after lens extraction and intraocular lens implantation. *Ocular Immunology and Inflammation* 1993;1:151-157.
78. Benson MT, Shepherd L, Rees RC, Rennie IG. Production of interleukin-6 by human retinal pigment epithelium in vitro and its regulation by other cytokines. *Curr Eye Res* 1992;11:173-179.
79. Elner SG, Steriote RM, Elner VM, Rolins BJ, Del Monte MA, Kunkel SL. Monocyte chemotactic protein gene expression by cytokin-treated human retinal pigment epithelial cells. *Lab Invest* 1991;64:819-825.
80. BenEzra D, Maftzir G, Kalichman I, Barok V. Serum level of interleukin-2 receptor in ocular Behçet's disease. *Am J Ophthalmol* 1993;MS:26-30.
81. Kijlstra A. Cytokines: Their role in uveal disease. *Eye* 1997;11:200-205.
82. Bharracherjee P, Henderson B. Inflammatory responses of intraocularly injected IL-1. *Curr Eye Res* 1987;6:929-934.

83. Palexas GN, Sussman G, Welsh NH. Ocular and systemic determination of IL-1 beta and tumor necrosis factor in a patient with ocular inflammation. *Scand J Immunol* 1992;11:173-175.
84. Jirik FR, Podor TJ, Hirano T, Kishimoto T, Loskutoff DJ, Lotz M. Bacterial lipopolysaccharide and inflammatory mediators augment IL-6 secretion by human endothelial cells. *J Immunol* 1989;142:144-147.
85. Jablons DM, Mule JJ, McIntosh JK, et al. IL-6/IFN- β -2 as a circulating hormone: Induction by cytokine administration in humans. *J Immunol* 1989;142:1542-1547.
86. Kishimoto T, Hirano T. Molecular regulation of B lymphocyte response. *Annu Rev Immunol* 1988;6:485.
87. Malecaze F, Chollet P, Cavrois E, Vita N, Arne JL, Ferrara P. Role of interleukin-6 in the inflammatory response after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1681-1683.
88. Planck SR, Dang TT, Graves D, Tara D, Ansel JC, Rosenbaum JT. Retinal pigment epithelial cells secrete interleukin-6 in response to interleukin-1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:78-82.
89. Fisher CJ, Jr Opal SM, Dhainaut JF, et al. Influence of an anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis. *Crit Care Med* 1993;21:318-327.
90. Natanson C. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Int Med* 1994;120:771-783.
91. Howard M, Muchamuel T, Andravade S. Interleukin-10 protects mice from lethal endotoxemia. *J Exp Med* 1993;177:1205-1208.

92. Gerard C, Bruyns O, Marchant A, et al. Interleukin-10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia. J Exp Med 1993;177:547-550.



UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY