

TC.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI AD.

**RETİNAL İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARINDA
IL-11' İN SİTOKİN SEVİYELERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Azat ALINAK**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Tamer DEMİR**

ELAZIG-2008

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

.....Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

.....

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Bana bu konuda çalışma imkanı veren, araştırmanın yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamalarında her türlü yardımı esirgemeyen, çalışmalarımı yönlendiren ve yöneten danışman hocam Sayın Doç. Dr. Tamer DEMİR hocama ve klinik çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER hocama, tezimi planlarken ve uygularken yardımını gördüğüm Sayın Prof. Dr. Ahmet GÖDEKMERDAN hocama, deneyin preparatlarını hiç vakit kaybettirmeden değerlendiren sayın Prof.Dr. Nusret AKPOLAT hocama ve deney ve tez aşamasında çok büyük yardımını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Nevin İLHAN hocama teşekkür ederim.

Klinik çalışmalarım sırasında kendilerinden çok şey öğrendiğim ve dostluklarıyla gurur duyduğum Uzm. Dr. Fatih ULAŞ, Uzm. Dr. Dilek DEMİR, Uzm. Dr. Mehmet BALBABA, Uzm. Dr. Semih AYDOĞAN ve Uzm. Dr. Emrah KAN'a şükranlarımı sunarım. Yine klinik çalışmalarımız sırasında kendilerinden çok şey öğrendiğim ve her biri ile ahenk içinde çalıştığımız asistan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Yaşamım boyunca desteklerini hissetmekten en çok keyif aldığım insanlar olan annem ve babama; bana her zaman gösterdikleri sabır ve yol göstericilikleri için özellikle teşekkür ederim.

Hayatımı birleştirmekten büyük gurur duyduğum eşim Nilüfer'e yıllardır bana gösterdiği hoşgörü, zaman zaman aşırı reaksiyonlarımı engellemesi ve en doğru kararları vermem için yaptığı telkinler için teşekkür ederim.

Ve son olarak oğlum Deniz'e: varlığı ve olağanüstü tatlılığı nedeniyle teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı iskemi-reperfüzyon hasarına maruz bırakılan kobay retinalarında TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeylerini ölçerek Rekombinant İL-11'in koruyucu rolünü araştırmaktır.

Plasebo grubu hariç bütün gruplarda anestezi ve analjezi induksiyonu yapıldı. İkinci ve üçüncü gruplarda retinal iskemi oluşturmak amacıyla, göz içi basıncı 150 mmHg da 90 dakika süreyle tutulmuştur. İskemi sürecinin başlangıcından 1 saat önce üçüncü gruptaki deneklere 5 μ g/kg intraperitoneal rekombinant İL-11 verildi. İskemi periyodu 90 dakika sonra sona erdirilerek göz içi basıncı normal değerlerine düşürüldü ve 2 gün sürecek olan reperfüzyon periyodu başlatıldı. Rekombinant İL-11 grubuna reperfüzyon periyodu boyunca 24 saat aralıklarla 5 μ g/kg intraperitoneal rekombinant İL-11 verildi. İki gün sonra gözler entübe edildi.

Retinal dokudaki TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeyleri sham grubunda plasebo grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.008, p=0.008, p=0.008). Retinal dokudaki TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeyleri rİL-11 grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (p=0.008, p=0.032, p=0.008).

Histopatolojik olarak incelediğimiz retina kesitlerinde iç pleksiform tabakanın kalınlığı, rİL-11 grubunda hem plasebo hem de sham grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmamıştır (sırasıyla p=1.000, p= 0.095). Ancak sham grubunda plasebo grubuna göre anlamlı olarak daha kalın ölçülmüştür (p=0.032). Yine histopatolojik değerlendirmede rİL-11'in retinanın iç tabakalarındaki (internal limitan membran ve iç pleksiform tabakalar) PNL infiltrasyonunu engelleyerek koruyucu bir etkisi olduğu izlendi (p=0.032).

İskemi-reperfüzyon hasarına maruz bırakılan gözlerde retinal TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeyleri ölçüldüğünde ve retinalar histopatolojik olarak değerlendirildiğinde rhIL-11'in retinal TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeylerini düşürdüğü ve retinanın iç tabakalarındaki PNL infiltrasyonunu engelleyerek koruyucu bir rolü olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Rekombinant İL-11, iskemi-reperfüzyon, retina

ABSTRACT

EFFECTS of rhIL-11 in RETINAL ISCHEMIA-REPERFUSION

INJURY

This study was performed in the Ophthalmology Department of Firat University Medical School. The purpose of this study was to determine the protective effect of recombinant human IL-11 in guinea pig retina that was exposed to ischemia-reperfusion injury.

We induced anesthesia and analgesia in all guinea pigs except for the placebo group. Then retinal ischemia was induced in group 2 and 3 by increasing the intraocular pressure to 150 mmHg for 90 minutes.

We have administered 5 µg/kg intraperitoneally recombinant IL-11 in group 3, before the onset of ischemia. After 90 minutes of ischemia, intraocular pressure decreased to normal values and reperfusion was induced for 2 days. Interleukine-11 group was administered intraperitoneally recombinant IL-11 every 24 hours during the reperfusion period. After 2 days the eyes were enucleated.

The mean retinal tissue values of TNF- α , TGF- β , IL-6 in the sham group were statistically higher than those of the placebo group (p=0.008, p=0.008, p=0.008). The mean retinal tissue values of TNF- α , TGF- β , IL-6 in rhIL-11 treated group were observed to be significantly lower than those of the sham group (p=0.008, p=0.032, p=0.008).

Histopathologic analysis of each group indicated that rhIL-11 group had not significantly (p=0.095) protective effect in the inner plexiform layer of retina. But also histopathologic analysis of each group indicated that rhIL-11 group had statistically significant (p=0.032) protective effect in the inner layers of retina (internal limitan membran and inner plexiform layers) by preventing PNL infiltration in these layers.

Our results suggest that according to retinal TNF- α , TGF- β , IL-6 levels and histopathological changes in eyes those were induced to ischemia-reperfusion, rhIL-11 have protective role by decreasing retinal TNF- α , TGF- β , IL-6 levels and preventing PNL infiltration in the inner layers of retina.

Key words: Recombinant IL-11, ischemia-reperfusion, retina.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgi	4
1.1.1. Retina Anatomisi	4
1.1.2. Retinal İskemi ve Reperfüzyon Hasarı	6
1.2. Tümör Nekroz Faktör-Alfa	10
1.3. Transforming Growth Faktör-Beta	15
1.4. İnterlökin-6	20
1.5. İnterlökin-11	23
2. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3. BULGULAR	34
4. TARTIŞMA	41
5. KAYNAKLAR	53
6. ÖZGEÇMİŞ	65

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo-1 Önemli Anjiojenik Faktörler Ve Etki Mekanizmaları	14
Tablo-2 Endojen Anjiojenik ve Anti-Anjiojenik Faktörler	16
Tablo-3 TGF- β Sisteminin Genetik Hastalıkları	18
Tablo 4- Bütün gruplardaki retinal TNF- α düzeyleri	34
Tablo 5- Bütün gruplardaki retinal TGF- β düzeyleri	35
Tablo 6- Bütün gruplardaki retinal İL-6 düzeyleri	36
Tablo 7- Bütün gruplardaki iç pleksiform tabaka kalınlıkları (mikron)	37
Tablo 8- Bütün gruplardaki polimorfonükleer lökosit (PNL) infiltrasyonunun (adet olarak) değerleri.	38

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1- İskemi-reperfüzyon sonrasında meydana gelen süperoksit radikalleri ve doku hasarı	8
Şekil 2- İL-11' in üç boyutlu yapısı	25
Şekil 3- Retinal TNF- α düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	35
Şekil 4- Retinal TGF- β düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	36
Şekil 5- Retinal İL-6 düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	37
Şekil 6- İç pleksiform tabaka kalınlığının gruplar arasında karşılaştırılması	38
Şekil 7- PNL İnfiltrasyonunun gruplar arasında karşılaştırılması	39
Şekil 8- Plasebo grubu kobay retinası sagital kesiti	39
Şekil 9- Sham grubu kobay retinası sagital kesiti	40
Şekil 10- rhİL-11 grubu kobay retinası sagital kesiti	40

KISALTMALAR LİSTESİ

Tümör Nekroz Faktör-alfa	TNF- α
Transforming Growth Faktör- β	TGF- β
İnterlökin	IL
Polimorfonükleer Lökosit	PNL
Adenozin Tri Fosfat	ATP
Santral Retinal Arter	SRA
Deoksiribo Nükleik Asit	DNA
Messenger Ribo Nükleik Asit	mRNA
Basic Fibroblast Growth Faktör	bFGF
Platellet Derived Growth Faktör	PDGF
Majör Histocompability Complex	MHC
Metotreksat	MTX
Granülosit-Monosit Colony Stimulan Faktör	GM-CSF
Nitrik Oksit	NO
Monosit Kemotaktik Protein	MCP
Transforming Growth Faktör- β Induced Gen	β -ig

1. GİRİŞ

İskemi hasarı, bir dokuyu besleyen arteriyal sistemin belli bir zaman dilimi içinde tıkanması sonucunda ortaya çıkan durumdur. İskemi oluşmuş dokuda kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon denilmektedir. Reperfüzyon hasarı ise, doku kan akımı yeniden sağlandığında ortaya çıkan hasara verilen addır (1). İskemi kritik bir zaman dilimini aşarsa dokularda ardışık birtakım kimyasal olaylar oluşmakta ve bu olaylar hücre disfonksiyonu, interstisyel ödem, hücresel hasar ve en sonunda hücre ölümüne yol açmaktadır (2). İskemi hasarının giderilmesi için, bu kritik zaman diliminde dokunun tekrar oksijene olması şarttır (1). Ancak, reperfüzyon sırasında oksijen serbest radikallerinin rol oynadığı reperfüzyon hasarı oluşur (3).

Diabetik retinopati, retinal vasküler oklüzyon, glokom, prematüre retinopatisi gibi ciddi göz hastalıklarının gelişiminde ve progresyonunda retina iskemisinin önemi çok büyüktür (4). Retinal dokuda oluşan hasarın ve iyileşmenin düzenleyicisi olan moleküller yanında patolojik süreçte rol oynayan birçok faktörün varlığı gösterilmiştir. Retinada hücrelerin birbirleriyle etkileşimi, nörotransmitter olarak adlandırılan kimyasal araçlarla ve büyüme ve besleyici faktörler olarak bilinen peptidlerce sağlanmaktadır (5). Retina, iskemi ve sonrasındaki reperfüzyon peryoduna son derece duyarlıdır. Her iki duruma bağlı olarak hücre hasarı ve ölümü kaçınılmazdır. Genel olarak reperfüzyon inflamatuvar mediatörlerin sentezini, oksijen kaynaklı serbest radikalleri, lipid mediatörlerini ve kan kaynaklı hücrelerin aktivasyonunu indüklemektedir (6). Retinada yaygın şekilde perfüzyonun bozulması ile geniş hipoksik alanların teşekkülü ve anjiyogenik stimulus ile ilişkili olarak yeni damar oluşumları görülmektedir. Yeni damar yapımı (anjiogenez,

neovaskularizasyon) vücutta fizyolojik olarak yara iyileşmesi, embriyogenez, menstrüel siklus vb. durumlarda söz konusudur. Patolojik anjiyogenez ise başta tümörler olmak üzere kollajen doku hastalıkları, retinopatiler ve psoriasis gibi hastalıklarda görülür (7). Anjiogenez çok basamaklı karmaşık bir süreçtir. Bu süreçlerde ve anjiogenez patogenezinde çeşitli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin rolü olduğu düşünülmektedir. Anjiogenik sürecin başlamasında, anjiogenik uyarıcılarla inhibitörler arasındaki net dengenin düzenleyici rol oynadığı öne sürülmektedir. Bir başka deyişle, inhibitörlerin aktivatörlere baskın olmasının anjiogenez sürecinin kapalı tutulmasını sağladığı, aktive edici uyarılarda bir artış olması durumunda ise anjiogenez sürecinin başladığı düşünülmektedir (8).

İskemik hasarı takiben hücrel savunmanın endojen mekanizmaları hasarı en aza indirmek için harekete geçerler. İşte tam bu sırada retinal iskeminin tedavisi için uygulanacak potansiyel nöroprotektif stratejiler bu koruyucu mekanizmaları taklit ederek veya aktifleyerek iskemik hasarı önleyebilir. Böyle bir etkiyi yaratabilmek için koruyucu mekanizması tam olarak bilinen veya endojen benzerleri ile doyurularak etkisi kanıtlanmış bir takım savunma mekanizmalarını farmakolojik olarak taklit ederek veya aktifleyerek harekete geçirmek akla uygun gelmektedir. İnsan hücrel savunma mekanizmaları ısı şok proteinleri (Hsps), antiinflamatuvar sitokinler, antioksidan enzimler, nörotrofinler ve K-ATPaz kanallarını açarak inhibitör nörotransmitterler (GABA ve Adenozin) ile glukoz taşıyıcılarının salınmasını artırmak suretiyle harekete geçmektedir (9). Retinada iskemi sonrası Hsp-70 ve Hsp-27 değerlerinin arttığı (10,11) ve retinal iskemi sonrası elektriksel olarak uygulanan Hsp-27'nin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı gangliyon hücrelerindeki direnci artırdığı bildirilmiştir (12). Ayrıca retinal iskemi öncesi intravitreal olarak

uygulanan interlökin-1 (IL-1) reseptör antagonist analoglarının iskemik hasarı azalttığı bildirilmiştir (13).

Tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), inflamatuvar ve immün fonksiyonlarda potent bir parakrin ve endokrin medyatördür. Endotel hücre fonksiyonlarını düzenler ve vücudu enfeksiyon hastalıklarına karşı korur (14). Retinada iskemi sonrası inflamasyon ile aktive olan makrofaj/mikroglia hücrelerinden salgılanan TNF- α tavşan modellerinde retinal neovaskülarizasyona yol açtığı görülmüştür. TNF- α 'nın bu etkisini mikrovasküler endotel hücrelerdeki interlökin-8 (IL-8), Vascular endothelial growth factor (VEGF) ve basic fibroblast growth factor (bFGF) gibi anjiyogenik faktörleri düzenleyerek yaptığı bilinmektedir (15).

Transforming growth factor-beta (TGF- β) büyüme, gelişme ve farklılaşmada rolü olan multifonksiyonel protein ailesinin bir üyesidir(16). Memelilerde üç izoformu vardır (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3). En çok TGF- β 1 sentezlenir, immün modülasyon, ekstraselüler matriks sentezi ve doku tamirinde en önemli rolü oynar. Yapılan çalışmalarda TGF- β nın iskemi/reperfüzyon hasarında koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır(17).

IL-6, çeşitli hücrelerde birçok biyolojik aktivitesi olan bir sitokindir. T hücrelerinin çoğalma ve farklılaşmaları, sitotoksik T lenfositlerin farklılaşması, natural killer hücre aktivitesinin artırılması etkileri arasındadır. Yapılan çalışmalarda İskemi/reperfüzyon hasarında retinal IL-6 düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı gösterilmiştir (18).

Rekombinant İL-11 E. Coli'den rekombinant DNA teknolojisiyle üretilmektedir. Oprelvekin (Neumega, Wyeth, ABD) jenerik ismiyle piyasada bulunabilmektedir. Trombosit infüzyonu gerektiren kemik iliği baskılayıcı

kemoterapi alan nonmyeloid malignansileri olan hastalarda kullanılmaktadır (19).

Çalışmamızda, deneysel olarak oluşturduğumuz retinal iskemireperfüzyon hasarında, sistemik olarak uygulanan rekombinant IL-11'in retina dokusu üzerindeki koruyucu etkisini retinal TNF- α , TGF- β ve IL-6 düzeylerini ölçerek ve karşılaştırarak araştırdık.

1.1. GENEL BİLGİLER

1.1.1. Retina Anatomisi

Santral sinir sisteminin göz içindeki devamı kabul edilen retina, embriyoda optik kapın iç ve dış tabakalarından farklılaşmış, ince, şeffaf yapıda, ışık sinyallerinin sinirsel iletiye dönüştürüldüğü, dolayısıyla görmenin sağlanması için en gerekli ve en önemli tabakadır. Retina, içte duyuşal retina ve dışta pigment epiteli olmak üzere iki esas bölümden oluşun ve optik sinirden ora serrataya kadar uzanarak vitreus boşluğunun arka bölümünü çevreleyen transparan bir dokudur. Ön tarafta silyer cisim epiteli olarak devam eder. Kalınlığı optik disk kenarında 0.56 mm, ora serratada 0.1 mm olup fovea merkezinde en incedir. Geleneksel olarak ve ışık mikroskobu bulgularına dayanarak retina 10 ayrı kat olarak incelenir (20). Retina damarları saydamdır ve oftalmoskopide sadece içlerindeki kan görülür. Yapı ve büyüklükleri göz önüne alındığında retina damarları arter ve ven olarak adlandırılrsa bile aslında arteriol ve venüldür. Ven çapları arter çaplarından yaklaşık 1.5 kat daha fazladır, kapillerler ise görülmezler. Retina santral sinir sisteminin özellikli bir komponenti olarak çift kan temini sistemine sahiptir. Retina beslenmesini iç karotis arterin dalı olan oftalmik arterden çıkan santral retinal arter (SRA) ve silyer arterlerle sağlar (21). SRA terminal arter olduğundan tıkanıklığında retina infarktüsü

gelişir. Hücre gövdeleri dış nükleer tabakada olan fotoreseptörler ve dış pleksiform tabaka arası indirekt olarak koroid kapillerlerinden diffüzyonla beslenmektedir. İç retina tabakaları (iç limitan membranla iç nükleer kat arası) santral retinal arter dalları ile beslenmektedir. SRA global olarak 10 mm kalınlıkta optik sinire girer ve santral retinal vene yakın bir şekilde eşlik eder. Optik diski terk eden santral retinal arter düzensiz ama kendine özgü bir şekilde retinada yayılır. Ana damarlar internal limitan membranın hemen arkasında sinir lifleri tabakasında yüzeyel olarak uzanırlar ve aynı seviyede ayrılan arterioller dallar verirler. Ayrıca popülasyonda % 15-30 oranında bulunan ve yalnızca maküler bölgeyi besleyen silier dolaşımdan köken alan silio-retinal arter veya arterioller vardır. Bu şekilde avasküler dış retina tabakaları (dış pleksiform ve fotoreseptörler arası) ve foveal avasküler zon hariç tüm retina kanlandırılır. Damarların etrafında bir ark oluşturdukları foveal avasküler zon 0,5 mm çapındadır. Ana retinal damarların oluşturduğu iki kapiller ağdan yüzeyel olanı sinir lifleri tabakasında yer alırken, derin kapiller ağ iç nükleer tabaka ile dış pleksiform tabaka arasındaki sınır düzleminde uzanmaktadır. Bu iki tabaka arasında anastomozlar bulunmasına rağmen ana retinal arterler end-arter şeklinde olup iç anastomozlar bulundurmazlar. Retinal arter dal oklüzyonu sadece arteriolün beslediği bölgedeki iç retinada iskemiye neden olurken, santral retinal arter oklüzyonu tüm iç retinada iskemiye neden olmaktadır. Dış retinal tabakalarda iskemi ancak koryokapillaris yetmezliği veya regmatojen retina dekolmanına bağlı retina pigment epiteli ayrışmasına bağlı ortaya çıkmaktadır. Tam kat retinal iskemi ve infarktüsü dev hücreli arteritte olduğu gibi oftalmik arter oklüzyonuna sebep olan nadir durumlarda ortaya çıkar (22).

1.1.2. Retinal iskemi ve Reperfüzyon Hasarı

Retinal iskemi, körlük ve görme bozukluğunun en sık sebeplerinden biridir. Hücresel seviyede iskemik retinal hasar kendi kendini destekleyen harap edici bir süreç olup, sinirsel depolarizasyon, kalsiyum akışı, enerji açığı ile başlayan oksidatif stres ve artmış glutamaterjik uyarı ile karakterizedir (23). Birçok hayvan modeli ve analitik teknikler uygulanarak retinal iskemi anlaşılmaya çalışılmış, iskemik süreci durduracak ve retinal iskeminin verdiği zararı azaltacak birçok çalışma yapılmıştır. Ancak laboratuvar çalışmalarının başarısı kliniğe yansıtılamamıştır. Uygulama yöntemlerindeki zorluklar, dozaj, yan etkiler deneysel çalışmaların klinikte kullanılabilir özelliklerini engellemiştir (24).

İskemi kelimesi, Yunanca "iskho" yani geri alınma ile "haima" yani kan kelimelerinin birleşiminden meydana getirilerek ilk defa Virchow tarafından tıp literatürüne kazandırılmıştır. İskemi, bir dokuya kan akımının yetersizliğini ve hücresel enerji ihtiyacının karşılanmasındaki yetersizliği ifade eden patolojik bir durumdur. İskemi, anoksi (tamamen oksijen yokluğu) ve hipoksi (oksijen azlığı) ile karıştırılmamalıdır; çünkü iskemi her zaman hipoksi ve anoksi komponentleri ile birlikte görülmektedir ancak hipoksi ve anoksi her zaman iskemiye kapsamamaktadır (25). İskemi dokuları üç ihtiyacından yoksun bırakır:

- 1) Oksijen
- 2) Metabolik substratlar
- 3) Artık ürünlerin uzaklaştırılması.

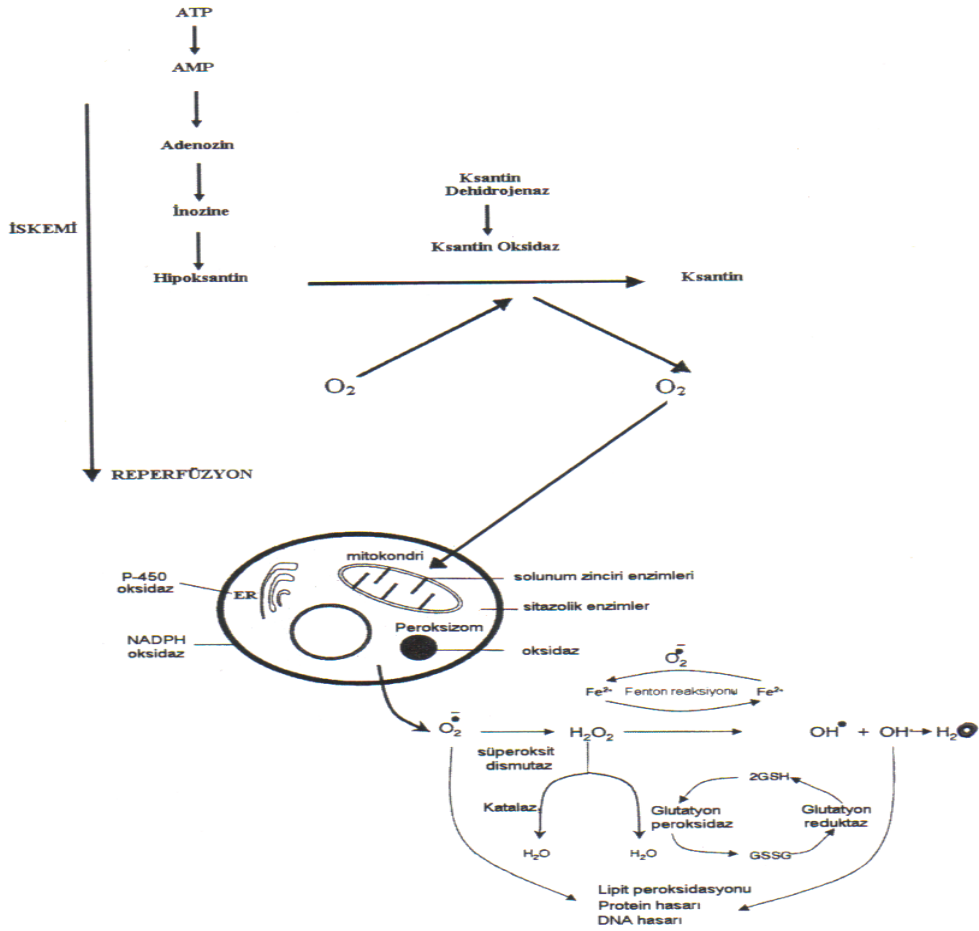
Bu ihtiyaçların giderilememesi hemostatik cevabı azaltacak ve zamanla doku hasarını arttıracaktır. Eğer bu durum uzun sürerse doku ölecektir (İnfarktüs) (33). İskemi oluşmuş dokuda kan akımı yeniden sağlandığında ortaya çıkan hasara ise

reperfüzyon hasarı denmektedir. İskemik dokudaki hasarın sadece iskemi tarafından oluşturulduğu düşünülürken, son yıllardaki çalışmalar reperfüzyonun bu hasarda önemli bir rol aldığını göstermiştir (26).

Hipokside ilk etkilenen mitokondrial oksidatif fosforilasyonla sağlanan hücrenin aerobik solunumudur. Bu esnada, adenzin trifosfat (ATP) yapımı yavaşlamakta ya da durmaktadır. Bu durum sodyum pompası yetersizliğine neden olacak şekilde ATP az aktivitesinin azalmasına neden olmaktadır. İyon tutulumuna izo-ozmotik su birikimi eşlik ederek akut hücresel şişme meydana gelmektedir. Hücrede ATP azalınca adenzin monofosfat (AMP) birikmekte, bu da anaerobik glikoliz ile glikojenden ATP sentezini artırarak hücreye enerji sağlamaktadır. Glikolizis laktik asit ve fosfat türevlerinin hidrolizi ile inorganik fosfatların birikimine yol açmakta ve bu durum hücre içi pH'ı düşürmektedir. Bunu izleyen süreçte, granüler endoplazmik retikulumdan ribozomların ayrılması ve polizomların bozulmasıyla monozomlar oluşmaktadır. Hipoksi devam ederse, membran geçirgenliği azalmakta ve sonuçta hücre yüzeyinde yerel şişkinlikler oluşmaktadır (27).

İskeminin başlamasıyla birlikte hücrenin aerobik solunumu etkilenmekte ve doku hücresel ATP düzeyinde azalma olmaktadır. ATP yıkımı sonunda hipoksantin ve ksantin gibi purin metabolitleri birikmekte ve bir ön enzim olan ksantin dehidrogenaz enzimi, ksantin oksidaza dönüşmektedir. Bu nedenle reperfüzyon esnasında sistemde açığa çıkan aşırı oksijen nedeniyle endoplazmik retikulum, mitokondri, plazma membranı ve sitozolde aşırı süperoksid anyonu (O_2^-) üretilmektedir. Süperoksid anyonunun oluşması ile zincirleme reaksiyonlar başlamakta ve endotel hücrelerinde diğer oksijen radikalleri ile birlikte hidrojen

peroksit (H_2O_2) oluşmaktadır. Daha sonra H_2O_2 , Fe^{3+} in Fe^{2+} ye dönüştürmekte ve süperoksit anyonları tarafından katalizlenen fenton reaksiyonu ile OH^- anyonuna dönüşmektedir. Majör antioksidan enzimler süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazdır. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarına neden olmaktadır. Ayrıca anaerobik metabolizma sonucunda laktik asit oluşmakta, hücre membranı boyunca iyon gradienti kaybı ile hücrel mekanizmalar hasara uğramaktadır (Şekil 1) (28).



Şekil 1- İskemi-reperfüzyon sonrasında meydana gelen süperoksit radikalleri ve doku hasarı. ER: Endoplazmik retikulum. GSH: İndirgenmiş glutatyon. GSSG: Okside glutatyon. NADPH: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat.

İskemi döneminde tekrar doku kan akımı sağlanırsa doku hasarı geri dönüşümlü olmakta, iskeminin devam etmesi halinde geri dönüşümsüz zedelenme oluşmaktadır. Geri dönüşümsüz zedelenme sonucu mitokondrilerde ileri derecede vakuolizasyon, hücre zarlarında aşırı yıkım, lizozomlarda şişme görülmektedir (25).

Retina, diensefalonun bir uzantısı olarak beyin ile birçok fonksiyonel ve yapısal benzerlikler içermektedir. Beyin ile karşılaştırıldığında retinanın kendine has ve özellikli çevresel yapısı ile iskemik hasara anlamlı bir şekilde doğal bir direncinin bulunduğu görülmektedir. Retinanın iskemiye gösterdiği rölatif direnç beyin ile retina arasındaki en göze çarpıcı farktır. Nöroproteksiyona dayalı tedavi stratejileri beyin iskemilerinde hayal kırıklığına uğratici sonuçlar vermiştir. Beyin birkaç dakikalık iskemiye çok geniş bir hasar veya ölümlerle cevap verebilirken retina 100 dakikalık iskemiye hasarsız yanıt verebilir (29). Retinada, hemoglobin ve miyoglobin ile uzaktan ilişkili, nörona özel solunumsal bir protein olan nöroglobin yüksek seviyelerde bulunmaktadır. Beyindeki 100 katı kadar olan bu protein retinada özellikle fotoreseptörlere yerleşmiştir (30). Retinanın iskemik modellerinde fotoreseptörlerde, iç retinaya oranla daha az fonksiyonel ve yapısal hasar görülmesinin nedeni henüz tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ancak bu gerçeğin üç temel nedene dayandığı düşünülmektedir (31).

1. Lokal enerji substratları mevcuttur (Vitreusda önemli miktarlarda glukoz, retinada glikojen deposu vardır).
2. Bu enerji substratları retinal iskemi periyodu boyunca boşalmaktadır.
3. İzole retina oksijen yokluğunda bile glukolizis ile glukozdan ATP sentezleyebilir.

Retinal iskeminin karışık patofizyolojisi retina ve vasküler desteği arasındaki dinamik ilişki ile alakalıdır. Koroid, retina ve optik sinir başı kan akımlarının tek tek veya hepsinin birden etkilenmesi retinada değişik patolojik durumlara yol açacaktır. Kan akımı kesildiğinde retinadaki değişik hücre tipleri farklı şekillerde bu durumdan etkilenecektir (31).

1.2. TÜMÖR NEKROZ FAKTÖRÜ ALFA

Polipeptid yapıda hormon olan kaşektin/tümör nekroz faktörü (TNF) infeksiyon, doku hasarı patogenezinde ve doku homeostazisi ile host defansında yer alan bir mediatördür. Kaşektin/TNF ismi molekülün ikili tarihçesini yansıtır. Kaşektin isimlendirilmesi, TNF'nin kaşeksinin moleküler temelinde önemli olduğunu düşünen araştırmacılar tarafından ilk olarak kullanılmıştır. TNF- α ise tümör hücre dizilerine karşı sitotoksik etkileriyle ilgilenen araştırmacılar tarafından izole edilmiştir. Kaşektinin amino asit dizisinin belirlenmesi ve kaşektin ile TNF- α 'yı kodlayan genler için c-DNA'nın klonlanması iki molekülün özdeş olduğunu doğrulamıştır (32). İnsan kaşektin/TNF 233 amino asitlik bir prohormon olarak üretilip, 76 rezidü amino asidin (sinyal peptidini oluşturan kısmın) ayrılmasıyla 157 rezidü amino asitten matür protein oluşur. Molekül ağırlığı 17 kD dir. Matür TNF polipeptidi bir başka sitokinle, lenfotoksin (TNF- α) ile ortak bir 28 amino asitlik sekans homologluğu içermektedir. Böylece bazı biyolojik aktivitelerde ortak olmakta ve bu moleküller ortak bir reseptör için yarışmaya girebilmektedir. İnsanda kaşektin/TNF ve lenfotoksin, 6 no'lu kromozomun kısa kolu üzerindeki ayrı genler tarafından kodlanmaktadır (33).

TNF, çeşitli aktive fagositik ve nonfagositik hücrelerde sentezlenir. Bunlar arasında makrofajlar, monositler, lenfositler, Natural Killer (NK) hücreler, beyindeki

astrositlerle, mikroglia hücreleri, karaciğerdeki Kupffer hücreleri yer almaktadır. İnfeksiyöz uyarının TNF sentezini tetikleyebilme kapasitesine sahip olması, molekülün infeksiyonda esas rolü oynadığını düşündürmektedir, çünkü bakteriyel endotoksinler/lipopolisakkaridler, enterotoksin, toksik şok sendromu toksini-1, mikobakteriyel kord faktörü, virüsler, C5a, mantar ve parazit antijenleri, interlökin-1 (IL-1) ve otokrin bir şekilde kaşektin/TNF'nin kendisi TNF sentezini tetikleyebilen unsurlardır (34).

TNF- α reseptörleri iki tiptir: Tip 1(TNF-P 55), tip 2 (TNF-P 75). Bunlar TNF- α 'yı ve lenfotoksini fikse eden transmembraner proteinlerdir. Kortikosteroidler, pentoksifilin, talidomid ve metotreksat (MTX) TNF sentezini inhibisyona uğrattır. En spesifik inhibisyonu TNF- α ve monoklonal antikoları (veya onun membran reseptörlerini) nötralize eden veya sitokin ile membran reseptörü arasındaki karşılıklı etkileşim kompetisyonuyla etki eden TNF'nin solubl-reseptörleri sayesinde elde edilmiştir. TNF karaciğer, kas, akciğer, bağırsak ve böbrek gibi normal dokulardaki yüksek afiniteli membran reseptörleriyle etkileşime girer (35). TNF postreseptör düzeyde adipositlere spesifik mRNA sentezini suprese etmekte ve preadipositlerin morfolojik diferansiyonunu önlemektedir. Bu hormon etkisiyle lipoprotein lipaz sentezi transkripsiyon seviyesinde durdurulmaktadır. Kaşektin ayrıca Sınıf 1 major histokompabilite kompleksi (MHC) antijenlerinin, GM-CSF ve IL-1 sentez ve salınımını indüklemektedir (36).

TNF'nin uyardığı mediatörler şunlardır:

1. Peptid regülatuar faktörleri: IL-1, IL-6, Granulositmonosit-koloni stimulatör faktör (GM-CSF), kaşektin / TNF, PDGF (platelet derived growth factor), TGF- β .

2. Eikozanoidler: Prostaglandinler, lökotrienler, trombosit aktive edici faktör.
3. Hormonlar: Kortikotropin / kortizol, adrenalin, noradrenalin, glukagon (36).

Son çalışmalar göstermiştir ki; kaşektin damar endotelindeki hemostatik özellikleri değiştirmekte bunu da prokoagulan aktiviteyi indükleyerek ve hücre yüzeylerindeki trombomodulin ekspresyonunu inhibe ederek yapmaktadır. Bu etkilerle trombüsün büyümesini sağlar, DIK (Dissemine İnvasküler Koagülasyon) gelişebilir ve tümör damarlarında da oklüzyona neden olabilir. Endotel hücrelerinde antijenik ifadeyi değiştirebilir, IL-1 i sentezletir, hücrelerde yeniden düzenlenmeye neden olabilir (37).

TNF- α , lökositlere karşı, endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri aracılığıyla daha yapışkan hale getirerek, damar endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörlerini dışa salmalarına neden olur. İnflamatuar lökositleri, özellikle nötrofilleri mikroorganizmaları öldürecek şekilde aktive eder. Viruslara karşı koruyucu interferon benzeri etki gösterir. TNF- α salgılandığında IL-1, IL-6, kemokinleri ve TNF- α 'nın kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir. TNF ve TNF reseptör ailesi T hücrelerinin aktivasyonu, farklılaşması ve etkili yanıtında anahtar rol oynamaktadır. TNF'nin primer T hücreleri için mitojenik olduğu gösterilmiştir (38). TNF- α iskemik retina hasarında önemli rol oynayan nitrik oksit (NO) sentezini uyarır. NO çok güçlü vasküler tonus düzenleyicidir (39). Önemli bir mesajcı olan NO, arjininin sitrüline dönüşümü sırasında üç değişik izoformu olan nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından sentezlenir. Fazla miktarda NO üretimi retinal iskemi sonrası nöronal

hasara neden olmaktadır (40). NO sekresyonunu uyaran TNF- α 'nın inhibisyonu NO'in retina üzerindeki zarar verici etkilerini de azaltacaktır. Yapılan çalışmalarda TNF- α 'nın inhibisyonu ile NOS aktivitesinin de azaldığı görülmüştür. Ek olarak sistemik TNF- α 'nın nötralizasyonu ile beyin iskemisi ve deneysel otoimmün üveoretinitlerde hedef organ hasarını engellediği izlenmiştir (39). Yenidoğan farelerde 7 gün boyunca % 75 oksijen ile oluşturulan retina hasarında makrofaj/mikroglia hücrelerinden sentezlenen TNF- α 'nın retinal düzeylerinin ve buna bağlı olarak MCP-1 (Monosit kemotaktik protein -1), IL-8, bFGF (Basic fibroblast growth factor) gibi anjiogenezisi düzenleyen faktörlerin (tablo 1) hücrel mRNA düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (15).

Tablo 1- Önemli Anjiogenik Faktörler ve Etki Mekanizmaları

Faktör	Etki Mekanizması
Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF)	Endotelyal mitojen, Survival faktör, Permeabilite indükleyici
Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF/FGF-2)	Endotelyal mitojen, Anjiogenez indükleyici, Survival faktör, Flk-1 Ekspresyon İndükleyici
FGF-1, FGF-3, FGF-4	Endotelyal mitojen, Anjiogenez indükleyici,
Transforming Growth Factor-alpha (TGF- α)	Endotelyal mitojen, Anjiogenez indükleyici, VEGF ekspresyonu indükleyici
Epidermal Growth Factor (EGF)	Zayıf endotelyal mitojen, VEGF ekspresyonu indükleyici
Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor (HGF/SF)	Endotelyal mitojen, Anjiogenez indükleyici
Transforming Growth Factor-beta (TGF- β)	Endotelyal büyüme inhibisyonu, Anjiogenez indükleyici, VEGF ekspresyonu indükleyici
Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α)	Endotelyal mitojen, Anjiogenez indükleyici, VEGF ekspresyonu indükleyici
Platlet Derived Growth Factor (PDGF)	Endotelyal mitojen, Anjiogenez indükleyici, Endotelyal Motilite Faktörü

Geçici retinal iskeminin hızlı ve persistan TNF- α upregülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Reperfüzyonun erken safhasında TNF- α 'nın kaynağı gangliyon hücreleri, amakrin hücreler ve Müller hücrelerini içeren iç retinadır. Burada salgılanan TNF- α 'nın zararlı veya yararlı bir etken olup olmadığını anlamak için birçok deneysel araştırma yapılmıştır (25). İskemiye maruz, bırakılan glial

hücrelerin TNF- α sentezleyerek retinal gangliyon hücrelerinin ölümünü hızlandırdığı bilinmektedir (39).

1.3. TRANSFORMİNG GROWTH FAKTÖR BETA

Transforming growth Faktör-beta1 (TGF- β 1) 25 kDa ağırlığında homodimer peptittir. Hücre büyümesi, farklılaşması ve ekstraselüler matriks proteinlerinden kollajen, fibronektin ve proteoglikanların sentezinde rol alır. Bu multipotent düzenleyici ajan fibrotik hastalıklar, neoplazmlar ve immün hastalıklarda rol oynar. Ayrıca anjiyogenik etkisi de vardır (tablo 2) (16,41).

Tablo 2- Endojen Anjiogenik ve Anti-anjiogenik Faktörler

Anjiogenik Faktörler	Antianjiogenik Faktörler
VEGF	Trombospondin-1 ve 2
b-FGF	Endostatin
TGF- α ve β	Angiostatin
PDGF	Interferon- α ve β
HGF/SF	İnterlökin-12
TNF- α	Platlet faktör-4 fragmanı
EGF'ler	Angiopoietin-2
Plasental Büyüme Faktörü	İnsan makrofaj metalloestaz
Tissue Factor	TIMP-1 ve 2
IL-6 ve IL-8	Antitrombin III fragmanı
Angiogenin	Vasostatin
Angiopoietin-1	
Siklooksijenaz-2 (COX-2)	
Nitrik Oksit (NO)	

TGF- β büyüme, farklılaşma, ekstraselüler matriks oluşumu ve immünosupresyon gibi birçok hücrel işlemi etkileyen bir protein ailesinin

üyesidir. TGF- β proteini normal hücrelerin yaklaşık hepsinde hücre yüzeyi reseptör kompleksi olarak üretilir (42). TGF- β 'nın 3 izoformu vardır. Bu izoformlar farklı fonksiyonlara ve memelilerde yaklaşık %70 aynı aminoasit dizilimine sahiptir. TGF- β 'lar homeostazisin fizyolojik düzenlenmesinde oldukça önemli bir role sahiptir. TGF- β aktivitesinin azalması over kanseri (43), pankreatik kanser (44), kolon kanseri (45) ve squamöz hücreli kansere (46) neden olabilir. Bu lezyonlardaki etkisi potent büyüme inhibitörü olmasıdır. TGF- β 'nın mutasyondan koruyucu etkisi herediter hemorajik telenjiektazi (47) ve korneal distrofide (48) her zaman geçerlidir. TGF- β 'nın aşırı aktivitesi; glomerülonefrit, skar formasyonu, keloid, pulmoner fibrozis (49) ve karaciğer sirozuna (50) neden olabilir.

TGF- β proteini pre-propeptit olarak salgılanır. Bu pre-propeptit form 25 kDa ağırlığında inaktif formdur. Bu moleküle latent TGF- β denir. Latent TGF- β ekstraselüler boşlukta bulunur ve fizyolojideki değişikliklere yanıt verir. TGF- β 'nın aktivasyonu pro bölgesinin latent peptitten ayrılmasıyla meydana gelir. TGF- β 'yı aktifleştirdiği bilinen ajanlar; asidik ortam, plazmin, plazmin benzeri proteazlar ve $\alpha v\beta 6$ integrindir (41).

TGF- β 'nın yapısı nükleer magnetik rezonans ve X-Ray kristal difraksiyon cihazı kullanılarak belirlenmiştir. 45. ve 47. aminoasitler arasında α_2 makroglobülin vardır ve serum proteinlerini bağlar ve TGF- β 'yı inaktive eder. 67 ve 68. aminoasitleri TGF- β izoformlarının vasküler endotelial hücrelerdeki GPI bağlayıcı proteinlere olan afinitesini belirler (51). 92-98. aminoasitler TGF- β 'nın TGF- β tipII reseptörüne bağlanmasını düzenler, 94. aminoasit direkt olarak TGF- β tipII reseptörüne bağlanır (52).

TGF- β sinyali membran reseptör kompleksi ve taşıyıcı protein sistemi ile iletilir. Bu taşıyıcı protein sistemi β glikan, tipI ve tipII reseptörler, endoglin ve tanımlanmamış glikozil fosfotidil inositol taşıyıcı proteinden oluşur. Endoglin ve β -glikan TGF- β 'nın tipII reseptör kompleksinde ve fosforile olmuş tipI reseptöründe bulunur. TipI ve tipII reseptörler transmembranöz serin/treonin spesifik kinaz ile etkileşerek intraselüler molekülleri fosforile ederler. İntraselüler sinyal iletimi için Smad protein ailesinin üyeleri Smad 2 ve Smad 3'ün direkt fosforile edilmesi ve Smad 4 ile kompleks form oluşturması gerekmektedir. Bu kompleks, nükleustan direkt olarak geçer ve diğer faktörlerin gen transkripsiyonunu regüle eder. Zıt olarak Smad 7; Smad 2 ve 3'ün fosforilasyonu ile TGF- β 'nın aşırı stimülasyonuna negatif feedback yapar. TGF- β sinyalleri Smad proteinleri ile etkileşerek aktivatör ve repressör kompleksler oluşturur ve MAP Kinaz yoluyla ileri düzenleyici rol oynar (53).

TGF- β komponentlerinin mutasyonu sinyal iletiminde değişikliklere neden olarak sık görülen hastalıklara neden olabilir (tablo3) .

Tablo 3- TGF- β Sisteminin Genetik Hastalıkları

Hastalık	Gen mutasyonu
Camurati- Engelmann	Latency Associated Peptide
Korneal Distrofiler	Big-h3
Hereditör Hemorajik Telenjektazi TipI	Endoglin
Hereditör Hemorajik Telenjektazi TipII	Aktivin Reseptör Kinaz 1
Otozomal Dominant Juvenil Polipozis	Smad 4 morfojenik Protein Reseptör I

Camurati-Engelmann hastalarında latency associated peptidinde 3 aminoasitten birinde mutasyon mevcuttur. Bunun sonucunda TGF- β sentez bozukluğu, immatür kemik formasyonu ve osteoblast ve osteoklast seviyelerinde azalma görülür (54).

TGF- β İnduced Gen (β ig)-h3 mutasyonunda korneal morfogenezisteki değişiklikler nedeniyle meydana gelen 6 adet otozomal dominant korneal distrofi tanımlanmıştır. Bunlar Groenouw korneal distrofi tipI, Granüler korneal distrofinin süperfizyal varyantı, Lattice korneal distrofisi tipI ve tipIIIa, Avellino korneal distrofisi ve Reiss-Buckler korneal distrofisidir (55). β ig-h3'ün mutasyonu protein self polimerizasyonunda ve/veya diğer korneal komponentlere yanlış bağlanmasına neden olarak anormal depozitlerin gözlenmesine neden olur (56).

Hereditör hemorajik telenjektazi (HHT) tipI veya Osler-Weber-Rendu hastalığı Endoglin gen mutasyonu sonucu görülür. HHT tipII de ise aktivin reseptör kinaz I mutasyonu tespit edilmiştir (57).

Familiyal otozomal dominant juvenil polipozis hastalarının bir kısmında Smad 4 gen mutasyonu tanımlanmıştır. Hastalığın taşıyıcısı diğer ailelerde ise Bone Morfojenik Protein Reseptörü I geninde mutasyon saptanmıştır (58). Bu reseptör T β RI benzeri bir membran reseptörüdür. T β RII mutasyonları kolon poliplerinin %90'ında ve gastrik kanserlerin %70'inde saptanmıştır. Bu hastalarda DNA replikasyonu hataları meydana gelir. İlave olarak kolorektal ve pankreatik kanserlerin %30-50'sinde Smad 4 mutasyonu saptanmıştır (59). Tüm bu bulgular TGF- β 'nın hücre büyümesi ve gelişmesindeki rolünü desteklemektedir.

Sonuç olarak TGF- β pleotropik ve sıklıkla karşıt etkiler gösterir. Bir kısım hücre tiplerince inaktif formda üretilir. Bu hücreler arasında trombositler, endotel hücreleri, T hücreleri ve aktive makrofajlar yer alır. Bu faktörün fonksiyonel olabilmesi için proteolitik olarak parçalanması gerekir. TGF- β kültürlerde birçok epitel hücresi için büyümeyi inhibe edici faktör olsa da mezanşimal hücrelerin proliferasyonu üzerine değişken etkileri vardır. Düşük konsantrasyonlarda Platellet Derived Growth Faktör (PDGF)' nin salınım ve yapımını uyarır ve bu yüzden mitojenik etkisi vardır. Fakat yüksek konsantrasyonlarda büyümeyi inhibe edici özelliğindedir, çünkü PDGF reseptörlerinin ekspresyonunu bloke eder. TGF- β aynı zamanda fibroblast kemotaksisini ve bu hücrelerce kollajen ve fibronektin üretimini uyarırken, metalloproteinazlarca hücre dışı matriksin yıkımını inhibe eder. Bütün bu etkiler fibrogenesis lehinedir ve TGF- β kronik iltihabi olaylarda fibrozis gelişmesinden sorumlu tutulmaktadır (60).

1.4. İNTERLÖKİN-6

IL-6, çeşitli hücrelerde birçok biyolojik aktivitesi olan bir sitokindir. IL-6 geni 7. insan kromozom kolu üzerinde yer almaktadır. IL-1 ve TNF'nin etkisiyle mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar, epitel hücreleri ve aktive T hücreleri tarafından sentez edilen glikoprotein yapısında bir sitokindir. Fibrinojen, hemopeksin, alfa-1 kimotripsin, alfa-2 makroglobulin gibi akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin, hepatositler tarafından sentezine neden olmaktadır. T hücrelerinin çoğalma ve farklılaşmaları, sitotoksik T lenfositlerin farklılaşması, natural killer hücre aktivitesinin arttırılması etkileri arasındadır. Makrofaj farklılaşmasının

uyarılmasında rol alır ve pirojenik etkisi vardır. Karaciğer hücrelerinde akut faz cevabı oluştururlar. Hematopoeze katkıda bulunurlar. α ve β olmak üzere iki ayrı reseptörü vardır (61).

İL-6 primer olarak immün ve inflamatuvar sistemi düzenleyen pleitropik bir sitokindir. İL-6; T ve B lenfositlere, monosit ve makrofajlara, fibroblastlara, vasküler düz kas hücrelerine ve endotelial hücelere etkisinin yanı sıra mezengiyal ve tübüler epitel hücrelerine de etki eder (62). İL-6'nın bazı biyolojik etkileri şunlardır:

1. STAT3 transkripsiyon faktörünü aktive eder.
2. Doku faktörü, Monosit Kemotaktik Protein 1, Matriks Salgılayıcı Enzim ve makrofajlardaki düşük dansiteli lipoprotein reseptörlerinin ekspresyonunu artırır.
3. Trombosit agregasyonunu artırır.
4. Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu artırır.
5. Hepatositlerde yapılan fibrinojen ve C-Reaktif proteinin yapımını artırır (63,64).

İL-6 adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu ve diğer sitokinlerin endotelial hücrelerden salınımını düzenler. Bu sitokinlerden İL-1 β ve TNF- α inflamatuvar cevapta potenttir ve TNF- α pozitif feedback ile İL-6 üretimini artırır. Zıt olarak İL-6'nın antiinflamatuvar özellikleri ve antiapoptotik özellikleri karaciğer transplantasyonu modellerinde gösterilmiştir (65).

Bununla birlikte endojen İL-6'nın doku hasarı ve inflamasyondaki rolleri iskemi-reperfüzyonda araştırılmıştır. Serebral iskemi-reperfüzyon İL-6'nın hızlı salınımına neden olur. İL-6 eksik deneklerde serebral İskemi-Reperfüzyonda(İ-

R) survey daha düşük bulunmuş; bu bulgu endojen İL-6'nın beyni İ-R hasarından koruduğunu desteklemektedir (66). Zıt olarak, barsak İ-R'unda inflamatuvar cevap İL-6 defektif deneklerde anlamlı olarak azalmıştır (67). Bu sonuç İL-6'nın azalmış sekresyonu nedeniyle meydana gelir. Son yayınlar endojen İL-6'nın HMG-CoA redüktaz inhibitörü etkisi nedeniyle deneysel renal İ-R hasarında koruyucu olduğunu göstermiştir (68). Bununla zıt olarak İ-R'un indüklediği İL-6 ekspresyonunun azalması bakteriyel lipopolisakkarit verilmiş ratlarda renoprotektif etki göstermektedir. Heemann ve arkadaşlarının yaptığı çalışma başta olmak üzere bazı çalışmalarda İL-6'nın idrar düzeyi renal transplantasyon yapılmış hastalarda akut renal yetmezliğin gelişimini artırmaktadır (69). Deneysel renal İ-R'da İL-6 düzeyleri anlamlı olarak artmakta ve soğuk iskemide İL-6 mRNA ekspresyonu tübüllerde ve glomerüllerde azalmaktadır. Bu bulgular sonucunda endojen İL-6'nın renal İ-R'da hasar, disfonksiyon ve inflamasyondaki rolü net olarak açıklanamamıştır (70).

İL-6 GP-130 sitokin ailesine üye olan multifonksiyonel bir sitokindir. İL-6 beyindeki nöronlardan, mikrogliyalardan ve glial hücrelerden, orta serebral arter oklüzyonu veya quinolinic asidin intrastriatal enjeksiyonu sonrası salgılanır (71). İL-6 iskemi sonrası *invivo* çalışmalarda serebral nöronları N-metil-D-Aspartatın indüklediği hücre hasarından korur. *İn vitro* olarak retinal ganglion hücrelerini ve dorsal kök ganglion hücrelerinin hasarını engeller ve kortikal hücre kültürünü NMDA'nın indüklediği hücre hasarından korur. Bununla birlikte son yayınlarda İL-6 eksik farelerde optik sinir hasarı veya glutamatla indüklenmiş hücre hasarında İL-6'sı normal olan farelerle karşılaştırılınca elde

edilen bulgular İL-6'nın nörodejeneratif rolü olduğunu desteklemektedir(72). Ek olarak İL-6'nın artmış plazma düzeyleri felç geçirmiş hastalarda kötü nörolojik sonuçlarla birlikte. Bu nedenle İL-6 nöronal hasarda hastalığı komplike etmektedir (72).

İ-R hasarında retina ganglion hücrelerini de içeren retinanın iç tabakalarında dejenerasyon meydana gelir ve bu da görme defektlerine neden olur. Retinal İ-R hasarının patofizyolojisinin açığa çıkarılması, retinal nöronların korunması için terapötik stratejilerin geliştirilmesi açısından önemlidir. İ-R hasarında İL-1 β , TNF- α , İFN- γ , TGF- β ve İL-6'nın seviyesinin arttığı ve İL-1 β 'nin iç retina tabakalarındaki dejenerasyona aracılık ettiği birçok çalışmada rapor edilmiş (73), bununla birlikte İ-R'da İL-6 ve diğer sitokinlerin rolü açıklığa kavuşturulamamıştır.

Klinik çalışmalarda IL-6; etyolojisi bilinmeyen üveitlerde, pars planitte, sarkoidozda, juvenil romatoid artritte, Behçet hastalığında, Fuchs heterokromik iridosiklitinde, akut retinal nekrozda, toksoplazmoziste ve AIDS'de yüksek olarak bulunmuştur (74).Yapılan bir çalışmada eksojen IL-6'nın retinayı iskemi-reperfüzyon hasarından koruduğu gösterilmiştir (71).

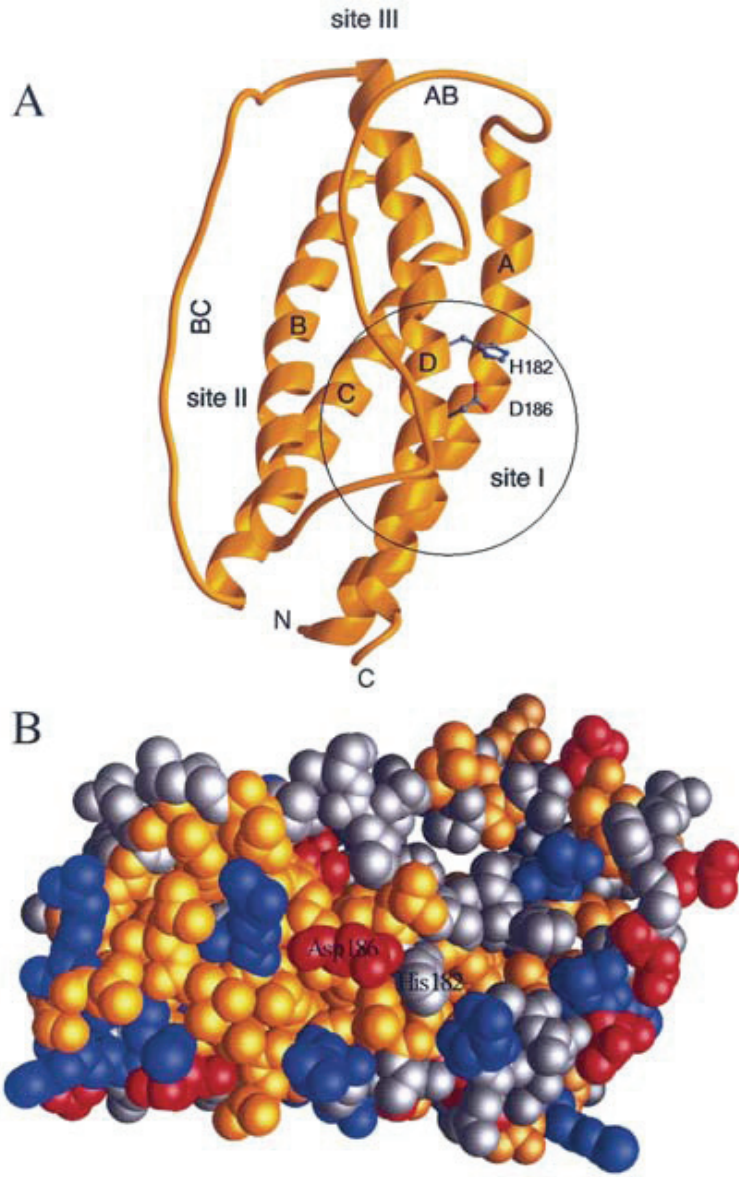
1.5. İNTERLÖKİN-11

23 kD ağırlığında, 199 amino asitten oluşmuş hematopoezis ve lenfopoeziste rol alan bir mediatördür. İlk kez 1990 yılında SR Paul ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (75). Hematopoeziste regülatör rol oynadığı düşünülmüştür. Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu rol oynadığı saptanmıştır. Kuenzler KA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bağırsak iskemisi sonrası intestinal absorbtif

fonksiyonları önemli ölçüde artırmıştır (76). Moreland L ve arkadaşları İL-11 in proinflamatuvar sitokinleri ve Nitrik Oksit seviyelerini azalttığını bildirmişlerdir (77). Kimura ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada İL-11 in kardiyoprotektif etkisini göstermişlerdir (78).

Rekombinant İL-11 E. Coli'den rekombinant DNA teknolojisiyle üretilmektedir. Oprelvekin (Neumega, Wyeth, ABD) jenerik ismiyle piyasada bulunabilmektedir. Trombosit infüzyonu gerektiren kemik iliği baskılayıcı kemoterapi alan nonmyeloid malignansileri olan hastalarda kullanılmaktadır. Böbrek yoluyla atılır, yarılanma ömrü yaklaşık 7 saattir. Doz: Kemoterapinin bitişinden 6-24 saat sonra günlük 50µg/kg subkutan uygulanır. Tedavi trombosit sayısı 50000/mm³ oluncaya kadar veya en fazla 21 gün sürdürülür. Yan etkiler: Atriyal aritmi, senkop, taşikardi, periferik ödem, baş ağrısı, baş dönmesi, bitkinlik, geçici görme bulanıklığı, papil ödem, mide bulantısı, kusma, mukozit, diyare, kilo kaybı, dispne, farenjit, plevral effüzyon, nötropenik ateş görülebilir (79).

Rekombinant insan İL-11 178 aminoasitli 18 kDa ağırlığında pleitropik bir polipeptittir (şekil 2). Mezenkimal dokular tarafından sentezlenir. Klinikte trombositopeni hastalarına megakaryopoiezis stimülanı olarak verilir. Oral, gastrointestinal mukozanın tekrarlayan irradiasyonu ve 5-fluorourasil hasarında TNF-α ve İL-1β ekspresyonunu azaltmasıyla koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir (79).



Şekil 2- İL-11' in üç boyutlu yapısı

Rekombinant İL-11'in biyolojik aktivitesi proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , İL-1 β ve nitrik oksit sentezini inhibe etmesi, hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunu stimüle etmesi ve bağ dokuyu koruyucu etkisi sonucu görülür (79).

İL-11; İL-6, leukemia İnhibitory Factor, onkostatın M ve Siliyer nörotropik Faktör gibi sitokinleri içeren sitokin ailesi üyesidir. İL-11 etkisini hegzamerik yapıda reseptör kompleksi aracılığıyla gösterir. Bu kompleks, 2

molekülden oluşur; İL-11R ve gp130. En çok etkisi hematopoietik sistem üzerine görülür. Bununla birlikte radyasyon ve kemoterapiyi içeren birçok ajanla gerçekleştirilen barsak epitel hasarında da koruyucu etkisi görülmektedir. Henüz irradiasyon konusunda koruyucu mekanizma net olarak anlaşılamamıştır (79).

Rekombinant İL-11 şiddetli trombositopenisi olan hastalarda güçlü bir terapötik seçenektir. İL-11 direkt olarak hematopoietik kök hücreler ve megakaryosit progenitörleri üzerine stimulan olarak etki eder ve megakaryosit matürasyonunu artırarak trombosit üretimini artırır. İL-11'in beyin, spinal kord nöronları, barsak ve testis üzerine de biyolojik aktivitesi vardır. Klinik çalışmalarda kanser hastalarında kemoterapi sonrasında gelişen trombositopenide 50 µg/kg/gün subkutan dozlarda iyi tolere edildiği ve etkili olduğu gösterilmiştir (79).

İL-11 pleiotropik bir sitokindir. Biyolojik etkileri çeşitli dokular ve hücre tiplerinde gösterilmiştir. Fonksiyonel aktivitesini gp130 sinyal transdüksiyonu ünitesi aracılığıyla gösterir ve hematopoietik immün modülatör ve epitelyal koruyucu olarak gösterir. rhİL-11 rekombinant DNA teknolojisi ile E. Koliden elde edildiği için kronik gastrointestinal inflamasyonda subkutan uygulanması uygun bulunmuştur. rhİL-11 inflamasyonu baskılayıcı etkisini İFN γ , TNF- α , İL-1 β , İL-6 ve nitrik oksit sentaz ekspresyonunu azaltarak yaptığı, kronik kolit oluşturulmuş HLA-B27 + ratlarda gösterilmiştir. Ayrıca antiinflamatuvar etkisi Epidermal Growth Faktörü artırması ve sitoablatif tedavi ve irradiasyon sonrası apoptozisi önlemesi ve barsak epitelyal çoğalmasını sağladığı ve barsak mukozal bariyeri artırması yoluyla yaptığı bulunmuştur. İnvitro çalışmalar İL-

11 in transforme olmamış barsak epitel hücrelerinde epitelyal dinamikleri modüle ettiği ve normal büyüme kontrolünün ve tamirinin bir parçası olduğu gösterilmiştir (80).

Bununla birlikte rhIL-11 mukozal inflamasyon ve kolitisli hayvan modellerindeki histolojik çalışmalarda intestinal transport ve kontraktilite üzerinde de olası etkileri bulunduğu birkaç çalışmada bildirilmiştir (81). Bir çalışmada İL-11'in Heat Shock Proteini 25'in ekspresyonunu artırarak intestinal epitelyal hasarlarda sitoprotektif etkisini oksidatif stresi azaltarak etki gösterdiği ve epitelyal viabiliteyi artırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte yinede İL-11 tedavisinin intestinal epitelyal transport üzerine etki mekanizması tam açıklanamamıştır (82). Human İL-11 multiple fizyolojik özellikler gösteren hematolojik, immünmodülatuar ve epitelyal etkileri olan bir sitokindir. İnsan İL-11'in rekombinant formu olan oprelvekin subkutan olarak kemoterapinin indüklediği trombositopenide kullanılmaktadır. Bu rekombinant form orijinal proteinden amino terminalindeki bir prolinin yokluğu ile ayrılır (83).

Preklinik çalışmalar İL-11 tedavisinin gastrointestinal sistem epiteli üzerine rejeneratif ve absorpsiyonu artırıcı etkilerini göstermiştir. Rat modellerinde kemoterapiyle kombine radyasyonun indüklediği trombositopenide subkutan İL-11 tedavisinin intestinal epitel iyileşmesini artırarak surveyi artırdığı gösterilmiştir. Daha ileri araştırmalar bu sonuçların İL-11'in kemoterapi/radyoterapi ile indüklenen apoptozisi inhibe ederek ve kripta hücrelerinin proliferasyonunu artırarak etki ettiğini göstermiştir. Bir çalışmada HLA B-27+ transgenik ratlarda invivo ve invitro iyon transport modelinde normal ratlarla karşılaştırıldığında oprelvekinin proabsorptif

fonksiyonları iyon transportunu artırarak iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu bulgular oprelvekinin intestinal sıvı absorpsiyonunu artırdığını desteklemektedir. Başka bir çalışmada HLA B-27+ ratlarda oprelvekinin TNF- α , İL-1 β ve İFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinlerin mRNA seviyelerini azaltarak etkilediği kolonik dokuda gösterilmiştir (83).

Oprelvekinin oral kullanımının parenteral kullanıma göre potansiyel olarak sistemik etkisini azaltabileceği için oral enterik multipartikül bir formülasyon geliştirilmiştir. Oprelvekinin oral uygulanması ile İL-11'in lümendeki interstisyel epitel hücrelerindeki İL-11 α resptörlerine olan lokal etkisi sistemik uygulamada görülmez. Buda oral uygulanan oprelvekinin güvenlik ve tolerabilitesinin subkutan oprelvekine göre daha fazla olduğunu desteklemektedir. Plasebo kontrollü bir çalışmada HLA B-27+ ratlarda oral uygulanan oprelvekin tedavisinin diareyi ve jejunum ve kolonik myeloperoksidaz aktivitesini (inflamatuvar hücre infiltrasyonu belirteci) azaltıcı, histolojik lezyon skorunu geliştirici ve düz kas fonksiyonlarını iyileştirici etkisi anlamlı olarak artmış bulunmuş. Ek olarak pseudomonas sepsisli nötropenik rat modelinde oral uygulanan oprelvekin tedavisiyle sistemik enfeksiyon, mukozal bütünlük ve toplam survey kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlar oral uygulanan oprelvekinin epitelyal bütünlüğü koruduğu, sistemik enfeksiyonu azalttığı ve toplam surveyi iyileştirdiğini göstermiştir (84).

Oral uygulanan oprelvekinin biyoyararlanımı için yapılan bir çalışmada Fisher ratları ve HLA B-27+ ratlara intravenöz ve oral oprelvekin verilerek serum İL-11 seviyelerine bakılmış. Oral oprelvekin verilen deneklerde sistemik dolaşımda İL-11 artışı ve karaciğerde mRNA sentezi artışı saptanmamıştır (85).

Literatürde yapılan taramada İL-11 ile ilgili yapılmış az sayıda oftalmolojik çalışma bulunmuştur. Gamache DA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada insan konjonktival hücrelerinde İL-11 saptanmıştır (86). Rekombinant İL-11 ile yapılmış herhangi bir oftalmolojik çalışma saptayamadık. Ancak daha önce başka doku ve organlarda yapılmış iskemi-reperfüzyon çalışmalarında yayınlanan başarılı sonuçlar retinal iskemide, dolayısıyla iskemik retina hastalıklarında rekombinant İL-11 in faydalı bir ajan olabileceğini düşündürmüştür.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda İmmünoloji Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı'nın katkıları ile gerçekleştirildi. Ortalama ağırlığı 500 gram olan 15 adet albino kobay çalışmaya alındı. Çalışma süresince denekler, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (FÜTDAM) uygun besleme şartlarında ve özel kafeslerde tutuldu. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun izni ile, hayvanların her iki gözü kullanılarak çalışma gerçekleştirildi. Denekler randomize olarak 3 gruba ayrıldı. Her denek tartıldıktan sonra, plasebo ve sham grubu dışındaki deneklere günlük tek doz 5µg/kg İL-11 intraperitoneal olarak verildi. Her gruba standart hazırlık, anestezi ve cerrahi teknik uygulandı.

Gruplar:

Kobaylar, her bir grupta 5 denek olacak şekilde randomize üç gruba ayrıldı.

1.Grup (Plasebo grubu): Bu gruptaki kobaylara çalışma süresince sadece günlük 0.1 cc salin solüsyonu intraperitoneal verildi, iki gün sonra hayvanlar dekapite edildi ve her iki göz enükle edildi (n=5).

2.Grup (Sham grubu) : Kobaylara her iki gözde 90 dakika basınçla indüklenen iskemi peryodundan 1 saat önce ve 2 günlük reperfüzyon süreci boyunca 0.1 cc salin solüsyonu intraperitoneal olarak verildi, iki gün sonra hayvanlar dekapite edildi ve her iki göz enükle edildi (n=5).

3.Grup (Rekombinant İL-11 Grubu): Kobaylara her iki gözde 90 dakika basınçla indüklenen iskemi peryodundan 1 saat önce ve 2 günlük reperfüzyon süreci boyunca 5µg/kg Rekombinant İL-11 intraperitoneal olarak verildi, iki gün sonra hayvanlar dekapite edildi ve her iki göz enükle edildi (n=5).

Anestezi Tekniđi:

Anestezi ve analjezi uygulamasında intramüsküler 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı. İşlem öncesi deneklerin kornealarına % 0.5'lik proparakain hidroklorid damlatıldı, deneklere solunum ve kan basıncı desteği sağlanmadı.

İskemi-Reperfüzyon indüksiyonu ve Cerrahi Teknik:

Bütün deneklerin iki gözü çalışma kapsamına alınmış olup, her bir gruptaki deneklerin bir gözü biyokimyasal inceleme için, diğer gözü ise histopatolojik inceleme için kullanıldı. Deneklerde retinal iskemi oluşturmak amacıyla, 1 litrelik salin solüsyonu şişesine ucunda insulin iğnesi olan serum seti takılıp bu insulin iğnesi ile temporal limbustan ön kamaraya girildi. Göz içi basıncı 150 mmHg olacak şekilde serum şişesi aniden 204 cm yüksekliğe çıkartılarak tespit edildi ve bu yükseklikte 90 dakika süreyle tutuldu. Doksan dakikalık basınçla indüklenmiş iskemi periyodu sonrası serum şişesi göz seviyesine indirilerek, göz içi basıncı normal seviyeye düşürüldü ve takiben iğne ön kamaradan çekildi.

Doksan dakikalık iskemi periyodundan sonra denekler 2 gün reperfüzyon periyodunda bırakıldı. Rekombinant İL-11 grubuna iskemi periyodundan 1 saat önce ve 2 günlük reperfüzyon süreci boyunca 5µg/kg Rekombinant İL-11 intraperitoneal olarak verildi. Sham grubuna iskemi oluşturmadan 1 saat önce ve reperfüzyon periyodu içerisinde 0.1 cc salin solüsyonu intraperitoneal verildi. Plasebo grubuna 2 gün boyunca sadece günlük 0.1 cc salin solüsyonu intraperitoneal verildi.

İkinci günün sonunda tüm deneklere intrakardiyak 50 mg/kg thiopental sodyum (Pentothal Sodium, Abbot, Türkiye) verilerek kobaylar sakrifiye edildi ve gözler enükle edildi. Her grupta deneklerden enükle edilen gözlerden biri biyokimyasal işleme, diğer göz de histopatolojik işleme tabi tutulmuştur.

Histopatolojik inceleme için alınan gözler, % 10'luk formaldehid içine hızla konularak patoloji laboratuvarına iletildi. İmmünolojik inceleme için alınan gözler ise, enükleasyon sonrası buz kabı üzerine konup, bisturi yardımıyla pars plana bölgesinden ikiye ayrıldı. Vitreus dokusu sellülöz süngerler ile temizlendikten sonra, ameliyat mikroskobu yardımıyla retina dokusu koroidden ayrılarak tüplere kondu ve derin dondurucuda -80°C'de biyokimyasal inceleme gününe kadar muhafaza edildi. İmmünoloji ve patoloji laboratuvarına gönderilen gözlerin hangi gruba ait olduğu belirtilmedi.

Homojenizasyon:

Derin dondurucudan çıkarılan dokuların tartımı yapıldı ve soğuklukları muhafaza edilerek cam tüplere aktarıldı. Dokuların üzerine 1/20 oranında dilüsyon olacak şekilde soğuk fosfat tamponu (0.2 M, pH:7.4) eklendi. Daha sonra dokular yine soğuklukları muhafaza edilerek, Ultra Turrax T25 Basic (IKA Labortechnik, Germany) homojenizatöründe 16.000 devir/dakika hızda homojenize edildi. Elde edilen homojenat +4°C'de soğutmalı santrifüjde 45 dakika süreyle 3500 rpm'de santrifüj edilerek süpernatantı ayrıldı..

İmmünolojik Değerlendirme:

İmmünolojik incelemede homojenize edilmiş retina dokusundaki, TNF- α , İL-6 ve TGF- β düzeyleri Triturus Grifols (Spain) tam otomatik ELİSA cihazında Biosource Rat TNF- α immunoassey kiti (Cat. No: KRC3012, USA)

kullanılarak retinal TNF- α düzeyleri (pg/ml), Biosource Rat TGF- β ELİSA kiti (Cat. No: KAC1688, USA) kullanılarak retinal TGF- β (pg/ml) düzeyleri, Biosource Rat İL-6 ELİSA kiti (Cat. No: KRC0061, USA) kullanılarak retinal İL-6 (pg/ml) düzeyleri ölçülmüştür.

Histopatolojik Değerlendirme:

Histopatolojik incelemeye alınan gözler % 10'luk formalin solüsyonunda tespit edildi. Tespit sonrası optik sinir ve kornea tepesinden sagittal olarak bir bistüri yardımıyla tüm göz küresini içerecek şekilde ikiye bölünerek rutin doku takip işlemine tabi tutuldu. Daha sonra dokular parafin bloklara gömülüp 5 mikronluk kesitler alındı. Kesitler Hemotoksilen-Eosin boyası ile boyandı. Preparatlar Olympus Bx50 marka ışık mikroskobu ile randomize olarak incelendi. Histopatolojik incelemede tüm preparatlarda optik diskin nazal tarafında diskten 2 mm mesafedeki iç pleksiform tabaka kalınlığı oküler mikrometre yardımıyla ölçüldü. Retinal tabaka boyunca internal limitan membran ve iç pleksiform tabakalarda 10 büyük büyütme alanında PNL infiltrasyonu değerlendirilerek, ortalama standart sapmaları hesaplandı ve 400X büyütmede fotoğrafları çekildi.

İstatistiksel Analiz:

Çalışmanın istatistiksel analizi, SPSS for Windows (ver. 13.0) paket programı ile yapıldı. Her grubun kendi içindeki karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Yapılan çalışmanın, her bir gruptaki TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeyleri için anlamlı olup olmadığı Kruskal-Wallis testi ile analiz edildi. İstatistiksel değerlendirmede $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

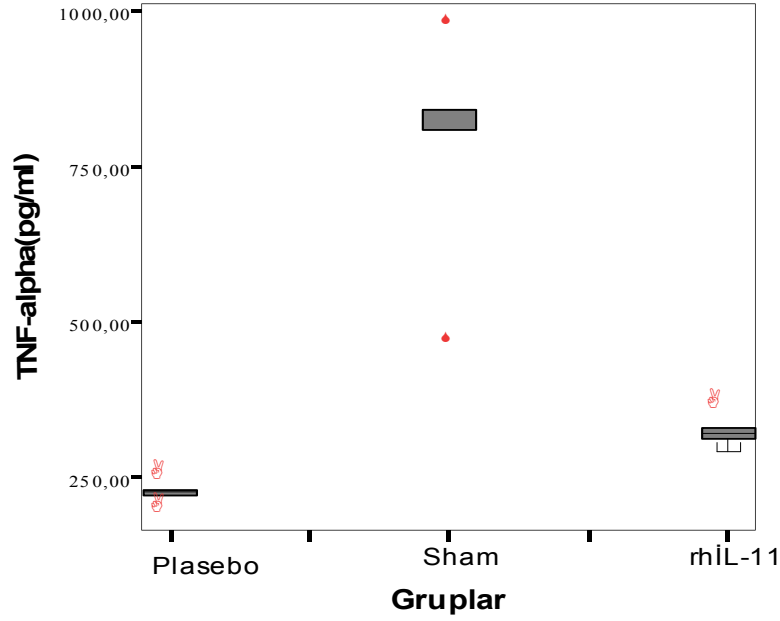
Biyokimyasal İnceleme:

Biyokimyasal incelemede, retina TNF- α , TGF- β , İL-6 düzeyleri her bir grup için ayrı ayrı değerlendirilerek ortalama ve SD değerleri tespit edildi.

Retinal TNF- α düzeyleri plasebo grubuna göre sham grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu (p=0.008), plasebo grubu ile rhIL-11 grubu arasında da anlamlı fark bulundu (p=0.008). rhIL-11 grubunda TNF- α düzeyleri sham grubuna göre anlamlı düşük bulundu (p=0.008) (tablo 4) (şekil 3).

Tablo 4- Bütün gruptaki retinal TNF- α düzeyleri

Gruplar	Ortalama \pm SD	Minimum	Maksimum
Plasebo	222.80 \pm 19.14	194	247
Sham	787.80 \pm 191.13	467	980
rhIL-11	321.60 \pm 26.26	289	361

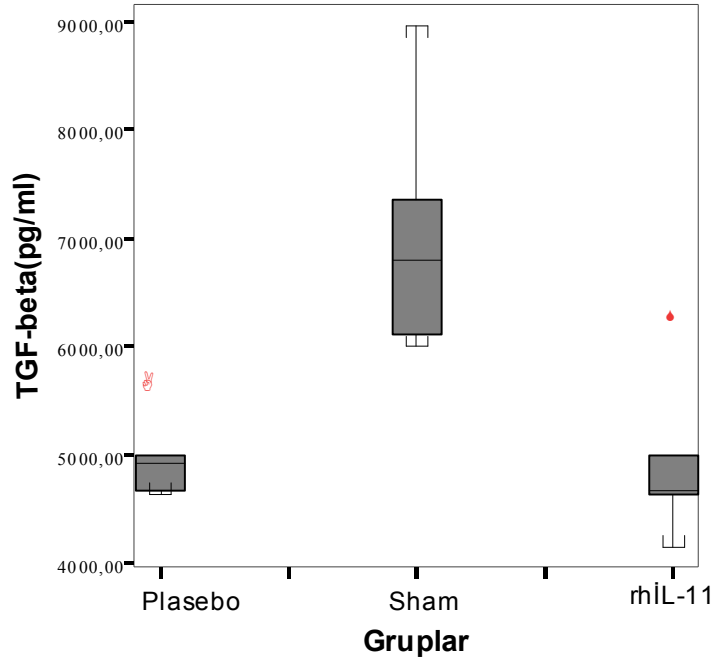


Şekil 3- Retinal TNF- α düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Retinal TNF- α düzeyleri rHIL-11 grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p=0,008$) bulunmuşken, plasebo grubu ile de anlamlı fark bulundu ($p=0,008$)

Retinal TGF- β düzeyleri plasebo grubuna göre sham grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.008$) plasebo grubu ile rHIL-11 grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0.690$). rHIL-11 grubunda TNF- α düzeyleri sham grubuna göre anlamlı düşük bulundu ($p=0.032$) (tablo 5) (şekil 4).

Tablo 5- Bütün gruplardaki retinal TGF- β düzeyleri

Gruplar	Ortalama \pm SD	Minimum	Maksimum
Plasebo	4640.0 \pm 385.12	4640	5600
Sham	7048.0 \pm 1201.46	6000	8960
rHIL-11	4944.0 \pm 784.14	4160	6240

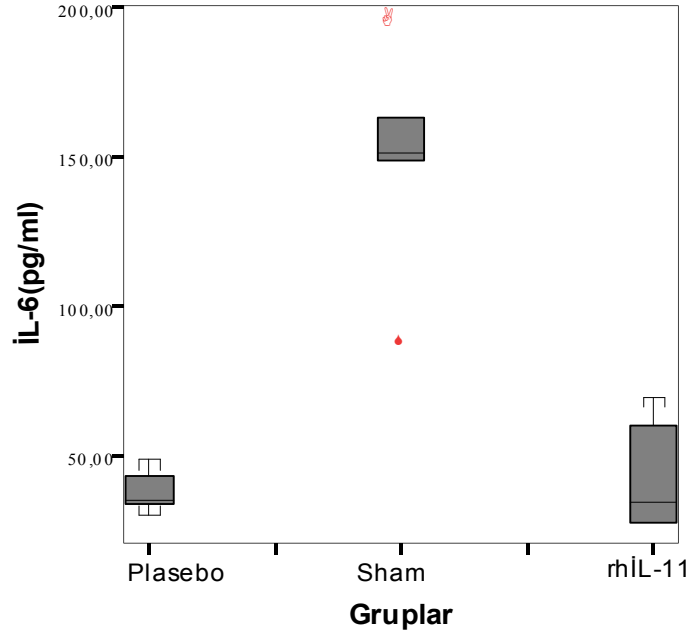


Şekil 4- Retinal TGF- β düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Retinal TGF- β düzeyleri rHIL-11 grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p=0,032$) bulunmuşken, plasebo grubu ile anlamlı fark bulunmadı ($p=0,690$).

Retinal IL-6 düzeyleri plasebo grubuna göre sham grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.008$), plasebo grubu ile rHIL-11 grubu arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=1.00$). rHIL-11 grubunda TNF- α düzeyleri sham grubuna göre anlamlı düşük bulundu ($p=0.008$) (tablo 6) (şekil 5).

Tablo 6- Bütün gruptaki retinal IL-6 düzeyleri

Gruplar	Ortalama \pm SD	Minimum	Maksimum
Plasebo	37.90 \pm 7.62	29.6	48.4
Sham	148.70 \pm 38.99	86.9	194
rHIL-11	43.46 \pm 19.78	27.1	69.4



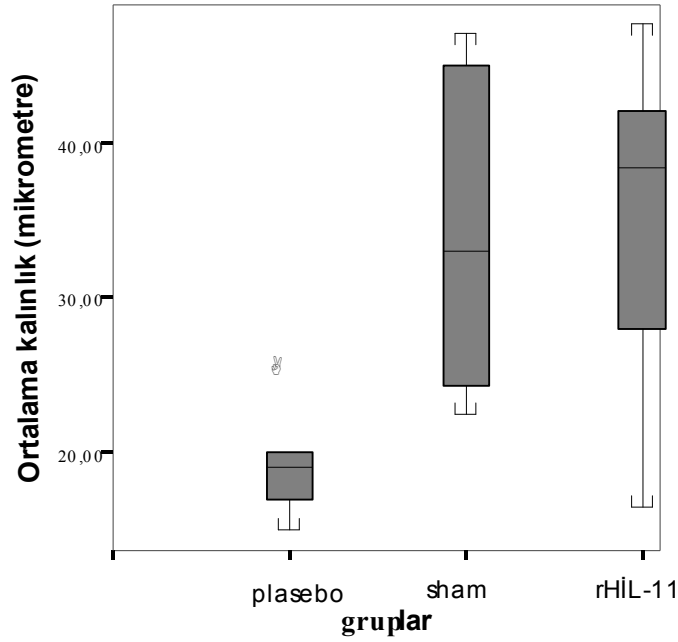
Şekil 5- Retinal İL-6 düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Retinal İL-6 düzeyleri rhİL-11 grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p=0,008$) bulunmuşken, plasebo grubu ile anlamlı fark bulunmadı ($p=1,00$).

Histopatolojik İnceleme:

Histopatolojik olarak incelediğimiz retina kesitlerinde iç pleksiform tabakanın kalınlığı, rhİL-11 grubunda hem plasebo hem de sham grubuna göre anlamlı olarak farklı bulunmamıştır (sırasıyla $p=1.000$, $p= 0.095$). Ancak sham grubunda plasebo grubuna göre anlamlı olarak daha kalın ölçülmüştür ($p=0.032$) (tablo 7) (şekil 6).

Tablo 7- Bütün gruplardaki iç pleksiform tabaka kalınlıkları (mikrometre)

Gruplar	Ortalama \pm SD	Minimum	Maksimum
Plasebo	19.2 \pm 3.76	15	25
Sham	34.36 \pm 11.36	22.5	47
rhİL-11	34.50 \pm 12.34	16.5	47.6

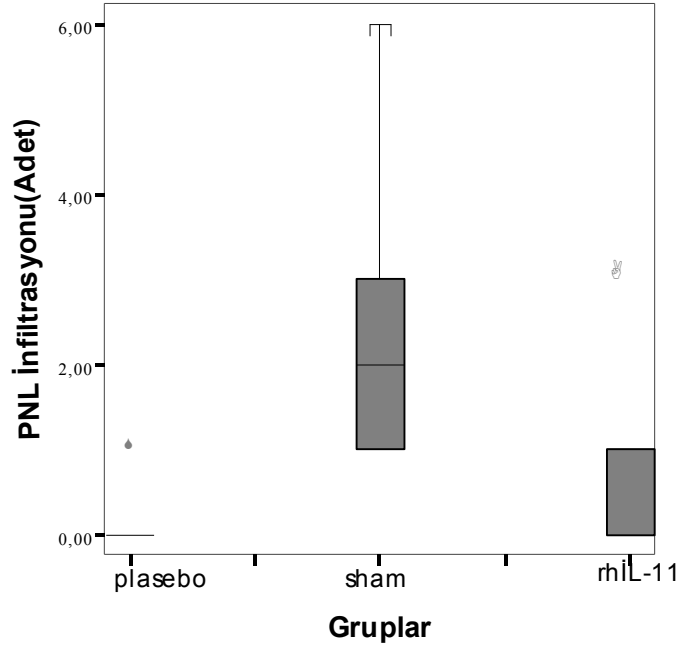


Şekil 6- İç pleksiform tabaka kalınlığının gruplar arasında karşılaştırılması. Retinal kalınlık rhIL-11 grubunda sham grubu ve plasebo grubuna göre anlamlı farklı bulunmamıştır ($p=1,00$, $p=0,095$).

Retinanın iç tabakalarındaki (internal limitan membran ve iç pleksiform tabaka) PNL infiltrasyonu, sham grubunda plasebo grubuna ($p=0.012$) ve rhIL-11 grubuna göre anlamlı artmış bulunurken ($p=0.032$), rhIL-11 grubunda plasebo grubuna göre anlamlı fark bulunamadı ($p=0.189$) (tablo 8) (şekil 7).

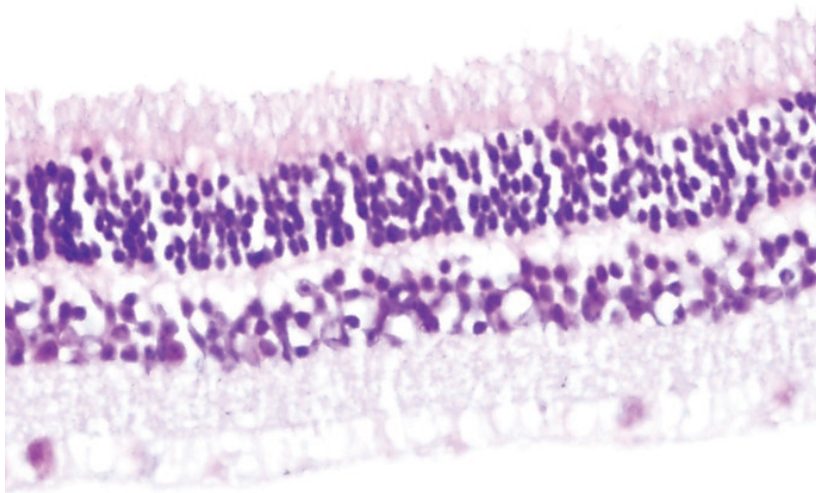
Tablo 8- Bütün gruplardaki polimorfonükleer lökosit (PNL) infiltrasyonunun (adet olarak) değerleri.

Gruplar	Ortalama \pm SD	Minimum	Maksimum
Plasebo	0.2 \pm 0.44	0	1
Sham	2.40 \pm 2.07	1	6
rhIL-11	1.00 \pm 1.22	0	3

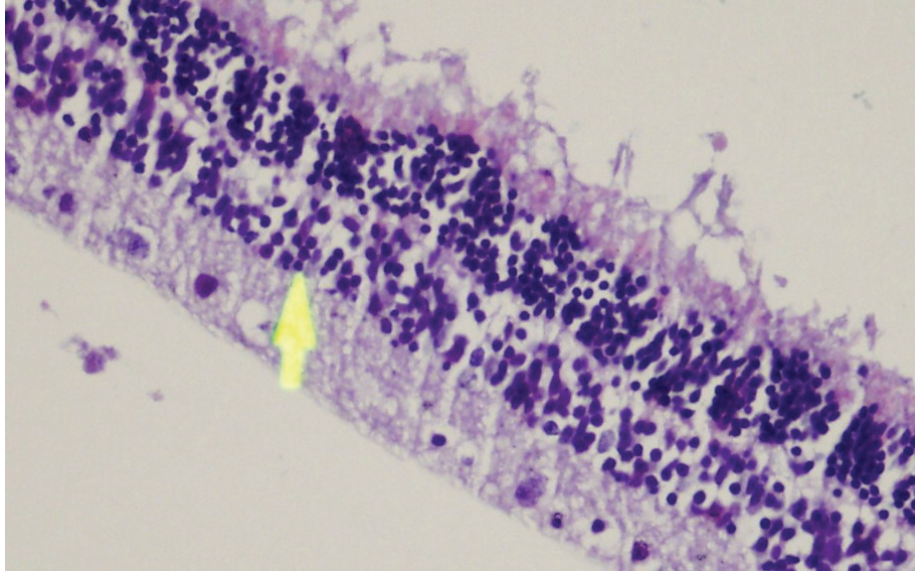


Şekil 7- PNL İnfiltrasyonunun gruplar arasında karşılaştırılması. PNL infiltrasyonu rhIL-11 grubunda sham grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p=0,032$), plasebo grubu ile anlamlı fark bulunmadı ($p=0,189$).

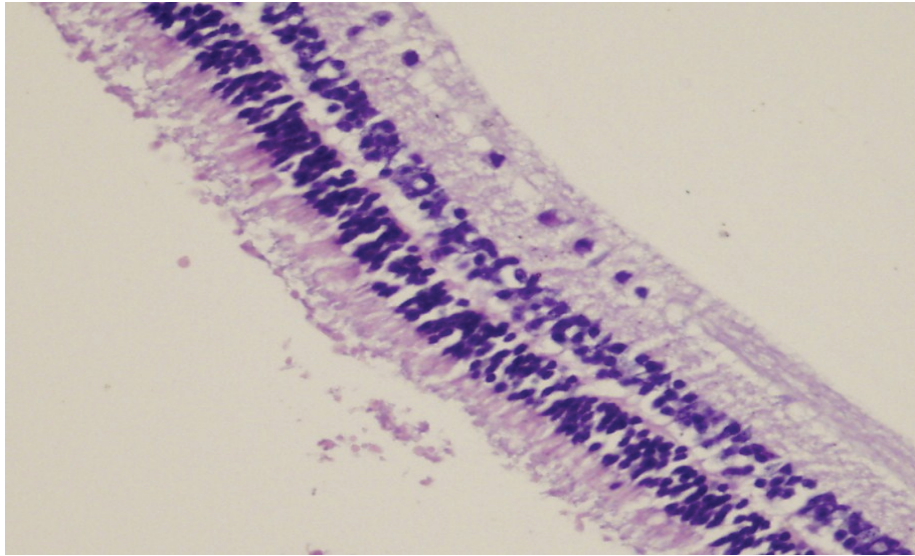
Histopatolojik incelemeye alınan gözlerin 400X büyütmede çekilmiş fotoğrafları şekil 8-10' da izlenmektedir.



Şekil 8- Plasebo grubu kobay retinası sagital kesiti. Salim retina görünümü. (400X)



Şekil 9- Sham grubu kobay retinasında iç pleksiform tabakada (ok) PNL infiltrasyonu. (400X)



Şekil 10- rhIL-11 grubu kobay retinası sagittal kesiti. PNL izlenmemektedir. (400X)

4. TARTIŞMA

İskemi ve reperfüzyon hasarında dokuda ne gibi değişiklikler olduğu, dokularda oluşan hasarın mekanizmaları ve bu hasarda oksijen serbest radikallerinin rolü ve serbest radikal giderici ajanlarının etkinliği konusunda son yıllarda bir çok araştırma yapılmıştır (14, 33, 39). Retinal iskemi, görülme sıklığı ve rölatif olarak etkisiz tedavisi nedeniyle dünyada görme bozukluğu ve körlüğün en sık sebeplerinden biri olmaya devam etmektedir. İskemi, retinanın vazooklusif ve vazoproliferatif hastalıklarında önemli rol oynamaktadır. Diyabetes mellitus, retinal arter ve ven tıkanıklıkları, prematüre retinopatisi, orak hücreli anemi ve gözün enflamatuvar durumları retinada iskemik hasar oluşturmaktadırlar (87). Retinal iskeminin yeterli şiddet ve sürede olması etkilenen hücre ve dokuların ölümü ile sonuçlanır. Etkilenen hücreler öncelikle geri dönüşebilen doku hasarı fazına girerken, iskemi süresi arttıkça hücreler geri dönüşümsüz doku hasarı fazına girerler. Bu hücreler reperfüze edilseler dahi doku hasarı geri dönmez (88). İskemiye takiben gelişen reperfüzyon sırasında, reperfüzyon hasarı olarak adlandırılan bir fenomen ortaya çıkmaktadır. Dokuya tekrar oksijen desteğinin sağlanması ile serbest oksijen radikalleri açığa çıkmakta ve hasar daha çok artmaktadır (88).

Herhangi bir dokuda meydana gelen iskemi sonucu plazma membranında meydana gelen değişiklikler sonucu sodyum kalsiyum iyon dengesi bozulmakta, asidoz, osmotik şok, kromatin kümeleşmesi ve nükleer piknoz meydana gelmektedir. Bu değişiklikler mitokondriyal fosfolipazi aktive ederek ATP üretimini azaltmakta,

kalsiyumun artışı ile mitokondriyal membran disfonksiyonu meydana gelip geri dönüşümsüz hasarlar oluşmaktadır. Bu olaylar endoplazmik retikulumda vezikülasyon, lizozomlarda şişme izlemekte, sonuçta protein ve enzim sızıntısı gelişerek ikincil otoliz oluşmaktadır (88).

İskemi-reperfüzyon hasarından sorumlu patofizyolojik mekanizmalar birlikte ve çoğu zaman birbiriyle ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır (88). Bu mekanizmalar; iskemi sırasında glutamat ve aspartat gibi aminoasitlerin açığa çıkması, enerjiye bağımlı taşıma sistemlerindeki bozulmalar, hücre içi kalsiyumun artması ve bunun sonucunda kalsiyum tarafından yürütülen bazı süreçlerin bozulmasıdır (40). Oksijen serbest radikallerinin, iskemi-reperfüzyon hasarından sorumlu olduğu bağırsak, kalp ve beyin gibi organ çalışmalarında gösterilmiştir (89). Retinanın iskemik hasarında serbest radikallerin rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (6, 33, 39). Serbest radikaller; membran lipidlerini peroksidasyona uğratarak, hücrede proteinlerin, karbonhidratların, nükleik asit ve DNA'nın yapısını değiştirerek, kalsiyum dengesini bozarak, aspartat ve glutamat gibi uyarıcı aminoasitlerin salınımını uyararak doku hasarına yol açmaktadır (30, 33). Reperfüzyona bağlı retinal hasarda serbest radikaller dışında birçok değişik faktör suçlanmaktadır. Bunlar platelet aktive edici faktörün (PAF) uyarılması, lysofosfatidlerin salınımı ve K^+ , Na^+ ve Ca^{+2} iletimindeki bozulmalardır (90). Yoneda ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, İnterlökin 1β 'nin sıçan retinasında oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarında önemli rol oynadığı ve İnterlökin 1β reseptör antagonistleri ile iskemik hasarın engellendiği saptanmıştır (91). Reperfüzyona bağlı retinal bozukluklarda bu faktörlerden bir veya birkaçı tetik çekici faktör olmakla birlikte en sık sorumlu faktör oksijen serbest radikalleridir (92).

Çalışmamızda retinal iskemik hastalıkları simüle etmek için İskemi-Reperfüzyon modelini tercih ederek iskemik hastalıklarda İL-11'in tedavi üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

Retinal iskemi-reperfüzyon modelleri içerisinde yüksek göz içi basıncı ile indüklenmiş retinal iskemi metodu sık kullanılan bir yöntem olmuştur. Osborne ve arkadaşları bu yöntemin ilk kez 1952 yılında Smith ve Baird tarafından kullanıldığını belirtmişlerdir (25). En son hali ile bu yöntemde bir rezervuara bağlı iğne ile ön kamara parasentezi yapılarak göz içi basıncı (GİB) sistolik basıncın (110-120 mmHg) üzerine çıkarılarak, oküler perfüzyon basıncının üzerine çıkılmıştır. Böylece retinal ve uveal dolaşımın obstruksiyonuna bağlı olarak global iskemi oluşturulmuş ve bu durum ERG' nin düzleşmesi, fundusun beyazlaşması, irisin soluklaşması ile de kanıtlanmıştır. Bu metod ile santral retinal arter obstruksiyonu veya akut açı kapanmasındaki aynı patolojik durumlar ortaya konmuştur. Göz içi basıncının geçici olarak yükseltilmesi ile oluşturulan iskemi modelinin, ön kamaraya giren kanülün oluşturabileceği iritis, hücre hasarına bağlı konjesyon, katarakt gelişimi veya kanülün çıkarılması ile ortaya çıkan ani göz içi basıncı düşmesi gibi dezavantajları vardır (93).

Çalışmamızda retinal iskemi modelimizi, kobaylardaki göz içi basıncını sistolik basıncın üzerine çıkartarak gerçekleştirdik. Bu metodu tercih etmemizin nedeni kolay uygulanabilir, geri çevrilebilir, reperfüzyonun kolay başlatılabilir ve kobaylarda rahat uygulanabilir olmasıdır.

Deney hayvanlarında iskemi-reperfüzyon hasarını araştıran birçok çalışma iskemi süresi ile orantılı olarak oluşan histolojik değişiklikleri incelemiştir. Szabo ve arkadaşları oftalmik arter bağlama yoluyla Sprague-Dawley cinsi sıçanlarda yaptıkları

deneyde; 30, 60, 90 dakikalık iskemi oluşturmuşlar ve ışık mikroskobu düzeyinde ilk değişiklikleri 60'ıncı dakikadan başlayarak saptamışlardır (92). Adachi ve arkadaşları Wistar cinsi sıçanlarda göz içi basıncını yükselterek oluşturdukları iskemi modelinde, en kısa iskemi süresini 45 dakika olarak gerçekleştirmişler ve bu sürede iskemiye bağlı histolojik değişikliklerin ortaya çıktığını görmüşlerdir (93).

Bugüne kadar retinal iskemiye değerlendirmek için in vivo ve ex vivo yapılan birçok hayvan çalışmasında vasküler dağılım paterni insanlara en çok benzeyen ratlar, kobaylar ve tavşanlar sık kullanılmıştır. Jampol ve Tielsch melanin pigmentinin iskemik hasarda ortaya çıkan serbest radikalleri temizlediğini ve böylece RPE, Bruch membranı, koroid ve dış retina tabakalarındaki dejeneratif değişiklikleri önleyerek koroid neovaskularizasyonuna yol açacak bir takım predispozan faktörleri ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir (94). Retinal iskemiye bağlı hasar depigmente hayvanlarda pigmente hayvanlara oranla daha fazla olduğu için (95) çalışmamızda albino kobay kullanmayı tercih ettik.

TNF- α retina gangliyon hücrelerinde apoptozisi indükleyen bir mesajcıdır. TNF- α pikogram düzeylerinde nonsitotoksik olarak düşünülmesine rağmen nörodejenerasyon sırasında yaşam sinyallerini susturarak hücre ölümünü indüklemektedir. TNF- α 'nın AIDS hastalarında optik sinirde izlenen aksonal dejenerasyon ve glial değişikliklerden de sorumlu olduğu bilinmektedir (96). TNF- α 'nın tavşanlara intravitreal verilmesi sonucu optik sinirde aksonal hasar meydana getirdiği izlenmiştir ve glokomatoz hasarda iskemik hasar teorisini benimseyen görüş sahiplerine göre TNF- α ve reseptörünün artmış, glokomatöz optik sinir hasarından sorumlu olduğu düşünülmektedir (39). Tüm bu görüşler doğrultusunda glial hücrelerden salgılanan TNF- α 'nın retinal nöronal dokuyu hedef alan önemli bir hasar

verici mesajcı olduğu düşünölmektedir. TNF- α astrositlerdeki nitrik oksit sentetazı indükleyerek nitrik oksit üretimini artırmaktadır. Nitrik oksit O₂⁻ radikali ve peroksinitrit radikali ile etkileşime girerek iskemi-reperfüzyon hasarında hücre membranındaki lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (86). Fontaine ve arkadaşları, iskemi-reperfüzyon hasarına maruz bıraktıkları fare retinalarında TNF- α reseptör 1'in aktivasyonunun hücre ölümünü hızlandırdığını, TNF- α reseptör 2' nin aktivasyonunun nöron koruyucu bir etkiye sahip olduğunu görmüşlerdir (97). Lipid hidroperoksid (LHP) ile tavşanlarda oluşturulan deneysel retina neovaskülarizasyonlarında retinal TNF- α , IL-1, VEGF ve PDGF düzeyleri yüksek tespit edilmiştir (98). Çalışmamızda retinal iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası sham grubunda TNF- α düzeyleri plasebo grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0.008). İskemi-reperfüzyon peryodunda TNF- α 'yı içeren sitokin salgılanması insan lamina kribroza astrositlerinde meydana gelen regölasyona bağılıdır. Ek olarak retinal hücreler ve optik sinir başı astrositleri bu hasara hücre morfolojilerini değiştirerek ve bazal adenil siklaz aktivitesini artırarak cevap vermektedirler. Retinal ganglion hücreleri de iskemik hasara nöronal ölümü hızlandırarak cevap verirler. Retina ganglion hücreleri iskemi sonrası apoptozisi uyarıcı mediyatörleri salgılmaktadır. Aktive olan glial hücreler dış retina tabakalarında benzer mekanizmayla fotoreseptör hücre ölümüne neden olmaktadır. Bu aşamada iskemik hasara uğramış glial hücrelerden TNF- α ve nitrik oksit gibi çözünebilen faktörlerin salgılandığı gösterilmiştir. TNF- α 'nın iskemik hasar sonrası potent inflamatuvar sitokin olduğu bilinmektedir. İnflamatuvar süreçte reaktive makrofajlardan, astrositlerden, mikroglialardan ve retinal glial hücrelerden salınmaktadır. İskemi-reperfüzyon dönemindeki hasar sonucu TNF- α

sekresyonu nitrik oksit ve eksitotoksinleri uyarmakta ve iskemik hasarda rol oynamaktadır (39, 99). TNF- α nitrik oksit sentazı indükleyerek nitrik oksit üretimini artırmaktadır. Nitrik oksit; süperoksit ve peroksinitrit radikalleri ile etkileşime girerek lipid peroksidasyonu ile hücre membran yapısını bozar ve iskemik hasarı meydana getirmektedir (100).

Furuyoshi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada glokomatöz optik disk başında reaktif ısı şok proteini olan α B-crystalin düzeylerinin artmış olduğunu bulmuşlardır (101). Başka bir çalışmada Pena ve arkadaşları glokomatöz optik diskte TGF- β 1 ve TGF- β 2 seviyelerinin arttığını göstermişlerdir. Bu moleküler değişikliklerin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (102). Alice L. Yu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ilk kez insan lamina kribroza astrosit hücre kültüründe α B-crystalin, TGF- β 1 ve TGF- β 2 düzeylerinin iskemi-reperfüzyonda değişimi araştırılmış, bu 3 sitokin de iskemi-reperfüzyonda 12. ve 24. saatlerde düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. TGF- β 'nin nötralizan antikörlerinin kullanımı ile α B-crystalin düzeylerinin azaldığı ve iskemi-reperfüzyon hasarından hücrelerin korunduğu gösterilmiştir (103). Welge-Lussen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada trabeküler ağ ve siliyer kas hücrelerinin TGF- β stimülasyonu ile α B-crystalin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Bu nedenle TGF- β 1 ve TGF- β 2'nin α B-crystalin adındaki ısı şok proteininin potent bir indükleyicisi olduğu belirtilmiş ve iskemi-reperfüzyon hasarında sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (104). Çalışmamızda sham grubunda TGF- β düzeyleri plasebo grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.008$). Daha önceki çalışmalarda α β -crystallin seviyesinin serebral iskemi-reperfüzyon sonrası arttığı gösterilmiştir (103). Başka bir çalışmada α β -crystallin mRNA ve protein sentezindeki artış optik sinir başı astrositlerinde

reperfüzyon fazında gösterilmiştir. Bu molekül iskemi sonrası ortaya çıkan bir ısı şok proteindir. Santral sinir sisteminde HSP70 ve HSP27 molekülleri reperfüzyon peryodunda nöron ve glial hücrelerden mRNA ve protein ekspresyonunu sağlamakta ve bu da TGF- β 1 ekspresyonunu artırmaktadır. TGF- β reaktif oksijen radikallerinin üretimini artırarak iskemi-reperfüzyon hasarına katkıda bulunmaktadır. Bununla birlikte iskemi-reperfüzyona aracılık eden diğer faktörlerin de optik sinir başında TGF- β ekspresyonunu artırarak iskemik hasarı derinleştirdiği saptanmıştır (103).

Sanchez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada retinal iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası rat retinasında İL-6 ED1+ hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir. ELİSA ve Relatif Kantitatif Real-Time polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile endojen İL-6 protein ve mRNA'sının iskemi-reperfüzyon sonrası arttığı belirlenmiştir. Ek olarak ekzojen İL-6'nın iskemi-reperfüzyon sonrası retina ganglion hücrelerini koruduğu kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar endojen İL-6 artışının iskemi-reperfüzyon hasarı sonrası iç retina tabakalarının (ki bunlar retina ganglion hücreleridir) savunma mekanizması olduğunu desteklemektedir ve mikroglial-fagositik hücreler bu mekanizmada önemli rol oynamaktadır (18).

Orta serebral arter oklüzyonu (MCAO) sonrası gri cevherdeki nöronlarda, entopedinküler çekirdek ve mikroglial hücrelerde İL-6'nın artışı gösterilmiştir (105). MCAO sonrası iskemik dönemde fare önbeyin mikroglia ve nöronlarında İL-6 ekspresyonu daha önceki yayınlarda rapor edilmiştir (106). İlave olarak stereotaksik olarak quinolinik asit ile oluşturulmuş striatal dokunun nöronal dejenerasyonunda glial dokuda İL-6 ekspresyonu da daha önce rapor edilmiştir (107). Bu nedenle nöral dokunun elemanları olan

nöronlar, mikroglialar-fagositik hücreler ve diğer glial hücrelerin hasar sonrası İL-6 ekspresyonu yapabildikleri ancak bu hücrelerin farklı tipte İL-6 eksprese ettikleri bilinmektedir. Zıt olarak önceki çalışmalarda iskemi sonrası nöronal dokuda İL-6 geniş bir dağılımda bulunmuşken Sanchez ve arkadaşlarının çalışmasında İL-6 ekspresyonunun küçük bir kısmı nöronlar ve retinada, ancak daha büyük bir kısmının mikroglia-fagositik hücrelerde olduğu bildirilmiştir (18). Bunun nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Bunun olası bir açıklaması; iskemi-reperfüzyon hasarının beynin kan akımı ile direkt ilişkisinin olduğu bir bölge olamaması ve hasara cevabın transsinaptik dejenerasyondan dolayı olmasıdır. İlave olarak bu çalışmada bazı dokuların nörodejenerasyon sırasında mikroglial aktivasyon gösterdiği ve mikroglial-fagositik hücrelerin İL-6 sentezi yaptıkları gösterilmiştir (108). İL-6'nın iç retina tabakalarında nöroprotektif etki yaptığı başka çalışmalarla da desteklenmiştir: 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) ile hasar oluşturulmuş dopaminerjik nöronlarda, hipokampal kainik asit enjeksiyonuyla agreve edilmiş hipokampal dejenerasyonda, indüklenmiş apoptozis ve frontoparietal korteksin kriyo ile hasarlandırılmasında İL-6 eksikliği hasarı daha fazla artırmaktadır (109). Daha önceki çalışmalarda ratlarda kalıcı MCAO sonrası İL-6'nın bölgeye spesifik nöroprotektif etki yaptığı ve ratlarda striatal kolinerjik nöronlarda NMDA'nın indüklediği eksitotoksositeye yol açtığı gösterilmiştir (110). Ancak bu bulgularla zıt olarak İL-6 eksik ratlarda Fischer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada İL-6'nın retinal hasarı artırabileceği gösterilmiştir (111). Bu uyuşmazlığın nedeni açıklanamamıştır. Yine de İL-6'nın retina üzerine olan nöroprotektif

mekanizmasının İL-6 etkisinin İL-6 reseptörü ve bunun etki ettiği glikoprotein GP130 ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (18). Retinal iskemi- reperfüzyon yapılan kobaylarda sham grubunda plasebo grubuna göre İL-6 düzeylerini anlamlı olarak yüksek tespit ettik (0.008). Sappington ve arkadaşları iskemik hasarda retina ganglion hücrelerindeki yapısal değişiklikleri incelemiş ve apoptozisi indükleyen Bax ve Bcl-2 protein ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir. Bax ve Bcl-2 proteinlerinin artışı retina ganglion hücrelerinde artmış basınca bağlı hasarda rol oynamaktadır (112). Daha önceki çalışmalar glia hücrelerinden salınan nitrik oksit ve TNF- α 'nın retina ganglion hücrelerinin ölümünü hızlandığını göstermiştir (113). İL-6 ve İL-6 benzeri sitokin retina ganglion hücrelerinin yaşam süresini Bax ve Bcl-2 gen ekspresyonunu düzenleyerek yaptığı ve iskemik olaylarda TNF- α ve nitrik oksit seviyelerinin artışı nedeniyle arttığı gösterilmiştir (114).

İL-11'in iskemik hastalıklardaki kullanımını birçok yayında bildirilmiştir. rhİL-11 ile yapılan bir çalışmada TNF- α , İL-6 ve İL-1 β düzeylerinin barsak iskemisi sonrası arttığı bildirilmiş ve rhİL-11 ile bu sitokinlerin düzeylerinin azaltıldığı gösterilmiştir. Bunun olası mekanizmasının MHC Klas I ve II antijen sunucu hücrelerinin barsak hastalıklarında arttığı ve İL-11'in bu hücreleri inhibe etmesi olabileceği öne sürülmüştür. Bir diğer olası mekanizma ise NF κ B ekspresyonu ile düzenlenen İFN- γ gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve bu yolla inflamatuvar sitokinler olan TNF- α , İL-1 β , İL-6 düzeylerinin baskılanmasıdır (115). Başka bir yayında İL-11 düzeyinin artışıyla TGF- β seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir. Bunun da İL-11 ile İFN- γ seviyelerinin azalması nedeniyle olduğu bildirilmiştir. Yine aynı şekilde İL-

11 ile GM-CSF seviyesinin azalmasının da olası mekanizmada rol oynayabileceği bildirilmiştir (116). Çalışmamızda İL-11 verilen grupta plasebo grubuna göre TNF- α düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunurken (0.008) TGF- β ve İL-6 düzeylerinde anlamlı fark bulunmadı (p=0.690 ve p=1.00). İL-11 verilen grupta TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeyleri sham grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (p=0.008, p=0.032, p=0.008). Daha önceki çalışmalarda İL-11'in insan ve hayvan modellerinde multiple fizyolojik özelliklerini göstermiştir. İnvivo ve invitro modellerde İL-11'in birçok inflamatuvar medyatör üzerine inhibitör etkili olduğu gösterilmiştir. Bu medyatörler TNF- α , İL-12, İL-1, TGF- β ve Nitrik oksidi içermektedir. Ayrıca aktive T hücrelerinden İFN- γ ve İL-2 salınımı da inhibe etmektedir (117). Bir başka çalışmada İL-11'in inflamasyonu baskıladığı ve proinflamatuvar sitokinlerden İFN- γ , TNF- α , İL-1 β , İL-6 ve indüklenebilir nitrik oksit sentazı kronik kolitli ratların kolonlarında azalttığı gösterilmiştir (83).

Daha önce yapılan çalışmalarda iskemi-reperfüzyonun retinada meydana getirdiği hasar retinanın kalınlığı değerlendirilerek ölçülmüştür (118). Hughes yaptığı çalışmada basınçla indüklenmiş iskemik retina hasarında iç retinal dolaşımın tamir mekanizmalarındaki yetersizlik nedeniyle iç retina tabakalarının (özellikle iç pleksiform tabaka) hasara daha duyarlı olduğunu bildirmiştir (122). İskemiye maruz bırakılan retinalar incelendiğinde ciddi ödem, vakuolize boşluklar ve lökosit infiltrasyonu daha çok retinanın iç tabakalarında izlenmiştir (119). Çalışmamızda retinal iskemi-reperfüzyon hasarının bir göstergesi olarak tüm gruplarda iç pleksiform tabakanın kalınlığını veya bir başka deyişle retinal ödemi değerlendirdik. Buna göre sham grubunda plasebo grubuna göre iç pleksiform

tabakayı daha kalın ölçtük ($p=0.003$). Ancak rhIL-11 grubunda sham grubuna göre iç pleksiform tabakanın kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık ($p=0.08$). Bu durumda rhIL-11'in retinal kalınlığı yani retinal ödemi azaltmadığını düşünmekteyiz. Bunun nedeni retinal ödemin azaltılabilmesi için gereken reperfüzyon ve tedavi süresinin 7 günden daha fazla olmasıdır (122).

Reperfüzyon periyodu boyunca retinal venlerde ve kapillerlerde önemli miktarlarda lökosit birikmektedir. Reperfüzyondan 12 saat sonra lökosit kümelenmesi maksimum değerine ulaşmaktadır. Reperfüzyon hasarında nötrofil lökositlerden salgılanan proteolitik enzimler, PAF ve araşidonik asit metabolitleri doku zedelenmesine yol açmaktadır. Vasküler endoteldeki adhezyon molekülleri bloke edilerek lökosit-endotel iletişimi bozulabilmekte ve iskemi sonrası retinal atrofi önlenebilmektedir (120). Çalışmamızda gruplar ışık mikroskobu ile histopatolojik olarak incelenmiş ve birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Buna göre reperfüzyonun ikinci gününde retinal iç tabakalarda (iç limitan membran ve iç pleksiform tabakalar) rhIL-11 grubunda sham grubuna göre lökosit infiltrasyonu daha az olarak izlenmiştir. ($p=0.032$). Tsujikawa ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı çalışmada 60 dakika retinal iskemi sonrası reperfüzyon başlamadan 5 dakika önce P selektin veya ICAM-1 monoklonal antikorunu uygulanarak lökosit infiltrasyonu araştırılmış ve her iki antikorun uygulandığı grupta lökosit birikiminin engellendiği gözlenmiştir (115). Yapılan bir başka çalışmada antiinflamatuvar bir ajan olan Takrolimus (FK 506) ile 60 dakikalık retinal iskemi sonrası gelişebilen lökosit birikiminin belirgin olarak azaldığı izlenmiştir (121).

Sonuç olarak antiinflamatuvar bir sitokin olan İL-11'in iskemireperfüzyon hasarında önemli rolü olduğu ve rhİL-11'in iskemik retina hasarında TNF- α , TGF- β ve İL-6 düzeylerini anlamlı olarak düşürücü etkisi ve retinanın iç tabakalarındaki PNL infiltrasyonunu önleyici etkileri iskemik retina hastalıklarında kullanılabilir bir ajan olduğunu düşündürmektedir.

Bu bulgular sonucunda ve daha ileri çalışmalarla rhİL-11'in retinal iskemik hasarı azaltmada başarılı bulunabileceği ve klinik uygulamada başarılı sonuçlar elde edilebileceği görüşündeyiz.

5. KAYNAKLAR

1. Barry MC, Grace PA. Ischaemia reperfusion injury. *Surgery* 1997; 3: 68-72.
2. Granger DN, Hallwart ME, Parks DA. Ischemia reperfusion injury role of oxygen derived free radicals. *Acta Physiol Scand* 1986; 548: 47-53.
3. Kavas G. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. *T Klin Fizyoloji* 1989; 9: 1-8.
4. Kuriyama H, Waki M, Nakagawa M, Tsuda M. Involvement of oxygen free radicals in experimental retinal ischemia and the selective vulnerability of retinal damage. *Ophthalmic Res* 2001; 33: 196-202.
5. Ural E, Yararcan M, Küçükgül SC, Aziz E. Büyüme faktörleri ve retinopatiler. *T Oft Gaz* 2002; 32: 552-560.
6. Conger JD, Weil JV. Abnormal vascular function following ischemia-reperfusion injury. *J Invest Med* 1995; 43: 4311-4342.
7. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235: 442-447.
8. Rastinejad F, Polverini PJ, Bouck NP. Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. *Cell* 1989; 56: 345-355.
9. Sapolsky RM. Cellular defenses against excitotoxic insults. *J Neurochem* 2001; 76: 1601-1611.
10. Lewden O, Garcher C, Assem M, Morales C, Rochette L, Bron AM. Changes of the inducible heat shock protein 70 mRNA level in rat retina after ischemia and reperfusion. *Ophthalmic Res* 1998; 30: 291-294.
11. Li Y, Roth S, Laser M, Ma JX, Crosson CE. Retinal preconditioning and the induction of heat-shock protein 27. *Invest Ophthalmol. Vis Sci* 2003; 44: 1299-1304.
12. Yokoyama A, Oshitari T, Negishi H, Dezawa M, Mizota A, Adachi-Usami E. Protection of retinal ganglion cells from ischemia-reperfusion injury by electrically applied Hsp27. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 3283-3286.
13. Yoneda S, Tanihara H, Kido N, Honda Y, Goto W, Kara H, Miyawaki N. Interleukin-1 beta mediates ischemic injury in the rat retina. *Exp Eye Res* 2001; 73: 661-667.
14. Curfs JH, Meis JF, Hoogkamp-Korstanje JA. A primer on cytokines:

- sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 742-780.
15. Yoshida S, Yoshida A, Ishibashi T. Induction of DL-8, MCP-1, and bFGF by TNF-alpha in retinal glial cells: implications for retinal neovascularization during post-ischemic inflammation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004; 242: 409-413.
 16. Roberts AB, Sporn MB. The transforming growth factor- β s. In: Sporn MB, Roberts AB, editors. *Peptide Growth Factors and Their Receptors. Handbook of Experimental Pharmacology. Vol. 1, Chapter 8*, Berlin, Heidelberg: Springer 1995; 419-472.
 17. Ahn KS, Sethi G, Aggarwal BB. Simvastatin potentiates TNFalpha-induced apoptosis through the down-regulation of NFkappa B-dependent antiapoptotic gene products: Role of I kappa B alpha kinase and TGF-beta-activated kinase-1. *Journal of Immunology* 2007; 178: 2507-2516.
 18. [Sanchez RN](#), [Chan CK](#), [Garg S](#), [Kwong JM](#), [Wong MJ](#), [Sadun AA](#), [Lam TT](#). Interleukin-6 in retinal ischemia reperfusion injury in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 4006-4011.
 19. [Czupryn MJ](#), [McCoy JM](#), [Scoble HA](#). Structure-function relationships in human interleukin-11. Identification of regions involved in activity by chemical modification and site-directed mutagenesis. *J Biol Chem* 1995; 13: 978-985.
 20. Miller SLH. *Embryology and Anatomy*. Miller SLH (ed): *Parsons' Diseases of the eye*. Churchill Living-stone, Edinbourg 1984; 3-19.
 21. Newell FW. *Anatomy and Embryology*. Newell FW (ed): *Ophthalmology*. The C. V. Mosby Company, St. Louis 1986; 65-75.
 22. Snell RS. *Development of the Eye and the Ocular Appendages*. Snell RS (ed): *Clinical Anatomy of the Eye*. Blackwell, Boston 1989; 1-15.
 23. Toru N, Akaike A, Yasuyoshi H, Zhang S, Kashii S, Honda Y. (). Lomerizine, a Ca^{2+} channel blocker, reduces glutamate-induced neurotoxicity and ischemia/reperfusion damage in rat retina. *Exp Eye Res* 2000; 70: 475-484.

24. Nayak MS, Kita M, Marmor MF. Protection of rabbit retina from ischemic injury by superoxide dismutaz and catalase. *Invest Ophthamol Vis Sci* 1993; 34: 2018-2022.
25. Osborne NN, Casson RJ, Wood JPM, Chidlow G, Graham M, Melena J. Retinal ischemia: mechanisms of damage and potential therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 2004; 23: 91-147.
26. Cadenas E. Biochemistryof oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 79-110.
27. Robbins SL, Kumar V. Basic pathology 4 th ed. Güneş kitabevi, Ankara 1990; 1-350.
28. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1.Baskı, Mimoza yayınları, Konya 1995; 1-115.
29. Hayreh SS, Weingeist TA. Experimental occlusion of the cantral retinal arter of the retina: retinal tolerance time to acute ischemiea. *Br J Ophthalmmol* 1980; 64: 818-825.
30. Schmidt M, Giessl A, Laufs T, Hankeln T, Wolfrum U, Burmester T. How does the eye breathe? Evidence for neuroglobin-mediated oxygen supply in the mammalian retina. *J Biol Chem* 2003; 278: 1932-1935.
31. Kuwabara T, Cogan D. Retinal glycogen. *Arch Ophthalmmol*, 1961; 66: 96-104.
32. Jaatela M. Biologic activities and mechanisms of action of tumor necrosis factor-a/cachectin. *Lab Invest* 1991; 64: 724-742.
33. Kwon B, Youn BS, Kwon BS. Functions of newly identified members of the tumor necrosis factor receptor/ligand superfamilies in lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1999; 11: 340-345.
34. Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. *Cellular and Molecular Immunology Philadelphia: WB Saunders Company* 1994; 240-61.
35. Moreland LW. Inhibitors of tumor necrosis factor for R.A. *J Rheumatol* 1999; 57: 7-15.
36. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Falrynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr A (eds). *Basic and Clinical Immunology* 1993; 11: 571-611.
37. Kollias G, Douni E, Kassiotis G, Kontoyiannis D. On the role of tumor

- necrosis factor and receptors in models of multiorgan failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Immunol Rev* 1999; 169: 175-194.
38. Gravestien LA, Borst J. Tumor necrosis factor receptor family members in the immune system. *Semin Immunol* 1998; 10: 423-434.
 39. Tezel G, Wax MB. Increased production of tumor necrosis factor- α by glial cells exposed to simulated ischemia or elevated hydrostatic pressure induces apoptosis in cocultured retinal ganglion cells. *J Neurosci* 2000; 20: 8693-8700.
 40. Sharma SH, Aim P, Westman J. Nitric oxide and carbon monoxide in the brain pathology of heat stress. *Prog Brain Res* 1998; 115: 297-333.
 41. Massagué J. The transforming growth factor- β family. *Annu Rev Cell Biol* 1990; 6: 597-641.
 42. Massagué J, Blain SW, Lo RS. TGF- β signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000;103: 295-309.
 43. Wang D, Kanuma T, Mizunuma H, Takama F, Ibuki Y, Wake N, et al. Analysis of specific gene mutations in the transforming growth factor- β signal transduction pathway in human ovarian cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 4507-4512.
 44. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, Moskaluk CA, da Costa LT, Rozenblum E, et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 1996; 271: 350-353.
 45. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, et al. Inactivation of the type II TGF- β receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995; 268: 1336-1338.
 46. Garrigue-Antar L, Muñoz-Antonia T, Antonia SJ, Gesmonde J, Vellucci VF, Reiss M. Missense mutations of the transforming growth factor β type II receptor in human head and neck squamous carcinoma cells. *Cancer Res* 1995; 55: 3982-3987.
 47. McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW, Gallione CJ, Baldwin MA, Jackson CE, et al. Endoglin, a TGF- β binding protein of endothelial

- cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet* 1994; 8: 345-351.
48. Mashima Y, Yamamoto S, Inoue Y, Yamada M, Konishi M, Watanabe H. Association of autosomal dominantly inherited corneal dystrophies with Big-h3 gene mutations in Japan. *Am J Ophthalmol* 2000; 130: 516-517.
 49. Khalil N, Greenberg AH. The role of TGF- β in pulmonary fibrosis. *Ciba Found Symp* 1991; 157: 194-207.
 50. Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming growth factors β 1 and alpha in chronic liver disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 933-940.
 51. Zhang KQ, Polga D, Salzman SA, Burmester JK. Amino acids 67 and 68 of TGF- β regulate binding to a GPI-linked membrane protein on vascular endothelial cells. *Cytokines Cell Mol Ther* 2001; 7: 25-30.
 52. Hart PJ, Deep S, Taylor AB, Shu Z, Hinck CS, Hinck AP. Crystal structure of the human T β R2 ectodomain - TG β 3 complex. *Nat Struct Biol* 2002; 3: 203-208.
 53. Dennler S, Goumans MJ, ten Dijke P. Transforming growth factor beta signal transduction. *J Leukoc Biol* 2002; 15: 731-740.
 54. Saito T, Kinoshita A, Yoshiura Ki, Makita Y, Wakui K, Honke K, Niikawa N, Taniguchi N. Domain-specific mutations of a transforming growth factor-(TGF) β 1 latency-associated peptide cause Camurati-Englemann disease because of the formation of a constitutively active form of TGF- β 1. *J Biol Chem* 2001; 276: 11469-11472.
 55. Wrana JL, Attisano L, Carcamo J, Zentella A, Doody J, Laiho M, Wang XF, Massagué J. TGF beta signals through a heteromeric protein kinase receptor complex. *Cell* 1992; 71; 1003-1014.
 56. Streeten BW, Qi Y, Klintworth GK, Eagle RC Jr, Strauss JA, Bennett K. Immunocalization of β ig-h3 protein in 5q31-linked corneal dystrophies and normal corneas. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 67-75.
 57. Johnson DW, Berg JN, Baldwin MA, Gallione CJ, Marondel I, Yoon S-J et al. Mutations in the activin receptor-like kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2. *Nat Genet* 1996; 13: 189-195.

58. Howe JR, Bair JL, Sayed MG, Anderson ME, Mitros FA, Petersen GM, et al. Germline mutations of the gene encoding bone morphogenetic protein receptor 1A in juvenile polyposis. *Nat Genet* 2001; 28: 184-187.
59. Parsons R, Myeroff LL, Liu B, Wilson JK, Markowitz SD, Kinzler KW, Vogelstein B. Microsatellite instability and mutations of the transforming growth factor β Type II receptor gene in colorectal cancer. *Cancer Res* 1995; 55: 5548-5550.
60. Kathleen C. Flanders, Maryland James K. Burmester. Medical Applications of Transforming Growth Factor- β . *CM&R* 2003; 1: 13-20.
61. Galley HF, Webster NR. The immune- inflammatory cascade. *Br J Anaesth* 1996; 77: 11-16.
62. Fukatsu A, Matsuo S, Yuzawa Y, Miyai H, Futenma A, and Kato K. Expression of interleukin 6 and major histocompatibility complex molecules in tubular epithelial cells of diseased human kidneys. *Lab Invest* 1993; 69: 58-67
63. Biswas P, Delfanti F, Bernasconi S, Mengozzi M, Cota M, Polentarutti N, et al. Interleukin-6 induces monocyte chemotactic protein-1 in peripheral blood mononuclear cells and in the U937 cell line. *Blood* 1998; 91: 258-265
64. Ikeda U, Ikeda M, Oohara T, Oguchi A, Kamitani T, Tsuruya Y, Kano S. Interleukin 6 stimulates growth of vascular smooth muscle cells in a PDGF-dependent manner. *Am J Physiol* 1991; 260: 1713-1717.
65. Sun Z, Klein AS, Radaeva S, Hong F, El Assal O, Pan HN, et al. In vitro interleukin-6 treatment prevents mortality associated with fatty liver transplants in rats. *Gastroenterology* 2003; 125: 202-215.
66. Herrmann O, Tarabin V, Suzuki S, Attigah N, Coserea I, Schneider A, Vogel J, Prinz S, Schwab S, Monyer H. Regulation of body temperature and neuro-protection by endogenous interleukin-6 in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 406-415.
67. Cuzzocrea S, De Sarro G, Costantino G, Ciliberto G, Mazzon E, De Sarro A, Caputi AP. IL-6 knock-out mice exhibit resistance to splanchnic artery occlusion shock. *J Leukoc Biol* 1999; 66: 471-480.

68. Yokota N, O'Donnell M, Daniels F, Burne-Taney M, Keane W, Kasiske B, Rabb H. Protective effect of HMG-CoA reductase inhibitor on experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Nephrol* 2003; 23: 13-17.
69. Heemann U, Szabo A, Hamar P, Muller V, Witzke O, Lutz J, Philipp T. Lipopolysaccharide pretreatment protects from renal ischemia/reperfusion injury: possible connection to an interleukin-6-dependent pathway. *Am J Pathol* 2000; 156: 287-293.
70. Takada M, Nadeau KC, Shaw GD, Marquette KA, and Tilney NL. The cytokine-adhesion molecule cascade in ischemia/reperfusion injury of the rat kidney: inhibition by a soluble P-selectin ligand. *J Clin Investig* 1997; 99: 2682-2690.
71. Dihne, M, Block, F. Focal ischemia induces transient expression of IL-6 in the substantia nigra pars reticulara *Brain Res* 2001; 889: 165-173.
72. Fisher, J, Mizrahi, T, Schori, H. Increased post-traumatic survival of neurons in IL-6-knockout mice on a background of EAE susceptibility *J Neuroimmunol* 2001; 119: 1-9.
73. Hangai, M, Yoshimura, N, Honda, Y. Increased cytokine gene expression in rat retina following transient ischemia. *Ophthalmic Res* 1996; 28, 248-254.
74. De BoerJH, van Haren MAC, de Vries- Knoppart WAEJ, Baarsma GS, deJong PVTM, Postema FJ. Analysis of IL-6 levels in human vitreous fluid obtained from uveitis patients with proliferative intraocular disorders an deye bank eyes. *Curr Eye Res* 1992; 11: 181-186.
75. Paul SR, Bennett F, Calvetti JA, Kelleher K, Wood CR, O'Hara RM Jr and et al. Molecular cloning of a cDNA encoding interleukin 11, a stromal cell derived lymphopoietic and hematopoietic cytokine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7512-7516.
76. Kuenzler KA, Pearson PY, Schwartz MZ. IL-11 pretreatment reduces cell death after intestinal ischemia-reperfusion. [J Surg Res](#) 2002; 108: 268-272.

77. Moreland L, Gugliotti R, King K, Chase W, Weisman M, Greco T et al. Results of a phase-I/II randomized, masked, placebo-controlled trial of recombinant human interleukin-11 (rhIL-11) in the treatment of subjects with active rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2001; 3: 247-52.
78. [Kimura R](#), [Maeda M](#), [Arita A](#), [Oshima Y](#), [Obana M](#), [Ito T](#), [Yamamoto Y](#), [Mohri T](#), [Kishimoto T](#), [Kawase I](#), [Fujio Y](#), [Azuma J](#). Identification of cardiac myocytes as the target of interleukin 11, a cardioprotective cytokine. *Cytokine* 2007; 38: 107-115.
79. Cotreau MM, Stonis L, Strahs A, Schwertschlag US. A multiple-dose, safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamic study of oral recombinant human interleukin-11 (oprelvekin). *Biopharm Drug Dispos* 2004; 25: 291-296.
80. Peterson RL, Wang L, Albert L, Keith JC Jr, and Dorner AJ. Molecular effects of recombinant human interleukin-11 in the HLA-B27 rat model of inflammatory bowel disease. *Lab Investig* 1998; 78: 1503-1512.
81. Keith JC Jr, Albert L, Sonis ST, Pfeiffer CJ, and Schaub RG. IL-11, a pleiotropic cytokine: exciting new effects of IL-11 on gastrointestinal mucosal biology. *Stem Cells* 1994; 12: 79-89.
82. Ropeleski MJ, Tang J, Walsh-Reitz MM, Musch MW, and Chang EB. Interleukin-11-induced heat shock protein 25 confers intestinal epithelial-specific cytoprotection from oxidant stress. *Gastroenterology* 2003; 124: 1358-1368.
83. [Peterson RL](#), [Wang L](#), [Albert L](#), [Keith JC Jr](#), [Dorner AJ](#). Molecular effects of recombinant human interleukin-11 in the HLA-B27 rat model of inflammatory bowel disease. *Lab Invest* 1998; 78: 1503-1512.
84. [Opal SM](#), [Keith JC Jr](#), [Jhung J](#), [Palardy JE](#), [Parejo N](#), [Marchese E](#), [Maganti V](#). Orally administered recombinant human interleukin-11 is protective in experimental neutropenic sepsis. *J Infect Dis* 2003; 187: 70-76.
85. [Tseng CM](#), [Albert L](#), [Peterson RL](#), [Bouchard P](#), [Dorner AJ](#), [Keith J Jr](#), [Khor SP](#). In vivo absorption properties of orally administered recombinant human interleukin-11. *Pharm Res* 2000; 17: 482-485.

86. Hamby ME, Gragnolati AR, Hewett SJ, Hewett JA. TGF beta 1 and TNF alpha potentiate nitric oxide production in astrocyte cultures by recruiting distinct subpopulations of cells to express NOS-2. *Neurochem Int* 2008; 52: 962-971.
87. Peachey NS, Green DJ, Ripps H. Ocular ischemia and effects of allopurinol on functional recovery in the rat retina if the arterially perfused cat eye. *Invest Ophthalmol* 1993; 34: 58-65.
88. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J of Surg* 1994; 81: 637-647.
89. Hearse DJ, Humprey SM, Chain EB. *Mol Cell Cardiol* 1973; 5: 395-407.
90. Penna C, Alloatti G, Cappello S, Gattullo D, Berta G, Mognetti B, Losano G, Pagliaro P. Platelet-activating factor induces cardioprotection in isolated rat heart akin to ischemic preconditioning: role of phosphoinositide 3-kinase and protein kinase C activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: 2512-2520.
91. Yoneda S, Tanihara H, Kido N, Honda Y, Goto W, Hara H, Myawaki N. Interleukin-1beta mediates ischemic injury in the rat retina. *Exp eye res* 2001; 73: 661-667.
92. Szabo ME, Droy-Lefaix MT, Doly M, Carre C, Braquet P. Ischemia and reperfusion-induced histologic changes in the rat retina: demonstration of free radical-mediated mechanism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 1471-1478.
93. Adachi M, Takahashi K, Nishikawa M, Miki H, Uyama M. High intraocular pressure-induced ischemia and reperfusion injury in the optic nerve and retina in rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996; 234: 445-451.
94. Jampol LM, Tielsch J. Race, macular degeneration, and the Macular Photocoagulation study. *Arch Ophthalmol* 1992; 1699-1700.
95. Safa R, Osborne NN. Retinas from albino rats are more susceptible to ischaemic damage than age-matched pigmented animals. *Brain Res* 2000; 862: 36-42.
96. Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Groth Factor Rev* 2003; 14: 185-191.

97. Fontaine V, Mohand-Said S, Hanoteau N, Fuchs C, Pfizenmeier K, Eisel U. Neurodegenerative and neuroprotective effects of tumor necrosis factor (TNF) in retinal ischemia: opposite roles of TNF receptor 1 and receptor 2. *J Neurosci* 2002; 22: 216.
98. Armstrong D, Ueda T, Ueda T, Aljada A, Browne R, Fukuda S. Lipid hydroperoxide stimulates retinal neovascularization in rabbit retina through expression of tumor necrosis factor-alpha, vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor. *Angiogenesis* 1998; 2: 93-104.
99. Mc Geer PL, Kawamata T, Walker DG, Akiyama H, Tooyama I, Mc geer EG. Microglia in degenerative neurological disease. *Glia* 1993; 7: 84-92.
100. Geyer O, Almog J, lupu-meiri M, Lazar M, Oron Y. Nitric oxide synthase inhibitors protect rat retina against ischemic injury. *FEBS Lett* 1995; 374: 399-402.
101. Furuyoshi N, Furuyoshi M, May CA, Hayreh SS, Alm A, Lutjen-Drecoll E. Vascular and glial changes in the retrolaminar optic nerve in glaucomatous monkey eyes. *Ophthalmologica* 2000; 214: 24-32.
102. Pena, JD, Taylor AW, Ricard CS, Vidal I, Hernandez MR. Transforming growth factor beta isoforms in human optic nerve heads. *Br. J. Ophthalmol* 1999; 83: 209-218.
103. Yu AL, Fuchshofer R, Bikre M, Priglinger SG, Eibl KH, Kampik A, Bloemendal H, Welge-Lussen H. Hypoxia/reoxygenation and TGF- β increase α B-crystallin expression in human optic nerve head astrocytes. *Experimental Eye Research* 2007; 84: 694-706.
104. Welge-Lussen U, May CA, Eichhorn M, Bloemendal H, Lutjen- Drecoll E. AlphaB-crystallin in the trabecular meshwork is inducible by transforming growth factor-beta. *IOVS* 1999; 40: 2235-2241.
105. Dihne M, Peters M, Block F. Interleukin-6 expression in exofocal neurons after striatal cerebral ischemia. *Neuroreport* 2001; 12: 3143–3148.

106. Suzuki S, Tanaka K, Nagata E, Ito D, Dembo T, Fukuuchi Y. Cerebral neurons express interleukin-6 after transient forebrain ischemia in gerbils. *Neurosci Lett* 1999; 262: 117–120.
107. Scheifer J, Topper R, Schmidt W, et al. Expression of interleukin-6 in the rat striatum following stereotaxic injection of quinolinic acid. *J Neuroimmunol* 1998; 89: 168–176.
108. Garden GA. Microglia in human immunodeficiency virus-associated neurodegeneration. *Glia* 2002; 40: 240–251.
109. Bolin LM, Strycharska-Orczyk I, Murray R, Langston JW, Di Monte D. Increased vulnerability of dopaminergic neurons in MPTP-lesioned interleukin-6 deficient mice. *J Neurochem* 2002; 83: 167–175.
110. Loddick SA, Turnbull AV, Rothwell NJ. Cerebral interleukin-6 is neuroprotective during permanent focal cerebral ischemia in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18: 176–179.
111. Fisher J, Mizrahi T, Schori H. Increased post-traumatic survival of neurons in IL-6-knockout mice on a background of EAE susceptibility. *J Neuroimmunol* 2001; 119: 1–9.
112. Sappington RM, Chan M, Calkins DJ. Interleukin-6 protects retinal ganglion cells from pressure-induced death. *IOVS* 2006; 47: 2932-2942.
113. Yuan L, Neufeld AH. Tumor necrosis factor- α : a potentially neurodestructive cytokine produced by glia in the human glaucomatous optic nerve head. *GLIA* 2000; 32: 42-50.
114. Sarup V, Patil K, Sharma SC. Ciliary neurotrophic factor and its receptors are differentially expressed in the optic nerve transected adult rat retina. *Brain Res* 2004; 1013: 152-158.
115. Tsujikawa A, Ogura Y, Hiroshiba N, Miyamoto K, Kiryu J, Tojo SJ. Retinal ischemia-reperfusion injury attenuated by blocking of adhesion molecules of vascular endothelium. *IOVS* 1999; 40: 1183-1190.
116. Wei R, Jonakait GM. Neurotrophins and the anti-inflammatory agents interleukin-4 (IL-4), IL-10, IL-11 and transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) down-regulate T cell costimulatory molecules B7 and CD40 on cultured rat microglia. *J Neuroimmunol* 1999; 95: 8-18.

117. Trepicchio WL, Bozza M, Pedneault G, Dorner AJ. Recombinant human IL-11 attenuates the inflammatory response through down-regulation of proinflammatory cytokine release and nitric oxide production. *J Immunol* 1996; 157: 3627-3634.
118. Weber M, Said SM, Hicks D, Dreyfus H, Sahel JA. Monosialoganglioside GM1 reduces ischemia-induced injury in the rat retina. *IOVS* 1996; 37: 266-274.
119. Ishihara M, Nakano T, Ohama E, Kawai Y. Postischemic reperfusion in the eyes of young and aged rats. *Jpn J Physiol* 2000; 50: 125-132.
120. Ogura Y. In vivo evaluation of leukocyte dynamics in the retinal and choroidal circulation. *Jpn J Ophthalmol* 2000; 44: 317-324.
121. Tsujikawa A, Ogura Y, Hiroshiba N, Miyamoto K, Kiryu J, Tojo SJ. Discussion 1437-8 Tacrolimus (FK506) attenuates leukocyte accumulation after transient retinal ischemia. *Stroke* 1998; 29: 1431-1437.
122. Hughes WF. Quantitation of ischemic damage in the rat retina. *Exp Eye Res* 1991; 53: 573-582.

6. ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimini Ağrı, Diyarbakır ve Bingöl'de tamamladım. 1993 yılında Ege Üniv. Fen Fak. Fizik bölümüne başladım ve bu bölümde 2 yıl okuduktan sonra Gazi Üniv. Tıp Fakültesine yerleştim ve 2002 yılında bu fakülteden mezun oldum. 2003 yılında Fırat Üniversitesi Göz Hastalıkları ABD. da araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım.

2003 yılında evlendim ve Deniz adında bir oğlum var.