

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

**ÜVEİT PATOLOJİSİNDE PTERİDİN VE KİNÜRENİN  
YOLAKLARINDAKİ OLASI DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

**Uzm. Ecz. Şaziye Sezin PALABIYIK**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
DOKTORA TEZİ**

**ANKARA  
2014**

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

**ÜVEİT PATOLOJİSİNDE PTERİDİN VE KİNÜRENİN  
YOLAKLARINDAKİ OLASI DEĞİŞİMLERİN İNCELENMESİ**

**Uzm. Ecz. Şaziye Sezin PALABIYIK**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Terken BAYDAR**

**ANKARA  
2014**

Anabilim Dalı : Farmasötik Toksikoloji  
Program : Farmasötik Toksikoloji  
Tez Başlığı : Üveit Patolojisinde Pteridin ve Kinürenin Yolaklarındaki Olası Değişimlerin İncelenmesi  
Öğrenci Adı-Soyadı : Şaziye Sezin PALABIYIK  
Savunma Sınavı Tarihi : 24.01.2014

Bu çalışma jürimiz tarafından doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Prof.Dr.Gönül ŞAHİN

(Doğu Akdeniz Üniversitesi)

Tez danışmanı:

Prof.Dr.Terken BAYDAR

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Prof.Dr.Belma GÜMÜŞEL

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Prof.Dr.Nurşen BAŞARAN

(Hacettepe Üniversitesi)

Üye:

Doç.Dr.Gözde GİRGİN

(Hacettepe Üniversitesi)

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ersin FAZILLIOĞLU

Müdür

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olup bana destek olan ve doktora tezimde de danışmanım olarak tüm lisansüstü eğitimim boyunca deneyimlerini ve desteğini esirgemeyen, bundan sonraki hayatımda yanımda olmamasının eksikliğini her zaman hissedeceğim tez danışmanım, değerli hocam Prof.Dr.Terken BAYDAR'a,

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgisinden, deneyimlerinden, desteğinden yararlandığım, her an beni düşünüp benimle ilgilenen saygıdeğer hocam Prof.Dr.Gönül ŞAHİN'e,

Her anımızda birbirimize destek olduğumuz, hiç tereddütsüz her an yardımına koşan hem arkadaşım hem hocam Doç.Dr.Gözde GİRGİN'e,

Tez örneklerimin toplanmasında gerekli organizasyonu yapan Yrd.Doç.Dr.Sadullah KELEŞ'e, benden sabır ve yardımlarını esirgemeyen Uzm.Dr.Eren ARPALI TANAS, Dr.Elif TOPDAĞI, Dr. Yusuf BOZAN başta olmak üzere Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Polikliniği doktor, hemşire ve çalışanlarına,

Sağladıkları tüm imkanları ile destek veren Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'na,

Lisans eğitimimden itibaren aramızdaki uzak mesafelere katlanan, hep yanımda olduklarını hissettiren, benden sevgi ve desteklerini esirgemeyen sevgili Annem ve Babam'a, canım kardeşim Uzm.Ecz.N.Tuğçe KARTAL'a,

Sonsuz teşekkürler.

Bu tez kısmen 013 B04 301 001 numaralı "Üveit Hastalarında Pteridin ve Kinürenin Yolaklarının Araştırılması " projesi ile Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

**Palabıyık, S.S. Üveit Patolojisinde Pteridin ve Kinürenin Yolaklarındaki Olası Değişimlerin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2014.** Üveit, kanlanması yüksek olan üveal dokuyu etkileyen intraoküler bir inflamasyondur. Üveitin erken tanısı ve uygun tedavi yaklaşımı, sistemik hastalıkla ilişkili olabileceği ve tespit edilemeyen veya tedavi edilemeyen üveitlerin körlüğe neden olabilmesinden dolayı önemlidir. Hücre aracılı immüitenin önemli bir biyogöstergesi olan neopterin konjuge olmayan bir pteridindir ve inflamasyon sürecinde önemli işleve sahiptir. Neopterin salınımına ilave olarak, hücrel immün aktivasyon triptofan yıkımında hız kısıtlayıcı basamağı katalizleyen indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO)'ı da indükler. Kinüreninin (Kin) triptofana (Trp) oranlanmasıyla gösterilen IDO aktivitesi bu nedenle immün değişkenlerle desteklenerek hücrel immüitenin düzenlenmesinde bir gösterge olarak kullanılabilir. Bu tez kapsamında üveitte immün değişikliklerin neopterin konsantrasyonları ve triptofan yıkımı belirlenerek incelenmesi amaçlanmıştır. Katılımcılar 104 üveit hastası (63 aktif, 41 inaktif), 13 Behçet hastası ve 30 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Üveit hastalarında idrar ve serum neopterin, kinürenin ve Kin/Trp oranı sağlıklı kontrolden anlamlı yüksek bulundu (tümü;  $p<0,05$ ). Üveit aktif ve inaktif olarak sınıflandırıldığında, ölçülen parametrelerin tümünün iki üveit grubu arasında değişmediği (tümü;  $p>0,05$ ), her iki alt grubun ise kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlendi. Behçet hastalığı olan aktif ve inaktif üveit hastalarının Kin/Trp oranı üveiti olmayan Behçet grubundan anlamlı yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Üveit hastalarında idrar ve serum neopterin düzeyleri Kin/Trp oranı ile pozitif ilişkiliydi (ikisi de;  $p<0,05$ ). Elde edilen bu sonuçlar, üveitin neopterin düzeylerinde ve kinürenin yolağında değişikliklere neden olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Ölçülen bu parametreler üveitte hücrel immün yanıtın etkin bir göstergesi olmakla birlikte aktif ve inaktif üveitin ayırımında yetersiz kaldığı düşünülmektedir.

**Key Words:** Üveit, neopterin, kinürenin, triptofan, intraoküler inflamasyon

## ABSTRACT

**Palabıyık, S.S. Investigation of the possible changes in pteridine and kynurenine pathways in uveitis pathology. Hacettepe University Institute of Health Sciences, Ph.D. Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2014.** Uveitis is an intraocular inflammation affecting the highly vascularised uveal tissue. Early recognition and appropriate therapeutic intervention of uveitis is important since it may be associated with systemic disease and undetected or untreated uveitis may lead to blindness. Neopterin is an unconjugated pteridine which is an important biomarker of cell-mediated immunity and have a potential function in the process of inflammation. In addition to neopterin release, cellular immune activation also induces indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) which catalyzes the rate limiting step in the tryptophan degradation. Hence, IDO activity which is expressed by the ratio of kynurenine (Kyn) to tryptophan (Trp) levels can also be used as a marker of modulation in cellular immunity, supported by immune parameters. In this thesis, it was aimed to investigate immune changes in uveitis by determination of neopterin concentrations and also tryptophan degradation. The participants were consisted of 104 uveitis patients (63, active; 41, inactive), 13 patients with Behçet's disease and 30 healthy subjects. In the uveitis patients, urinary and serum neopterin, kynurenine and Kyn/Trp were found to be statistically higher than healthy controls (all,  $p < 0.05$ ). When uveitis was categorized as active and inactive, it was observed that all of the measured parameters did not differ between two uveitis groups (all,  $p > 0.05$ ) while in both of the subgroups showed significant differences compared to controls. In both active and inactive uveitis patients with Behçet's disease, Kyn/Trp were significantly higher than Behçet's group without uveitis ( $p < 0.05$ ). Urinary and serum neopterin levels were positively correlated with Kyn/Trp in the uveitis patients (both,  $p < 0.05$ ). These results can be concluded that uveitis can cause alterations in neopterin levels and kynurenine pathway. It seems that while the measured parameters can be useful markers of cellular immune response in uveitis, they might not be used to differentiate active or inactive uveitis.

**Key Words:** Uveitis, neopterin, kynurenine, tryptophan, intraocular inflammation

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLOLAR	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Pteridinler-Tanım ve Tarihçe	3
2.2. Neopterin	5
2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Biyosentezi	5
2.2.2. Neopterin Fiziolojik Fonksiyonu	7
2.2.3. Neopterin ve Hücre İmmün Aktivasyon	8
2.2.4. Neopterin Biyomarkör Olarak Kullanımı	9
2.2.5. Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi ve Sağlıklı Bireylerde Neopterin Konsantrasyonları	15
2.2.6. Göz Hastalıkları ve Neopterin İlişkisi	16
2.3. Triptofan	18

2.3.1. Biyosentezi ve Metabolizması	20
2.4. Kinürenin ve Kinürenin Yolağı	22
2.5. Triptofan ve Kinüreninin Fizyolojik Düzeyleri	25
2.6. İndolamin 2,3-dioksijenaz	26
2.6.1. İndolamin 2,3-dioksijenaz'ın Biyolojik Fonksiyonu	29
2.7. Triptofan Yıkımı ve İmmün Sistem İlişkisi	30
2.8. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Çeşitli Patolojilerde Değişimi	32
2.9. Göz Hastalıkları ve Kinürenin Yolağı İlişkisi	36
2.10. Göz Anatomisi	38
2.11. Üvea	39
2.12. Üveit	40
2.12.1. Üveit Belirtileri	41
2.12.2. Üveit Tanısı ve Etiyolojisi	42
2.12.3. Üveitlerin Sınıflandırılması	42
2.12.4. Üveit Nedenleri	46
2.13. Üveit ve İmmün Sistem	48
2.14. Üveit Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	51
2.14.1. Kortikosteroidler	53
2.14.2. Bağışıklık Sistemini Baskılayıcı İlaçlar	54
2.14.3. Diğer İlaçlar	55



3. GEREÇ VE YÖNTEM	56
3.1. Gereçler	56
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	56
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	56
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler	57
3.2. Çalışma Grupları	59
3.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması	62
3.4. Yöntemler	62
3.4.1. İdrarda Neopterin ve Kreatinin Düzeylerinin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Tekniği ile Saptanması	62
3.4.2. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Neopterin Ölçümü için Yöntemin Validasyon Çalışmaları	64
3.4.3. Serumda Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi	64
3.4.4. Serum Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Tekniği ile Saptanması	65
3.4.5. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Triptofan ve Kinürenin Ölçümleri için Yöntemin Validasyon Çalışmaları	66
3.4.6. İstatistiksel Değerlendirme	66
4. BULGULAR	67
4.1. İdrar Neopterin ve Kreatinin Düzeylerinin Belirlenmesine İlişkin Bulgular	67
4.2. Neopterin ve Kreatinin Standart Kalibrasyon Doğru Örnekleri	68
4.3. Serum Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesine İlişkin Bulgular	69

4.4. Serum Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesine İlişkin Bulgular	70
4.5. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğru Örnekleri	72
4.6. Uygulanan Yöntemlerin Validasyon Çalışmaları	72
4.6.1. Geri Kazanım Oranının İncelenmesi	72
4.6.2. Tekrarlanabilirliğin (Kesinliğin) İncelenmesi	74
4.6.3. Duyarlılığın İncelenmesi	73
4.7. Neopterin, Kinürenin ve Triptofan Düzeylerinin Değerlendirilmesi	76
5. TARTIŞMA	93
6. KAYNAKLAR	100
EKLER	
EK-1: Etik Kurul İzni	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

3-HAA	3-hidroksiantanilik asit
3-HK	3-hidroksikinürenin
3HKG	3-hidroksikinürenin glikozit
5-HT	5-hidroksitriptamin; Serotonin
BH <sub>4</sub>	Tetrahidrobiopterin
DH	Dendritik hücreler
ELISA	Enzim aracılıklı immünosorban assay
GSH	Redükte glutatyon
GTP	Guanozin trifosfat
hCG	İnsan koryogonadropik hormon
HLE-B3	İnsan lens epitel hücrelerinde
IDO	İndolamin 2,3-dioksijenaz
IFN- $\gamma$	İnterferon gama
Ig	İmmüoglobulin
iNOS	Nitrik oksit sentaz
Kin/Trp	Kinürenin/Triptofan
MSS	Merkezi sinir sistemi
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NCL	Nicel limit
NH <sub>2</sub> TP	Dihidroneopterintrifosfat
NF- $\kappa$ B	Nükleer faktör kappa B
NMDA	N-metil-D-aspartat
NO	Nitrik oksit
NOS2	Nitrik oksit sentaz
NTL	Nitel limit
PES	Psödoeksfoliasyon sendromu
PTPS	6-pürivoil-tetrahidropterin sentaz
rhIFN- $\alpha$ 2a	Rekombinant interferon $\alpha$ -2a
RIA	Radyoimmünoassay
RPE	Retinal pigment epitel
SH	Standart hata
TDO	Triptofan (2,3)-dioksijenaz
TGF- $\beta$	Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$
Th1	Tip 1 yardımcı T hücreleri
TNF	Tümör nekroze edici faktör
VK	Varyasyon katsayısı
YBSK	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. Pteridin ve pterin yapısı	3
2.2. Neopterin biyosentez yolağı	6
2.3. Triptofanın kimyasal yapısı	19
2.4. Triptofan yıkımındaki iki ana katabolik yolak	21
2.5. Kinürenin yolağının şematik gösterimi	24
2.6. IDO aktivasyonu	27
2.7. Triptofan yıkımına bağı olarak hücre çoğalmasının azalması	30
2.8. Triptofan metabolizması ile ilişkili hastalıklar ve ilgili hücreler	34
2.9. Gözün anatomisi	39
2.10. Üveitin gelişmesinde immünopatolojik yollar	50
4.1. Neopterin ve kreatinin standartlarına ait örnek kromatogramlar	67
4.2. İdrar örneğine ait kromatogramlar	68
4.3. Neopterin ve kreatinin standartlarına ait kalibrasyon doğruları	69
4.4. Neopterin kalibrasyon eğrisi	70
4.5. Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kromatogramlar	71
4.6. Serum örneğine ait kromatogramlar	71
4.7. Triptofan ve Kinürenin standartlarına ait kalibrasyon doğruları	72
4.8. Cinsiyete göre sağlıklı kontrol grubu (A) ve üveit hasta grubuna (B) ait verilerin karşılaştırılması	79

- 4.9. Sağlıklı kontrol grubu ve üveit hasta grubunun kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması 80
- 4.10. Sağlıklı kontrol grubu ve üveit hasta grubunun idrar neopterin (A) ve serum neopterin (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması 81
- 4.11. Sağlıklı kontrol grubu, inaktif ve aktif üveit hasta grubunun kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması 82
- 4.12. Sağlıklı kontrol grubu, inaktif ve aktif üveit hasta grubunun idrar neopterin (A) ve serum neopterin (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması 83
- 4.13. Sağlıklı ve Behçet kontrol grubu, Behçet dışı üveit, Behçet üveit hasta grubunun kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması 84
- 4.14. Sağlıklı ve Behçet kontrol grubu, Behçet dışı üveit, Behçet üveit hasta grubunun idrar neopterin (A) ve serum neopterin (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması 85
- 4.15. Çalışma gruplarının kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması 87
- 4.16. Çalışma gruplarının neopterin idrar (A) ve serum (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması 88

## TABLOLAR

	Sayfa
2.1. TDO ve IDO enzimlerinin bazı özelliklerinin karşılaştırılması	23
2.2. Triptofan metabolizmasındaki değişiklikler ile immün aktivasyon arasındaki ilişki	29
2.3. IDO gen ifadesinin düzenlenmesinde yer alan sitokinler ve diğer immün düzenleyici faktörler	33
2.4. Üveitin anatomik sınıflandırılması	43
2.5. Üveit tedavisinde kullanılan antiinflamatuvar ilaçlar	52
3.1. Çalışma gruplarına ait demografik bilgiler	61
4.1. Yöntemlerin geri kazanım oranları	73
4.2. Gün içi ve günler arası ölçümlere ait varyasyon katsayıları	74
4.3. Tez çalışma gruplarının serum triptofan, kinürenin, Kin/Trp ve neopterin ve idrar neopterin konsantrasyonları	77
4.4. Tanı konulması ardından geçen süreye göre sınıflandırılan hastaların idrar ve serum parametreleri	89
4.5. İlaç kullanım durumunun ölçülen parametrelere etkisi	90
4.6. İnterferon kullanan üveit hastalarının idrar ve serum parametreleri	91
4.7. Serum neopterin düzeyleri ile diğer ölçülen parametreler arasındaki ilişki	91
4.8. İdrar neopterin düzeyleri ile diğer ölçülen parametreler arasındaki ilişki	92

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İmmün sistemde meydana gelen değişiklikleri izlemek için hızlı ve hassas yöntemler patolojilerin etiyojisini anlamak ve uygun tedaviyi belirlemek için yararlı olabilir. İmmün sistem aktivitesini gösteren klinik göstergeler bilimsel çalışmaların konusu olmaya devam etmektedir. Neopterin düzeyleri de bu önemli göstergelerden biridir (1). Günümüzde, biyolojik sıvılardaki neopterin düzeyleri insanlarda aktive olmuş immün sisteminin önemli bir biyogöstergesi olarak kabul edilmektedir. Hücre aracılıklı immün sistem ile ilişkili pek çok hastalıkta yapılan çalışmalarda serum, idrar, sinovial ve serebrospinal sıvılar ile tükürükte artmış neopterin konsantrasyonları rapor edilmiştir. Yüksek neopterin konsantrasyonları konakçı hücrenin enfeksiyonlara veya malign hastalıklara verdiği reaksiyonun güvenilir bir göstergesidir (2). Bunun yanısıra triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarının ölçülmesi ve Kinürenin/Triptofan (Kin/Trp) oranının belirlenmesinin özellikle kronik hastalıklarda immün aktivasyon ile triptofan yıkımı arasındaki ilişkiyi aydınlatmada yardımcı olduğu kabul edilmektedir (3,4). Bu ilişki enfeksiyonlar, malign ve otoimmün hastalıklar dahil pek çok hastalıkta doğrulanmıştır. Neopterin gibi Kin/Trp oranı ile sitokin reseptörleri arasında da güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, neopterin düzeyleri gibi triptofan yıkımının da belirlenmesi endojen olarak salınan interferon gama (IFN- $\gamma$ )'nın dolaylı olarak izlenmesine yardımcı olabilmektedir (4).

Oküler inflamatuvar hastalık morbidite ve görme kaybı oluşturma olasılığı oldukça yüksek olan bir hastalıktır (5). Bazı oküler hastalıklar immün sistemin uyarılmasında önemli bir rol oynamakla birlikte bu etki daha çok hastalığın şiddeti ile ilişkilidir. Bu duruma örnek gösterilebilecek önemli iki heterojen oküler bozukluktan biri oküler alerji diğeri ise üveittir. Üveit bazen sistemik hastalığın bir parçası bazen ise sadece gözü etkileyen, göze özgü bir hastalık olarak gözlenir (6). Göz hastalıklarından üveit, sistemik hastalıklarla en fazla ilişkisi olan hastalık grubudur ve bu nedenle de dikkatli araştırma ve sürekli izleme gerektirmektedir. Bağ dokusu, bağışıklık sistemi, genetik hastalıklar veya sistemik enfeksiyonlar nedeniyle hafif veya şiddetli üveit tablosu gözlenebilir. Tanı ve tedavisindeki gelişmelere rağmen üveit halen görme kayıplarına veya göz küresinin yapısının tamamen bozulmasına kadar ilerleyebilen bir sağlık problemi olmayı sürdürmektedir (7).

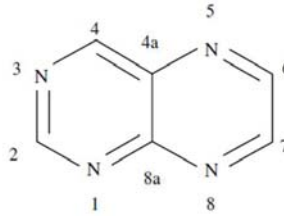


Neopterin düzeyleri ve indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) aktivitesi pek çok patolojide değerlendirilmiş olmasına rağmen oküler inflamasyon ile doğrudan ilişkili ayrıntılı bir araştırma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması kapsamında oküler inflamasyonun belirgin bir örneği olan üveit hastalığında immün sistemdeki olası değişikliklerin, pteridin yolağının önemli bir bileşeni olan neopterin ile değerlendirilmesi öncelikli olarak amaçlanmıştır. İkincil olarak neopterin ve kinürenin yolağı bileşenlerinin üveit tanısında ve aktif/inaktif üveit durumlarının değerlendirilmesinde uygun biyogöstergeler olup-olmadığının araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla immün aktivasyon göstergesi olan neopterin ile pteridin yolağı ile ilişkili triptofan yıkımı değerlendirilmiştir. Bu araştırmaya dahil olan katılımcılar Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran hastalardır. Çalışma gruplarının oluşturulması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Onayı doğrultusunda yapılmıştır. İdrar neopterin düzeyleri, idrar kreatinin atılımı, serum neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri floresans ve ultraviyole dedektörleri kullanılarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ve enzim aracılıklı immünosorban assay (ELISA) yöntemi ile belirlenmiştir.

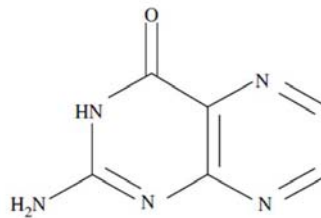
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Pteridinler-Tanım ve Tarihçe

Gowland Hopkins tarafından 1889 yılında *lepidoptera* (pul kanatlılar, kelebekler) kanatlarından bir pigment olarak izole edilerek keşfedilen pteridinler, doğada yaygın olarak bulunan heterosiklik bileşiklerdir (8). “Pteridin” Yunancada kanat anlamına gelen *pteron* kelimesinden türetilmiştir (9). Pteridinler üzerindeki uzun süreli çalışmalara rağmen, yapılarının aydınlatılması ancak 1936 yılında mümkün olmuştur (9). Wieland ve Schopf’un çalışmalarından birkaç yüzyıl sonra, Purrmann tarafından böcek pigmentlerinden olan ksantopterin, izoksantopterin ve lökopterin de pteridin yapısı taşıdığı gösterilmiştir (9). Purrmann’ın aydınlattığı bu pteridin yapısı günümüzde pirazin ile pirimidin halkasının birleşmesinden oluşmuş pirazino-(2,3-d)-pirimidinbisiklik azotlu halka sistemini ifade etmektedir (9). Doğal olarak meydana gelen pteridinler, 2. pozisyonda bir amino grubu ve 4. pozisyonda bir oksijen grubu ile yoğunlaştırılmış bir pirazinpirimidin halka sisteminden oluşmaktadır. Bu pteridin türevlerine “pterin” adı verilmektedir (Şekil 2.1).



Pteridin



Pterin

Şekil 2.1. Pteridin ve pterin yapısı

Daha sonraları arılarda neopterin, insan idrarında ise pteridin yolağının ana metabolitlerinden biri olan biyopterin tanımlanmıştır (9). Pteridin yapısının 6.pozisyonunda dihidroksipropil zinciri ile oluşan yapı biyopterinin moleküler yapısını ifade etmektedir. 1956 yılında Patterson ve arkadaşları tarafından tanımlanan biyopterin, biyolojik olarak aktif olan tetrahidrobiyopterin (BH<sub>4</sub>)'nin tam okside formudur (10).

1957 yılında pteridinlerin biyosentezinin pürinlerden başlayabileceği öne sürülmüştür. Konjuge olmayan pteridinlerin biyosentezi ve biyokimyasal rolleri ile ilgili ilk çalışmalar 1959 yılında BH<sub>4</sub>'ün aromatik amino asit hidroksilazlar için bir kofaktör olabileceğinin saptanması ile başlamıştır. 1963 yılında ilk defa konjuge olmayan bir pteridin olan BH<sub>4</sub>'ün organizmada sentezinin *de Novo* yolağı ile olduğu öne sürülmüştür (9,11).

Neopterin ve biyopterin gibi ana pteridin yapısının küçük substitüent taşıyan türevleri “konjuge olmayan pteridinler”, folik asit, riboflavin gibi daha büyük substitüent taşıyan türevleri ise “konjuge pteridinler” olarak isimlendirilir (9,12).

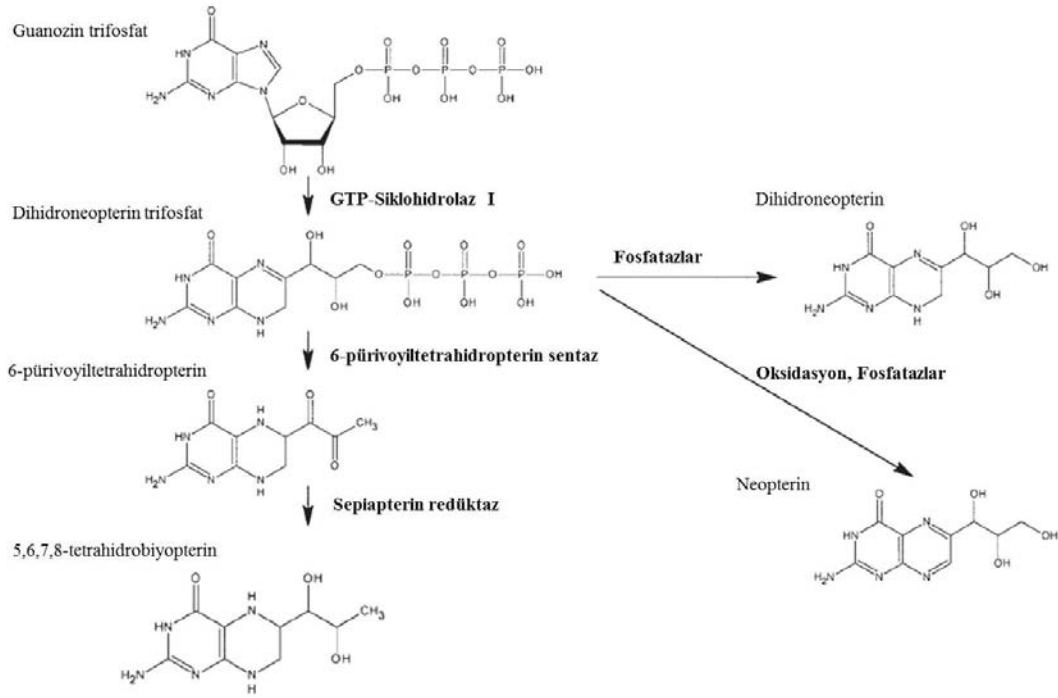
Neopterin 1963 yılında arı larvalarından, işçi arılardan ve arı sütünden izole edilmiştir (9,13). 2-amino-4-hidroksi-(eritro-1',2',3'-trihidroksipropil)-pteridin yapısının Latince ‘yeni’ anlamına gelen *novum*, ‘balırsı’ anlamına gelen *apis* kelimelerinden hareketle ve pterin yapısı nedeniyle “novapterin” olarak adlandırmak istemiştir. Daha sonra pteridin araştırmasında yeni bir dönemin başladığını ifade etmek için Yunanca *neo* kelimesinden hareketle “neopterin” adı verilmiştir (14). 1964 yılında Reynolds ve Brown pteridini enzimatik bir sistemde guanozintrifosfattan elde etmiştir (9). 1967 yılında, Sakurai ve Goto ilk defa insan idrarından neopterin izole etmiştir (9,15). Viral enfeksiyonlar ve malign hastalıklarda idrar ile neopterin itrahının belirgin bir şekilde arttığının 1979 yılında ilk olarak gösterilmesi neopterin çalışmaları için bir dönüm noktası olmuştur (13,15,16). Neopterinin immün aktivasyonun bir belirteci olduğunun keşfedilmesi bundan kısa bir süre sonra, 1980’li yılların başlarında olmuştur (15). 1981 yılında, neopterinin konakçı dokunun tümör hücreleri veya virüsle enfekte hücrelere karşı immün sistemin bir yanıtı olduğu öne sürülmüştür (11). İnsan periferik kan mononükleer

hücre kültürlerinde antijenik stimülasyon ile neopterin düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (13). Bu gelişmelerle birlikte pteridinler önemli bir araştırma konusu haline gelmiş ve hastalıklarla ilişkisine dair yapılan araştırmaların sonuçlarına ilişkin yayınların sayısı giderek artmıştır. Yapılan bu çalışmaların sonuçları ile birlikte, neopterin bağışıklık sisteminin stimülasyonunun önemli bir belirteci olduğu anlaşılmış ve kanıtlanmıştır (11).

## 2.2. Neopterin

### 2.2.1. Kimyasal Yapısı ve Biyosentezi

Neopterin, 2-amino-4(3H)-okso-6-(1',2',3'-trihidroksipropil)-pteridin yapısında, kapalı formülü  $C_9H_{11}N_5O_4$  ile gösterilen ve molekül ağırlığı 253,22 olan konjuge olmamış bir pteridindir (1,8,9). Neopterin pek çok stereoizomeri olmasına rağmen yaygın biyolojik formu 6-D-eritro-neopterin (1). Hem sulu çözeltileri hem de biyolojik sıvılarda doğrudan güneş ışığına maruz kaldığında neopterin miktarı hızla azalır; bu nedenle ışıktan korunmalıdır (9,15,17). Suda çözünürlüğü organik çözücülere göre daha fazla olduğundan organik çözücülerle neopterin ekstraksiyonu yapılamaz. Redükte formları olan 7,8-dihidroneopterin ve 5,6,7,8-tetrahidroneopterin'in tersine tamamen okside olduğu durumlarda güçlü floresan özellik gösterir ve bu özelliği kullanılarak miktar belirlemeleri yüksek hassasiyette yapılabilir (1,9). Dondurup-çözme işleminin biyolojik örneklerde neopterin konsantrasyonunu olumsuz yönde etkilediğinin bilinmesi nedeniyle örneklerin saklanması işlemleri buna dikkat gerektirir. Uzun süreli  $-20^{\circ}C$ 'de stoklamının örneklerde neopterin konsantrasyonunu etkilemediği bildirilmiştir (8,14,17).



**Şekil 2.2.** Neopterin biyosentez yolağı

Bir pirazinopirimidin bileşiğı olan neopterinin biyosentezi, IFN- $\gamma$ 'nın aktive ettiğı guanozin trifosfat (GTP) siklohidrolaz I enzimi aracılığı ile GTP'tan dihidroneopterintrifosfat (NH<sub>2</sub>TP) sentezlenmesi ile başlar (4,8,9,14-16,18,19) (Şekil 2). NH<sub>2</sub>TP; folat ve riboflavin gibi konjuge pteridin türevleri ve neopterin, biyopterin gibi konjuge olmayan pteridin türevlerinin sentezlenmesinde pteridin yolağıının anahtar ara ürünüdür (13). NH<sub>2</sub>TP daha sonra 6-pürivoil-tetrahydropterin sentaz (PTPS) ve sepiapterin redüktaz enzimleri ile nöroendokrin dokularda ve lenfositlerde BH<sub>4</sub>'e metabolize olur (8,10,20). BH<sub>4</sub>; fenilalanin-, tirozin-, ve triptofan-5-hidroksilaz'ı kapsayan monooksijenazların ve nitrik oksit sentazın kofaktörüdür (20,21). İnsan ve primatların monosit/makrofajlarında biyopterinlerin (örn., BH<sub>4</sub>) sentezi için gerekli olan PTSP enzimi bulunmadığından, aktive olmuş T hücrelerine cevap olarak biyopterin yerine neopterin sentezlenir (8,10,18,21). Bunun sonucunda, NH<sub>2</sub>TP biyopterin türevleri yerine defosforilasyon ile neopterin ve 7,8-dihidroneopterine dönüştürülür (11,14). IFN- $\gamma$  stimülasyonu PTSP aktivitesini değıştirmezken GTP siklohidrolaz enziminin *de Novo* ifadesini artırır. Dihidroneopterintrifosfat'ın birikmesi özgül olmayan fosfatlar tarafından 7,8-

dihidroneopterin oluşmasına, enzimatik olmayan yollarla da  $\text{NH}_2\text{TP}$ 'in oksidasyonu ile neopterin oluşmasına neden olur (16).

Neopterin aktive olmuş makrofajlardan ve dendritik hücrelerden  $\text{IFN-}\gamma$  uyarısına yanıt olarak sadece insanlarda ve primatlarda sentezlenir ve plazmaya geçer (15). Son çalışmalar uyarılmış monosit/makrofajların oksidatif döngünün bir parçası olduğunu işaret etmektedir (4). Fibroblastlar ve tümör hücre hatları ile karşılaştırıldığında, makrofajlar ve insan lösemi hücreleri  $\text{BH}_4$ 'e göre oldukça yüksek miktarda neopterin türevleri sentezlemede ayrıcalıklıdır (20).

### 2.2.2. Neopterinin Fizyolojik Fonksiyonu

Neopterin ve türevlerinin bilinen özgül bir fonksiyonu olmamasının yanı sıra, doğrudan biyokimyasal veya fizyolojik işlevi de henüz tamamen anlaşılamamıştır (18,21). Makrofajlardan salınan  $\text{IFN-}\gamma$ 'nın ana fizyolojik rolünün antibakteriyel, antiprotozoal ve antifungal aktivitenin indüksiyonu olması nedeniyle, neopterinin hücre içi patojen mikroorganizmalarda folat sentezinin endojen inhibitörü olabileceği düşünülmüştür (14). Yapılan güncel çalışma sonuçları, oksijenin serbest radikal olarak aracılık ettiği reaksiyonlarda neopterin türevlerinin potansiyel bir rolü olabileceğini, örneğin 7,8-dihidroneopterin yüksek konsantrasyonlarda oksidan-antioksidan dengelyi etkilediği ve insan hücrelerinde apoptoza yol açtığını göstermiştir (14,22). Neopterin, reaktif oksijen bileşiklerinin aktivitesini, dolayısıyla aktive olmuş monosit/makrofajların prooksidatif gücünü artırarak savunma mekanizmalarında rol oynaması söz konusudur. Benzer bir şekilde neopterin nükleer faktör kapp B ( $\text{NF-}\kappa\text{B}$ ) ekspresyonunu indükleyerek redoks duyarlı hücre-içi sinyal iletim yollarına engel olabilir veya apoptozu tetikleyebilir (15,18).

Sitokinlerin sitümüasyonu ile makrofajlar hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksi radikalleri gibi reaktif oksijen bileşiklerinin yanında serbest radikal aracılıklı reaksiyonlarda rolü olan redükte olmayan neopterin ve redükte 7,8-dihidroneopterin de üretirler. Redükte pteridinler radikal süpürücü gibi görev yapar, ancak aynı zamanda tetrahidrobiopterin de oksijen varlığında süperoksit radikallerinin oluşmasına neden olan otooksidasyona eğilim gösterir. Oksijene duyarlı olmasına ve yüksek konsantrasyonlarda apoptozu tetiklemesine rağmen 7,8 neopterin daha

kararlı bir bileşiktir. Buna karşılık neopterin serbest radikal süpürücü değildir. Süperoksit serbest radikallerinin kaynağı olan ksantin oksidazın *in vitro* kompetitif olmayan inhibitörüdür (8,14).

### 2.2.3. Neopterin ve Hücreyel İmmün Aktivasyon

Pek çok *in vitro* ve *in vivo* çalışma, inflamasyon sırasında aktive olmuş T hücresinden IFN- $\gamma$  salınımı ile makrofajların uyarılmasının GTP siklohidrolaz aktivitesini ve sonuç olarak da neopterin konsantrasyonunu önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. THP-1 insan monosit hücre kültüründe makrofajların IFN- $\gamma$  ile uyarılması çok yüksek miktarlarda neopterin salınımına neden olmaktadır (11,14,23). Bu olayda iki farklı mekanizma söz konusudur; IFN- $\gamma$ , anahtar rolü olan GTP siklohidrolaz enziminin aktivitesini doğrudan arttırmakta ve insan makrofajlarında dihidroneopterinpirofosfat'tan sonraki ilk enzim olan 6-pürivoyiltetrahydropterin sentaz enzimi bulunmamaktadır. Sonuç olarak monosit/makrofajlardan BH<sub>4</sub> sentezlenmesi yerine NH<sub>2</sub>TP birikir ve NH<sub>2</sub>TP fosfatazlar ile hidroliz olarak dihidroneopterin veya neopterin olarak atılır. 7,8-dihidroneopterin/neopterin oranı sabit olduğu bildirilmiştir (14).

IFN- $\gamma$ ; GTP siklohidrolazın aktivasyonu için ana uyarıcıdır ve bu nedenle insan monosit/makrofajlarından neopterin ve dihidroneopterin sentezini artırır (22). İnsan monosit/makrofajlarında neopterin sentezini en güçlü indükleyen madde IFN- $\gamma$  olmasına rağmen, neopterin sentezi daha az miktarda olmak üzere tümör nekroze edici faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ), IFN- $\alpha$ , lipopolisakkaridler, endotoksinler, granülosit/makrofaj büyüme faktörü ve IL-2, IL-12 tarafından da stimüle edilir (4,8,21). *In vitro* olarak, IFN- $\alpha$  da neopterin üretimini stimüle eder, ancak IFN- $\gamma$  ile aynı miktarda stimülasyon sağlaması için yaklaşık 1000 kat yüksek dozda IFN- $\alpha$ 'ya ihtiyaç duyulmaktadır (21). TNF'ün ise tek başına neopterin üretimini arttırmadığı, ancak IFN- $\gamma$  ile birlikte olduğunda onun etkisini arttırdığı gösterilmiştir (24).

Hastalarda genellikle neopterin ve IFN- $\gamma$  konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki vardır. Kronik hepatit C hastalarında IFN- $\alpha$ 2b tedavisi sonucunda bozulan bu korelasyon tedavinin bırakılması ile birlikte yeniden gözlenmektedir. Bu da

kronik hepatit C'de IFN- $\alpha$ 2b tedavisinin IFN- $\gamma$ 'da artış meydana getirmeksizin neopterin konsantrasyonunu arttırdığını göstermektedir (21,25).

IL-2 ve özellikle IFN- $\gamma$ , sitotoksik T hücre aracılı immün cevabın arttıran tip 1 yardımcı T hücreleri (Th1) tarafından üretilen sitokinler olduğundan, vücut sıvılarındaki artmış neopterin düzeyleri hücre aracılı immün cevabın aktivasyonunu izlemek için kullanılabilir. Bu nedenle, virüs enfeksiyonları gibi hastalıklarda hücre aracılı immün cevap baskın olduğundan, neopterin düzeylerinde artış gözlenir. Diğer yandan örneğin akut bakteriyel enfeksiyonlarda IL-4, -5, -6, -9, -10 ve -13 oluşumu ile karakterize humoral immün cevabı destekleyen Th2 hücresel immün cevap baskın olduğundan, neopterin konsantrasyonlarında orta düzeyli artış gözlenir (4,21). İnsan allojenik kemik iliği transplantasyonu sonrası gözlenen graftın alıcısı reddinin (graft-versus-host hastalığı) akut evrelerinde plazma neopterin düzeyleri ile Th2 kaynaklı IL-10 arasında pozitif korelasyon gözlenmesi de buna örnektir (21). Pek çok hastalıkta konakçı immün reaksiyon, kendi aralarında birbirlerini baskılayabilen immün sistemin Th1 ve Th2 cevabının her ikisini de içerir. Bu çapraz etkileşme hastalıkların evreleri sırasında oluşan immün cevaptaki değişikliklerden sorumludur (4).

İnsan umbilikal ven endotel hücreleri veya böbrek epitel hücreleri IFN- $\gamma$  stimülasyonu ile neopterin sentezleyebilir, ancak miktarı makrofajlardan çok daha azdır. Bu epitel hücrelerinden neopterin ile birlikte BH<sub>4</sub> de sentezlenir. Örneğin; IFN- $\gamma$  ile immün sistemin stimülasyonunda neopterin epitel hücrelerinde değil monosit/makrofajlarda üretildiğinden, insan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV) kaynaklı enfeksiyonda neopterin konsantrasyonları yükselirken biyopterin düzeyleri yükselmemektedir (21).

#### **2.2.4. Neopterinin Biyomarkör Olarak Kullanımı**

Neopterin; enfeksiyonlar, otoimmün fonksiyonlar ve malign hastalıklarda veya doku reddi gibi durumlarda hücresel immün aktivasyonun patojenezinden veya altta yatan hastalık sürecinden etkilenir. Bunun yanında nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklarda da immünolojik süreç tartışılmaktadır. Patojenezi açıklığa kavuşturmak ve uygun tedaviyi bulmak amacıyla hastalarda immünolojik değişikliklerin duyarlı



ve erken dönemde tespit edilmesi önemlidir. Vücut sıvılarında neopterin düzeylerini ölçerek hücrel immün aktivasyonun görüntülenmesi kolaylıkla yapılabilir (22). Neopterin ve redükte formu 7,8-dihidroneopterin IFN- $\gamma$  ile aktive edilmiş monosit/makrofajlardan yüksek miktarlarda salınırlar. Bu nedenle monosit/makrofaj aktivitesinin arttığı hastalıklarda neopterin düzeylerinin arttığı gözlenir. Neopterin konsantrasyonlarının vücut sıvılarında belirlenmesi hücrel (Th1) immün cevabın belirlenmesinde duyarlı bir yoldur ve immün cevabın o anki durumu ve sıklıkla hastalığın ilerlemesi hakkında fikir verir (4,8,15,17). Neopterin salınımı T hücre proliferasyonu en üst düzeye ulaşmadan 3 gün önce başlar ve neopterin düzeylerindeki artış spesifik antikorların ortaya çıkmasından bir hafta önce tespit edilebilir. Bu nedenle neopterin klinikte erken dönem inflamasyon markörü olarak kullanılabilir. Neopterin konsantrasyonunun idrar, serum veya serebrospinal sıvıda ölçülmesi laboratuarda tanı amaçlı kullanılabilir (8).

Neopterin aynı zamanda akut virüs enfeksiyonları sırasında da artar. Hastaların çoğunda antikor, serokonversiyon döneminde tespit edilebilir durumda olmadan önce neopterin konsantrasyonları yükselir. Bu nedenle, Avusturya'da kan donörleri 1994 yılından beri taranmakta ve neopterin konsantrasyonları 11 nmol/L ve üzeri olan donörler verici olamamaktadır (17).

İmmün sistemin aktivasyonu enfeksiyonlar, otoimmün, malign, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklarda veya allograft reddi gibi pek çok durumda anahtar rolü oynar. Neopterin konsantrasyonlarının enfeksiyon hastalıklarında, malignansilerde, otoimmün hastalıklarda, kalp ve böbrek hastalıklarında, koroner arter hastalıklarında ve allograft reddinde yükseldiği tespit edilmiştir. Pek çok tümör tipinde yüksek idrar konsantrasyonlarının kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11,15). Aynı zamanda nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklarda da immünolojik süreç tartışılmaktadır. Biyolojik sıvılarda stabilitesi nedeniyle neopterin hücre aracılıklı (Th1) immün cevabın değerlendirilmesinde önemli ve kullanışlı bir biyogösterge haline gelmiştir (21).

Yabancı veya kendi yapısında olmayan hücrelerin tanınması üzerine T lenfositler insan monosit/makrofajlarından neopterin üretimini ve salınımını stimüle eden IFN gibi çeşitli mediyatörler üretebilir. Vücut sıvılarında artmış neopterin

düzeyleri, inkübasyon periyodunun sonunda hastalığın klinik belirtilerinin ortaya çıkmasından hemen önce belirlenebilmektedir. Yüksek neopterin düzeyleri virüse karşı spesifik antikörlerin oluşması ile tespit edilir ancak serokonversiyon döneminde neopterin düzeyleri düşer; eğer immün sistem enfeksiyon ajanına karşı baskın gelebilirse neopterin düzeyleri normal seviyesinde kalır. Bu aşamalar genel olarak bütün akut virüs enfeksiyonları için böyle gerçekleşir. Ancak HIV enfeksiyonunda neopterin konsantrasyonları akut enfeksiyon esnasında ve serokonversiyon sonrasında da normal değerlere inmez. Bu nedenle de HIV enfeksiyonunda bulgular görülme bile neopterin üretimi artmaya devam eder (22). Avusturya’da kan donörlerinde tarama amaçlı kullanılan neopterin özellikle donörde HIV kontaminasyonu olup olmadığını tespit etmek üzere yapılan testlere göre daha doğru ve erken bir gösterge olduğu bildirilmiştir (22). HIV tarama testi kuluçka dönemini takiben doğru sonuç verebilirken, HIV kontaminasyonunu takip eden 11-15 gün gibi kısa bir sürede ortalama idrar neopterin düzeylerinin 12 kat arttığı bildirilmiştir (26). Gisslen ve diğ. (27) belirti göstermeyen HIV enfeksiyonunda hem serum hem serebrospinal sıvıda neopterin düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Bu neopterin konsantrasyonları ile HIV-1 RNA kopyası arasında pozitif korelasyon, serum neopterin düzeyleri ile lenfosit CD4<sup>+</sup> sayısı arasında ise negatif korelasyon gözlenmiştir. CD4<sup>+</sup> sayısı > 200 x 10<sup>6</sup> hücre/L olan nörolojik bulgusu olmayan hastalarda serebrospinal sıvı neopterin konsantrasyonları, monositik hücre sayıları ile anlamlı pozitif korelasyon gösterirken, nörolojik bulgusu olan veya nörolojik bulgusu olmayıp CD4<sup>+</sup> sayısı < 200 x 10<sup>6</sup> hücre/L hastalarda ise bu korelasyon gözlenmemiştir. HIV enfeksiyonunda serum ve serebrospinal sıvıdaki en yüksek neopterin konsantrasyonu buna bağlı gelişen demansı olan hastalarda bulunmuştur (28).

Millner ve diğ. (29)’nin periferik veya merkezi sinir sistemi (MSS) enfeksiyonu olan çocuklarda yaptıkları çalışmada serebrospinal sıvı neopterin düzeylerinin MSS enfeksiyonları için yüksek özgüllük ve duyarlılık gösterdiğini, ancak serum neopterin düzeylerinin sadece periferik enfeksiyonlar için özgül olduğunu göstermişlerdir. Serum ve serebrospinal sıvı neopterin düzeyleri arasında zayıf bir korelasyon belirlenmiştir. Malaria ve leishmania gibi protozoa enfeksiyonlarında da serum neopterin konsantrasyonları artmıştır. Bunun yanında

visseral leishmaniada neopterin düzeyleri artarken kütanöz leishmaniada normal düzeylerde kalmıştır.

Akut bakteriyel enfeksiyonlar sırasında ise hümoral immün cevap baskın olduğundan neopterin üretimi genellikle düşüktür. Bu nedenle neopterin ölçümü viral ve bakteriyel enfeksiyonu ayırt etmek için, özel durumlarda tanıyı desteklemek için kullanılabilir (22).

Malign hücre yüzeyleri malign olmayan hücre yüzeylerine kıyasla farklı yapı gösterdiğinden, hücrel bağışıklık sistemini ve dolayısıyla neopterin üretimini de tetikleyebilir (22). Pek çok malign hastalıkta hastaların neopterin düzeylerinin yükseldiği ve neopterin düzeylerinin tümörün ilerleme derecesi, metastaz veya mortaliteyi tanımlayıcı nitelikte olduğu gözlenmiştir (15,30,31). Tümör hücreleri tarafından salınmamasına rağmen artmış neopterin konsantrasyonları tümörün saldırganlığına karşı konakçı hücrenin verdiği savunma cevabını yansıtmaktadır. Bundan başka, doku reddinde ve/veya böbrek, kalp, karaciğer, akciğer, pankreas ve kemik iliği transplantasyonları sonrası meydana gelen enfeksiyon komplikasyonlarında neopterin artan konsantrasyonlarının geçerli bir belirteç olduğu bulunmuştur (16). Artan serum ve/veya idrar neopterin konsantrasyonlarını akciğer kanseri (32), over kanseri (30), rahim ağzı kanseri (33), meme kanseri (34), tiroid bezi kanseri (35), gastrointestinal, safra ve pankreas kanserleri (36) ve kolon adenokarsinomu (37) gibi pek çok malign hastalıkta gözlenmiştir.

Neurauter ve diğ. (30) over kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada ileri Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Sınıflaması (Federation of Gynecology and Obstetrics, FIGO) evresinde olan hastalarda neopterin konsantrasyonlarının anlamlı olarak yüksek olduğu ve FIGO evresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. 75 kD soluble TNF- $\alpha$  reseptör (sTNF-R75) konsantrasyonu ile neopterin konsantrasyonları arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur. Melichar ve diğ. (31)'nin kolorektal kanserli hastalarda yaptığı çalışmada neopterin ile serum karsinoembriyojenik antijen düzeyleri, lökosit sayısı ve trombosit sayısı arasında önemli bir ilişki olduğu bildirilmiş ve neopterin düzeylerinin hastalığın prognozunu değerlendirmede kullanılabileceği belirtilmiştir.

Yüksek neopterin konsantrasyonları meme kanserinden kurtulup tükenmişlik yaşayan kişilerde de tanımlanmış ve artmış neopterin üretimi ile serotonin ve önemli adrenerjik ve dopaminerjik nörotransmitterlerin biyosentezinde görevli olan BH<sub>4</sub> arasında yakın ilişkiden kaynaklandığı düşünülmüştür (38). Yine Yüksel ve diğ. (39)'nin yaptığı çalışmada malign ve benign meme tümörleri arasında idrar neopterin konsantrasyonlarının anlamlı düzeyde farklı olduğu saptanmış ve bu sonuçların idrar neopterin konsantrasyonlarının klinikte meme kanseri tanısında önemli ve özellikle tümör tipini ayırt etmede kullanışlı bir gösterge olabileceği belirtilmiştir.

Otoimmün hastalıklarda organizmanın homolog yapılarına karşı immün sistem saldırır (22). Hücrel immün olayların otoimmün hastalıkların patojenezinde katkıda bulunduğu günümüzde kabul görmektedir (40). Bu yüzden hücrel immünitenin etkin olduğu durumlarda neopterin düzeylerinin de artması beklenir (22). Romatoid artrit (41,42), sistemik lupuseritematoz (42), Behçet hastalığı (43,44), Sjögrensendromu (8), Graves hastalığı (8) gibi pek çok otoimmün hastalıkta serum ve/veya idrar neopterin konsantrasyonlarının arttığı gözlenmiştir. Bu yükseliş bir biyogösterge olarak neopterin otoimmün hastalıkların aktivitesini ve yaygınlığını işaret edebileceğini göstermeye olanak sağlamaktadır (40). Romatoid artritde hastalığın aktivitesine bağlı olarak serum ve idrar neopterin konsantrasyonlarının her ikisinin de artmış ve serum neopterin düzeyleri IgM-romatoid faktör ile korelasyon göstermiştir (41).

Neopterin düzeyleri kronik koroner arter hastalarında olduğu kadar akut koroner arter hastalığında da artmaktadır. Ateromatöz plak ruptürü arter duvarlarındaki makrofajların aktivasyonuna ve göçüne neden olur ve kana neopterin salınır. Stabil koroner arter hastalığında ise çok düşük sayıda aktive olmuş makrofajlar nedeniyle sadece çok az miktarda neopterin üretimi olur. Schumacher ve diğerleri (45)'nin yaptıkları bir çalışmada akut miyokardiyal enfarktüs geçiren hastalarda ilk dört saatlik trombolitik tedavi ile anlamlı olarak düşen serum neopterin düzeylerinin sonrasında yeniden artmaya başladığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise akut serebral iskemiyi takip eden ilk bir yıl içinde kronik inflamasyonun varlığını işaret eden neopterin düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. Neopterin düzeyleri ile yine

aktive makrofajlarda üretilen endotelin-1 arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir (46).

Lhee ve diğ. (47), kronik renal hastalık ve son dönem böbrek yetmezliğinde serum ve idrar neopterin düzeylerinin arttığını bildirmişlerdir. Böbrek hastalarında serum neopterin düzeylerinin yaş, serum kan üre azotu ve kreatinin düzeyleri ile pozitif ilişki gösterirken hemoglobin, hematokrit, serum albümin ve total demir bağlama kapasitesi ile negatif ilişkili gösterdiği gözlenmiştir. Yine hemodiyaliz hastalarında Asci ve diğ. (48)'nin yaptığı çalışmada hemodiyaliz hastalarında serum ve idrar neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole göre arttığı gözlenmiştir. Diyabet ve hipertansiyon gibi patolojilere bağlı olarak nefropati gelişen ve hemodiyaliz tedavisi gören hastaların da yine serum ve idrar neopterin düzeylerinin hemodiyaliz tedavisi görmeyen diyabet ve hipertansiyon hastalarına göre yükseldiği bildirilmiş ve neopterin düzeylerinin diyabet ve hipertansiyon hastalarında nefropati gelişiminde erken dönem biyogöstergesi olabileceği belirtilmiştir.

Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda immün aktivasyon belirtileri ve artmış oksidatif stres belirgindir. Ancak, genellikle immünkompetent hücrelerin ve reaktif oksijen türevlerinin beyinde oluşturdukları etki hastalarda lokal patolojik hasarın temelini oluşturabilmektedir (22). Artmış neopterin konsantrasyonları Alzheimer ve Parkinson hastalarında gösterilmiştir (49,50). Wissmann ve diğ. (49) Alzheimer hastalarında neopterin, fenilalanin, tirozin, kinürenin ve triptofan düzeylerini değerlendirmiş ve neopterin düzeyleri mini mental durum değerlendirmesi ve saat çizme testi ile pozitif korelasyon göstermiştir (49). Widner ve diğ. (50)'nin yaptığı çalışmada da Parkinson hastalarında serum neopterin düzeylerinin yüksek olduğu ve değerlendirme (Hoehn&Yahn) skalasına göre 5. derecedeki hastalarda 1.-4. derecedeki hastalara ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede yükseldiği gözlenmiştir.

İşçilerde kot kuşlamaya bağlı olarak gelişen silikoziste değerlendirilen neopterin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, ancak çalışma süresi ile herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Bunun yanında silikozisin şiddetini belirleyen Uluslararası Çalışma Örgütü (International Labour Organization, ILO) sınıflamasına bağlı olarak hastalığın şiddeti arttıkça neopterin düzeyleri de artma eğilimi

göstermiştir (51). Diğer bir meslek grubu ile yapılan çalışmada galvanizasyon işçilerinde ortalama serum ve idrar neopterin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği bildirilmiştir. Çinko maruziyetinin olduğu bu işçi grubunda, idrar neopterin düzeyleri ile serum çinko düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir ilişki gözlenmiştir (52).

Hastalıklarda bir biyogösterge olması ve aktive olmuş hücrenel bağışıklığın bir belirteci olması nedeniyle neopterin ölçümleri kan ve organ donör takibinde çeşitli ülkelerde uygulanmaktadır (16).

### **2.2.5. Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi ve Sağlıklı Bireylerde Neopterin Konsantrasyonları**

Böbreklerden değişmeden atılan neopterin yarı ömrü 90 dakika olarak hesaplanmıştır (4,8,16). Klerensi inülinin kleresinden daha yüksek olduğundan, neopterin sadece glomerüler filtrasyon ile değil aynı zamanda tübüler sekresyonla da atıldığı düşünülmektedir (8). İdrar neopterin konsantrasyonları serum düzeyleri ile iyi bir ilişki gösterir (4). Pteridinlerin idrarla atılımı yaşa bağlı olarak değişir. Yaşamın ilk ayında idrarla neopterin/biyopterin 4,2 oranında atılırken yetişkinlerde ise bu oran 0,53'dür (11).

Pek çok klinik çalışmada neopterin idrarda yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) ile ölçülmektedir. İdrardaki miktarı kandaki miktarından yaklaşık 300 kat kadar yüksek olduğundan floresans özelliği ile kolaylıkla ölçülebilir. İdrar yoğunluğundaki fizyolojik değişimler nedeniyle kreatinine oranlanarak ifade edilir (53). İdrar neopterin konsantrasyonu genel olarak  $\mu\text{mol}$  neopterin/mol kreatinin olarak ifade edilmektedir (1). YBSK ile ölçülen idrar neopterin konsantrasyonları sağlıklı bireylerde 100-200  $\mu\text{mol}/\text{mol}$  kreatinin arasında değişmektedir. Yaş ve cinsiyete bağlı olarak çoğunlukla değişen kreatin klerensi nedeniyle hafif farklılıklar olabilir. Renal klerensin yeterli olmadığı durumlarda ise serum neopterin düzeyleri serum kreatinine oranlanarak değerlendirilebilir. Renal fonksiyonların bozulduğu durumlarda serum neopterin düzeyleri artar. Bu durumda hücre aracılı immün cevabı değerlendirmede serum neopterin/kreatinin oranı sadece serum neopterin düzeylerinden daha bilgi verir niteliktedir (8). Genel olarak idrar ve

serum neopterin konsantrasyonlarının tanı değeri, böbrek fonksiyonları normal veya orta derecede hasarlı ise hemen hemen aynıdır (12). Serum, serebrospinal sıvı, pankreas özsuyu, idrar, tükürük ve peritoneal boşluğu dolduran sıvı gibi pek çok vücut sıvısında neopterin saptanabilir (8). Ortalama  $5.2 \pm 2.7$  nM olan serum konsantrasyonları ise genellikle ya radyoimmünoassay (RIA) ya da ELISA ile belirlenir (16,21). Mevcut veriler sağlıklı popülasyonun (çocuk ve yetişkin) % 92,7'sinin serum neopterin konsantrasyonunun 10 nmol/L'nin altında olduğuna işaret etmektedir (1,8). Bu nedenle 10 nmol/L, serum neopterin konsantrasyonu için referans standart olarak kabul edilmiştir (1). Sinoviyal sıvı, tükürük ve serebrospinal sıvı invazif teknikler gerektirdiğinden bu sıvılarda neopterin tayini güçtür. Bu nedenle, sağlıklı kontrollerde bu düzeyleri gösteren veriler az olmakla birlikte bu biyolojik sıvılarda neopterin konsantrasyonu 1,0 ile 9,0 nM arasında değişmektedir (16).

#### **2.2.6. Göz Hastalıkları ve Neopterin İlişkisi**

Işık ile indüklenen etkilere karşı pteridinlerin lens ve retinada koruyucu etkileri olduğu düşünülmeye rağmen henüz bu bileşiklerin oküler dokulardaki varlığı kanıtlanmamıştır. Rao ve Cotlier (54) tarafından hem insan hem de sıçan iris, lens ve retinasında neopterin, biyopterin ve sepiapterin düzeyleri araştırılmış, pteridin sentezleme aktivitesinin iris ve lense göre retinada daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Aktive olmuş Th hücrelerinin aracılık ettiği potansiyel görme kaybı oluşturabilecek bir hastalık olan idiyopatik retinal vaskülit hastalarından ortalama 9 ay gibi bir süre toplanan örneklerde, idrar neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. İmmünoşüpresiflerle sistemik tedavi gören hastaların neopterin düzeylerinin, tedavi görmeyen hastalara göre anlamlı olarak düştüğü gözlenmiştir. Hastalardaki artmış idrar neopterin düzeyleri, retinal vaskülitin sistemik bir hastalığın göze yansması olup olmadığı sorusunu gündeme getirmiş ancak örnek sayısının kısıtlı olması nedeniyle yanıtlanamamıştır (55).

Kötter ve diğ. (56) aktif oküler Behçet hastalığı olan ve rekombinant interferon  $\alpha$ -2a (rhIFN- $\alpha$ 2a) kullanan 50 hastada interferon  $\alpha$ 'nın etkisini değerlendirmişlerdir. Tedaviye başlamadan önce ve IFN tedavisi sırasında belirli zaman aralıklarında alınan serum interlökin, IFN ve neopterin düzeyleri gibi immün sistem parametreleri 21 sağlıklı kontrol ile karşılaştırılmıştır. Bazı sitokinlerin ve sitokin reseptörleri ile neopterin düzeylerinin Behçet hastalarında kontrole göre anlamlı yüksek olduğu gözlenmiştir. IFN tedavisi ile TNF- $\alpha$  ve neopterin düzeylerinin artışı, makrofajlardaki aktivasyonu yansıtmakta ve IFN'nin ateş, eklem ağrısı, baş ağrısı, iştah ve kilo kaybı gibi esas yan etkilerin sorumlu olabileceği bildirilmiştir.

Abi-Hanna ve diğ. (57) tarafından 25'i aktif, 15'i inaktif ve 10'u da kronik olmak üzere 50 akut anterior üveitli hastada interferon ve serum neopterin düzeyleri değerlendirilmiştir. Serum IFN- $\gamma$  düzeylerinin 15 kişilik kontrol grubuna göre üveitli hastalarda düşük olduğu, kronik üveit hastalarında ise en düşük seviyede olduğu gözlenmiştir. Serum neopterin düzeyleri incelendiğinde en yüksek artışın aktif üveit hastalarında olduğu, kronik üveit hastalarında ise neopterin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bildirilmiştir. Neopterin düzeylerinin inaktif hastalarda artmaması, serum neopterin düzeylerinin hastalığın aktivitesi ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. İnterferon düzeyleri değişmeden neopterin düzeylerinin artmasının lokalize immün cevabın bir göstergesi olabileceği ve IFN- $\gamma$  gibi diğer faktörlerin artışının yükselmiş neopterin düzeylerini açıklayabileceği belirtilmiştir. Kronik üveit hastalarında neopterin düzeylerindeki azalmanın ise steroid kullanımına bağlı olarak IFN- $\gamma$  düzeylerindeki düşüş nedeniyle olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Durukan ve diğ. (58)'nin idrar neopterin düzeylerinin üveit aktivitesini gösterebilen bir gösterge olup olamayacağını araştırdıkları bir çalışmada, 31 aktif ve 13 inaktif olmak üzere 44 hastanın ve 27 kontrol bireyinin idrar neopterin düzeyleri belirlenmiştir. Aktif, inaktif ve kontrol gruplarında idrar neopterin düzeylerinin anlamlı olarak birbirlerinden farklı olduğu idrar neopterin konsantrasyonlarının ortalama 200 ng/ml ve üzeri olarak belirlenmesi durumunda üveit hastalarının aktif duruma geçtiği rapor edilmiştir.



Primer insan retinal pigment epitel (RPE) hücrelerinin gözde otoimmün hastalıkları tetiklemedeki olası rolünü daha iyi anlamak için yapılan bir çalışmada, insan RPE hücreleri ile sığır RPE kültürü ve RPE-MonoMac6 hücre hattı karşılaştırılmıştır. 3- 6 gün boyunca farklı dozlarda IFN- $\gamma$  uyarımı sonrasında neopterin salınımı incelendiğinde, sığır RPE hücreleri hiçbir dozda neopterin üretmezken, insan hücre RPE hatlarında ve primer RPE hücre kültürlerinde düşük, ancak süre ile artan miktarlarda neopterin üretimi olduğu gözlenmiştir. MonoMac6 hücre hattının ise daha yüksek düzeyde neopterin ürettiği görülmüştür. RPE hücre hatlarında ve primer RPE kültüründe neopterin salınımının artması IFN- $\gamma$ 'nın bu hücrelerde pteridin biyosentezini indükleyebildiğini göstermiştir. Pteridin düzeylerinin retinal dokularda daha yüksek bulunmasının, pteridinlerin ışık hassasiyeti olan dokuları güneş ışığından koruyabilmek amaçlı olduğu şekilde yorumlanmıştır (59).

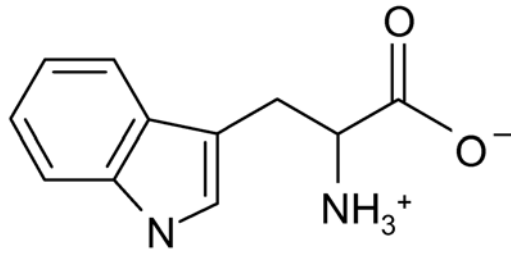
Psödoeksfoliasyon sendromu (PES) olan 40 katarakt hastası ile 51 psödoeksfoliasyon sendromu olmayan hastada serum neopterin, kinürenin ve selenyum konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada gözün aköz humöründe neopterin konsantrasyonu belirlenmiştir. PES'i olan ve olmayan matür katarakt hastaları karşılaştırıldığında, PES'i olan hastalarda artmış serum kinürenin ve neopterin konsantrasyonları ile aköz hümör neopterin konsantrasyonları tespit edilmiştir. Katarakt gelişiminde oksidatif stresin de katkısı olması nedeniyle, neopterin düzeylerindeki bu artışın PES'i olan hastalarda oksidatif stresin artmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Bu sonuçların katarakt hastalarında PES oluşumunda oksidatif stresin rolü olduğu görüşünü desteklediği ifade edilmiştir (60).

### 2.3. Triptofan

Triptofan ilk olarak 1900'lü yılların başında Hopkins ve Cole tarafından kazein proteininden izole edilmiş, Ellinger ve Flamand tarafından kimyasal yapısı aydınlatılmıştır. Diğer aminoasitler gibi sadece L izomeri protein sentezinde kullanılabilir. İlk defa 1949 yılında kimyasal olarak sentezlenmiş 1980'lerin başında ise fermantasyon prosedürleri ile üretimine başlanmıştır (61).

İnsan metabolizması için esansiyel bir aminoasit olan triptofan, önemli bileşiklerin biosentezinde görevlidir. Nörotransmitterlerden serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), nörohormon melatonin ve biyolojik olarak önemi olan niasin gibi birçok bileşiğin biosentezinde öncüdür. Aynı zamanda proteinlerin sentezinde de gereklidir (3,18). Bunların yanı sıra merkezi sinir sistemi (MSS)'nde aktif olan kinolinik asit ve kinürenik asidin öncülü olan kinüreninin oluştuğu pek çok metabolik yolakta rolü bulunmaktadır (62).

2-amino-3-indol-propiyonik asit yapısındaki triptofan  $C_{11}H_{12}N_2O_2$  kapalı formülü ile gösterilmekte ve (2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-il) propanoik asit olarak isimlendirilmektedir. Molekül ağırlığı 204,23'tür. Sıcak alkol ve alkali hidroksitlerde çözünürken, kloroformda çözünürlüğü yoktur (63). Triptofanın kimyasal yapısı Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.3.** Triptofanın kimyasal yapısı

Triptofan bütün aminoasitler içinde en düşük konsantrasyonda ve göreceli olarak daha az miktarda bulunması ile protein sentezi sırasında hız kısıtlayıcı basamak görevi görmesi nedeniyle; insan vücudunda triptofanın başlıca rolü protein sentezlerinde önemli bir yapıtaşı olmasıdır. (61). Protein sentezine ek olarak triptofan; serotonin, melatonin, triptamin gibi biyojenik aminlerin ve kinürenin yolağı ile kinüreninlerin sentezinde görev yapar. Memelilerde enerji metabolizmasında önemli bir koenzim olan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)'in sentezine de katkıda bulunur (64).

İndol halkası içeren tek aminoasit olan triptofan bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilirken; insanda *de Novo* ile

sentezlenememektedir (61,62). Çikolata, muz, ananas, kivi, ceviz, fıstık, peynir, süt, et ve balık gibi gıdalarda bol miktarda mevcuttur (61).

Triptofan eksikliği sonucu oluşan niasin eksikliğine bağlı Pellegra hastalığı, triptofanın keşfinden çok daha önce, 1735 yılında Gaspar Casal tarafından tanımlanmıştır (19). Normal şartlar altında triptofanın diyetle alınımının azalması endojen triptofan düzeylerinin düşmesine ve buna bağlı olarak kinürenin konsantrasyonlarının da azalmasına neden olur. Pek çok hastalıkta azalmış triptofan düzeyleri ile birlikte kinürenin konsantrasyonlarının ve Kin/Trp oranının arttığı gözlenmiş, bunun nedeninin ise diyet ile yetersiz triptofan alımından çok, triptofanın yıkımının artmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (18).

### **2.3.1. Biyosentezi ve Metabolizması**

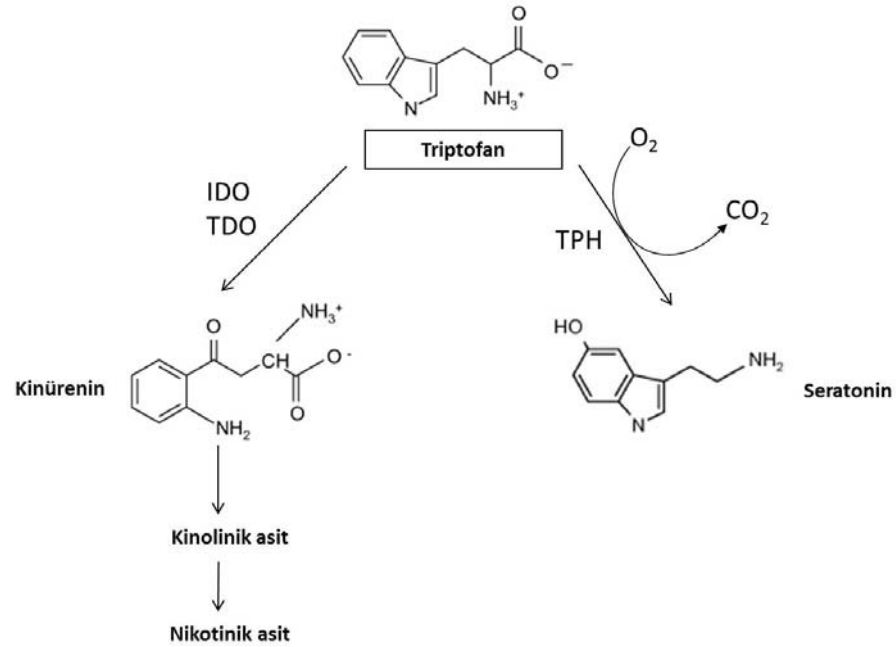
Triptofan metabolizmasının sağlığa ve hastalığa etkisinin anlaşılması için, katıldığı yolların katkıda bulunduğu fizyolojik olayları bilmek önemlidir (64). Diyetle alınımı takiben absorbe olan triptofan kan dolaşımına geçerek albümine bağlanır (yaklaşık %90'ı); kalan kısmı serbest halde dolaşımda bulunur. Kan-beyin engelinden sadece serbest triptofan yarışmalı olarak ve spesifik olmayan L- tipi amino asit taşıyıcıları aracılığıyla geçebilir (65).

Protein sentezi için kullanılmayan serbest triptofan pek çok metabolik reaksiyon ve kinürenin yolağı adı verilen yolakta yıkıma uğrayabilir veya seratonin biyosentezine girebilir (61,64) (Şekil 2.4). Protein sentezinden sonra triptofanın en önemli ikinci yolağı kinürenin sentezidir (61,66). Diyetle alınan triptofanın sadece %1'inin 5-HT' e dönüştüğü, %99'unun ise kinürenin yolağı ile metabolize olduğu tahmin edilmektedir (19,61,67). Bununla beraber, sonuçları açısından 5-HT sentezi de en önemli triptofan yollarından biridir. Seratonin sentezine giren triptofan; triptofan-5-hidroksilaz enzimi ile dekarboksillenerek 5-HT'e dönüşecek olan 5-hidroksitriptofana dönüşür (61).

IDO ve triptofan (2,3)-dioksijenaz (TDO) enzimleri ile katalizlenen kinürenin yolağının ilk basamağında indol halkası açılarak triptofanın yapısına iki atom oksijen ilavesi ve N-formilkinürenin oluşumu ile triptofanın yıkımı başlar. (19,64,67).

Triptofandan oluşan diğer bir biyolojik aktif bileşik triptamindir. Triptofanın hızla dekarboksilasyona uğraması ile eser miktarda oluşan bu bileşiğin 5-HT'in eksitator ve inhibitör etkisindeki dengeyi kontrol ettiği ve bunun yanında 5-HT'in etkisinden bağımsız olarak, özgün almaçlarında nörotransmitter gibi etki gösterdiği düşünülmektedir (61).

Triptofan/serotonin yolağında üretilen bir hormon olan melatonin ise günlük ritmi düzenlemekte, üreme sistemi ve immün sistemin yanısıra sindirim dahil gastrointestinal motiliteyi etkilemektedir. Karanlıkta aktif olarak pineal bezlerden salınan melatonin duygusal, fizyolojik ve uyku kalıplarını düzenleyen nöronal ve endokrin etkileri indükler (61).



**Şekil 2.4.** Triptofan yıkımındaki iki ana katabolik yolak

Triptofan-5-hidroksilaz (TPH) serotonin oluşumunu katalizlerken TDO ve IDO ise kinürenin oluşumunu katalizler (68).

Triptofan aynı zamanda NAD ve NAD-fosfat (NADP) koenzimlerinin sentezinde substrat görevi görür. NAD ve NADP bütün canlı hücrelerde elektron transfer reaksiyonlarında gerekli koenzimlerdir. Bu enzimler *de Novo* yolağı ile triptofandan sentezlenebilirler. Triptofan niasin sentezinde de kinürenin/kuinolinik asit yolağı aracılığı ile substrat olarak rol alabilir, ancak çok etkin değildir (61).

#### 2.4. Kinürenin ve Kinürenin Yolağı

Kinürenin, Kotake tarafından 1927 yılında izole edilmiş 1940 yılında yapısı aydınlatılmıştır (62,69). 1936 yılında ise Kotake ve Masayama triptofanı formilkinürenine çeviren enzim olan triptofan pirolazı izole etmiş, bu enzim daha sonra triptofan 2,3-dioksijenaz olarak isimlendirilmiştir (69). Romatoid artrit, tüberküloz, lösemi, mesane kanseri gibi pek çok hastalıkta idrarda triptofan metabolitlerinin düzeylerinin arttığı, ancak bu hastalarda karaciğer TDO düzeylerinin değişmediğinin gözlenmesi; TDO'nun triptofan katabolizmasından sorumlu tek enzim olmadığını düşündürmüştür. 1963 yılında Hayaishi ve arkadaşları, triptofanın kinürenine dönüştüren ikinci bir enzim izole etmişlerdir. TDO'dan daha fazla substratı olan ve L- ve D-triptofan, triptamin, 5-hidroksitriptofan gibi pek çok indolamini kullanan bu enzimIDO olarak isimlendirilmiştir (69).

TDO esas olarak karaciğerde bulunmakta ve kortikosteroidler tarafından düzenlenmekte; IDO ise akciğer ve plasentada yüksek aktivitede olmakla birlikte ekstrahepatik memeli hücrelerde yaygın bir şekilde dağılmaktadır (3,69).

TDO ve IDO farklı uyarılara karşı farklı dokularda ifade edilir (Tablo 2.1). TDO hem ökaryotlarda hem de bakterilerde bulunurken, IDO sadece insanlarda ve mayalarda mevcuttur. Memelilerde hem TDO hem de IDO ifade edilir (64). Buna karşılık IDO makrofajlar ve mikroglia, nöron, astrosit gibi MSS hücreleri de dahil olmak üzere pek çok hücrede bulunur. IDO bir sitokin olan IFN- $\gamma$  ve lipopolisakkaridler, amiloid peptidler ve HIV proteinlerini de kapsayan pek çok immün uyarıcı ile indüklenir (64,65). TDO kandaki triptofan düzeylerini kontrol ederek sistemik triptofan düzeyini etkilerken, IDO lokal olarak etki eder ve inflamasyona yanıt olarak triptofan düzeylerini düzenler (64).

**Tablo 2.1.** TDO ve IDO enzimlerinin bazı özelliklerinin karşılaştırılması (69).

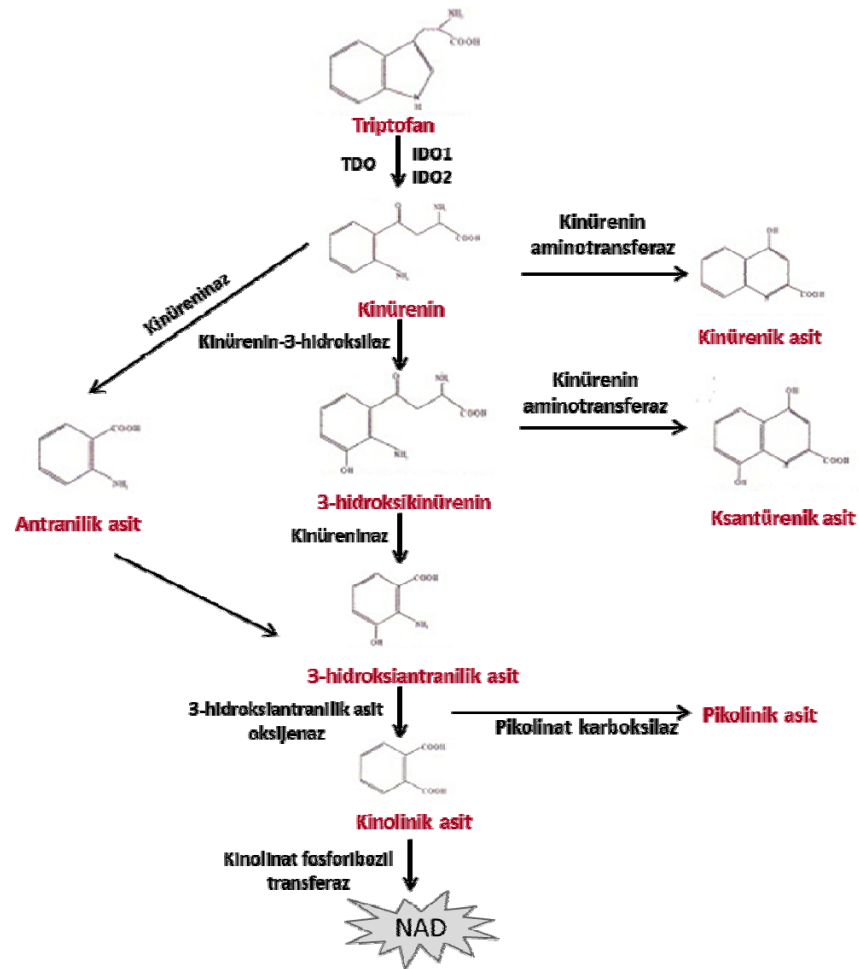
	<b>IDO</b>	<b>TDO</b>
Substrat	İndolamin türevleri: triptofan, 5-hidroksitriptofan, triptamin, 5-HT	Triptofan
Oksijen kaynağı	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ve O <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
Dağılım	Bütün dokular	Yoğunlukla Karaciğer
Molekül ağırlığı	42,000	320,000
Uyarıcılar	İnfluenza virüsü, lipopolisakkaridler, İnterferonlar	Triptofan, Tirozin, Histidin, Fenilalanin, Kinürenin, Hidrokortizon, Glukokortikoid

Hepatik TDO ile ekstrahepatik IDO enzimleri aracılığıyla triptofanın uğradığı yıkım, kinürenin yolağı olarak adlandırılır (3). Kinürenin yolağındaki ilk ve aynı zamanda hız kısıtlayıcı olan basamağın, doku ve hücre türüne göre, TDO ve IDO enzimleri tarafından gerçekleştirildiği kabul edilmektedir (70). Kinürenin yolağında son ürün olarak nikotinik asit, niasin ve NAD gibi önemli nörolojik aminler sentezlenir (Şekil 2.5) (3).

Hepatositler, kinürenin yolağının bütün enzimlerini içeren tek hücrelerdir. Beyinde ise kinürenin yolağı metabolitlerinin çoğu mikroglia ve astrositlerde oluşur. 3-hidroksikinürenin (3-HK)'in sentezi ve daha sonrasında metabolitler mikroglia da oluşurken, kinürenik asit sentezi astrositlerde meydana gelir. Buna ek olarak periferik ve merkezi sinir sistemi arasında triptofan metabolitlerinin etkileşim içerisinde olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır. Triptofan, kinürenin, 3-HK ve antranilik asit kan-beyin engelini kolayca geçebilir. Dolayısıyla bu metabolitlerin kan düzeyindeki değişiklikleri beyindeki kinürenin yolağını etkileyebilir. Kinürenik asit, 3-hidroksiantranilik asit ve kinolinik asit ise kan-beyin engelini çok az geçerler (64).

Kinürenin pek çok metabolitin sentezinde anahtar rolündedir; bu metabolitlerden en önemlileri kinürenik ve kinolinik asittir. Kinürenik asit ve kinolinik asit, nörotransmitterleri etkileme potansiyeline sahiptirler (19). Kinürenik asit genellikle beyinde, nanomolar konsantrasyonlarda bulunan, endojen bir

nöroprotektif maddedir. Kinolinik asit antagonist olarak düşük konsantrasyonlarda N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin glisin modülatör bölgelerinde etki gösterirken, yüksek konsantrasyonlarda ise NMDA reseptörlerinin glutamat bölgelerinde etki gösterir (65). Kinürenin, NAD yolağı NMDA agonisti olan apopitotik ve anksiyojenik etki gösteren kinolinik asit ve pikolinik asit için de öncü maddedir. Kinolinik asit ve pikolinik asitin NAD aktivitesini indüklediği in vivo ve in vitro deneylerde gözlenmiştir. Kinürenin-NAD yolağında oluşan kinürenin türevlerinden 3-hidroksiantranilik asit ve 3-HK, serbest radikal üreticisidir (19). 3-hidroksiantranilik asit hem immün sistem üzerinde etkilidir hem de bir nörotoksindir (65).



Şekil 2.5. Kinürenin yolağının şematik gösterimi (65,71)

Kinolinik asit NMDA tarafından aktive edilen glutamat reseptörlerinde agonist etki gösterirken, kinürenik asit glutamat reseptör antagonistidir (19,61,67,70). Kinolinik asit NMDA reseptörleri ve nikotinic- $\alpha$ 7 reseptörleri ile etkileşime girerek nöronlara hasar verirken, kinürenik asit NMDA ve nikotinic reseptörler için antagonist olarak etki eder ve sinir hücrelerinde koruyucu etki gösterir. Kinürenik asit ve kinolinik asit oluşumunun dengesinde olası bir patolojik değişimin Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklarda rol oynayabileceği düşünülmektedir (67).

Triptofan metabolitleri olan kinürenin, 3-HK ve 3-hidroksiantanilik asid (3-HAA) zaman bağımlı olarak T hücre proliferasyonunu inhibe eder. Bu etki sadece aktive T hücrelerini değil aynı zamanda B lenfositler ile doğal öldürücü hücreleri de kapsamaktadır. 3-HK'in sitotoksik etkisi serbest hidroksil radikali oluşumu ile sonuçlanan hidrojen peroksit üretimi aracılığı ile olabilir. 3-HAA'in toksik etkisi ise daha karmaşıktır. 3-HAA'in son etkisi T hücrelerinin, timositlerin ve monosit makrofajların ölümü ile sonuçlansa da hücre ölümündeki mekanizma büyük olasılıkla hücre tipine bağlıdır. Sitotoksik serbest hidroksi radikallerin oluşumu, monosit makrofajlarda 3-HAA ile indüklenen hücre ölümünden sorumlu olabilmektedir. L-kinürenin pek çok ekstrahepatik hücrede kinürenin yolağının son ürünü olarak düşünülmektedir. Oysa ki makrofajlarda kinüreninaz ve kinürenin-3-hidroksilaz aktivitesinin çok yüksek olması nedeniyle kinolinik asit oluştuğu bilinmektedir (67).

Kinüreninin ultraviyole ışık filtresi olarak görev yapması nedeniyle, ultraviyole hasara karşı gözün retinasını koruduğu bilinmektedir. Bu koruma etkisi gözün görme işlevi ile etkileşen renk ve lensin floresansındaki değişikliklerle birlikte, yaşın da etkisi ile katarakt oluşumunda rol oynayabilir (61).

## 2.5. Triptofan ve Kinüreninin Fizyolojik Düzeyleri

Sağlıklı insanlarda serum triptofan ve kinürenin konsantrasyonları sırasıyla ortalama  $73,0 \pm 14,9$   $\mu\text{mol/L}$  ve  $1,92 \pm 0,58$   $\mu\text{mol/L}$ ; Kin/Trp oranı ise  $26,9 \pm 8,1$   $\mu\text{mol/mmol}$  olarak bildirilmektedir. Triptofan ve kinürenin konsantrasyonları erkeklerde kadınlara göre yaklaşık %15 daha yüksektir ve bunun nedeni insan



koriyogonadropik hormonu (hCG) olarak gösterilmektedir. Söz konusu hormonun gebe olmayan kadınların monositlerinde *in vitro* olarak IDO ifadesini indüklediği bulunmuştur (3).

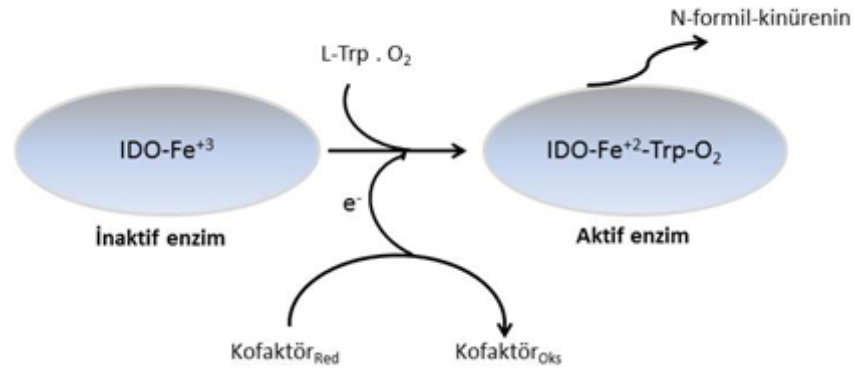
## 2.6. İndolamin 2,3-dioksijenaz

Bu enzim triptofan-kinürenin yolağında ilk ve hız kısıtlayıcı basamak olan indolamin halkasının triptofandan ayrılmasını katalizleyen ve süperoksidi ko-substrat olarak kullanan flavin bağımlı bir oksidoredüktazdır (19,62).

İlk defa 1967 yılında Osamu Hayaishi ve ekibi tarafından tavşan bağırsağından izole edilmiş ve aktivasyonunun antimikrobiyal direnç mekanizmasında etkili olduğu anlaşılmıştır (67,69,72).

İnsanlarda ve farelerde 8. kromozom üzerinde yer alan 15kbp'lik bir gen tarafından kodlanmaktadır (62,70,72). İnsan IDO cDNA'sı molekül ağırlığı yaklaşık 45 kDa olan 403 aminoasitlik bir proteini kodlar (62,69,72). IDO'nun triptofana afinitesi oldukça yüksektir ( $K_m \sim 0,02mM$ ). IDO enziminin aktivitesi için *Hem* grubu oldukça önemlidir. IDO'nun aktivasyonu tek elektronun ferrik demirin ( $Fe^{+2}$ ) ferröz demire ( $Fe^{+3}$ ) indirgemesi ve enzimin aktif bölgesine triptofan ile birlikte oksijenin bağlanması sonucu gerçekleşir (Şekil 2.6) (62,72). Bilindiği üzere süperoksit anyonu, dihidroflavin mononükleotid, tetrahidrobiopterin ve sitokrom redüktaz; demir iyonunu redükler ve bunların tümü hücre içi redükleyici olarak kabul edilmektedir (62).

Triptofan yıkımı; TDO, IDO1 ve IDO2 olmak üzere 3 farklı enzim tarafından katalizlenmektedir. IDO2 enziminin ifadesi ve fonksiyonu fare modellerinde yeterince araştırılmasına rağmen insan doku hücrelerinde ifadesi ve fonksiyonu hakkında önemli bir bilgi bulunmamaktadır (67). İnsan IDO1 ve IDO2 enzimlerinin farklı kinetik parametreleri ve inhibisyon profilleri bulunmaktadır; IDO2 enziminin triptofan için  $K_m$  değeri IDO1 enziminin yaklaşık 500-1000 katıdır ve IDO2 1-metil-D-triptofan tarafından inhibe edilir (67,70). IDO2 öncelikle böbreklerde olmak üzere over, uterus, epididimis, testis ve karaciğerde de ifade edilmektedir. IDO2'nin IFN- $\gamma$  varlığında miktarı değişmez (70).



**Şekil 2.6.** IDO aktivasyonu

IDO aktivasyonu için ferrik formun ferro forma dönüşerek *hem*-demirdeki tek elektronun indirgenmesi ile Trp ve O<sub>2</sub> enzimin aktif bölgesine bağlanır ve aminoasitin pirol halkasının oksidasyonu ile N-formil-kinürenin oluşur (72).

IDO plasenta, karaciğer, ince ve kalın bağırsak, kolon, dalak, akciğer, böbrek, mide ve beyinde hücre içinde çoğunlukla da immün sistemin dendritik hücreleri, monositleri ve makrofajları gibi antijen sunan hücrelerinde ifade edilir. Myeloid kökenli hücrelerde (dendritik hücreler, monositler, makrofajlar, eozinofiller), epitel hücreler, fibroblastlar, vasküler düz kas hücrelerinde ve endotel hücrelerinde belli tümör hücre kültürlerinde IFN- $\gamma$  tarafından indüklenebilir (72). IFN- $\gamma$  yanında IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), TNF- $\alpha$  veya lipopolisakkaridler, Toll-benzeri reseptör ligandları gibi sitokinler tarafından da uyarılabilir (67,69,72). Buna ek olarak, kinürenin ve 3-HK de T hücrelerinde triptofan gereksiniminin artmasına dahil olabilir (67). Bunun yanında IL-4, IL-6, IL-10, PGE<sub>2</sub>, CD40 hücre tipine bağlı olarak IDO ifadesini değiştirebilir. Mikrobiyal hücrel enfeksiyonlar bazı hücrelerde IDO'yu uyarabilir (67).

IDO1 enzim aktivitesinin özgün dokularda uyarılması ile birlikte triptofan yıkımının artması ve serum kinürenin konsantrasyonunun üç katına çıkmasına neden olması, triptofan yıkımının lokal dokularda başladığını gösterir. Kinüreninin ise kan dolaşımına difüze olması nedeniyle serum kinürenin konsantrasyonlarının artması, özgün dokulardaki triptofan metabolizmasının arttığına işaret eder. TDO ve IDO1 lokal ve sistemik triptofan konsantrasyonlarını değiştirirken, nöroaktif ve immün

düzenleyici triptofan metabolitlerinin üretimini başlatır ancak triptofan yıkımının immün sisteme bağlı değişiminden büyük çoğunlukla IDO1 sorumludur. Buna ek olarak IDO2'nin biyolojik fonksiyonu ise hala belirsizdir (67).

Dendritik hücrelerden ifade edilen IDO; triptofan konsantrasyonlarını azaltabilir, kinürenin konsantrasyonlarını arttırabilir ve allojenik T hücre yanıtını baskılayabilir (67).

İndolamin 2,3-dioksijenaz, esansiyel bir aminoasit olan triptofanın yıkımından sorumlu bir enzim olması nedeniyle güçlü bir bağışıklık düzenleyici etkiye sahip bir enzim olarak tanımlanmıştır (62). İfade edildiğinde aktif IDO lokal dokulardan triptofanı kullanır ve kinürenin yolağındaki metabolitlerin oluşmasına neden olur. IDO esansiyel bir aminoasitten hücreyi mahrum eder ve biyoaktif kinürenin oluşumunu teşvik ederek konakçı hücrenin doğuştan gelen bağışıklığı ve immün sistemdeki biyolojik rolünü gösterir (62,72).

Triptofan yıkımında ilk ürün olan kinüreninin IDO'nun substratı olan triptofana oranı, IDO'nun aktivitesini hesaplamada kullanılır (4,15,18,19). Kin/Trp oranı triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarının ayrı ayrı bildirilmesinden daha iyi bir göstergedir. Triptofan yıkımının TDO yerine IDO aktivasyonundan kaynaklandığını göstermek için aynı zamanda immün sistem aktivasyonunu da ilgili biyogöstergelerle eş zamanlı olarak değerlendirmek gerekir (Tablo 2.2). Kin/Trp oranı immün sistem aktivasyonunu gösteren parametrelerle ve/veya endojen IFN- $\gamma$  oluşumu ile birlikte verilmesi durumunda anlamlı olur. Örn., insan ve primatlarda Th1 tip immün cevabın görüntülenmesi ve belirlenmesinde duyarlı bir gösterge olan neopterin konsantrasyonları ile ilişkili olması gibi (3). Kin/Trp oranı aynı zamanda karaciğerde bulunan stres hormonları ve triptofan ile düzenlenen diğer bir enzim olan TDO'nun aktivitesinden de etkilenir. Bu nedenle, insan plazma Kin/Trp oranı hem IDO hem TDO aktivitesini yansıtırken neopterin düzeyleri sadece IFN- $\gamma$  aktivitesini yansıtır (19).

**Tablo 2.2.** Triptofan metabolizmasındaki değişiklikler ile immün aktivasyon arasındaki ilişki (3).

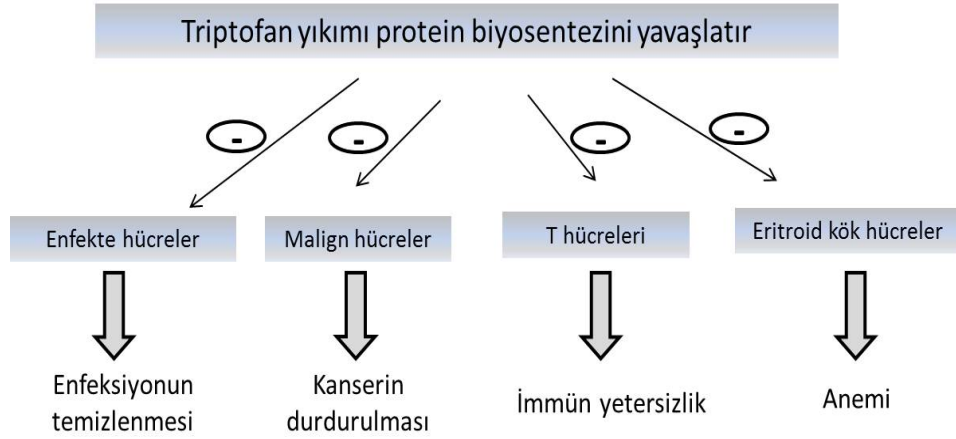
<b>Kan düzeylerindeki değişim</b>				
	<b>Triptofan</b>	<b>Kinürenin</b>	<b>Kin/Trp</b>	<b>İmmün aktivasyon göstergeleri</b>
<b>Diyetle yetersiz alımı</b>	Azalır	Azalır	Değişmez	Değişmez
<b>TDO</b>	Azalır	Artar	Artar	Değişmez
<b>IDO</b>	Azalır	Artar	Artar	Artar

### 2.6.1. İndolamin 2,3-dioksijenaz'ın Biyolojik Fonksiyonu

Proinflamatuvar sitokin olan IFN- $\gamma$  pek çok hücrede IDO enzimini uyarır (3,4,72). IDO'nun aktive olması triptofan miktarını kısıtlamaktadır. Triptofan protein sentezi için gerekli olduğundan, bu esansiyel aminoasitin miktarının azalması protein sentezini ve onu takiben patojenlerin ve hızla çoğalan hücrelerin büyümesini engeller. Sonuç olarak triptofan yıkımı immün cevap sırasında immünokompetent hücrelerde IFN- $\gamma$  tarafından uyarılan savunma mekanizması olarak değerlendirilmektedir. Bu durum bir antimikrobik veya tümör efektör mekanizması olarak görev yapar ve hücre içi patojenlerin ya da kötü huylu hücrelerin büyümesini sınırlar (Şekil 2.7). IDO'nun in vitro ve in vivo aktivasyonu T hücrelerinin mitojenik uyarıya cevabını da inhibe etmektedir. Bu yüzden triptofan yoksunluğuna ek olarak kinürenin gibi bazı triptofan yıkım ürünlerinin proapoptotik etkileri de önemlidir. Bu gözlemler IDO'nun IFN- $\gamma$ 'nın indüklediği diğer biyokimyasal yollarla birlikte aktive olması, monosit/makrofajların ve dendritik hücrelerin ne kadar önemli bir antiproliferatif mekanizması olduğunu belirtmektedir (3).

Bağışıklık sisteminin diğer doğal elemanları gibi IDO da adaptif immün cevap tarafından düzenlenir. IDO'yu da indükleyen TNF ve IFN- $\alpha/\beta$  viral ve bakteriyel enfeksiyonlar sırasında yıkıcı tip 1 antimikrobiyal adaptif immün cevabın bir parçası olarak üretilen sitokinlerdir. Daha da önemlisi IFN- $\gamma$  indüklenebilir nitrik oksit sentaz (NOS2)'ın sürekli ifadesini de indükleyebilir. NOS2 antimikrobiyal ve bağışıklık düzenleyici nitrik oksit (NO) sentezler. NOS2 ve IDO'nun birbirini

karşılıklı kontrol ettiği ve bir yolağın ürününün diğer yolağın enzimini düzenlediği gösterilmiştir. Örn., nitrik oksitIDO'yu inhibe eder (72).



**Şekil 2.7.** Tryptofan yıkımına bağlı olarak hücre çoğalmasının azalması (3).

Tryptofanın eksikliği protein biyosentezini ve böylece hücre büyümesini yavaşlatır. IDO patojenlerin ve malign hücrelerin artışı durdurur fakat aynı zamanda T-hücre cevabını ve eritroid kök hücrelerin artışı da azaltabilir ve bu durum immün yetersizlik ve anemiye yol açar.

IDO'nun in vivo çok çeşitli ve fizyolojik koşullarda önemli bir bağışıklık düzenleyici enzim olması nedeniyle, klinik tedavide önemli bir hedef olarak gösterilmektedir. In vivo tümör dokusunda IDO'nun inhibisyonu tümörün bağışıklık sisteminin gözetiminden kaçmasını azaltır ve temizlenmesini teşvik eder. Bunun yanında IDO aktivitesini inhibe eden ilaçların tümör immünoterapisinde destekleyici bir tedavi olduğu, farelerde gösterilmiştir (72).

## 2.7. Tryptofan Yıkımı ve İmmün Sistem İlişkisi

Tryptofan yıkımının ve daha da özgün olarak IDO'nun biyolojik fonksiyonlarından biri immün sistemin düzenlenmesidir. Bu ilk olarak IDO'nun IFN- $\gamma$  ve diğer immün uyarıcılarla uyarılması ve inflamasyonlu dokuda ifade edildiğinin gözlenmesi ile tanımlanmıştır (64). Doğal bağışıklıktaki rolüne ek olarak IDO'nun immünosüpresif olarak ve adaptif immün sistemin T hücreleri tarafından düzenlenen

antiinflamatuvar aktivitede de rol oynadığı gösterilmiştir (64). Bunun yanında kinolinik asit ve 3-hidroksiantranilik asit gibi bazı kinüreninler de T hücre proliferasyonunu baskılamaktadırlar. Bu inhibisyon ile aktive olan seçici bağışıklık hücrelerini hedef olarak görür ve kinüreninler ile additif bir etki göstermek için birlikte hareket eder. Bir eksitotoksin olan kinolinik asidin üretimi genellikle inflamasyonu takiben artar ve immün aktivasyon ile sonuçlanır (65). Kinürenine ek olarak diğer triptofan metabolitleri olan 3-HK ve 3-hidroksiantranilik asit de T hücre proliferasyonunu inhibe eder (62). Neopterinin aksine, IDO tarafından triptofan yıkımı pek çok hücre tipinde interferonlar tarafından uyarılır (15). Triptofanın protein ve 5-HT biyosentezinde görevli esansiyel bir aminoasit olmasından dolayı immünolojik olarak triptofan yıkımının indüklenmesi triptofanın normal 5-HT biyosentezinde yetersiz olmasına tetik çeker ve nöropsikiyatrik belirtilerin ortaya çıkmasına neden olabilir (4,18).

IDO aktivitesinin dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar tarafından ifade edilmesinin artmasının T hücreler üzerinde immünomodülatör etkisi vardır ve bu durum esansiyel bir aminoasit olan triptofanın hücre veya hücre çevresinde yıkımı ile ilişkilidir (73). Von Bubnoff ve diğ. (73), IDO aktivitesinin IgE-aracılıklı alerjik reaksiyonların azalarak düzelmesinde rol alabileceğini göstermişlerdir. Yapılan çalışmada atopik ve atopik olmayan monositlerin IFN ile uyarılması sonucu IDO geninin atopik monositlerde 4 kat daha fazla arttığı bildirilmiştir. Mekanizma tam açıklanamamakla birlikte, IDO'da genetik polimorfizm veya hücrenin uyarılmasıyla ifade edilen sitokin düzeylerindeki değişikliklerin bunu açıklayabileceği rapor edilmiştir.

İnflamasyon sırasında veya yaralanma, enfeksiyon ve tümör büyümesi ile inflamasyonunun indüklenmesi sonucu IDO ifadesi artmaktadır. IDO ifadesinin artışı ile inflamasyon arasındaki önemli ilişki, IDO aktivitesine bağlı oluşan biyokimyasal değişiklikler, inflamasyon sırasında moleküler ve hücresel fonksiyonları etkilediğini göstermektedir (74).

IDO'nun IFN- $\gamma$  aracılığı ile uyarılması ve hücre içi patojenlere veya kötü huylu hücrelere karşı onlar için esansiyel olan triptofan aminoasitinin azalması, savunma mekanizmasının bir parçası olarak görülmektedir (4,18). Böylece

hücrelerin büyümesi engellenir; fakat aynı zamanda T hücreleri gibi immünokompetent hücreleri aktive eder (4). Bu etki sadece inflamasyonun olduğu bölge ile sınırlı olabilmektedir, ancak triptofanın sistemik olarak azalması T hücre aracılı cevabın baskılanmasında da önemlidir (4,18).

Yapılan çalışmalarda triptofan yıkımı ve serum neopterin düzeyleri arasında yakın bir ilişki gibi, hücresel immün aktivasyonun diğer göstergeleri olan TNF reseptörleri ve IL-2 reseptörleri ile de yakın bir ilişki gözlenmiştir (18,75).

## **2.8. Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Çeşitli Patolojilerde Değişimi**

Kinüreninlerin artışının eşlik ettiği artmış triptofan yıkımı pek çok patolojik durumda serum, serebrospinal sıvı ve/veya beyin dokusunda gözlenmiştir (51,65,76,77). Enfeksiyon hastalıkları (örn., HIV), nörolojik hastalıklar (Alzheimer, Parkinson), duyu-durum bozuklukları (ör., şizofreni, depresyon, anksiyete), otoimmün hastalıklar (örn., Multipl Skleroz, Romatoid Artrit), periferik şartlar (ör., kardiyovasküler hastalıklar) ve malignansiler bu patolojiler için ilk verilecek örneklerdir (Şekil 2.8) (65). Artmış triptofan yıkımı ve yüksek Kin/Trp oranı aynı zamanda hastalığın şiddeti, gidişatı ve ölümcül sonuçlar ile de ilişkilidir (65). Pek çok hastalıkta azalmış triptofan konsantrasyonları, artmış kinürenin konsantrasyonları ve kinolinik asit gibi diğer triptofan yıkım ürünlerinin yükselmiş düzeyleri tanımlanmıştır (76-79). Neopterin konsantrasyonları ile Kin/Trp oranı arasındaki ilişki artmış endojen IFN- $\gamma$ 'nın da rol aldığını göstermektedir (3). Yapılan çalışmalarda, kanser hastalarında neopterin oluşumuna paralel olarak IDO'nun aktive olduğu (3,80,81) ve bu aktivasyonunun daha ağır ve ciddi hastalıklarla ilişkili olduğunu göstermiştir (77,81). Aktive immünokompetan hücrelerde IDO'nun indüklediği triptofan yıkımının artması triptofan düzeylerinin azalmasına, dolayısıyla protein biyosentezi ve bunun sonucu olarak da hücre proliferasyonunun durdurulması yoluyla hücre içi veya malign hücrelerin büyümesini engelleyerek savunmanın bir parçası şeklinde olaya dahil olabileceği düşünülmektedir (15).

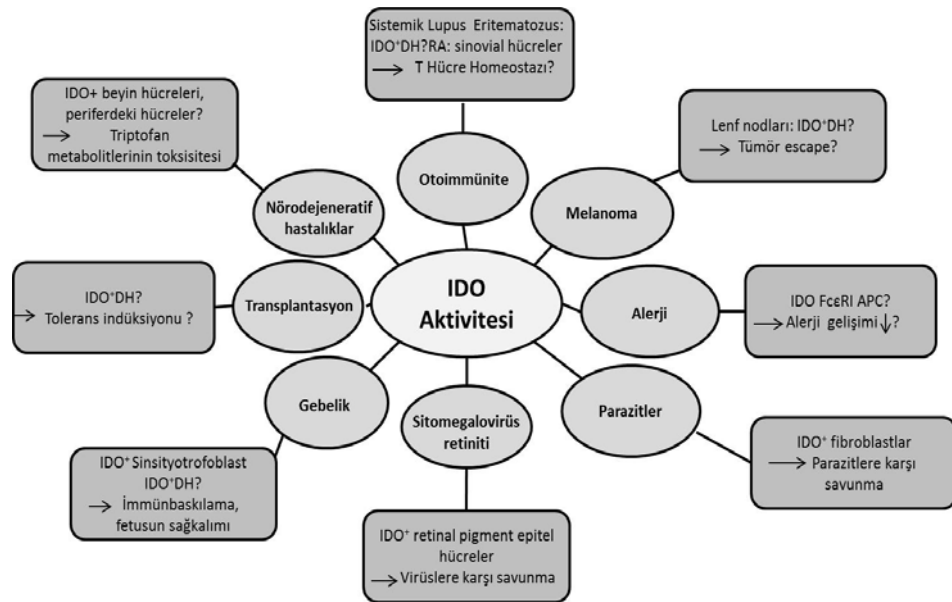
Solid tümörleri ve hematolojik neoplazileri kapsayan pek çok malign hastalıkta, artmış triptofan yıkımı tanımlanmıştır (77,78).

**Tablo 2.3.** IDO gen ifadesinin düzenlenmesinde yer alan sitokinler ve diğer immün düzenleyici faktörler (62).

Sitokin/Faktör	Hücre tipi/Deneysel Model	Etkiler
<b>Stimüle edici</b>		
IFN- $\gamma$	Dendritik hücreler (DH), tümör hücreleri, non-immün hücreler (Mezenşimal stromal hücreler, endotel hücreler, vasküler düz kas hücreleri, fibroblastlar, sinovyal hücreler, pankreatik adacıklar, hepatositler)	IDO'nun ana indükleyicisidir, IDO'nun indüksiyonundaki diğer bir dizi molekülle birlikte çalışır.
Hepatosit büyüme faktörü (HGF)	İnsan monosit türevi DH	Tolerojenik DH'de IDO mRNA ve proteini indükler; T-hücre etkileri D-1-metil triptofan (1-MT) ile geri döndürülür.
IL-1	İnsan mononükleer fagositler	IFN- $\gamma$ ile stimüle edilen IDO mRNA indüksiyonunu ve aktivitesini artırır; tek kullanıldığında IDO mRNA'yı indükler fakat aktivitesini arttırmaz.
TNF- $\alpha$	Endotel hücreler, epitel hücreler, DH	IFN- $\gamma$ ile birlikte endotel ve epitel hücrelerde IDO'yu indükler, PGE2 ile birlikte DH'de IDO'yu indükler
PGE <sub>2</sub>	İnsan monosit türevi DH	IDO mRNA'yı indükler; IDO enzim aktivitesini tetiklemek için başka sinyaller gerekir
Lipopolisakkarit	Mürin kemik iliği türevi DH	P13K ve JNK sinyal yolağında IFN- $\gamma$ 'dan bağımsız bir mekanizma ile IDO mRNA ve proteini indükler
Timozin- $\alpha$ 1	Mürin kemik iliği türevi DH; İnsan monosit türevi DH	Fonksiyonel IDO'yu indükler ve antifungal bağışıklığı koruyan Th1 ve Treg hücrelerini farklılaştırır.
<b>İnhibe edici</b>		
IL-4	İnsan monositleri	IFN- $\gamma$ ile stimüle olan IDO mRNA indüksiyonu ve aktivitesini inhibe eder.
TGF- $\beta$	İnsan fibroblastları	IFN- $\gamma$ ile stimüle olan IDO mRNA indüksiyonu ve aktivitesini inhibe eder.
Nitrik oksit	Mürin makrofajlar, insan mononükleer fagositler	IFN- $\gamma$ ile indüklenen IDO ifadesini önler; IDO enzimatik aktivitesini engeller ve proteolitik yıkımını tetikler.



Düşük triptofan konsantrasyonu ve artmış Kin/Trp oranı hastalığın ilerleyen evreleri ile ilişkilidir. Yetişkin T-hücre lösemisi (78) ve kolon kanseri olgularında (77) düşük triptofan konsantrasyonlarının hayatta kalma süresi için tanımlayıcı olduğu rapor edilmiştir. ArtmışIDO ifadesi inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve kolon kanserinde de gösterilmiştir (79,82). Ancak neopterin ile Kin/Trp oranı arasındaki ilişki, monosit-makrofajlardaki ve/veya dendritik hücrelerde konakçı hücrenin tümöre karşı verdiği cevap sırasında endojen IFN- $\gamma$ 'nın oluşumun artmasına bağlı olarak, T-hücre proliferasyonun arttırdığı fikrini desteklemektedir. Azalmış immün cevabın, bu sitokin tarafından indüklenen antiproliferatif mekanizmanın sonucu olarak gelişebileceği bildirilmektedir (3).



**Şekil 2.8.** Triptofan metabolizması ile ilişkili hastalıklar ve ilgili hücreler

Bu şekil IDO aktivitesinin gözlemlendiği durumları göstermektedir. Soru işareti bulunan kısımlar ilişkilerin henüz varsayım olduğunu belirtmektedir (71).

Depresyon hastalarında immün aktivasyon ile birlikte triptofan yıkımının da etkilenmesi beklenir. Triptofan miktarının azalmasına ek olarak, immünolojik değişikliklerle birlikte serotoninin sentezinde de azalma yönünde değişiklikler

görülebilmektedir; bu durumun duygu-durum bozukluklarına ve depresyona yatkınlığa neden olabileceği ifade edilmektedir. Triptofan yıkım ürünlerinden olan 3-HAA ve kinolinik asitin de nöronlarda hasara ve fonksiyon kaybına neden olabileceği bildirilmektedir. Potent bir nörotoksin olan kinolinik asit, NMDA reseptörleri ve dolayısıyla triptofan yoksunluğunun nöropatolojik etkisine ilave olarak nöroendokrin sistemi de etkileyebilir (3,15). Majör depresyon hastalarında artan neopterin düzeyleri ile birlikte ilişkili olarak serum triptofan düzeylerinin azaldığı bulunmuştur (83).

İmmün aktivasyon ve triptofan yıkımı Alzheimer (68), Huntington (3) ve Parkinson (50) gibi nörodejeneratif hastalıklarda da bulunmuştur. Ancak,IDO aktivasyonunun hastalığın evresi ile ilişkili olması nedeniyle, hastalığın erken dönemlerinde triptofan yıkımında sadece küçük değişiklikler saptanırken ilerlemiş evrelerinde triptofan yıkımında ve immün aktivasyonda anlamlı bir artış görüldüğü bildirilmiştir (3).

Travma hastalarında triptofan yıkımı neopterin konsantrasyonu ve sepsis gelişimi ile ilişkilidir. Bu hastalarda triptofanın eksik olduğu durumda lenfosit sayısında önemli bir azalma gözlenmiştir (84). *Streptococcus pyogenes* ile enfekte hastalardan toplanan serum örneklerinde, triptofan yıkımının aşırı derecede arttığı belirlenmiştir. Serum neopterin düzeyleri ile triptofan, kinürenin ve Kin/Trp oranı arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (76).

Gebelik sırasında da triptofan yıkımının arttığı gözlenmiştir. Triptofan yıkımı gebeliğin haftası ile ilişki gösterir ve gebeliğin son döneminde artmış Kin/Trp oranı ve düşük triptofan konsantrasyonu ortaya çıkar. Doğum sonrası ise immün aktivasyon düşer ve triptofan konsantrasyonu normale döner; ancak kinürenin konsantrasyonu ve buna bağlı olarak da Kin/Trp oranı artar. Kin/Trp oranı ile immün aktivasyon göstergeleri arasında bir ilişki gösterilemediğinden bu bulgular kinürenin konsantrasyonundaki artışın (doğumdan sonraki 6. haftaya kadar) IDO aktivasyonundan bağımsız olduğunu ortaya koymaktadır (3,85,86).

Birbirinden bağımsız yapılan iki çalışmada triptofan yıkımını yansıtan Kin/Trp oranının yaşlı insanlarda artması değerlendirilmiştir. Bu sonuçlara göre

yaşla birlikte kinürenin yolağı ile triptofan yıkımının hızlandığı gösterilmiştir (87,88). Doksanlı yaşlardaki bireylerde yüksek Kin/Trp oranının yüksek mortalite oranına işaret ettiği gösterilmiştir. Bu veriler ve yaşlanma ile değişen triptofan metabolizması ilişkili olmakla beraber, triptofan metabolizmasının yaşam süresini düzenlemede de rol oynayabileceği ifade edilmektedir. Diğer yandan, enfeksiyon veya kanser gibi patolojilerde gözlenen artmışIDO aktivitesinden yola çıkılarak, artmış triptofan yıkımının yaşla birlikte bu tip patolojilerdeki artışı yansıttığı düşünülmektedir (88).

## 2.9. Göz Hastalıkları ve Kinürenin Yolağı İlişkisi

Primatlarda lens sadece ışığı iletip odaklamaz, aynı zamanda UV ışığı filtreler ve retinayı korur. İnsan lenslerinde UV filtrenin başlıca bileşenleri kinürenin, 3-HK, 3-HK glikozid (3HKG) ve 4-(2-amino-3-hidroksi-fenil)-4-oksobutanoik asit glikozittir. Bu UV filtreler lokal olarak lens epitel hücrelerinde triptofandan sentezlenir ve lenste yüksek konsantrasyonlarda bulunur. IDO insan lenslerinde de bu nedenle UV filtreleyici biyosentetik yolaktaki ilk ve hız kısıtlayıcı basamak olarak gösterilmektedir (89).

Yaşla birlikte insan lensleri daha sarı hale gelir; bu sarılaşma yaşla ilişkili katarakt ile daha da belirginleşir ve geri dönüşümsüz olarak görme yetisi kaybolur. Lens proteinlerine kovalent olarak bağlanan 3HKG gibi UV filtre katımlar, yaşla beraber birikme eğilimindedir. 3-hidroksikinürenin ve kinüreninin de lens proteinleri ile katım oluşturduğu ve aynı şekilde yaşla birlikte birikme eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (89).

Mailankot ve diğerleri (90) IFN- $\gamma$ 'nın lenslerdeki olası etkisinin IDO aracılıklı kinürenin yolağı ile olup olmadığını insan lens epitel hücrelerinde (HLE-B3) araştırmışlardır. Diğer pek çok hücrede IDO'yu aktive eden IFN- $\gamma$ 'nın, HLE-B3 hücrelerinde de IDO'yu uyarıp uyarılmadığını göstermeyi amaçlamışlardır. Çalışma sonucunda HLE-B3 hücrelerinde IDO'nun IFN- $\gamma$  ile doz bağımlı uyarıldığı, IFN- $\gamma$  aracılıklı IDO'nun uyarılmasının büyüme faktörü reseptör sinyaline aracılık eden sitoplazmik bir tirozin kinaz olan ve hematopoetik büyüme faktörlerinin kan hücreleri üzerindeki etkisini düzenleyen januz kinaz yolağına bağımlı olduğu

gösterilmiştir. IDO'nun uyarılması ile kinürenin üretiminin arttığı, protein modifikasyonlarının oluştuğu ve oluşan kinüreninlerden 3-HK'in hücrelerde hidrojen peroksit oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir. Hidrojen peroksit aracılığı ile oluşan hidroksil radikallerinin hücre hasarına ve apoptoza neden olduğu, böylece IFN- $\gamma$  ile uyarılan apoptozun 3-HK aracılıklı olduğu gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarla birlikte bu sonuçlar da değerlendirilmiş ve lens epitel hücrelerinde IDO'nun IFN- $\gamma$  tarafından uyarılmasının kinürenin aracılıklı hasar oluşturarak kronik inflamatuvar üveit hastalarında katarakt oluşumuna neden olabileceği ileri sürülmüştür.

Katarakt, göz içindeki lensin saydamlığını kaybederek opak bir görünüm alması ve göz merceğinin yoğunlaşmasıdır. PES, hücre dışı matris materyalinin gözün ön bölümündeki oküler dokularda birikmesi ile karakterize bir sendromdur. Yapılan bazı çalışmalar triptofan ve diğer aminoasitlerin dengesinin bozulması, kalsiyum ve selenyum eksikliği veya aşırı selenyum alımının senil katarakta rol alabileceğini ortaya çıkarmıştır. Kinürenin gibi triptofan düzeylerinin de idrarla atılımının artması, senil kataraktı olan hastalarda rapor edilmiştir ancak katarakt hastalarında sağlıklı insanlara göre serum triptofan düzeyleri açısından anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir. PES'i olan ve olmayan 91 katarakt hastasında yapılan çalışmada serum selenyum, neopterin, kinürenin, triptofan ve Kin/Trp oranı değerlendirilmiştir. PES'i olan subkapsüler katarakt ve merkezi katarakt hastalarında serum triptofan ve kinürenin konsantrasyonlarının değişmediği, PES'i olan matür katarakt hastalarında ise serum kinürenin konsantrasyonlarında artış olduğu gözlenmiştir. PES'i olan matür katarakta serum kinürenin ve Kin/Trp oranının artması IDO'nun aktive olduğunu göstermektedir. Serum kinürenin ve neopterin konsantrasyonlarındaki artış bu bileşiklerin aköz humör ve daha sonrasında lenslerdeki düzeylerinde de artışa yol açabilmektedir. Kinüreninin, lens içinde senil kataraktın ana özelliklerinden olan sarı-kahverengi pigmentlerin oluşumuna katkıda bulunabilen diğer bileşiklere dönüşebileceği bildirilmiştir (60).

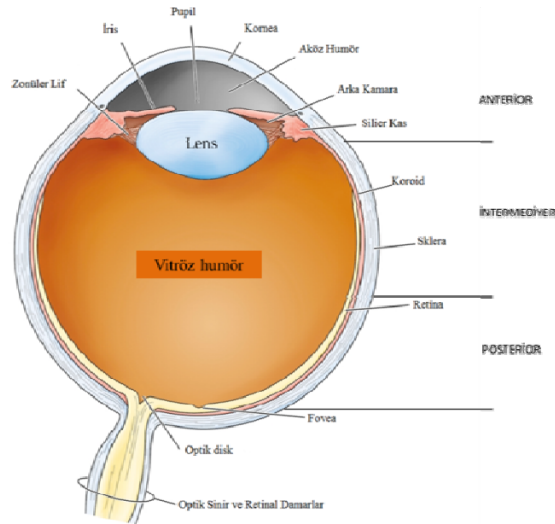
Munipally ve diğerleri (91) görme kaybının önemli nedenlerinden biri olan diyabetik nefropati hastalarında IDO ifade düzeylerini ve serumda triptofan metabolitlerini (kinürenin, kinürenik asit ve 3-HK) değerlendirmişler, kinürenin

yolağındaki metabolitler ile oksidatif stres ve diyabetik retinopati arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmışlardır. IDO ifadesi proliferatif olmayan diyabetik retinopatide kontrole göre hafif artarken, proliferatif diyabetik retinopatide istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Bu durum diyabetik retinopatide IDO'nun olası bir rolü olabileceğini düşündürmüştür. Kinürenin, kinürenik asit ve 3-HK düzeyleri de hasta gruplarından daha yüksek bulunmuştur. Kinürenin yolağının ilk metaboliti olan kinürenin ve kinürenik asit düzeylerinin artmasının bu hastalıkta kinürenin yolağının anahtar rolü olduğunu gösterdiğini belirtmişlerdir. 3-HK'in, endojen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı olması nedeniyle diyabetik retinopati ile ilişkili oksidatif hasarda önemli etkisi olabileceği bildirilmiştir.

Raju ve diğerleri (92) tarafından triptofan ve metabolitlerinin eksikliğinin sıçanlarda katarakt oluşumu ile ilişkisi araştırılmıştır. Mikroskopik incelemede triptofan kısıtlaması yapılan grupta göz merceklerinde opaklaşma gözleendiği; protein, kinürenin, redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ile glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S-transferaz enzim aktivitelerinin düştüğü; lipid peroksidasyon düzeylerinin ise yükseldiği bildirilmiştir. Triptofan eksikliğinin göz merceğinde opasitenin artışı ile birlikte kinürenin düzeylerinde ve oküler dokularda süperoksit dismutaz dışındaki antioksidan enzim düzeylerinde önemli bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda triptofanın oksidatif strese karşı koruyucu bir rolü olduğu ve göz merceğinin saydamlığının korunmasında oldukça etkili olduğu saptanmıştır.

## 2.10. Göz Anatomisi

Göz küreleri (glob; bulbus okuli), orbita boşluğu içinde bağ dokusundan zengin bir yağ yastığına yerleşmiş ve görme fonksiyonu ile görevli bir çift organdır. Göz küresi, göz çukurunun kemik kenarları tarafından çevrelenmektedir. Gözler alt ve üst göz kapakları ile dış etkenlerden korunurlar. Kapakların kırpma refleksi gözleri dış etkenlerden koruyan bir diğer faktördür. Kapaklardan başka gözyaşı bezleri (glandula lakrimalis) ve onun drenaj sistemleri (nazolakrimail sistem), orbita içindeki diğer oluşumlar ve kirpikler gözün yardımcı organlarını oluştururlar (93). Gözün anatomisi Şekil 2.9'da gösterilmiştir.



**Şekil 2.9.** Gözün anatomisi

### 2.11. Üvea

Klinikte daha çok üveal tabaka olarak bilinen üvea, Yunanca'da üzüm anlamına gelen *uva* kelimesinden türetilmiştir. Gözün vasküler kısmını oluşturan iris, silier cisim ve koroid dokularını tanımlayan üvea, retina ve sklera (dış kılıf) arasında uzanan pigmentli bir yapıdır. Damar, sinir ve bağ dokusu hücrelerinden zengin olan üvea kanlanmasını anterior ve posterior silier arterler ile gözün büyük kısmını besleyen oftalmik arterden sağlar. Zengin damarlanması sayesinde gözün ısı dengesini korurken, retina pigment epitelini ve retinanın dış katmanlarını besler (94). Üveanın aköz humörün üretimi, çıkışının iyileştirilmesi ve kontrolünü içeren salgı ve mekanik işlevleri de vardır (94).

Üvea üç bölümden oluşmaktadır. Pupilladan ora serrataya kadar olan arkadaki bölüme koroid, ora serrata ile irisin kökü arasındaki bölüme silier cisim, ön kamaranın arka duvarını oluşturan öndeki dikey bölüme de iris adı verilir. (95,96). Koroid, silier cisim ve iris aynı kaynaktan kanlanmaları nedeniyle aynı inflamasyon sürecine dahil olmaya yatkındırlar (97). Bu dokuların inflamasyonu “-it” veya “-itis” ekleri ile ifade edilmektedir. İrisin iltihabına iritis, silier cisimin iltihabına siklitis, koroidin iltihabına ise koroidit, tümünün iltihabına ise üveit denir. İris ve silier cismin birlikte inflamasyonuna iridosiklit veya ön üveit denilmekte, arka üveit ise koroiditi kapsamaktadır (95).

İris, en önde yer alan üveanın tabakasıdır. Vasküler stroma, melanositler, sinirler, kolajen ve hiyaluronidaz duyarlı asit mukopolisakaritlerden oluşur. Göze rengini veren tabakadır ve gözün rengi stromal melanositlerdeki melanin granüllerin derecesine ve sayısına bağlı olarak oluşur (94). Silier cisim ise silier kas ve epitel olmak üzere iki bölümden oluşur. Silier kas üveal kısmın en önemli oluşumudur. Silier cismin epitel bölümünün ön kısmı ise yaklaşık 70 silier tabakadan oluşan pars plikata'dır. Pars plikata ile ora serrata arasında 4 mm kalınlığında pars plana bulunmaktadır. Koroid ise retina ile sklera arasında bulunmakta ve skleral spurun ön kısmı ile optik sinirlerin arkasında uzanmaktadır. Retina, pigment epiteli ile duyuşal retinanın dış yarısının beslenmesini sağlayan vasküler tabakadır. Koroiddeki kan akışı oldukça yüksektir ve venöz kompartmandaki oksijen konsantrasyonu arterlerden çok düşük bir oranda daha azdır (94).

## 2.12. Üveit

Göz küresinin damar ve pigmentten zengin orta tabakası olan üvea dokusunun intraoküler inflamasyonuna üveit denir (98,99). Üveitten sorumlu etkenler çoğunlukla bilinmemekte ve "idiyopatik" kabul edilmektedir. Bir grup üveit ise vücudun diğer bir bölgesindeki herpes, sifiliz, tüberküloz, brusella, toksoplazma ve AIDS gibi bir hastalığın beraberinde görülmektedir. Behçet hastalığı, ankilozan spondilit ve romatoid artrit gibi hastalıklar eşliğinde de üveit gözlenebilir (6). Görme kaybına neden olabilen üveit, toplam görme kayıplarının %10-15'inin nedenidir. Dünyada görme kaybına neden olan etkenler içinde beşinci sıklıkta yer almaktadır ve legal körlük olarak bilinen yasal körlük ((20/200) seviyesinde veya daha kötü görme hali) durumunda bu oran %20'ye kadar çıkmaktadır. İnsanlarda 20-60 yaş aralığında gözlenen görme kayıplarının nedenleri arasında konjenital anomaliler, diyabet, üveit ve travma bulunmaktadır. Ancak, sadece diyabet ve üveite bağlı görme kayıpları olanaklar dahilinde tedavi edilebilmektedir (100).

Amerika ve Avrupa'da yıllık üveit insidansı 100.000 kişide 14-22,5 olgu iken prevalans 100.000 kişide 115 olgudur. Hastanın yaşı önemli bir faktördür. Aktif çalışma grubu olan 20-50 yaş aralığı insanlarda üveit insidansının en yüksek olduğu dönem olarak rapor edilmiş ve bu yaş grubunda üveitin körlüklerin %10'nundan sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bundan dolayı, üveit morbidite değerlendirmesinde;

üveitin sosyoekonomik etki, neden, süre, sistemik hastalıklarla ilişkisinin olup olmadığı gibi çoklu faktörlerin göz önünde bulundurulması gerektiği bildirilmiştir (96). Cinsiyet, ırk, coğrafya, ilaçlar, diyet, oküler öykü, sistemik hastalıklar da üveit ile ilişkili olabilecek faktörlerdir (99).

### 2.12.1. Üveit Belirtileri

Üveitin bulunduğu bölgeye göre ana belirtileri değişkenlik gösterir. Arka üveitte görme kaybı belirgin bulgu iken anterior üveitte ağrı, fotofobi ve lakrimasyon görülür. Ağrı, akut iridosiklitde kronik iridosiklite göre daha yaygındır ve özellikle keratit ile birlikte daha da artar (97). Gözün ön bölümünün inflamasyonunda hastaların başlıca şikayetleri ağrı, ışığa hassasiyet (fotofobi), kırmızı göz ve sulanmadır. Akut ön üveit ve kronik üveitlerin seyrinde akut alevlenmeler olduğunda bu bulgular belirgindir. Ancak sinsi başlangıçlı kronik ön üveitlerde ciddi komplikasyonlar gelişene kadar hastada herhangi bir belirti gözlenmeyebilir. Ağrı, fotofobi ve sulanma; trigeminal sinirin iritasyonundan kaynaklanır. Işık karşısında hastanın ağrısı artar. Gözün arka bölümünün inflamasyonunda görme ile ilgili şikayetler ön plandadır. Görme keskinliğinde azalma, sisli görme, uçşan cisimler, lekeler gibi şikayetler olur. Görme keskinliğinde azalma; optik diskin iltihabı, arka kutupta yer alan bir retinit/retinokoroidit odağı, maküla ödemi ve/veya ortam bulanıklığından kaynaklanabilir. Vitroz içine dökülen iltihap hücreleri ve kondanse fibriller, opasiteler ve bantlar hasta tarafından uçşan cisimler veya örümcek ağları şeklinde algılanır (95,97).

İnflamasyonun hücresel düzeyde meydana gelmesi nedeniyle (ör., damar geçirgenliğinin artması ile kemotaktik faktörler ve mediyatörler salınır) aköz humör içine protein ve hücre birikmesi ile sonuçlanır. Ön üveitin daha şiddetli olduğu olgularda fibrin pıhtı ve/veya hipopiyon oluşumu görülebilir. İris, ya posterior ya anterior sineşi (yapışma) gösterir. Eğer ilerlemişse pupilar blok, iriste bombe ve/veya dar açılı glokom ile sonuçlanabilir. Katarakt uzun süren üveitlerde kronik kortikosteroid kullanımı ile beraber gözlenen bir komplikasyondur (101).



Göz içi basıncı üveitte pek çok nedenle etkilenebilir. Akut iridosiklit gözlenen hastalarda aköz üretiminin inflamasyon ile birlikte azalması nedeniyle sıklıkla göz içi basıncı düşüktür (101).

Üveitlerde görme kaybı pek çok yol ile meydana gelebilir. Ön üveitin akut döneminde, ön kamaradaki inflamasyon sızıntısı veya silier kasların inflamasyon ile hareketinin bozulması nedeniyle görme kaybı oluşabilir. Göz içi basıncında meydana gelen ikincil artış korneada gölgelenmeye neden olabilir. İris ve posterior kornea arasında, iris ve lens arasındaki sineşiler aköz sıvının hareketini engelleyerek görmeyi etkileyebilir. Görme kaybı aynı zamanda katarakt nedeniyle de olabilir. Akut anterior üveitlerde bu sekellerin çoğundan zamanında ve uygun yapılan tedavi ile kaçınılabılır. Arka üveitlerdeki görme kayıpları ise genellikle ödeme bağlı maküler hasar sonucu meydana gelir; ancak inflamasyon geçse bile maküler ve premaküler fibrozlar ve subretinal neovasküler membranlar ani ve kalıcı görme kayıplarına neden olabilir (102).

### **2.12.2. Üveit Tanısı ve Etiyolojisi**

Endojen etiyolojik faktör sistemik bir hastalık ise nedeni bellidir; ancak çoğu durumda bunu göstermek imkansızdır. Tanıdaki karmaşıklık üveal dokunun etkili bir tedavi sonrası korunmaması ve bu nedenle üveitin nedeninin ihtimal olarak kalmasıdır. Çoğu hastada etiyolojik faktörler genellikle diğer olası nedenlerin elenmesi ile belirlenir. Artrit veya genitoüriner hastalıklar gibi durumlarda ise hastalarda sadece diğer organlarda olduğu gibi üvea dokusunun iltihabının şiddetlendiği bilinmektedir. Üveadaki iltihaplanma mevcut hastalık ile ilişkili olsa bile bu durum sistemik hastalıktan kaynaklanmıyor olabilir (97).

Tanı; biyomikroskopik görüntülemeindeki keratik görünüm, ön kamarada protein sızıntısı ve hücreler ile konulur. Vitrozde bulutlanma/bulanıklık ve koryoretinal inflamasyon arka üveitin tanısında ayrıcalıklıdır (97).

### **2.12.3. Üveitlerin Sınıflandırılması**

Üveitin sınıflanması pek çok şekilde mümkündür. Bu sınıflamalarda üveanın dahil olduğu spesifik bir bölüm, gözlenen patolojinin tipi, hastalığın seyri veya

etiyojisine göre ayırım yapılması amaçlanmıştır (99). Üveitler; anatomik, etiyojik ve klinik özelliklerine göre sınıflandırılmak ile birlikte Uluslararası Üveit Çalışma grubunun da önerisi olan inflamasyonun bulunduğu bölgeye göre yapılan sınıflandırma daha çok kullanılmaktadır (99,101). Anatomik sınıflandırmaya göre üveitler ön (anterior), orta (intermediyer) ve arka (posterior) olarak sınıflandırılırlar (103) (Tablo 2.4).

**Tablo 2.4.** Üveitin anatomik sınıflandırılması (103).

<b>Tip</b>	<b>İnflamasyonun Ana Bölgesi</b>	<b>Kapsamı</b>
<i>Ön (Anterior) üveit</i>	Ön kamara	İritis İridosiklitis Anterior siklitis
<i>Orta (İntermediyer) üveit</i>	Vitröz	Pars planit Posterior siklitis Hyalitis
<i>Arka (Posterior) üveit</i>	Retina veya koroid	Fokal, multifokal veya difuze koroidit Korioretinit Retinakoroidit Retinit Nöroretinit
<i>Panüveit</i>	Ön kamara, vitröz ve retina veya koroid	

### **Ön (Anterior) Üveit**

Primer inflamasyon odağı gözün ön kısmı olan iris ve silier cisimdir. İritis sadece iristeki inflamasyonu tanımlarken iridosiklit iris ve silier cisimin inflamasyonunu tanımlar. Pratikte ön üveit, iritis ve iridosiklit aynı anlamda kullanılmaktadır. Tedaviye kolay ve iyi yanıt verir (98,99). Belirtileri kirpik kenarlarında kızarıklık, ön kamaraya sızıntı, iriste değişiklikler ve lens ile iris

arasındaki adezyonlardır (97). Hastada görme bulanıklığı, ağrı, göz sulanması ve fotofobi, kızarıklık gibi belirtiler görülmektedir (95). Eğer inflamasyon 6 haftadan kısa sürerse akut, daha uzun sürdüğü durumlarda ise kronik olarak ifade edilir (99). Yapılan çalışmalarda olguların en yüksek kısmının ön üveitli hastalardan oluştuğu gösterilmiştir (101). Fotofobi, ön segment hücreler ve protein sızıntısı gibi klinik belirtiler ve bulgular tanının kolay konulmasını sağlar (104). Göz içi basıncı artabilir veya azalabilir, aynı zamanda lens ile aç arasında sineşi meydana gelebilir. Ön üveit, Fuchs heterokromik iridosiklit veya lens proteinlerine karşı reaksiyon gibi oküler bir hasarın bir parçası da olabilir. Bunun yanında sistemik hastalıklar da ön üveite neden olabilir. Yetişkinlerde ankilozan spondilit, psöriatik artrit ve Reiter sendromu gibi HLA-B27'nin pozitif olduğu durumlarda, inflamatuvar bağırsak hastalıklarında ve sifilide gözlenebilir. Çocuklarda ise juvenil romatoid artrit ve sarkoidoz ile Ön üveit ilişkili olabilir (105). Bütün bunların yanında ön üveitin nedenlerinin büyük kısmı idiyopattir (% 38-56)(101).

### **Orta (İntermediyer) Üveit**

Primer inflamasyonun silier cisim ile koroidin en uç perifer noktalarında, ikincil olarak retinada gözlenen üveit tablosudur. Eksuda pars plana ve ora serratanın çevresinde gözlenirse bu tip inflamasyon pars planit olarak isimlendirilir. Pars planit ayrı bir oküler hastalık olmayıp orta üveitin bir alt grubudur. Genellikle gençlerde gözlenen orta üveitte ailesel bir yatkınlık olabilir. Üveiti olan çocukların yaklaşık %20'sinin pars planiti vardır. Multipl skleroz gibi otoimmün hastalıklar ile de ilişkili olduğu rapor edilmiştir (99). Orta üveitin nedenlerinin de çok büyük bir kısmı idiyopattir (101).

### **Arka (Posterior) Üveit**

Primer inflamasyon gözün arka bölgesinde koroidde gözlenir ve koroidit olarak isimlendirilir (99). Ön üveite göre daha az gözlenir (105). Tedavinin bırakıldığı durumlarda ciddi kalıcı görme kayıplarına neden olabilmektedir (98). En önemli iki belirtisi vitröz opasite ve koroidittir (97). Koroidde ödem olması nedeniyle retina reseptörlerine yapılan baskı ile şimşek çakması, retina yüzeyinin düzgünlüğünün bozulması sonucu cisimleri çarpık görme, ödemin retina

reseptörlerinin arasını açması nedeniyle küçük görme veya reseptörleri sıkıştırması sonucu büyük görme gibi şikayetler mevcuttur (95). *Toksoplazmozis* arka üveitin en yaygın görülen nedenidir (101).

### **Panüveit**

Gözün ön ve arka bölgeleri birlikte olmak üzere tüm intraoküler yapılar inflamasyona katılmıştır (105). Nedenlerinden %22-45'i idiyopatik, %14-28'i sarkoidozis kaynaklıdır (101).

Anatomik sınıflandırmanın dışında üveitler etiyolojik özelliklerine göre enfeksiyöz üveitler, enfeksiyöz olmayan üveitler olmak üzere de sınıflandırılmaktadır (98):

Enfeksiyöz üveitler de bakteriyel, viral, fungal, parazitik ve diğer enfeksiyonlar üveite yol açabilir. Tüberküloz, sifiliz, lepra, brusella, viral enfeksiyonlar, toksoplazma, toksokara, kedi tırmığı hastalığı, ayrıca hematogen yolla göze ulaşan mantar enfeksiyonları üveite yol açabilir.

Enfeksiyöz olmayan üveitler içerisinde bir sistemik hastalıkla ilişkili veya sistemik hastalık olmadan gelişenler sınıflandırılmaktadır. Behçet hastalığı, sarkoidoz, seronegatif spondiloartropatiler, juvenil idiyopatik artrit, multipl skleroz, Vogt-Koyanagi-Harada hastalığı ve sistemik vaskülitlerin seyrinde üveit gelişebilir. Herhangi bir sistemik hastalık ilişkisi olmadan gelişen özgün üveitler oluşabilir.

Neoplazik hastalıklar ve pigment dispersiyon sendromu, retinitis pigmentosa vb. neoplastik olmayan hastalıklar üveite benzer bir klinik görünüme yol açabilirler. Bunlar üveiti taklit eden durumlardır.

Klinik gidişata göre üveitler akut, tekrarlayıcı, kronik şeklinde de sınıflandırılabilirler.

Akut üveitler üveanın inflamasyonu, ödem, kapiller dilatasyon ve hızla lenfositler ve plazma hücreleri ile yer değiştiren polimorf nükleer lökositlerin

sızıntısı ile karakterizedir. Hastalık tekrarlayabilir ve kronik olarak devam edebilir (97).

Kronik üveit hücre infiltrasyonunun, başlıca mononükleer hücrelerin, makrofajların, epitel hücrelerinin olduğu doku nekrozunun gözlendiği üveanın ilerleyici kronik bir inflamasyondur (97).

#### **2.12.4. Üveit Nedenleri**

Üveitler çoğunlukla sistemik hastalıklar ile ilişkili olduklarından intraoküler inflamasyon gözlenen hastaların dikkatli bir şekilde öyküleri alınmalı ve muayeneleri yapılmalıdır (101). İnsanlarda karşılaşılan ve mekanizması bilinen üveitin çeşitli türlerinin altında yatan üç ana etken söz konusudur. Birincisi travmaya karşı verilen reaksiyon, ikincisi otoimmün reaksiyonlar, üçüncüsü ise enfeksiyon ajanına verilen cevaptır. Travmaya bağlı oluşan üveitler delici bir yaralanmayı takiben oluşur. Otoimmün bir durumda ise toleransın bozulmasının bir sonucu olarak otoantijenlere karşı verilen doğrudan bir yanıt ya da başka nedenlerle oküler yapıda meydana gelen hasar sonucunda otoantijenlere verilen yanıt söz konusu olabilir (106). Gözde meydana gelen pek çok inflamasyon ve hastalık üveit ile ilişkili olabilir. Bitişik dokulardaki inflamasyonlar, lens hastalıkları, travma, heterokromik siklitis (kirpik cisminin iltihabı), dejeneratif bozuklukları olan görmeyen gözler, introküler tümörlerin neden olduğu nekrozlar bunlara örnektir (97).

Bazı hastalıklarda genetik yatkınlığın da rol oynayabileceğine dair bazı hipotezler bulunmaktadır. Buna göre pek çok HLA'nın ifadesi ile otoimmün hastalıklar arasındaki korelasyonu sınıf I ve II HLA antijenler için belirlenmiştir. Örneğin ön üveitin HLA-B27 ile kuvvetli bir ilişkisi vardır. Yine Behçet hastalığında üveitin HLA-B51 ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (106).

#### **Behçet Üveiti**

Behçet hastalığı ilk olarak 1937 yılında Türk dermatolog Prof.Dr.Hulusi Behçet tarafından tanımlanmış olup klasik tanımında oral aft, genital ülser ve gözde iridosiklit olmak üzere üçlü bir bulgu olarak tanımlanan; etyolojisi bilinmeyen, sistemik tekrarlayan inflamatuvar bir hastalıktır (95,104). Hastalık tüm dünyada

görülmesine rağmen İtalya, Türkiye, Yunanistan, İsrail, Suudi Arabistan, İran, Çin, Kore ve Japonya'nın içinde yer aldığı tarihi İpek yolu üzerinde bulunan ülkelerde üveitin en yaygın nedenlerindedir. Behçet hastalığının görülme sıklığı en yüksek Türkiye'de (80-370/100,000) iken en düşük oran Asya'nın doğusundadır (2-30/100,000). Bütün bunlar dikkate alındığında genetik ve çevresel faktörlerin Behçet hastalığının patojenezinde rol alabildiği düşünülmektedir. Hastalık genellikle 30-40'lı yaşlarda başlamakta ve daha çok erkeklerde görülmektedir. Behçet hastalığına bağlı üveitin ise 15-25 yaş arası erkeklerde daha ciddi seyrettiği düşünülmektedir (104).

Behçet hastalığının bütün doku ve organları etkileyebilen nöbetler halinde görülen inflamasyon ile karakterize ve immünolojik mekanizmalar tarafından tetiklenmiş bir vaskülit olduğu kabul edilir, ancak patojenezi aydınlatılmış değildir. Behçet hastalığı için uluslararası çalışma grubunun tanı için belirlediği kriterler oral afta ek olarak tekrarlayan genital ülserler, oküler inflamasyon, cilt tutulumu ve paterji testinde pozitif sonuçtan herhangi ikisinin olmasıdır (107,108). Oral aft, hastalığın en yaygın belirtisi olup hastaların %98'inde gözlenir iken oküler tutulum hastaların yaklaşık %70'inde meydana gelir ve yüksek riskte körlükle ilişkilidir. Oküler hastalığın olguların yaklaşık %20'sinde ilk gözlenen belirti olması ile birlikte pek çok olguda üveiti takiben 3-4 yıl sonra tekrarlayan oral aft görülmeye başlar. Behçet hastalarında ön üveit, retinal vaskülit (hem ven hem arterlerde), optik nöropati, iritis, iridosiklitler, keratit, retinal infiltrasyon, sklerit ve vitritis şeklinde oküler inflamasyon gözlenir (97,104,107).

Behçet hastalığı olan hastalar; göz doktorlarına gözün ön kamarasındaki hipopyon olan veya olmayan, inflamasyona bağlı gelişen görmede azalma ile kliniğe başvururlar (5,104). Ağrı, kızarma ve fotofobi gözlenir. Göz içi basıncı normal veya düşüktür. Fundus muayenesinde dağılmış sarı-beyaz retinal eksudalar, retinal hemoraji, vasküler tıkanıklık veya disk hiperemisi ortaya çıkar. Tanı spesifik laboratuvar sonuçlarındansa, sistemik konsültasyon ve oküler bulgular ile koyulur. Ancak bazı testler hastaları değerlendirmede yardımcıdır. Fundus florescein anjiyografi, akut inflamasyon sırasında eritrosit sedimentasyon oranının artması, artmış C reaktif protein veya artmış periferik lökosit tanıyla yardımcı olabilir (104).

Üveitin eşlik ettiği Behçet hastalarının tedavisinde kısa dönemde hedef akut inflamasyonun baskılanmasıdır. Uzun dönemde ise tekrarlamasının sıklığını ve şiddetini azaltmak, retina ve optik sinirlerin inflamasyona dahil olmasını en aza indirmek ve katarakt, sineşi oluşumu ve glokom gibi komplikasyonların oluşumundan kaçınmaktır. Etkili olabilmesi için tedavinin erken başlaması gereklidir. İlaç seçimi hastanın hikayesine, intraoküler inflamasyonun yerine ve inflamasyonun şiddetine göre yapılır. Tübülinlere bağlanan ve hücre bölünmesini inhibe eden bir alkaloid olan kolşisin, Behçet hastalığında kullanılan ilaçlardandır. Bunun yanında yine kortikosteroidler akut inflamasyonun tedavisinde Behçet hastalığında kullanılmaktadır; ancak hastalığın tekrarı ve görme fonksiyonunun korunmasında sınırlı etkisi vardır. Yine siklosporin ve takrolimus gibi T hücre inhibitörleri, antimetabolitler tedaviye cevap vermeyen üveiti bulunan Behçet hastalarında kullanılmaktadır (104).

### **2.13. Üveit ve İmmün Sistem**

Göz, immünolojik olarak ayrıcalıklı bir organdır. Oküler dokular, nöronal/retinal fonksiyonun dengesini korumak için immün düzenleyici mekanizmalar geliştirmiştir. Bu immün ayrıcalık çok yönlü ve karmaşık bir durum olup hem organ içinde inflamasyonun oluşmasına izin vermez hem de farklı mekanizmalarla doku bütünlüğünü korumaya çalışır. Nöronal-retinal denge inflamasyon nedeniyle bozulduğunda, intraoküler inflamasyon ve doku hasarı kaçınılmazdır (96,109).

En az 200 farklı etiyolojinin pek çok farklı şekilde intraoküler iflamasyona neden olduğu bilinmekte ve bunların çoğu “üveit” olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak bu farklı antijenlerin farklı patomekanizmalarla üveite neden olduğu anlamına gelmemekte, antijenin tanınmasını takiben bir ya da birkaç mekanizma ile T-hücre aracılıklı bir bozukluğun üveite yol açabileceği düşünülmektedir. Lokal, genetik ve çevresel etmenlerin ve antijenin niteliği klinik bulgularda farklılık oluşmasına neden olur (6).

Oküler yapılarıdaki hasarlar ve bu nedenle oluşan görme kayıplarına inflamatuvar hücre sel eksüdalar aracılık eder. Üveitlerde hasarı indükleyen

hücrelerin doğası ile ilgili bilgiler, hastalığın erken veya şiddetli aktif durumlarındaki az sayıda patolojik veri ile sınırlıdır. Akut ön üveitlerdeki aköz ve vitröz humörün sitolojik çalışmaları üveitlerde B ve T hücrelerinin çeşitli tiplerinin varlığını ortaya koymuştur (102).

Kornea ve lens, damarlanması olmaması ve retina, kan-retina engeli nedeniyle antijen-antikor reaksiyonlarında en az düzeyde yer alırlar. Bununla birlikte koroid, kapiller boşluklar ve yüksek vasküler perilimbal konjonktivadan dolayı immün bileşenlerin depolanmasından sorumludur ve bu nedenle uyarıldıklarında bölgesel lenf düğümüne benzer şekilde antikor oluştururlar. Üveitte oluşan sitokinler bazı IL'ler (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12), IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ 'dır (106).

Retinada antijen olan veya olmayan özgün aktive T hücreleri doku engelini bir kez aştığında immün düzenleyici mekanizmaların yanıtları kısıtlanır. Gözün içinde yerleşmiş pek çok hücre tipi aktive olmuş T hücrelerini azaltmak için kendi işlevlerini görürler. Bunlar iris ve silier cisimcikteki epitel hücreleri olduğu gibi glial Müller hücreleri, retinal pigment epitel doku ve mikroglia'dır. Buna ek olarak, yüzeye bağımlı TGF- $\beta$ , Fas ligand, trombospondin-1 ve galektin-1 bu düzenlemede görev yapar. Bu mediyatörlerin yanında TGF- $\beta$ ,  $\alpha$ -melanosit-stimüle edici hormon, makrofaj göçünü inhibe eden faktör ve komplement inhibitörleri, düzenleyiciler bakımından ortamın ne kadar zengin olduğunu göstermektedir (96).

Karmaşık oküler bir durum olan üveitin patojenez mekanizmasını açıklamak için hastalığın başlama ve ilerlemesindeki olası mekanizmalar ile ilgili verilerin büyük kısmı hayvan modellerinden elde edilmiştir (106) Deneysel otoimmün üveoretinit, arka bölgenin inflamasyonunda retinal fotoreseptörlerin tahribatı ile oluşturulan deneysel bir modeldir. Hayvan modellerinde üveit oluşturmak için pek çok oküler antijen kullanılır. En iyi çalışma koşulları retinal antijen ile sağlanır. Bunun yanı sıra interfotoreseptör retinoid bağlayıcı protein, melatonin protein, rodopsin, PEP-65 gibi bazı antijenler de kullanılmaktadır (96,106).

Retinal antijenler normal fizyolojinin bir parçası olarak sistemik immün yanıtı maruz kalırlar. Bu durum enfeksiyon veya inflamasyonla birlikte T hücre aktivasyonuna ve otoimmünite riskinin artmasına neden olur. Enfeksiyonun sadece gözde başlamadığı, periferde başlayıp yayıldığı düşünülmektedir. Deneysel olarak





immün sistem baskılayıcı antijen sunan hücreler içerdiği bilinmektedir. Bu da gözün korunması için önemli bir faktördür. Üveitin immün mekanizmasının anlaşılmasındaki diğer bir hipotez, koroidin pigment epitelinin altındaki alanda bulunan antijen sunan hücreler tarafından üretilen sitokinlerin dengesinin bozulması sonucu üveitojenik T hücre cevabına neden olabilmesidir (6).

Gözdeki doku hasarına nitrik oksit, peroksit gibi aktif oksijen ürünleri ve diğer ürünlerin oluşumu da aracılık etmektedir. Uyarılabilir iNOS'un sıçanlarda deneysel otoimmün üvearetiniti inhibe ettiği gösterilmiştir. Bununla beraber iNOS knockout farelerin deneysel otoimmün üvearetinite tamamen duyarlı olduğu görülmüştür. Bu bulgular doku hasarında tek bir yolağın olmadığını göstermektedir.

#### **2.14. Üveit Tedavisinde Kullanılan İlaçlar**

Üveit tedavisindeki ilk amaç hastalığa ve tedaviye bağlı oluşabilecek komplikasyonları en aza indirerek gözdeki inflamasyonu etkili bir şekilde tedavi etmektir (101). Doğru tedavi, görme yetisinin ve hem oküler hem oküler olmayan morbiditenin korunmasında önemlidir (5). Üveitin ilaçla tedavisinde beş ana hedef vardır: (i) görsel aktiviteyi korumak, (ii) oküler ağrıyı hafifletmek, (iii) oküler inflamasyonu ortadan kaldırmak veya inflamasyonun kaynağını belirlemek, (iv) sineşi oluşumunu önlemek, (v) intraoküler basıncı düzenlemek. Üveitin tedavisinde kullanılan en yaygın antiinflamatuvar ilaçlar Tablo 2.5'de verilmiştir (101). Topikal steroidler, sikloplejikler, oral veya perioküler steroidler, steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaçlar ve immünosüpresif ilaçlar tedavide kullanılan ilaçlardır (99).

Eğer mümkünse hastalığa özgü tedavi yapılır. İris ve silier cisim ile sınırlı olan ve nedeni bilinmeyen bir enfeksiyonda pupil dilate edilir; %1'lik atropin çözeltisinin topikal uygulanması ile o bölge paraliz edilir, durdurulur. Kortikosteroidler sık aralıklarla damlatılır. Konjuktiva altına enjeksiyonlar yapılabilir. Oküler tansiyon düzenli olarak ölçülmeli ve kortikosteroidlere karşı genetik hassasiyeti olan kişilere asetazolamid ve timol mutlaka uygulanmalıdır. Sistemik kortikosteroidler ise başlıca arka üveitin tedavisinde kullanılırlar (97).

**Tablo 2.5.** Üveit tedavisinde kullanılan antiinflamatuvar ilaçlar (101)

<b>İlaç</b>	<b>Farmakolojik Etki Mekanizması</b>	<b>Olası İstenmeyen Etkiler</b>
<b>Kortikosteroidler</b>	Siklooksijenaz ve Lipooksijenaz yollarının inhibisyonu Komplement düzeylerinin azalması Lenfositlerin göçünün azalması Vazoaktif aminlerin ve interlökinlerin üretiminin azalması Dolaşımdaki monositlerin azalması Makrofaj aktivitesinin azalması	Topikal uygulama-Göziçi basıncın artması, korneanın veya sklreanın incelmesi/perforasyonu Perioküler uygulama-topikal ile aynıdır, pitozis, Tenon kapsülünün skarlaşması,sklreanın perforasyonu, hemoraji, apse Sistemik uygulama-topikal ile aynıdır, kilo kaybı, sıvı retansiyonu, elektrolit bozukluklar, peptik ülser, osteoporoz, kalça eklemde septik nekroz, hipertansiyon, glukoz toleransının bozulması, mental durumda değişiklikler, yara iyileşmesinin bozulması, menstrual bozukluklar
<b>İmmünoşüpresif ilaçlar</b>	DNA sentezi ve hücrenin çoğalmasının engellenmesi	Kemik iliği supresyonu, teratojenite, enfeksiyon riskinin artması
<i>Antimetabolitler</i> Metotreksat	Dihidrofolat redüktazın inhibisyonu	Hepatotoksisite, GI bozukluklar, pnömoni, stomatit
Azotiyopürin	Pürin metabolizmasında değişiklik	GI bozukluklar, hepatit
Mikofenolat mofetil	Pürin sentezi inhibisyonu	Diyare, bulantı
<i>Alkilleyici ajanlar</i> Siklofosamid	Lenfotoksisite, DNA'da çapraz bağlanma	Hemorajik sistit, kısırlık, malignansi riskinde artış
Klorambusil	Lenfotoksisite, DNA'da çapraz bağlanma	Kısırlık, malignite riskinde artış
<i>T hücre inhibisyonu</i> Siklosporin	T hücre inhibisyonu	Renal toksisite, hipertansiyon, hirsütizm, tremor
Takrolimus	T hücre inhibisyonu	Renal toksisite, hipertansiyon, nörotoksisite, hepatit, diyabet

### 2.14.1. Kortikosteroidler

Kortikosteroid kullanımı üveit hastalarında birincil tedavi yaklaşımıdır. Bilindiği üzere antiinflamatuvar etkilerini pek çok mekanizma ile gösteren bu ilaçlar immün sistemin genel olarak baskılanmasını sağlar. Topikal, perioküler enjeksiyon, intravitreal enjeksiyon veya oral olarak uygulanırlar (101).

Gözün arka bölümüne geçişleri zayıf olduğundan steroidlerin topikal uygulaması ön üveiti olan kişilerde etkilidirler (5,101). Eksüda oluşumunu azaltarak inflamasyonu azaltması, hücre membranlarını stabilize etmesi, granülostilerden lizozom salınımını inhibe etmesi ve lenfostilerin dolaşımını baskılaması nedeniyle topikal steroidler üveit tedavisinde etkindir. Prednizolon asetat ve deksametazon kullanımı yaygın olan ve ön üveitte en etkili kortikosteriodlere örnektir. Kontraendike olmadıkça %1'lik prednizolon korneaya etkin bir şekilde geçtiğinden tedavide ilk kullanılan steroiddir (99). Orta veya arka üveiti olan hastalarda ise kortikosteroidlerin perioküler uygulanması daha etkilidir (5). Aynı zamanda ön üveiti şiddetli olan ve topikal tedaviye cevap vermeyen hastalarda da etkilidir. Enfeksiyöz üveitlerde bu yolla kortikosteroid uygulaması yapılmalı ve daha önce hikayesinde kortikosteroid uygulaması ile göziçi basıncı artışı olan hastalarda dikkat edilmelidir (101). Sistemik kortikosteriodler ise şiddetli arka üveitlerde, panüveitlerde ve topikal veya perioküler kortikosteroid uygulamasına cevap vermeyen ön üveit hastalarında kullanılır (5,101).

Bazen ön üveitlerde topikal steroidlerin etkisiz kaldığı durumlarda oral steroidler etkili olabilmektedir. Daha sıklıkla topikal steroidlerin arka üveitte tedavi edici konsantrasyonlara ulaşmaması nedeniyle bilateral arka üveitin tedavisinde oral steroidler kullanılmaktadır. Ancak oral steroidler önemli sistemik yan etkileri nedeniyle dikkatli kullanılmalıdırlar. Eğer topikal veya oral steroid tedavisi ile istenilen terapötik konsantrasyonlara ulaşılamazsa özellikle de unilateral arka üveitte perioküler steroid uygulaması etkili olabilmektedir (99).

### 2.14.2. Başışıklık Sistemini Baskılayıcı İlaçlar

İmmünoşüpresif ilaçlar genel olarak antimetabolitler, T-hücre inhibitörleri ve alkilleyici ajanlar olarak gruplandırılabilirler (5). Bu ilaçlar steroidlerin etkili olmadığı veya gözün tedaviye cevap vermediğı görme kaybı riski olan ciddi olgularda veya kortikosteroidlerin ciddi yan etkilerinin karşılaşıldığı hastalarda kullanılabilir (99,101). Bu ilaçlar tedavide önemlidir ve uzun dönem kortikosteroid kullanımına göre morbiditesi daha düşük kabul edilmektedir (101). İmmünoşüpresif ilaçlar sitotoksikler ve hücre sel immün sistemi etkileyerek etki gösterirler (99). Başışıklık sistemini baskılayan ve üveit tedavisinde sıklıkla kullanılan bu ilaçlara ait etki mekanizmaları ve olası istenmeyen etkileri Tablo 2.5’de özetlenmiştir.

Bilindiğı üzere antimetabolit ilaçlar hücreleri gereksinim duydukları metabolitlerden yoksun bırakır. Folik asit antagonisti olan metotreksat ve pürin antagonisti azatiyopürin, metotreksat ve mikofenolat mofetil bu grup antimetabolitlerin içinde yer almaktadır (99,101). Pürin nükleozid analogu olan azatiyopürin, adenin ve guanin ribonükleotidleri ile etkileşerek etki gösterir. T ve B lenfositlerin periferdeki sayısını düşürür ve IgM üretimi ile IL-2 sentezini azaltır. Genellikle kortikosteroidler ile birlikte kullanılır ve kronik üveitlerin tedavisinde etkilidir. En ciddi yan etkisi kemik iliğı baskılanmasıdır (5).

Siklosporin mantardan elde edilen, 11 aminoasitten oluşan, siklik yapıda bir peptid olup, etkisini T lenfositlerinin IL-2 üretmesini baskılayarak gösterir (5,99). İnflamatuvar hastalıktan sorumlu hücrelerin ölümü ile etki gösteren sitotoksik ilaçların tersine siklosporin sitostatiktir ve sadece hücreleri baskılar. Bu yüzden de ilaç kullanımı azaltıldığında inflamasyon tekrarlayabilir (101).

Siklofosfamid ve klorambusil Behçet üveitinde, sempatik oftalimde ve orta üveitte kullanılan alkilleyici ajanlar grubunda bulunan ilaçlardır. Siklofosfamid aktive olmuş T lenfosit sayısının azalmasına, yardımcı T lenfosit işlevlerinin baskılanması ve B lenfosit sayısının azalmasına neden olur (5,101).

İmmünoşüpresif ilaçların önemli ve hatta tehlike oluşturabilecek ciddi yan etkileri bulunmaktadır. Renal veya hepatik toksisite, kemik iliği baskılanması ve özellikle alkileyici ajanların ileride lösemi ve lenfoma gibi malignitelere neden olma olasılığı vardır (101). Bununla birlikte bağışıklık sistemini baskılayıcı bu ilaçların hepsinin oküler inflamasyonun tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir (5).

### 2.14.3. Diğer İlaçlar

Sikloplejiler üveitin tedavisinde başlıca üç etki sağlar. Bu etkilerden birincisi irisin hareketini önleyerek ağrıyı azaltmalarıdır. İkincisi irisin önlens kapsülüne yapışmasını önleyerek iriste bombe oluşmasını ve intraoküler basıncın artmasını önlemeleridir. Son olarak da kan-aköz bariyerini sabitleyerek klinikte protein ve hücre sızıntısı olarak gözlemlenen artmış sızıntıyı önlemektir (99,101).

Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar üveitin tedavisinde öncelikli rolü olan ilaçlar değildir. Ancak, bazen birlikte kullanımları uzun dönem kortikosteroid uygulaması gereken hastaların, daha düşük dozda steroid kullanmasına olanak sağlar (101). Prostaglandin inhibitörleri inflamasyonu azaltmada etkilidirler. Bununla birlikte ibuprofen ve salisilik asit gibi oral steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar üveitte inflamasyonu azalttığı ve etkili olduğu henüz gösterilmemiştir. Ancak flurbiprofen gibi topikal steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar, üveite eşlik eden kistoid maküler ödem ile ilişkili durumlarda inflamasyonu azaltmada etkili olabilmektedir (99).

Bir sitokin olan TNF- $\alpha$  aktive monosit/makrofajlar tarafından üretilmektedir. İmmün sistem aracılı inflamatuvar reaksiyonlar üzerinde çoklu etkiye sahiptir. Epitel hücre bariyerlerini, inflamatuvar hücrelerin toplanması ve tutunmuş moleküllerin ve matriks metalloproteinazların düzenlenmesini etkiler (110). Günümüzde infliksimab, etanersept ve adalimumab lisanslı TNF- $\alpha$  inhibitörüdür. Etkinlikleri ve güvenlilikleri birbirinden daha farklı olan bu inhibitörler pek çok türdeki üveitin tedavisinde kullanılmaktadır (101,110). Etanerseptten daha etkili olan infliksimabın ters etki gösterme potansiyeli daha yüksek olarak bildirilmektedir (110).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

<b>Kimyasal Madde Adı</b>	<b>Firma Adı</b>
Neopterin	Sigma
Kreatinin	Sigma
L-kinürenin	Sigma
L-triptofan	Sigma
Albümin	Sigma
Potasyum hidrojen fosfat	Merck
Sodyum hidroksit	Merck
Asetonitril	Merck
Metanol	Merck
Perklorik asit	Sigma
Neopterin enzim aracılıklı immünoassay kiti	IBL

##### 3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

<b>Cihaz Adı</b>	<b>Firma Adı, Modeli</b>
Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi	HP Agilent 1100
Otomatik örnekleyici	G 1313A
Pompa	G 1311 A
UV-görünür bölge dedektörü	G 1314 A
Floresan dedektör	G 1312 A
Kolon (Oktadodesil silikajel C 18)	Ace
25 cm X 4.6 mm, partikül büyüklüğü 5 $\mu$	
Ön kolon (Oktadodesil silikajel C 18)	Hichrom
Bilgisayar	HP
Yazıcı	HP laser 1310
Buzdolabı	Arçelik
Deiyonize distile su cihazı	Baunstead

Derin dondurucu	Arçelik
Enzim-immünoassay plak okuyucu	Spectra Max M2
Enzim-immünoassay plak yıkayıcı	Sorin Biomedica
Manyetik karıştırıcı	Dottingen 7801
Mikrosantrifüj	Hettich Universal 30 RF
Mobil faz süzme düzeneği	Neuberger
Otomatik pipetler	Eppendorf
pHmetre	Cyberscan pH 500
Santrifüj	Hettich Universal 30 RF
Terazi	Mettler H54, AT201
Terazi	Schimadzu Libror EB-330D
Ultrasonik banyo	Transsonic 460/H
Vorteks	Janke & Kunkel VF 2
Yatay çalkalayıcı	Edmond Bühler BH 2

### 3.1.3. Kullanılan Çözeltiler

#### Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi için Hazırlanan Çözeltiler

##### *Neopterin ve Kreatinin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler*

- a) **1 N Sodyum hidroksit (NaOH) Çözeltisi:** 1 g NaOH bir miktar deiyonize su içinde çözülerek çözelti hacmi deiyonize su ile 25 ml'ye tamamlandı.
- b) **% 2,5 (h/h) metanol içeren 0,015 M pH 7 potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) tamponu:**
  - i- 2,041 g potasyum dihidrojen fosfat bir miktar deiyonize suda çözüldü. 25 ml metanol ilave edildi ve hacim deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
  - ii- 1 N NaOH çözeltisi kullanılarak çözeltinin pH'sı 7,0'ye getirildi.
  - iii- 0,45 µm por çaplı filtreden süzüldü.
- c) **Neopterin Standart Çözeltileri:** Yeterli miktarda neopterin tartıldıktan sonra 10 µg/ml'lik stok çözelti oluşturacak şekilde gerekli hacimde deiyonize su ile çözüldü.



Hazırlanan stoktan dilüsyon yöntemiyle sırasıyla 10, 100 ve 1000 ng/ml'lik çalışma standartları oluşturuldu.

- d) Kreatinin Standart Çözeltileri:** Yeterli miktarda tartıldıktan sonra 10 mg/ml'lik stok çözelti oluşturacak şekilde gerekli hacimde deiyonize su ile çözüldü.

Hazırlanan stoktan dilüsyon yöntemiyle sırasıyla 10, 100 ve 1000 µg/ml'lik çalışma standartları oluşturuldu.

### ***Triptofan ve Kinürenin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler***

- a) % 7 (h/h) asetonitril içeren 0,015 M pH 6.4 potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) tampon**
- i. 2,041 g potasyum dihidrojen fosfat bir miktar deiyonize suda çözülerek 70 ml asetonitril ilave edildi ve son hacmi deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
  - ii. 1 N NaOH çözeltisi kullanılarak çözeltinin pH'sı 6,4'e ayarlandı.
  - iii. 0,45 µm por çaplı filtreden süzüldü.
- b) Perklorik Asit:** Protein çöktürme amacıyla analiz sırasında serum örneklerine doğrudan uygulandı.
- c) 1 mM L-Kinürenin Standart Çözeltisi:** 2,08 mg olarak tartılan L-kinürenin deiyonize suda çözüldü ve 10 ml'ye tamamlanarak kinürenin standart çözeltisi hazırlandı.
- d) 1 mM L-Triptofan Standart Çözeltisi:** 2,04 mg olarak tartılan L-triptofan deiyonize suda çözüldü ve 10 ml'ye tamamlanarak L-triptofan standart çözeltisi elde edildi.
- e) Albümin Standart Çözeltisi:** 0,7 g albumin bir miktar deiyonize suda çözülerek hacim deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlandı.

## Serum Neopterin Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

Üretici firmanın neopterin ELISA kit protokolü içerisinde belirlediği şekilde çözeltiler hazırlandı.

- a) **Enzim Konjugatı (Neopterin/Alkalin Fosfataz Konjugatı):** Kullanıma hazır halde bulunan enzim konjugatı gerekli miktarda alınıp doğrudan kullanıldı.
- b) **Örnek Seyreltici:** Kullanıma hazır halde bulunan çözeltiden gerekli miktarda alınıp doğrudan kullanıldı.
- c) **Neopterin Antikoru içeren Serum:** Kullanıma hazır halde bulunan serum gerekli miktarda alınıp doğrudan kullanıldı.
- d) **Substrat Çözeltisi (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin):** Kullanıma hazır halde bulunan çözeltiden gerekli miktarda alınıp doğrudan kullanıldı.
- e) **Reaksiyonu Durdurma Çözeltisi:** Kullanıma hazır halde bulunan 1 M sülfirik asit çözeltisi reaksiyonu durdurma çözeltisi olarak gerekli miktarda alınıp doğrudan kullanıldı.
- f) **Yıkama Çözeltisi:** Stok yıkama çözeltisi kullanılmadan önce deiyonize su ile 1000 ml'ye tamamlanarak kullanıldı.
- g) **Neopterin Standart Çözeltileri:** 0, 1.35, 4, 12, 37 ve 111 nmol/L serum konsantrasyonlarında hazır çözeltilerden üretici tarafından belirtilen miktarlarda kullanıldı.
- h) **Kontrol Serumları:** Ölçümlerin doğruluğunu kontrol amacıyla biri negatif diğeri pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere üretici firma tarafından sağlanan ve konsantrasyonları bilinen, 2 adet serum örneği kullanıldı.

## 3.2. Çalışma Grupları

Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 03.01.2013 tarih ve B.30.2.ATA.0.01.00/18 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiş olup çalışma süresince Helsinki Deklarasyonu ilkeleri takip edilmiştir.

Tez çalışma grubu Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran 104 üveit hastası, 13 Behçet hastası ve 30 sağlıklı birey olmak üzere toplam 147 katılımcı ile gerçekleştirildi.

Tez çalışması kapsamında katılımcılar öncelikle 4 ana gruba ayrıldı.

**I.Grup (Aktif Üveit Grubu, n=63):** Yeni tanı konulmuş veya daha önce tanı konulup atak geçiren, üveitin aktif döneminde olan hastalar

Tanı kriterleri;

- ✓ Ön üveitler için silier enjeksiyonu, ön kamarada en az +1 tındali (aköz içinde hücre) veya hipopyonu olan gözler,
- ✓ Orta üveitler için yine ön kamarada en az +1 tındali ve/veya vitröz bulanıklığı ve/veya maküler ödemi olan gözler,
- ✓ Arka üveitler için maküler ödemi ve/veya vitröz bulanıklığı ve/veya aktif korioretinit odağı ve/veya aktif vaskülit bulguları olan gözler aktif üveit olarak kabul edildi (111).

**II.Grup (İnaktif Üveit Grubu, n=41):** Hastalığın inaktif döneminde olup kontrol amaçlı göz kliniğine başvuran hastalar

Tanı kriteri;

- ✓ Tedavi sonrası kontrol amaçlı polikliniğe başvuran atak geçirmeyen hastalar inaktif üveit olarak kabul edildi.

**III.Grup (Behçet Kontrol Grubu, n=13):** Göz polikliniğine kontrol amaçlı başvuran, herhangi bir inflamasyonu veya enfeksiyon kaynaklı göz problemi olmayan Behçet hastaları

**IV.Grup (Sağlıklı Kontrol Grubu, n=30):** Göz polikliniğine kontrol amaçlı başvuran, herhangi bir inflamasyonu veya enfeksiyon kaynaklı göz problemi ve kronik hastalığı olmayan, kronik ilaç kullanmayan sağlıklı gönüllüler

Daha sonra I. ve II. Gruba dahil olan hastalar Behçet hastalığına bağlı olarak gelişen üveit dikkate alınarak alt gruplara ayrıldı. Herhangi bir enfeksiyon hastalık kaynaklı üveit tanısı alan bireyler çalışmaya dahil edilmedi.

Hastalar arasında sigara ve alkol kullanımı sırasıyla 36 kişi (% 34,9) sigara, 1 kişi alkol (%0,1) olarak tespit edildi. Katılımcıların demografik özellikleri Tablo 3.1’de sunulmuştur.

**Tablo 3.1.** Çalışma gruplarına ait demografik bilgiler

Çalışma Grupları (n)	Cinsiyet, n	Yaş (yıl)
		Ortalama ± SH (Minimum- Maksimum)
Üveit Hasta Grubu (104)	Kadın, 54 Erkek, 50	39,04 ± 1,41 (18-79)
<i>Tüm Aktif Üveit Hasta Grubu</i> (63)	Kadın, 34 Erkek, 29	40,1 ± 1,87 (18-79)
Aktif Behçet üveit hasta grubu (16)	Kadın, 7 Erkek, 9	32,69 ± 1,88 (21-44)
Behçet dışı aktif üveit hasta grubu (47)	Kadın, 27 Erkek, 20	42,62 ± 2,32 (18-79)
<i>Tüm İnaktif Üveit Hasta Grubu</i> (41)	Kadın, 20 Erkek, 21	37,41 ± 2,16 (18-66)
İnaktif Behçet üveit hasta grubu (13)	Kadın, 6 Erkek, 7	38 ± 4,16 (18-66)
Behçet dışı inaktif üveit hasta grubu (28)	Kadın, 14 Erkek, 14	37,14 ± 2,56 (18-65)
Behçet Kontrol Grubu (13)	Kadın, 9 Erkek, 4	30,08 ± 2,16 (22-47)
Kontrol Grubu (30)	Kadın, 17 Erkek, 13	36,37 ± 1,81 (24-58)

SH, Standart hata

Çalışmaya dahil olan hasta gruplarında diğer kronik hastalıkları, ilaç kullanımları, üveit tanısının ne kadar süre önce konduğu, hekimin muayenesinden sonra aktif veya inaktif döneminde olup olmadığı ve inaktif döneminde ise en son ne zaman tedavi aldığı sorgulandı.

Çalışmaya dahil olan üveit hastalarında, standart üveit ve behçet tedavisinde kullanılacak ilaçların (kortikosteroidler, immünoşüpresifler, kolşisin, interferon) kullanım durumları sorgulandı. Katılımcı bilgi formlarına göre immünoşüpresif kullananların sayısının 24 hasta, kolşisin ve interferon kullananların sayısının sırasıyla 16 ve 2 hasta olduğu belirlendi. Oral kortikosteroid kullananların hastaların sayısı ise 11 olarak saptandı.

### **3.3. Örneklerin Toplanması ve Saklanması**

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran hastalardan 3 ml kan ve 5 ml idrar örneği alındı. Kan ve idrar örnekleri ışıktan korunarak laboratuvara getirilene kadar buzdolabında saklandı. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dakika 10 dakika santrifüj edilerek serum kısmı ayrıldı. Kan ve idrar örnekleri analiz gününe kadar -20 °C'de saklandı.

### **3.4. Yöntemler**

#### **3.4.1. İdrarda Neopterin ve Kreatinin Düzeylerinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Tekniği ile Saptanması**

Hareketli faz olarak % 2,5 metanol içeren 0,015 M pH 7,0 potasyum dihidrojen fosfat tamponu kullanıldı. C18 kolon ve aynı materyali içeren ön kolon kullanılarak sistem 1 ml/dk akış hızı olacak şekilde ayarlandı.

Neopterin floresans özelliğinden faydalanarak idrar neopterin düzeyleri floresan dedektör ile 353 nm eksitasyon 438 nm emisyon dalga boyunda ölçüldü. Kreatinin analizi 235 nm'de ultraviyole dedektör ile eş zamanlı olarak gerçekleştirildi (35,39).

Otomatik integrasyon ile kromatogramdaki pik yükseklikleri konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek standart çözeltilerden neopterin ve kreatinin kalibrasyon doğruları çizildi.

### **Neopterin Standart Doğrusunun Hazırlanması**

Standart neopterin çözeltilerinin, neopterin ölçümlerinin doğrusallık gösterdiği 3,33 – 1000 ng/ml konsantrasyonları arasında pik yükseklikleri esas alınarak neopterin standart doğrusu hazırlandı.

### **Kreatinin Standart Doğrusunun Hazırlanması**

Standart kreatinin çözeltilerinin kreatinin ölçümlerinin doğrusallık gösterdiği 3,33 – 1000 µg/ml konsantrasyonları arasında çalışıldı pik yükseklikleri esas alınarak standart kalibrasyon doğrusu hazırlandı.

### **İdrar Örneklerinin Hazırlanması**

İdrar örnekleri analizin hemen öncesinde derin dondurucudan çıkartıldı ve çözünerek oda sıcaklığına getirildi. Çözünen örnekler 5000 devir/dakika 5 dakika santrifüjlenerek olası çöken katı içerik uzaklaştırıldı. Üst kısım deiyonize su ile 1:10 dilüe edilerek yüksek basınçlı sıvı kromatografisi viallerine aktarıldı ve otomatik örnekleyici ile 15 µl enjeksiyon yapıldı.

### **İdrar Neopterin Sonuçlarının Hesaplanması**

Neopterin ve kreatinin düzeyleri için hazırlanan standart kalibrasyon doğru denklemleri kullanılarak idrar örneklerindeki neopterin ve kreatinin konsantrasyonları hesaplandı.

Neopterin düzeyleri bireylerarası ve gün içi farklılıkları engellemek amacıyla kreatinine oranlanarak ifade edildi ve µmol/mol kreatinin olarak hesaplandı.

### **3.4.2. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Neopterin Ölçümü için Yöntemin Validasyon Çalışmaları**

#### **Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi**

Rastgele seçilen idrar örneklerinin neopterin düzeyleri belirlendi. Bu örneklere belirli konsantrasyonlarda (10, 100 ve 300 ng/ml) neopterin standart çözeltileri ilave edilerek neopterin düzeyleri tekrar belirlendi ve yöntemin geri elde etme yüzdesi hesaplandı.

#### **Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin (Kesinliğinin) İncelenmesi**

Rastgele seçilen idrar örnekleri aynı gün ikişer saat arayla beş kez ölçülerek gün içi varyasyon katsayısı (VK) bulundu. Günler arasında olan değişikliği gözlemlemek için ise rastgele seçilen örneklerin aynı yöntem ile farklı tarihlerde üç kez ölçülmesi sonucu saptanan günler arası ölçümlerin sonuçları kullanılarak VK değerleri hesaplandı.

#### **Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi**

Neopterin için saptanabilir alt limit (nitel limit, NTL) ile hesaplanabilir alt limit (nicel limit, NCL) hesaplandı (112).

### **3.4.3. Serumda Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesi**

Neopterin ELISA plağı kuyucuklarına standart, örnek ve kit içinden çıkan kontrol örneklerinden 20'şer µl ilave edildi. Enzim konjugatı çözeltilisinden plak kuyucuklarına 100'er µl, neopterin antikoru içeren serumdan 50'şer µl ilave edildi. Yatay çalkalayıcıda ışıktan korunarak 400 devir/dakika'da 90 dakika karıştırılarak oda sıcaklığında inkübe edildi. Kuyucuklardaki çözeltiler uzaklaştırıldı ve plak yıkama çözeltisi ile 4 defa yıkandı. Kuyucuklara 150'şer µl substrat çözeltisi ilave edildi. Oda sıcaklığında karanlıkta 10 dakika inkübe edildi. 150'şer µl reaksiyonu durdurma çözeltisi ilave edilerek yatay çalkalayıcıda 5 dakika 400 devir/dakika'da karıştırıldı. 450 nm dalga boyunda ELISA plak okuyucuda kuyucukların optik dansiteleri ölçüldü.

### **Serum Neopterin Sonuçlarının Hesaplanması**

Sonuçlar değerlendirilirken, uygun ELISA programı yardımı ile standart neopterin konsantrasyonlarının optik dansite değerleri kullanılarak neopterin konsantrasyonları hesaplandı ve sonuçlar nmol/L olarak ifade edildi.

#### **3.4.4. Serum Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Tekniği ile Saptanması**

200 µl serum örneği 200 µl 0,015 M pH 6,4 potasyum dihidrojen fosfat tamponu ile dilüe edildi. 50 µl perklorik asit ilave edilerek protein çöktürme işlemi yapıldı. Tüpler hemen vortekslendi ve 10 dakika 13000 devir/dakika'da santrifüjlendi. Süpernatant vialerle aktararak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi sistemine otomatik örnekleyici ile 25 µl hacimde enjeksiyon yapıldı. Mobil faz olarak asetonitril içeren potasyum fosfat tamponu kullanılarak 0,8 ml/dk akış hızında ölçümler yapıldı (34,113).

Triptofan düzeyleri floresan dedektör kullanılarak 286 nm eksitasyon, 366 nm emisyon dalga boyunda, kinürenin düzeyleri ise ultraviyole dedektör kullanılarak 360 nm dalga boyunda eş zamanlı ölçüldü. Triptofan ve kinürenin düzeyleri µmol/L olarak hesaplandı. İndolamin 2,3-dioksijenaz aktivitesini ifade etmek için her bir örnekteki Kin/Trp kullanıldı. Rakamların kolay ifade edilebilmesi için Kin/Trp oranı µmol/mmol olarak hesaplandı.

#### **Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğrularının Hazırlanması ve Hesaplanması**

1 mM standart triptofan ve kinürenin çözeltilerinin çeşitli konsantrasyonlarına karşılık gelen pik yükseklikleri kullanılarak kalibrasyon doğrusu hazırlandı. Serum triptofan ve kinürenin düzeyleri için ilgili kalibrasyon doğrusu denklemi kullanılarak serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin konsantrasyonları hesaplandı.

#### **3.4.5. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile Triptofan ve Kinürenin Ölçümleri için Yöntemin Validasyon Çalışmaları**

##### **Yöntemin Geri Kazanım Oranının İncelenmesi**



Rastgele seçilen serum örneklerinin triptofan ve kinürenin düzeyleri belirlendi. Bu örneklerle 0, 5, 25, 50, 100 µmol/L triptofan standart çözeltileri ve 0, 1, 5, 10, 20 µmol/L kinürenin standart çözeltileri ilave edilerek yöntemin geri elde etme yüzdesi hesaplandı.

#### **Yöntemin Tekrarlanabilirliğinin (Kesinliğinin) İncelenmesi**

Rastgele seçilen serum örnekleri kullanılarak aynı gün ikişer saat arayla beş kez ölçülerek gün içi VK değeri bulundu. Aynı yöntemin farklı tarihlerde uygulanması sonucu saptanan günler arası ölçümlerin sonuçları kullanılarak VK değerleri hesaplandı.

#### **Yöntemin Duyarlılığının İncelenmesi**

Triptofan ve kinürenin için NTL ile NCL değerleri hesaplandı (112).

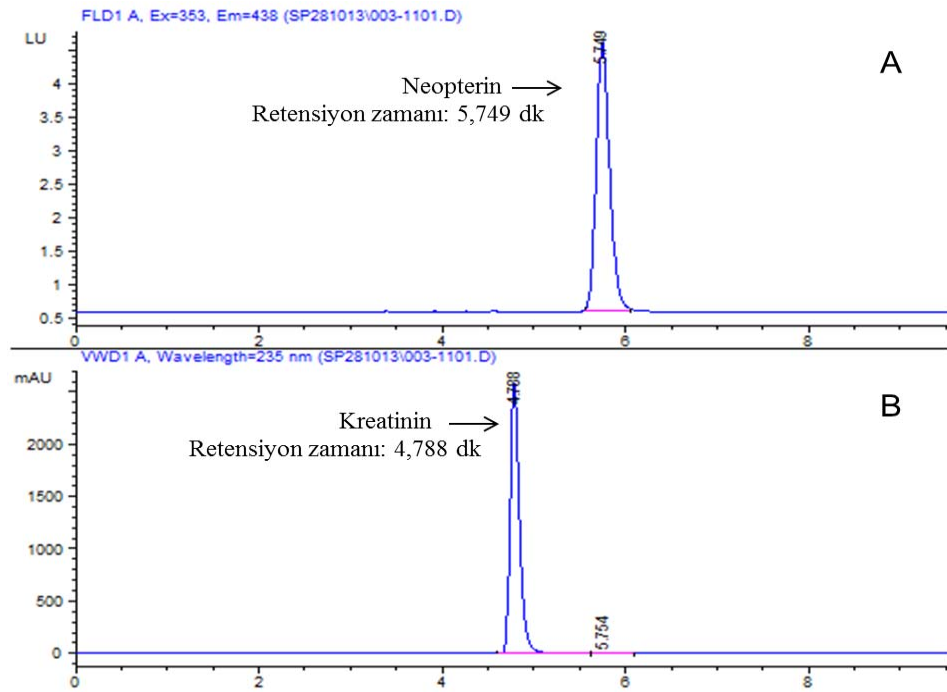
#### **3.4.6. İstatistiksel Değerlendirme**

Ölçümler sonucunda elde edilen veriler, Statistical Package for Social Sciences Programme (SPSS) versiyon 18.0 istatistik yazılımı kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen verilere ait tanımlayıcı istatistikler ve bağımlı değişkenler arasındaki ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi ve basit regresyon analizi uygulandı. Gruplar arası farklar Kruskal-Wallis analizi ile değerlendirilirken bağımsız alt gruplarının değerlendirilmesinde Mann-Whitney *U* testi kullanıldı. Sonuçlar aritmetik ortalama ve standart hata (SH) ile sunuldu. Alfa değeri 0,05 olarak seçildi ve  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. İdrar Neopterin ve Kreatinin Düzeylerinin Belirlenmesine İlişkin Bulgular

İdrar örneklerinden elde edilen kromatogramlar, neopterin ve kreatinin standart çözeltilerinin kromatogramlarından elde edilen kalibrasyon doğrusu kullanılarak (Bkz. Şekil 4.3), örneklerdeki neopterin ve kreatinin düzeyleri tespit edildi. Şekil 4.1’de neopterin ve kreatinin standartlarına ait örnek bir kromatogram, Şekil 4.2’de ise rastgele seçilen bir idrar örneğine ait kromatogram gösterilmiştir.



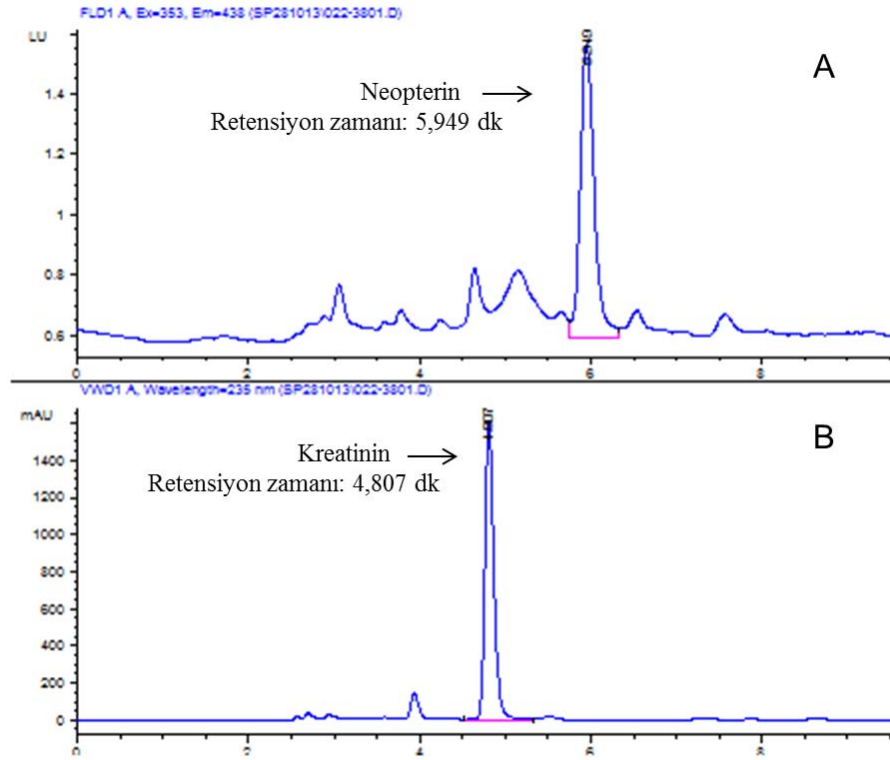
**Şekil 4.1.** Neopterin ve kreatinin standartlarına ait örnek kromatogramlar

(A) Floresan dedektör (B) UV dedektör

Neopterin,  $\lambda_{\text{eks}}$ : 353 nm,  $\lambda_{\text{em}}$ : 438 nm; Kreatinin,  $\lambda$ : 235 nm

Hareketli faz: %2,5 (h/h) metanol içeren 0,015 M pH 7 potasyum dihidrojen fosfat tamponu

Akış hızı: 1 ml/dk



**Şekil 4.2.** İdrar örneğine ait kromatogramlar

(A) Floresan dedektör (B) UV dedektör

Neopterin,  $\lambda_{\text{eks}}$ : 353 nm,  $\lambda_{\text{em}}$ : 438 nm; Kreatinin,  $\lambda$ : 235 nm

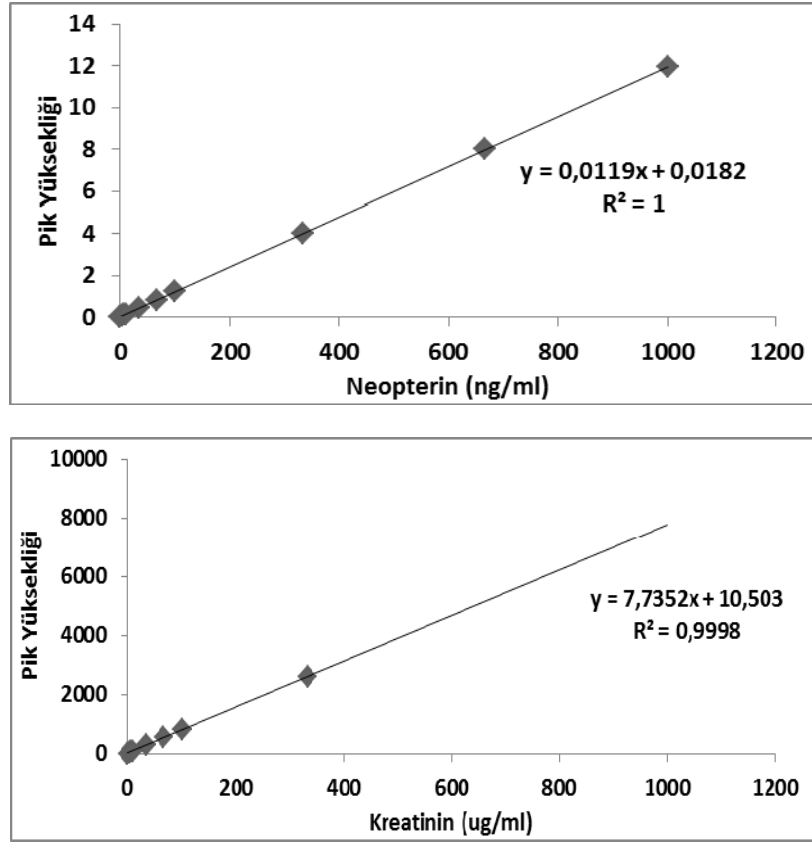
Hareketli faz: %2,5 (h/h) metanol içeren 0,015 M pH 7 potasyum dihidrojen fosfat tamponu

Akış hızı: 1 ml/dk

#### 4.2. Neopterin ve Kreatinin Standart Kalibrasyon Doğru Örnekleri

Standart neopterin ve kreatinin çözeltileri ile çeşitli konsantrasyonlarda kalibrasyon doğrusu hazırlandı (Şekil 4.3).

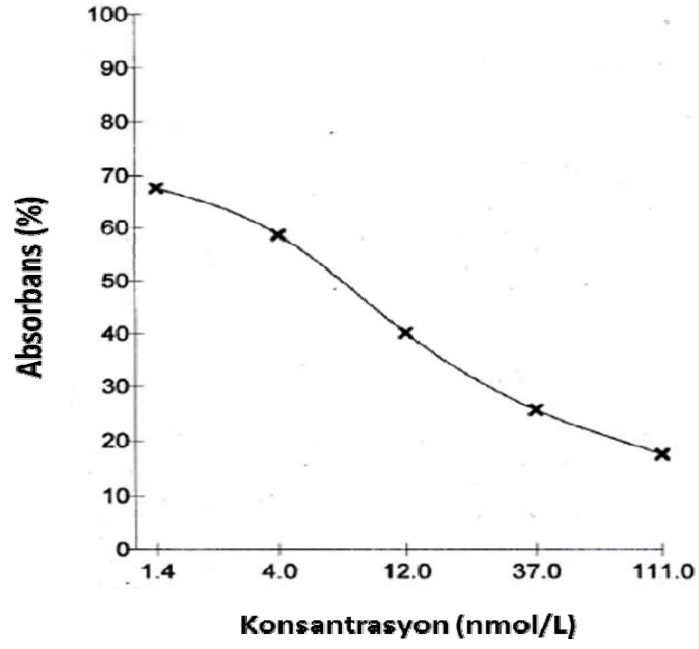
Validasyon çalışmaları ile tüm idrar örneklerindeki neopterin düzeyleri bu kalibrasyon doğrusuna ait denklem kullanılarak hesaplandı.



Şekil 4.3. Neopterin ve kreatinin standartlarına ait kalibrasyon doğruları

#### 4.3. Serum Neopterin Düzeylerinin Belirlenmesine İlişkin Bulgular

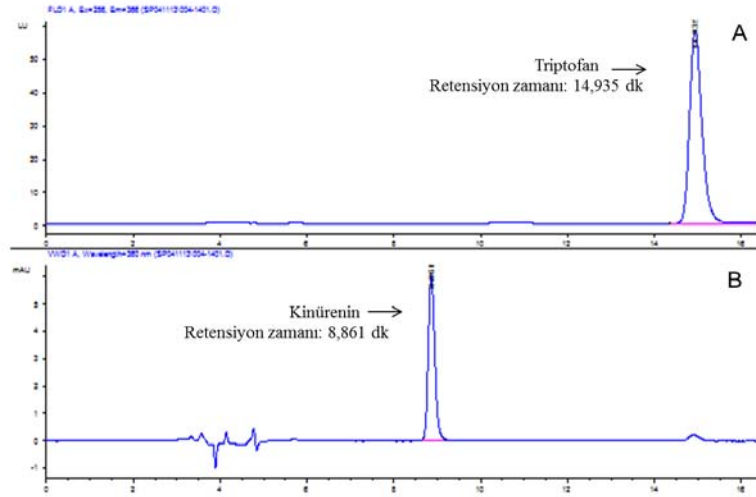
Kit içerisinde bulunan hazır standart çözeltilerin kullanılması ile elde edilen kalibrasyon eğrisi ile serum örneklerindeki neopterin konsantrasyonları hesaplandı. Şekil 4.4.'de neopterin kalibrasyon eğrisi gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Neopterin kalibrasyon eğrisi

#### 4.4. Serum Triptofan ve Kinürenin Düzeylerinin Belirlenmesine İlişkin Bulgular

Serum örneklerinden elde edilen kromatogramlar, standart triptofan ve kinürenin kromatogramlarından elde edilen kalibrasyon doğrusu kullanılarak bu örneklerdeki triptofan ve kinürenin düzeyleri belirlendi. Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'de sırasıyla triptofan ve kinürenin standartları ile rastgele seçilen bir serum örneğine ait kromatogramlar gösterilmiştir.



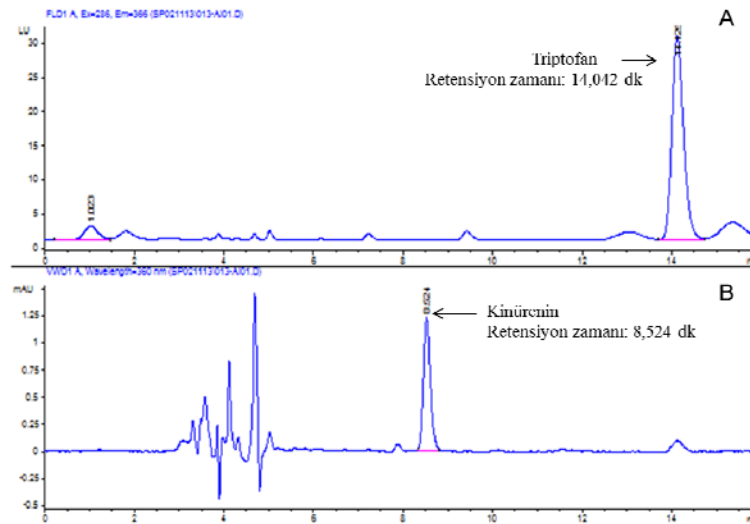
**Şekil 4.5.** Triptofan ve kinürenin standartlarına ait kromatogramlar

(A) UV dedektör (B) Floresan dedektör

Triptofan,  $\lambda_{\text{eks}}$ : 286 nm,  $\lambda_{\text{em}}$ : 366 nm; Kinürenin,  $\lambda$ : 360 nm

Hareketli faz: % 7 (h/h) asetonitril içeren 0,015 M pH 6,4 potasyum dihidrojen fosfat tamponu

Akış hızı: 0,8 ml/dk



**Şekil 4.6.** Serum örneğine ait kromatogramlar

(A) UV dedektör (B) Floresan dedektör

Triptofan,  $\lambda_{\text{eks}}$ : 286 nm,  $\lambda_{\text{em}}$ : 366 nm; Kinürenin,  $\lambda$ : 360 nm

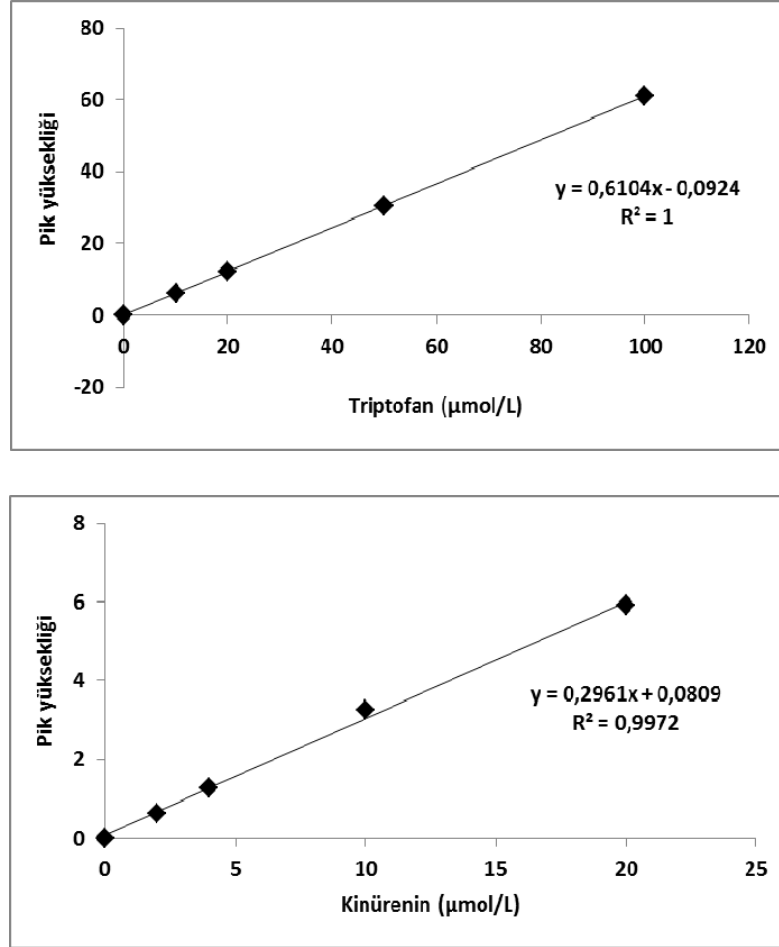
Mobil faz: % 7 (h/h) asetonitril içeren 0,015 M pH 6,4 potasyum dihidrojen fosfat tamponu

Akış hızı: 0,8 ml/dk

#### 4.5. Triptofan ve Kinürenin Standart Kalibrasyon Doğru Örnekleri

Standart triptofan ve kinürenin çözeltileri ile çeşitli konsantrasyonlarda kalibrasyon doğrusu hazırlandı (Şekil 4.7).

Validasyon çalışmaları ile tüm serum örneklerindeki triptofan ve kinürenin düzeyleri bu kalibrasyon doğrusuna ait denklem kullanılarak hesaplandı.



Şekil 4.7. Triptofan ve Kinürenin standartlarına ait kalibrasyon doğruları

#### 4.6. Uygulanan Yöntemlerin Validasyon Çalışmaları

##### 4.6.1. Geri Kazanım Oranının İncelenmesi

Rastgele seçilen idrar ve serum örneklerine belirli miktarlarda neopterin, triptofan ve kinürenin standart çözeltilerinden ilave edilerek bu örneklerdeki neopterin, triptofan, kinürenin düzeyleri YBSK yöntemi ile tayin edildi ve yöntemin

geri kazanım oranı hesaplandı. YBSK yöntemlerinin yüzde geri kazanım oranları Tablo 4.1’de verildi.

**Tablo 4.1.** Yöntemlerin geri kazanım oranları

Örnek	NEOPTERİN KONSANTRASYONU (ng/ml)				% Geri Kazanım
	Saptanan	Eklene Standart	Beklenen	Saptanan	
İdrar Örneği	144,32	10	154,32	155,77	100,9
		100	244,32	240,22	98,3
		300	444,32	449,54	101,2

Ortalama geri kazanım: % 100,13 ± 1,59

Örnek	TRİPTOFAN KONSANTRASYONU (µmol/L)				% Geri Kazanım
	Saptanan	Eklene Standart	Beklenen	Saptanan	
Serum Örneği	60,23	5	65,23	63,35	97,1
		25	85,23	97,72	114,6
		50	110,23	114,38	103,76
		100	160,23	168,94	105,4

Ortalama geri kazanım: % 105,21 ± 7,21

Örnek	KİNÜRENİN KONSANTRASYONU (µmol/L)				% Geri Kazanım
	Saptanan	Eklene Standart	Beklenen	Saptanan	
Serum Örneği	2,76	1	3,76	3,80	101,1
		5	7,76	7,98	102,8
		10	12,76	13,05	102,27
		20	22,76	22,40	98,41

Ortalama geri kazanım: % 101,14 ± 1,96



#### 4.6.2. Tekrarlanabilirliğin (Kesinliğin) İncelenmesi

Rastgele seçilen örneklerde aynı gün ve farklı günlerde, ancak aynı şartlarda, YBSK yöntemi ile idrar neopterin ve serum triptofan, kinürenin düzeyleri ölçülerek gün içi ve günler arası ölçümlerin yüzde varyasyon katsayısı bulundu. Tablo 4.2’de tekrarlanabilirlik sonuçları verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Gün içi ve günler arası ölçümlere ait varyasyon katsayıları

Gün içi, %VK			Günler arası, %VK	
	Neopterin		Neopterin	
	Ortalama ± SS (n=5)	% VK	Ortalama ± SS (n=3)	% VK
1.idrar	13,06 ± 2,19	% 16,76	88,12 ± 2,45	% 2,78
2.idrar	14,24 ± 1,43	% 10,04	78,34 ± 0,98	% 1,25
3.idrar	63,33 ± 0,96	% 1,51	17,65 ± 1,03	% 5,83
4.idrar	16,05 ± 0,62	% 3,86	10,57 ± 0,38	% 3,59
Gün içi ortalama VK= % 8,04			Günler arası ortalama VK= % 3,36	

Gün içi, %VK				
	Triptofan		Kinürenin	
	Ortalama ± SS (n=5)	% VK	Ortalama ± SS (n=3)	% VK
1.serum	51,35 ± 1,09	% 2,12	2,55 ± 0,04	% 1,57
2.serum	72,53 ± 1,31	% 1,81	1,88 ± 0,02	% 1,06
3.serum	54,58 ± 0,29	% 0,53	3,18 ± 0,06	% 1,89
4.serum	66,73 ± 0,37	% 0,55	7,88 ± 0,08	% 1,02
Gün içi ortalama VK= % 1,25			Gün içi ortalama VK= % 1,38	

**Tablo 4.2.** Gün içi ve günler arası ölçümlere ait varyasyon katsayıları (Devam)

<b>Günler arası, %VK</b>				
	<b>Triptofan</b>		<b>Kinürenin</b>	
	<b>Ortalama ± SS (n=5)</b>	<b>% VK</b>	<b>Ortalama ± SS (n=3)</b>	<b>%VK</b>
1.serum	79,96 ± 10,35	% 2,94	2,78 ± 0,46	% 16,55
2.serum	59,88 ± 0,31	% 0,51	2,09 ± 0,07	% 3,35
3.serum	50,45 ± 7,38	% 14,6	2,11 ± 0,34	% 16,11
<b>Günler arası ortalama VK= % 6,02</b>			<b>Günler arası ortalama VK= %12,00</b>	

SS, Standart sapma; VK, Varyasyon katsayısı

#### 4.6.3. Duyarlılığın İncelenmesi

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile belirlenen neopterin, triptofan ve kinürenin için nitel limit ve nicel limit Formül 4.1 ve 4.2 kullanılarak hesaplandı (112):

$$NTL = \frac{3,3 \times \text{Standart sapma}}{\text{kalibrasyon doğrusunun eğimi}} \quad (4.1)$$

$$NTL(\text{neopterin}) = \frac{3,3 \times 0,0104}{0,011} = 3,04 \text{ ng/ml}$$

$$NTL(\text{triptofan}) = \frac{3,3 \times 0,2474}{0,5795} = 1,41 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

$$NTL(\text{kinürenin}) = \frac{3,3 \times 0,0202}{0,2581} = 0,26 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

$$NCL = \frac{10 \times SS}{\text{kalibrasyon doğrusunun eğimi}} \quad (4.2)$$

$$NCL(\text{neopterin}) = \frac{10 \times 0,0104}{0,011} = 9,22 \text{ ng/ml}$$

$$NCL(\text{triptofan}) = \frac{10 \times 0,2474}{0,5795} = 4,27 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

$$NCL(\text{kinürenin}) = \frac{10 \times 0,0202}{0,2581} = 0,78 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

#### 4.7. Neopterin, Kinürenin ve Triptofan Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Tez kapsamında sağlıklı kontrollerde ve üveit hasta gruplarında idrar ve serum neopterin konsantrasyonları ile serum kinürenin, triptofan konsantrasyonları belirlendi. Üveit hastalığının aktif döneminde olup olmamasına ve Behçet hastalığına bağlı gelişip gelişmediğine göre de yapılan alt gruplamalara ait bu sonuçlar Tablo 4.3'de sunulmuştur.

**Tablo 4.3.** Tez çalışma gruplarının serum kinürenin, triptofan, Kin/Trp , neopterin ve idrar neopterin konsantrasyonları

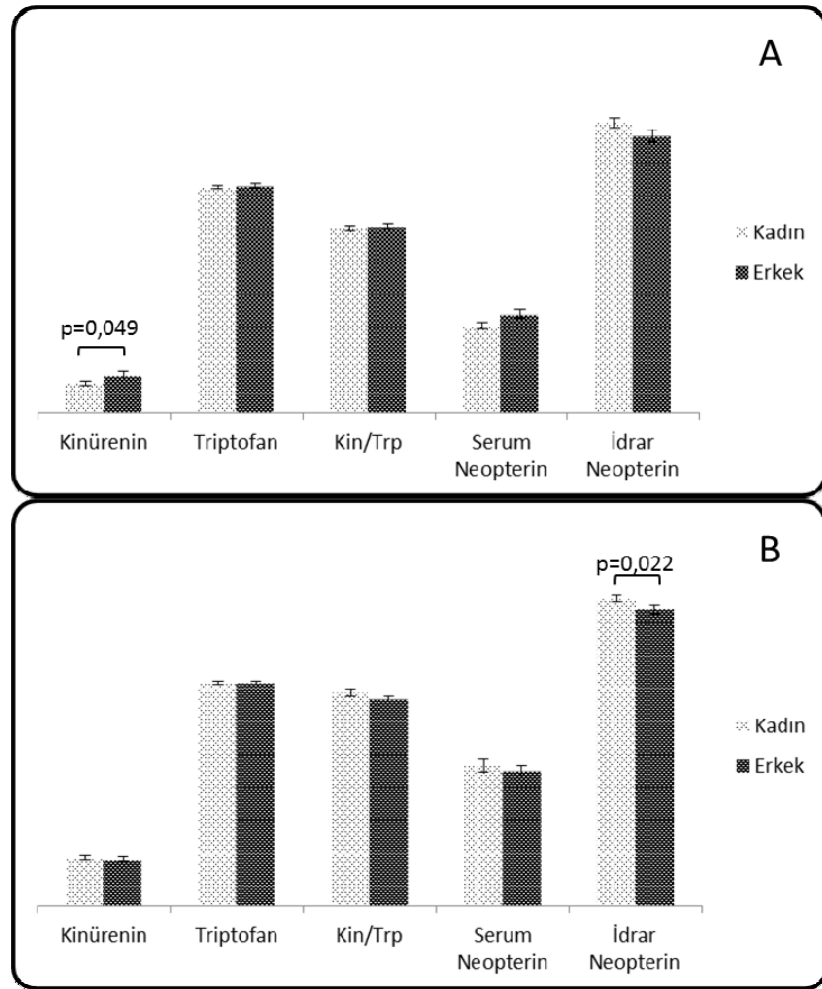
Grup	n	Ortalama $\pm$ SH (Minimum-Maksimum)					
		Kin ( $\mu\text{mol/L}$ )	Trp ( $\mu\text{mol/L}$ )	Kin/Trp ( $\mu\text{mol/mmol}$ )	Serum Neopterin ( $\text{nmol/L}$ )	İdrar Neopterin ( $\mu\text{mol/mol}$ kreatinin)	
<i>Sağlıklı Kontrol Grubu</i>	30	1,91 $\pm$ 0,09 (1,33-3,7)	61,06 $\pm$ 1,4 (47,34-74,47)	29,94 $\pm$ 1,32 (22,36-53,21)	5,94 $\pm$ 0,44 (2,93-14,65)	172,64 $\pm$ 12,0 (74,11-263,75)	
<i>Üveit Hasta Grubu</i>	104	2,36 $\pm$ 0,07** (1,15-4,56)	57,85 $\pm$ 1,10 (37,09-95,05)	45,81 $\pm$ 1,81** (24,4-117,86)	12,83 $\pm$ 1,07** (5,07-61,26)	246,05 $\pm$ 11,97** (104,46-637,5)	
<i>Tüm İnaktif Üveit Hasta Grubu</i>	41	2,41 $\pm$ 0,11** (1,26-3,89)	57,34 $\pm$ 1,49 (41,47-76,47)	49,95 $\pm$ 3,18** (29,11-117,86)	12,64 $\pm$ 1,48** (5,07-41,36)	241,65 $\pm$ 20,18* (104,46-637,5)	
Behçet dışı inaktif üveit hasta grubu	28	2,33 $\pm$ 0,11** (1,26-3,3)	58,36 $\pm$ 2,02 (41,47-76,47)	49,96 $\pm$ 4,27** (29,11-117,86)	11,97 $\pm$ 1,65** (5,07-41,36)	250,17 $\pm$ 28,21 (104,46-637,5)	
İnaktif Behçet üveit hasta grubu	13	2,57 $\pm$ 0,21** (1,59-3,89)	54,83 $\pm$ 1,91* (46,09-67,92)	50,48 $\pm$ 4,63**,\$ (33,41-79,43)	15,38 $\pm$ 4,06** (5,99-29,5)	226,16 $\pm$ 23,18 (107,22-329,25)	
<i>Tüm Aktif Üveit Hasta Grubu</i>	63	2,29 $\pm$ 0,09** (1,15-4,56)	58,37 $\pm$ 1,63 (37,9-95,05)	42,22 $\pm$ 2,14**,\$ (24,4-88,21)	12,08 $\pm$ 1,13** (5,09-43,96)	249,24 $\pm$ 14,73** (108,08-503,07)	
Behçet dışı aktif üveit hasta grubu	47	2,32 $\pm$ 0,11** (1,42-4,56)	57,59 $\pm$ 1,74* (37,09-91,52)	40,28 $\pm$ 2,07** (24,4-84,03)	12,4 $\pm$ 1,45** (5,09-43,96)	256,13 $\pm$ 16,77** (116,75-503,07)	
Aktif Behçet üveit hasta grubu	16	2,20 $\pm$ 0,23 (1,15-3,87)	61,02 $\pm$ 4,16 (45,75-95,05)	51,3 $\pm$ 6,83**,\$ (28,6-88,21)	11,13 $\pm$ 1,34** (5,47-21,37)	226,87 $\pm$ 31,19 (108,08-399,92)	

**Tablo 4.3.** Tez çalışma gruplarının serum kinürenin, triptofan, Kin/Trp , neopterin ve idrar neopterin konsantrasyonları (Devam)

Grup	n	Ortalama $\pm$ SH (Minimum-Maksimum)					
		Kin ( $\mu\text{mol/L}$ )	Trp ( $\mu\text{mol/L}$ )	Kin/Trp ( $\mu\text{mol/mmol}$ )	Serum Neopterin (nmol/L)	İdrar Neopterin ( $\mu\text{mol/mol}$ kreatinin)	
<i>Behçet Kontrol Grubu</i>	13	2,26 $\pm$ 0,08** (1,69-2,75)	60,4 $\pm$ 3,8 (42,72-76,56)	33,14 $\pm$ 1,42* (25,6-39,07)	8,46 $\pm$ 0,94* (3,39-14,51)	179,92 $\pm$ 19,00 (113,27-315,8)	
<i>Behçet Üveit Grubu</i>	29	2,39 $\pm$ 0,16** (1,15-3,89)	58,06 $\pm$ 2,39 (45,75-95,05)	50,85 $\pm$ 3,88**, $\psi$ (28,6-88,21)	12,55 $\pm$ 1,62** (5,89-29,50)	226,53 $\pm$ 19,25 (107,22-399,92)	
<i>Behçet dışı Üveit Grubu</i>	75	2,32 $\pm$ 0,08** (1,26-4,56)	57,88 $\pm$ 1,31 (37,09-91,52)	43,98 $\pm$ 2,13** (24,4-117,86)	12,23 $\pm$ 1,08* (5,07-43,96)	253,80 $\pm$ 14,9* (104,46-637,5)	

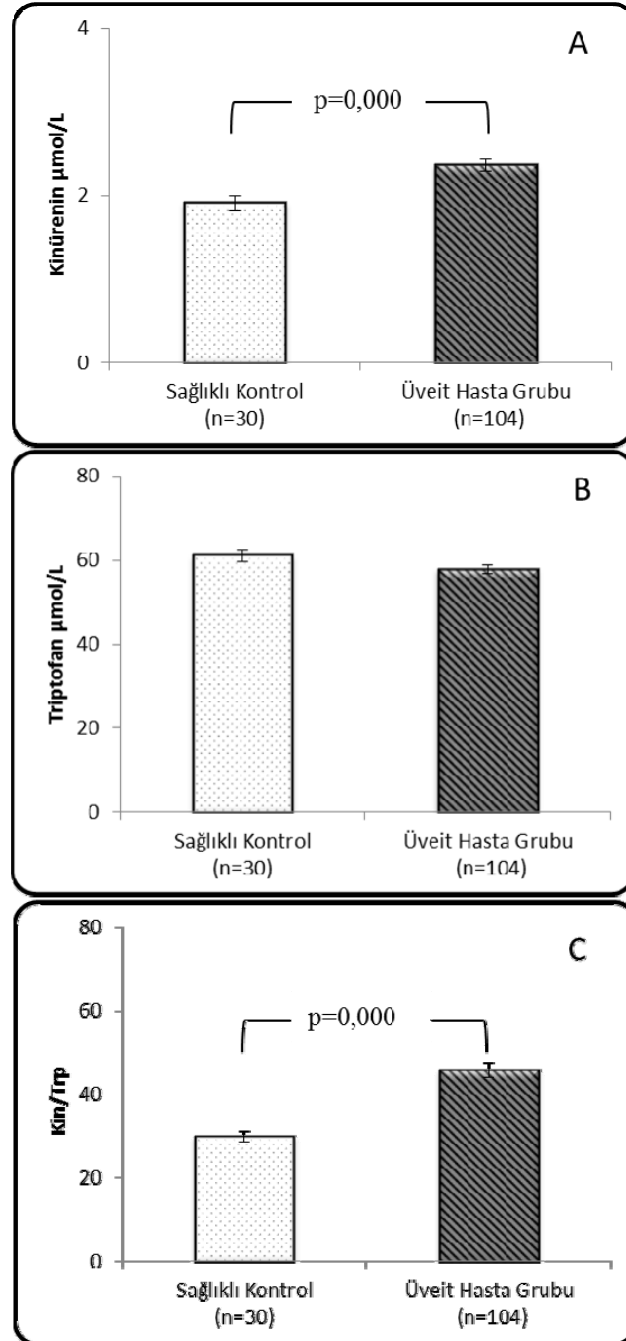
\*, p<0,05; Sağlıklı kontrol grubuna göre; \*\*, p<0,01; Sağlıklı kontrol grubuna göre, †, p<0,05; Tüm inaktif üveit hasta grubuna göre; §, p<0,05; Behçet kontrol grubuna göre,  $\psi$ , p<0,01; Behçet kontrol grubuna göre

Öncelikle sağlıklı kontrol grubu ve üveit hastalarının tümünde ölçülen parametrelerin cinsiyete bağlı değişip değişmediği araştırıldı. Buna göre sağlıklı kontrol grubunda kinürenin düzeyleri erkeklerde kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek iken üveit hastalarında idrar neopterin düzeylerinin kadınlarda erkeklere göre anlamlı yüksek olduğu gözlemlendi (ikisi de;  $p < 0,05$ ). Diğer parametrelerde ise her iki katılımcı grubunda da kadın ve erkekler arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı (tümü;  $p > 0,05$ ) (Şekil 4.8).



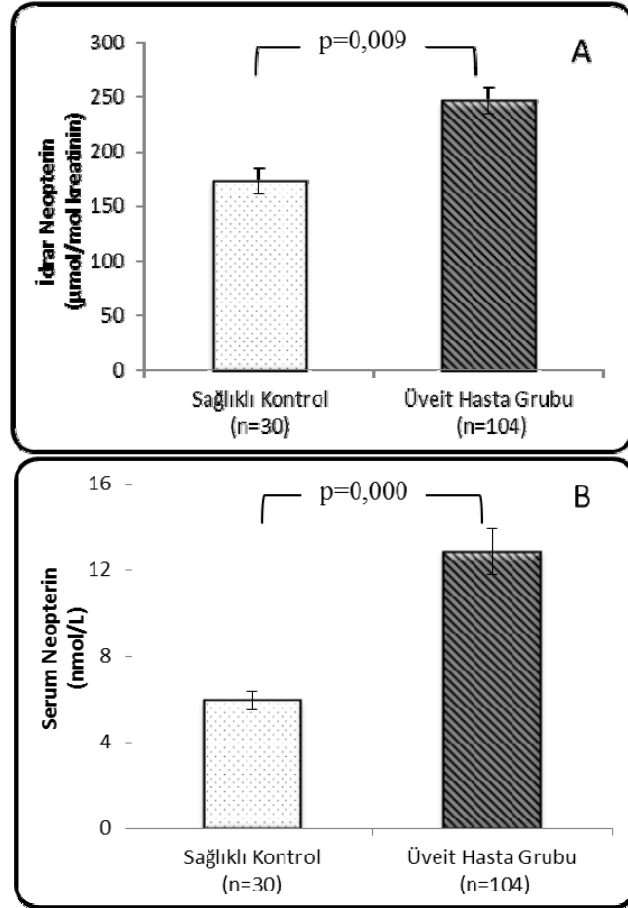
**Şekil 4.8.** Cinsiyete göre sağlıklı kontrol grubu (A) ve üveit hasta grubuna (B) ait verilerin karşılaştırılması

Sağlıklı kontrol grubuna göre, tüm üveit hastalarının triptofan düzeylerinde azalma (~%5) gözlenirken kinürenin düzeyleri (~%24) ve Kin/Trp oranlarında (~%53) artış gözlemlendi. Kinürenin düzeyleri ve Kin/Trp oranındaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı (ikisi de;  $p=0,000$ ) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Sağlıklı kontrol grubu ve üveit hasta grubunun kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması

Yapılan istatistiksel değerlendirmede tüm üveit hastalarının idrar ve serum neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu (sırasıyla ~% 42 ve ~% 116, ikisi de;  $p<0,01$ ) belirlendi (Şekil 4.10).



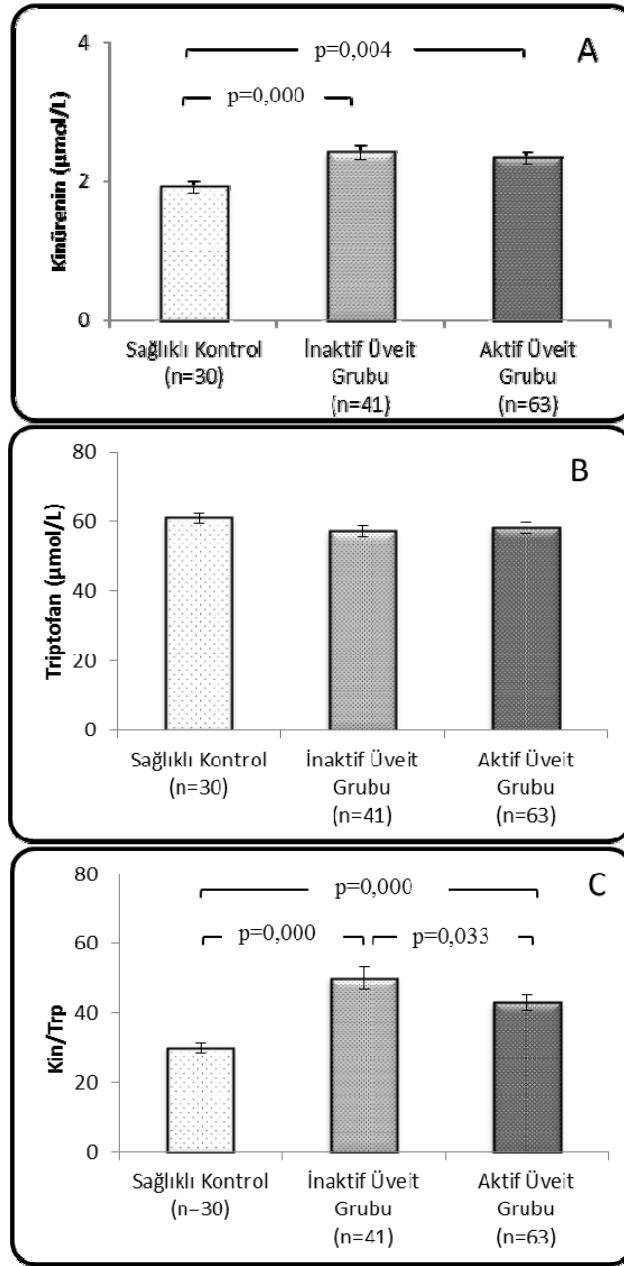
**Şekil 4.10.** Sağlıklı kontrol grubu ve üveit hasta grubunun idrar neopterin (A) ve serum neopterin (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması (tümü,  $p<0,01$ )

Üveit hasta grubu, aktif ve inaktif olma durumuna göre sınıflandırılarak karşılaştırıldığında ise bu gruplar arasında kinürenin, triptofan ve Kin/Trp düzeyleri arasında istatistiksel fark olmadığı anlaşılmıştır (tümü;  $p>0,05$ ). Diğer taraftan hem aktif hem de inaktif üveit hasta gruplarının kinürenin ve Kin/Trp değerlerinin sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.11).

Kinürenin düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre inaktif üveit hastalarında ~%26, aktif üveit hastalarında ~%21 anlamlı yüksek bulunmuştur. Kin/Trp oranı



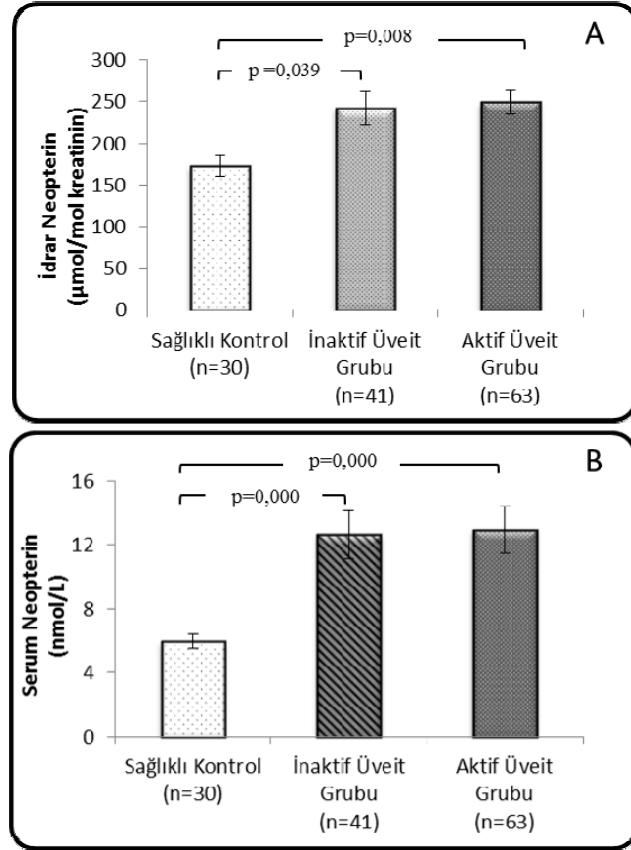
karşılaştırıldığında ise sağlıklı kontrol grubuna göre inaktif ve aktif üveit hasta gruplarında sırasıyla ~%67 ve ~%43'lük anlamlı artış saptanmıştır (ikisi de;  $p < 0,01$ ).



**Şekil 4.11.** Sağlıklı kontrol grubu, inaktif ve aktif üveit hasta grubunun kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması

İdrar neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre inaktif ve aktif üveit hastalarında sırasıyla ~%40 ve ~%44, serum neopterin değerlerinin ise sırasıyla ~%113 ve ~%118 yüksek olduğu belirlendi (tümü;  $p < 0,05$ ). Sağlıklı kontrol grubuna göre aktif ve inaktif üveit gruplarında idrar ve serum neopterin düzeylerinin Şekil

4.12’de görüldüğü üzere anlamlı yüksek olduğu bulundu. Aktif ve inaktif üveit hastalarında serum ve idrar neopterin düzeyleri arasında ise istatistiksel fark bulunmadı (ikisi de;  $p>0,05$ ).

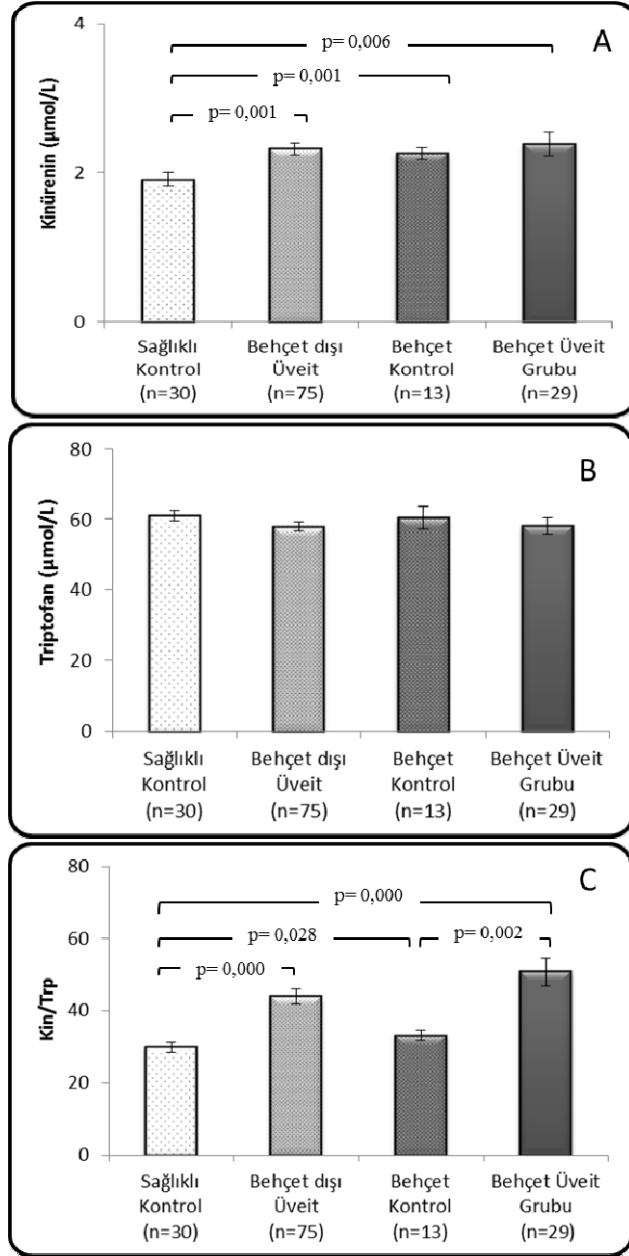


**Şekil 4.12.** Sağlıklı kontrol grubu, inaktif ve aktif üveit hasta grubunun idrar neopterin (A) ve serum neopterin (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması

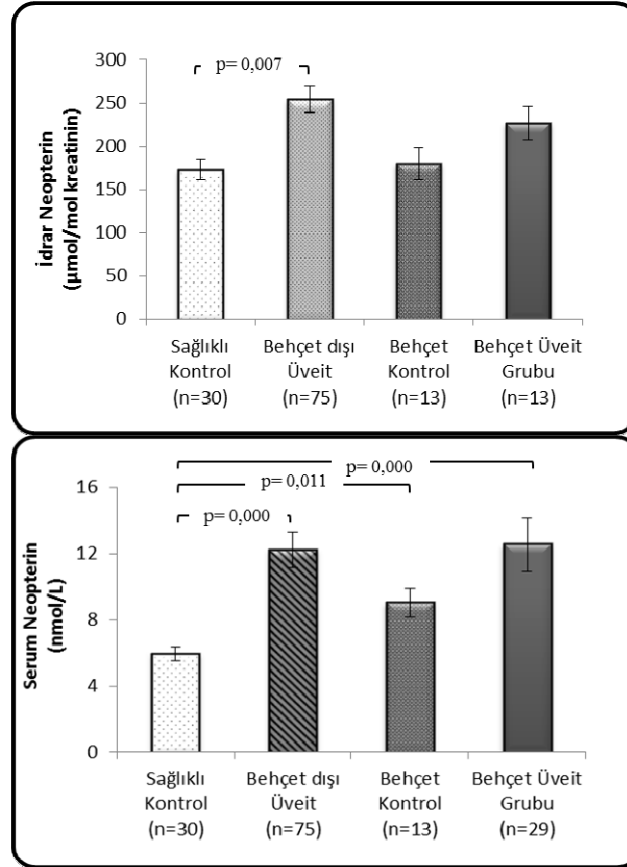
Behçet üveiti ile Behçet dışı üveit hastalarının ölçülen parametrelerindeki olası değişimlerinin sağlıklı kontrol ve Behçet kontrol grupları ile karşılaştırılması Şekil 4.13 ve Şekil 4.14’de gösterilmiştir. Buna göre;

- Behçet üveiti, Behçet dışı üveit ve Behçet kontrol gruplarının kinürenin düzeylerinin ve Kin/Trp oranlarının sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu (tümü;  $p<0,05$ ),
- Behçet üveit hastalarının Kin/Trp oranının Behçet kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu ( $p<0,01$ ),

- İdrar ve serum neopterin düzeylerinin ise sadece Behçet dışı üveit grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı farklılık gösterdiği saptanmıştır ( $p<0,01$ ).



**Şekil 4.13.** Sağlıklı ve Behçet kontrol grubu, Behçet dışı üveit, Behçet üveit hasta grubunun kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması

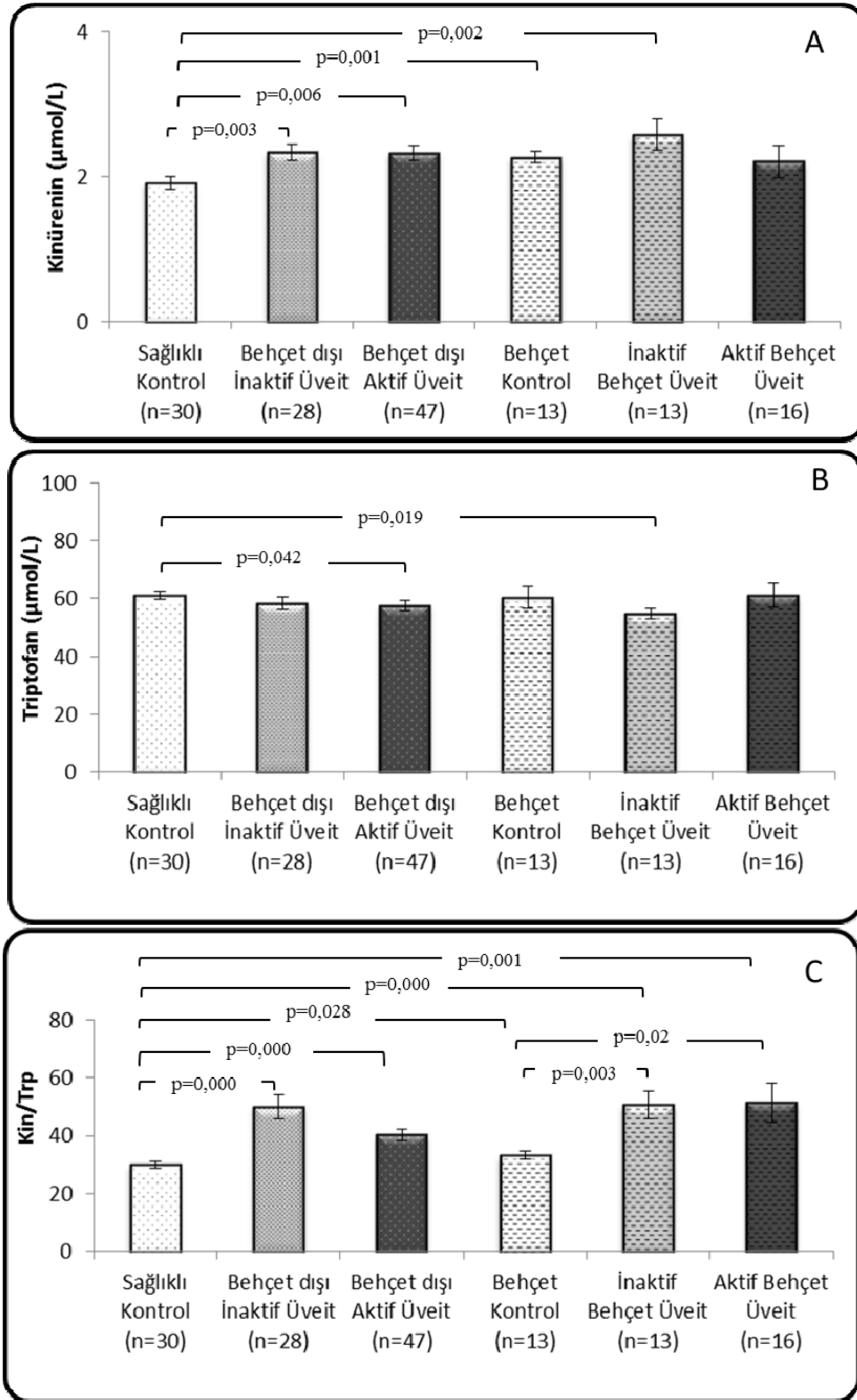


**Şekil 4.14.** Sağlıklı ve Behçet kontrol grubu, Behçet dışı üveit, Behçet üveit hasta grubunun idrar neopterin (A) ve serum neopterin (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması

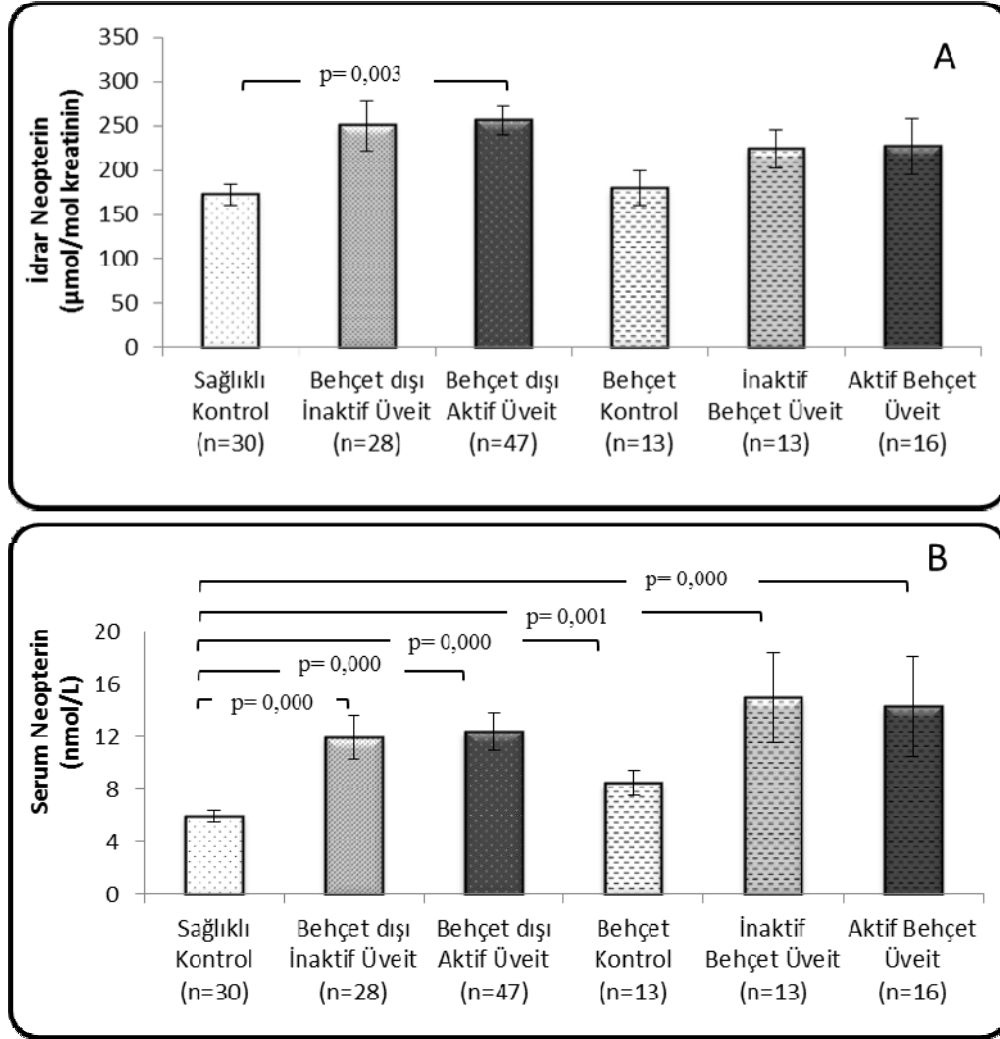
Behçet hastalığı ile ilişkili inaktif ve aktif üveit hastaları ile Behçet dışı inaktif ve aktif üveit hastalarının ölçülen parametrelerdeki olası değişimlerinin sağlıklı kontrol ve Behçet kontrol grubu sonuçları ile karşılaştırılması Şekil 4.15'de gösterilmiştir. Bunun yanı sıra üveit hastalığı olmayan Behçet hastalarından oluşturulan kontrol grubu ile de sonuçların karşılaştırılması yapılmıştır. Buna göre;

- Aktif Behçet üveit grubu hariç diğer tüm hasta grupları ve Behçet kontrol grubunun kinürenin düzeylerinin sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (tümü;  $p < 0,01$ ).
- Triptofan düzeylerindeki istatistiksel anlamlı değişikliklerin Behçet dışı aktif üveit grubu ve inaktif Behçet üveit grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında olduğu bulundu (ikisi de;  $p < 0,05$ ).

- Tüm alt gruplar ile Behçet kontrol grubunun Kin/Trp oranları, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu saptandı (tümü;  $p<0,05$ ).
- İnaktif ve aktif Behçet üveit gruplarının Kin/Trp oranının Behçet kontrole göre sırasıyla ~%52 ve ~%54 oranında daha fazla olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (ikisi de;  $p<0,05$ ).
- İdrar neopterin düzeylerinin genel olarak hasta gruplarında artma eğilimi göstermekte ancak istatistiksel olarak anlamlı farkın ~%48'lik oran ile sadece Behçet dışı aktif üveit hastalarında olduğu bulundu ( $p<0,05$ ).
- Serum neopterin düzeyleri değerlendirildiğinde ise tüm alt gruplar ve Behçet kontrol grubunun sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi (tümü;  $p<0,05$ ). (Bkz. Şekil 4.16).



Şekil 4.15. Çalışma gruplarının kinürenin (A), triptofan (B) konsantrasyonları ve Kin/Trp (C) oranının karşılaştırılması



**Şekil 4.16.** Çalışma gruplarının neopterin idrar (A) ve serum (B) konsantrasyonlarının karşılaştırılması

Üveit hastaları ilk defa tanı konulmasının ardından geçen süreye göre sınıflandırıldı. Tablo 4.4’de tanı konulmasının ardından geçen süreye göre değişen parametreler sunulmuştur. Bu değerlendirmede idrar ve serum parametreleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı anlaşılmıştır (tümü;  $p > 0,05$ ).

**Tablo 4.4.** Tanı konulması ardından geçen süreye göre sınıflandırılan hastaların idrar ve serum parametreleri

Grup	n	Kinürenin	Triptofan	Kin/Trp	Serum Neopterin	İdrar Neopterin
		Ortalama $\pm$ SS (Minimum-Maksimum)				
Yeni teşhis	17	2,30 $\pm$ 0,19 (1,42-4,56)	59,13 $\pm$ 2,62 (37,09-75,63)	39,22 $\pm$ 2,94 (24,58-67,19)	10,81 $\pm$ 1,41 (5,3-23,68)	244,61 $\pm$ 28,6 (123,26-503,7)
0-1 Ay	11	2,38 $\pm$ 0,26 (1,55-3,89)	56,34 $\pm$ 2,19 (45,6-65,42)	44,58 $\pm$ 4,91 (27,36-68,45)	12,13 $\pm$ 2,63 (5,28-19,59)	240,83 $\pm$ 42,53 (104,46-447,26)
1-6 ay	11	2,42 $\pm$ 0,18 (1,82-3,61)	52,64 $\pm$ 2,37 (41,15-67,69)	47,48 $\pm$ 4,97 (32,42-84,03)	12,59 $\pm$ 2,05 (5,31-27,59)	243,59 $\pm$ 52,98 (124,58-637,5)
6 ay-1 yıl	10	2,18 $\pm$ 0,22 (1,26-3,01)	56,2 $\pm$ 3,27 (41,93-69,72)	39,14 $\pm$ 3,74 (24,83-55,35)	8,78 $\pm$ 1,53 (5,07-17,28)	266,52 $\pm$ 33,97 (116,75-401,82)
1-5 yıl	27	2,12 $\pm$ 0,13 (1,15-3,26)	61,37 $\pm$ 2,98 (40,88-95,05)	42,78 $\pm$ 3,5 (24,4-88,21)	11,92 $\pm$ 2,11 (5,09-43,96)	223,81 $\pm$ 20,45 (107,22-497,44)
5 yıl-	28	2,63 $\pm$ 0,11 (1,79-3,87)	57,17 $\pm$ 1,8 (44,25-76,47)	53,48 $\pm$ 4,59 (25,32-117,86)	14,63 $\pm$ 2,03 (5,89-41,36)	264,06 $\pm$ 23,38 (108,08-580,31)

Üveit hasta grubunun ilaç kullanımı değerlendirildiğinde, hastaların kullandıkları ilaçların üç kategoride yer aldığı ve bunların kolşisin, immünosüpresifler ve kortikosteroidler olduğu anlaşılmıştır. Bu ilaçların kullanım durumunun serum ve idrar neopterin, serum kinürenin, triptofan düzeylerine ve Kin/Trp oranına etkisi Tablo 4.5’de verilmiştir.



**Tablo 4.5.** İlaç kullanım durumunun ölçülen parametrelere etkisi

İlaç	Kin	Trp	Kin/Trp	Serum Neopterin	İdrar Neopterin
Kullanım durumu, n	<b>Ortalama ± SS</b> <b>(Minimum-Maksimum)</b>				
Kolşisin (+), 16	2,36±0,21 (1,15-3,89)	58,71±3,62 (45,75-95,05)	53,27±4,79* (33,41-88,21)	13,22±2,17 (6,41-29,5)	213,02±21,61 (120,94-329,25)
İmmünoşüpresif (+), 24	2,33±0,14 (1,15-3,87)	57,73±2,58 (43,06-95,05)	52,97±4,34* (32,49-95,11)	11,44±1,36 (5,99-29,50)	233,21±20,68 (107,22-460,4)
Oral Kortikosteroidler (+), 11	2,22±0,21 (1,15-3,65)	57,47±4,96 (41,93-95,05)	43,48±4,19 (27,96-63,99)	13,56±3,02 (5,31-27,59)	270,54±48,44 (124,58-637,5)
Hiç ilaç kullanmayan (-), 34	2,17±0,09 (1,43-3,10)	58,09±1,83 (37,09-91,52)	38,25±1,78 (24,58-57,23)	9,07±0,74 (5,07-16,58)	220,38±17,1 (104,46-503,7)

\*, p<0,05; Hiç ilaç kullanmayan gruba göre

Kolşisin kullanan hastaların Kin/Trp oranının hiç ilaç kullanmayan hastalardan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu (~%39) saptanmıştır (p<0,05). Hastalar immünoşüpresif kullanımına göre değerlendirildiğinde yine Kin/Trp oranının hiç ilaç kullanmayan hastalardan istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu (~%38) belirlenmiştir (p<0,05). Kolşisin ve immünoşüpresif kullanan hastalarda Kin/Trp oranı dışında ve oral kortikosteroid kullanan hastalarda ölçülen parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 4.5’de ifade edilen sonuçlara, interferon kullanan 2 hastanın idrar ve serum parametreleri dahil edilmemiş ve bu iki hastanın sonuçları çalışma kapsamında genel değerlendirmeye alınmamıştır. Bu hastalara ait sonuçlar Tablo 4.6’da verilmiştir.

**Tablo 4.6.** İnterferon kullanan üveit hastalarının idrar ve serum parametreleri

İnterferon tedavisi alan hastalar	Kin ( $\mu\text{mol/L}$ )	Trp ( $\mu\text{mol/L}$ )	Kin/Trp	Serum Neopterin ( $\text{nmol/L}$ )	İdrar Neopterin ( $\mu\text{mol/mol}$ kreatinin)
Hasta 1	3,36	52,99	63,52	61,26	1079
Hasta 2	2,17	49,76	43,54	>111 (st 6)	803

Çalışma gruplarında ölçülen serum ve idrar parametrelerinin birbirleri ile ilişkisi incelenmiş, korelasyon katsayıları ve p değerleri Tablo 4.7 ve Tablo 4.8’de verilmiştir.

**Tablo 4.7.** Serum neopterin düzeyleri ile diğer ölçülen parametreler arasındaki ilişki

Gruplar (n)	Serum Neopterin			
	Kinürenin	Triptofan	Kin/Trp	İdrar Neopterin
	$r_s$ (p)			
Üveit Hasta Grubu (104)	<b>0,271*</b> (0,02)	-0,970 (0,405)	<b>0,419**</b> (0,000)	<b>0,331**</b> (0,005)
Tüm İnaktif Üveit Hasta Grubu (41)	0,116 (0,557)	0,162 (0,393)	<b>0,394*</b> (0,035)	0,140 (0,470)
Tüm Aktif Üveit Hasta Grubu (63)	<b>0,423**</b> (0,04)	-0,255 (0,088)	<b>0,443**</b> (0,003)	<b>0,391**</b> (0,009)
Behçet Kontrol Grubu (13)	0,595 (0,120)	-0,214 (0,610)	-0,071 (0,879)	-0,107 (0,819)

\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$

**Tablo 4.8.** İdrar neopterin düzeyleri ile diğer ölçülen parametreler arasındaki ilişki

Gruplar (n)	İdrar Neopterin			
	Kinürenin	Triptofan	Kin/Trp	Serum Neopterin
	$r_s$ (p)			
<b>Üveit Hasta Grubu (104)</b>	<b>0,458** (0,000)</b>	<b>-0,287** (0,01)</b>	<b>0,527** (0,000)</b>	<b>0,331** (0,005)</b>
<b>Tüm İnaktif Üveit Hasta Grubu (41)</b>	<b>0,371* (0,034)</b>	-0,149 (0,400)	<b>0,616** (0,000)</b>	0,140 (0,470)
<b>Tüm Aktif Üveit Hasta Grubu (63)</b>	<b>0,535** (0,000)</b>	-0,396 (0,006)	<b>0,510** (0,000)</b>	<b>0,391** (0,009)</b>
<b>Behçet Kontrol Grubu (13)</b>	0,024 (0,955)	-0,310 (0,456)	-0,143 (0,736)	-0,107 (0,819)

\*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$

- Tüm üveit hastalarında parametreler arasındaki ilişki değerlendirildiğinde ise; serum neopterin ile kinürenin ( $p<0,05$ ), Kin/Trp oranı ( $p<0,01$ ) ve idrar neopterin ( $p<0,01$ ) arasında anlamlı pozitif bir ilişki olduğu, idrar neopterin düzeylerinin ise triptofan ile negatif, diğer tüm parametrelerle pozitif anlamlı bir ilişkisi olduğu bulundu (tümü;  $p<0,01$ ).
- Üveit hastalarının inaktif ve aktif olma durumuna göre sınıflandırıldığında inaktif üveit hastalarında serum neopterin düzeylerinin sadece Kin/Trp oranı ile anlamlı ilişkili olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). İdrar neopterin düzeyleri ile ise kinürenin ve Kin/Trp oranı arasında pozitif ilişki belirlendi (sırasıyla  $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ).
- Aktif üveit hasta grubunda kinürenin ve Kin/Trp oranının hem serum neopterin hem idrar neopterin düzeyleri arasında pozitif ilişki saptandı (serum neop-kin  $p<0,05$ ; diğerleri  $p<0,01$ ). İnaktif üveit hastalarda olduğu gibi serum neopterin ve idrar neopterin düzeyleri arasında da pozitif ilişki belirlendi ( $p<0,01$ ).
- Behçet kontrol hastalarında ise parametreler arasında herhangi bir anlamlı ilişki gözlenmedi (tümü,  $p>0,05$ ).

## 5.TARTIŞMA

Üveal sistem; damarlanmanın ve pigmentlenmenin yüksek olduğu iris, silier cisim ve koroidden oluşan anatomik bir yapıdır. Bu yapılarda ayrı ayrı veya birlikte inflamasyon durumu gözlenebilmektedir. İntraoküler inflamasyon sonucu oluşan pek çok klinik durumu ifade eden genel bir terim olan üveitin patolojisi, oküler yapıları içeren lenfovasküler tabakanın inflamasyonudur (96). Üveit belirtileri belirgin olmasına rağmen kesin tanının konması çok kolay değildir. Üveal sistemin enfeksiyonu bazen yaşamı tehdit eden sürecin ilk belirtisi olabildiğinden, hekimin özgün tanıyı koyabilmesi ve buna bağlı olarak da uygun tedaviye başlayabilmesi için biyokimyasal değişkenlerin belirlenmesi önemlidir (105).

Oküler inflamasyon mekanizması, tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte, yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda lokal ve sistemik immün cevabın düzenlenmesinde değişiklikler olduğu gösterilmiştir (96). Monosit/makrofaj aktivitesindeki artışı işaret eden neopterin konsantrasyonlarındaki olası bir artış, enfeksiyon ve inflamasyon kaynaklı pek çok hastalık gibi immün sistemin dahil olduğu patolojilerde gösterilmiştir (8,9). Bu bilgiler ışığında, neopterin düzeylerinin oküler inflamasyonun takibinde de önemli bir kullanım alanına sahip olabileceği düşünülmektedir; ancak, üveit patojenezinde pteridin ve ilişkili yollardaki değişkenlerin incelendiği sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (57,58). Neopterin üretimini uyarıcı ana sitokin olan IFN- $\gamma$ , triptofan yıkımında ilk hız kısıtlayıcı basamaktan sorumlu olanIDO enzimini de uyarır. Bu nedenle neopterin düzeylerindeki ve IDO enzim aktivitesindeki olası değişiklikler Th1 aracılı immün yanıtın durumunu yansıtmaktadır (3). Sunulan bu tez çalışmasının amacı oküler inflamasyonun belirgin bir örneği olan üveit hastalığında olası immün sistem değişikliklerinin pteridin yolağının önemli bileşenleri ile değerlendirilmesidir. Bu değişkenlerin üveit tanısında ve aktif/inaktif dönem ayırımında kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Çalışma grupları Doğu Anadolu Bölgesi için önemli sağlık hizmetlerinin verildiği Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Polikliniğine başvuran aktif ve inaktif üveit hastalarından oluşturulmuştur.

Tez çalışmasında öncelikli olarak neopterin ve kinürenin yolağı ile ilişkili parametrelerin yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde ölçümü için validasyon

çalışmaları yürütülmüştür. Bu çalışmaların sonucunda, uygulanan kromatografik yöntemlerin duyarlı, kesin, tekrarlanabilir, özgün ve doğru olduğu gösterilmiştir. Saptanabilir alt limiti ifade eden nitel limit ile hesaplanabilir alt birimi gösteren nicel limit değerleri ideal bir yöntemde olması gerektiği gibi düşük bulunmuştur.

Diyabet, travma ve üveit 20-60 yaş arası bireylerde görme kaybının başlıca nedenleri arasında sayılmaktadır (100). Buna ilave olarak, üveit insidansında yaşın önemli bir etmen olduğu ve 20-50 yaş grubunda üveit insidansının en yüksek olduğu bildirilmektedir (96). Türk toplumunda anterior üveitin etiyolojik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada da çalışmaya katılan ve yaş ortalaması ~39 olan hastalarının %85,3'ünün 20-60 yaş aralığında olduğu bildirilmiştir (114). Bu tez çalışmasındaki katılımcıların yaş ortalaması ~40 yaş olarak bulunmuş, daha önce bildirilen yaş sınırlarının içerisinde olduğu gözlenmiştir.

Cinsiyetin pteridin yolağı ve triptofan yıkımı üzerine etkisi konusu tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda cinsiyet farklılığının neopterin, triptofan ve kinürenin düzeyleri ileIDO aktivitesine etkisinin olmadığı gösterilmişken (115-117), cinsiyetin neopterin düzeylerine ve triptofan yıkımına etki ettiği ve kadınlarda neopterin düzeylerinin erkeklere göre daha yüksek olduğunun bildirildiği ve bu değişikliğin hormonal durumla ilişkili olabileceğini ifade eden çalışmalar da mevcuttur (3,9). Tez çalışmasına dahil edilen katılımcıların cinsiyetlerinin, ölçülen parametrelere etkisinin olup olmadığı değerlendirildiğinde, sağlıklı kontrol grubunda hem serum hem de idrar neopterin düzeyleri kadın ve erkek katılımcılarda farklı bulunmamıştır. Kinürenin düzeyleri ise erkeklerde daha yüksek saptanmasına rağmen bu farklılıkIDO aktivitesini ifade eden Kin/Trp oranına yansımamıştır. Üveit hastalarındaki cinsiyet farklılığı değerlendirildiğinde de sadece idrar neopterin düzeylerinin kadınlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır.

İmmünojenik bir dokunun, immün cevabı bir konakta uzun bir süre yeterli derecede koruyabildiği anatomik bölgelere *immünojenik olarak imtiyazlı bölgeler* denmektedir. Bu koruyucu mekanizmanın olduğu organlardan biri de gözdür (109). Oküler immün ayrıcalık, görme eksenini bozan ve körlüğe neden olabilecek immünojenik inflamasyondan gözü korumak için var olan çok faktörlü bir olgudur (118). Gözün bu immünojenik ayrıcalığının mekanizmasında etkili faktörler, sıkı kan-

göz bariyerinin varlığı, intraoküler lenfatik sistemin olmaması ve intraoküler mikroçevrenin immünoşüpresif özellikleridir. Yang ve diğerleri (118), kornea stroma hücrelerinde oküler immün ayrıcalıkta sinyal dönüştürücülerin, Stat3 transkripsiyon faktörleri ve immünoşüpresif etkili olanIDO'nun rolünü araştırmış ve sonuç olarak da Stat3 veIDO'nun kornea keratositlerinde oküler immün ayrıcalıkta bir faktör olarak hareket edebileceğini bildirmişlerdir. Oküler inflamasyonu konu alan triptofan yıkımı veIDO aktivitesi ile ilgili sınırlı sayıda in vitro çalışma bulunmakta klinik çalışma ise bulunmamaktadır. Tez çalışması kapsamında tüm hasta grubunun kinürenin yolağının değerlendirilmesi için ölçülen parametreleri, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında neopterin değerlendirmelerine benzer sonuçlar elde edilmiştir (Bkz. Şekil 4.9-10). Hasta grubunda triptofan düzeylerindeki azalmanın kontrol grubu ile anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir. Triptofanın yıkım ürünü olan kinüreninin konsantrasyonundaki ~%24'lük artış veIDO aktivitesinin göstergesi olan Kin/Trp oranındaki ~%53'lük artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur.

Tez çalışmasında bulunan tüm hasta grubunun idrar ve serum neopterin düzeyleri, sağlıklı kontrol grubu örneklerinde saptanan neopterin düzeyleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuş ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.10). Bu elde edilen sonuçlar daha önce yapılan sonuçlar ile benzerlik göstermektedir (57,58). Abi Hanna ve diğ. (57)'nin yaptığı çalışmada akut ön üveiti aktif olan hastalarda serum neopterin düzeylerinin arttığı görülmüştür. Benzer bir şekilde Durukan ve diğ. (58)'de aktif üveit hastalarının idrar neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole göre yükseldiğini saptamışlardır. Vücudun immünolojik mekanizmalarındaki olağan dışı duruma bağlı olarak ortaya çıkan, retina vasküler yapısını tutan ve görmeyi tehdit eden inflamatuvar bir hastalık olan retinal vaskülitte de idrar neopterin düzeylerinin kontrole göre anlamlı yükseldiği bildirilmiştir (55).

Literatürde verilen kriterlere göre göz hastalıkları anabilim dalı polikliniği doktorlarının muayenesi sonucu üveit hastaları aktif ve inaktif olarak sınıflandırılmışlardır (111). Yapılan çalışmalarda aktif hastalarda neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole ve inaktif üveit hastalarına göre anlamlı yükseldiği

ancak inaktif hastalarda neopterin düzeylerinin değişmediği veya çok az yükseldiği buna bağlı olarak da neopterin konsantrasyonlarının hastalığın aktivitesini gösterebileceğini bildirilmiştir (57,58). Tez çalışmasında üveitin aktif ve inaktif olma durumuna göre hastalar gruplandırıldığında, bu çalışmalara benzer olarak serum ve idrar neopterin konsantrasyonları anlamlı yüksek bulunmuştur. Ancak bu çalışmaların tersine inaktif üveit hastalarında da neopterin düzeyleri yükselmiştir. Aktif ve inaktif üveit hasta grupları birbiri ile karşılaştırıldığında ise iki üveit grubu arasında fark olmadığı saptanmıştır. Sağlıklı kontrol grubu ile aktif ve inaktif üveit hastalarında triptofan, kinürenin ve Kin/Trp oranı karşılaştırıldığında, neopterin sonuçlarına benzer şekilde kinürenin ve Kin/Trp oranı anlamlı yüksek bulunmuştur. Bununla beraber üveit hastaları aktif ve inaktif olma durumuna göre değerlendirildiğinde sadece Kin/Trp oranları arasında anlamlı bir fark gözlenmiş diğer parametrelerde anlamlı değişim olmamıştır (Bkz. Şekil 4.11). Bu verilere dayanarak neopterin düzeylerinin veIDO aktivitesinin intraoküler inflamasyon varlığında yükseldiği ancak hastalığın aktivitesini yansıtmadığı sonucuna varılmaktadır.

Behçet hastalığı, etiyojisi bilinmeyen ve vaskülit ile karakterize tekrarlayan sistemik inflamatuvar bir hastalıktır (95,104). Behçet hastalarında göz tutulumunun sıklığı yaklaşık %70-90'dır. Göz tutulumu Behçet hastalarının yaklaşık %10-20'sinin ilk başvuru bulgusu olabilmektedir (119). Bu araştırmada üveit grubunda aynı zamanda Behçet hastalığı da bulunan katılımcılar olması nedeniyle, üveitte Behçet hastalığı'nın olası etkileri de üveit olmayan Behçet hastaları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla üveiti olmayan Behçet hastaları Behçet kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Behçet kontrol grubu olarak isimlendirilen üveiti olmayan Behçet hastaları, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum neopterin, kinürenin ve Kin/Trp oranı anlamlı yüksek bulunmuştur. Literatürde de benzer çalışmalar bulunmaktadır (43,120,121). Behçet hastalarında serum neopterin düzeylerinin değerlendirildiği çalışmada aktif Behçet hastalarının neopterin düzeylerinin anlamlı olmasa da kontrole göre yüksek olduğu saptanmıştır (120). Yine başka bir çalışmada, tez çalışmasında elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak Behçet hastalarında idrar ve serum neopterin düzeylerinin sağlıklı kontrole göre anlamlı yüksek bulunduğu bildirilmiştir (43). Bunun yanında, Behçet kontrol grubu ile

Behçet üveiti bulunan bireylerin oluşturduğu grup karşılaştırıldığında Kin/Trp oranının Behçet üveit hasta grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Buna paralel olarak idrar ve serum neopterin düzeylerinde de anlamlı olmamakla birlikte sırasıyla ~%26'lık ~%48'lik bir artış olduğu gözlenmiştir. Behçet hastalarında neopterin, triptofan ve kinürenin düzeylerinin değerlendirildiği Irschick ve diğ. (122)'nin yaptığı çalışmada Kin/Trp oranında bir değişiklik gözlenmemiştir. Behçet hastalığının olası yanıtıcı etkisini değerlendirmek için Behçet dışı üveit hasta grubu ile Behçet üveiti olan hasta grubu karşılaştırılmıştır. Değerlendirilen parametrelerin hiçbiri bu hastalarda farklı bulunmamıştır. Diğer taraftan, Behçet dışı üveit hasta grubunun sonuçları ile sağlıklı kontrol grubu sonuçları karşılaştırıldığında ise triptofan haricindeki parametrelerin anlamlı artış gösterdiği saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.13-14).

Behçet dışı üveit hastalığı ve Behçet üveit hastalığı bulunan bireylerde aktif ve inaktif olma durumuna göre ölçülen parametreler değerlendirildiğinde, aktif ve inaktif üveit hasta grupları arasında ölçülen parametrelerde anlamlı herhangi bir fark bulunmamıştır. Behçet kontrol grubu ile hem inaktif hem de aktif Behçet üveit grupları arasında sadece Kin/Trp oranı farklı bulunmuş ve bu düzeylerin her iki Behçet üveit hasta grubunda daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bütün bu sonuçlar değerlendirildiğinde Behçet hastalığında üveit varlığının pteridin ve kinürenin yollarında hücrel immün yanıtı bağlı bir etkisi olmadığı düşünülmektedir.

Enfeksiyon kaynaklı olmayan üveitlerin tedavisinde steroidler ve immünesüpresanlar kullanılırken enfeksiyon kaynaklı üveitlerin tedavisinde antimikrobiyaller kullanılmaktadır. Kortikosteroidler oküler inflamatuvar hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlardır. Bu ilaçlar ya topikal olarak ya da perioküler enjeksiyon ile veya sistemik olarak kullanılırlar. Topikal uygulamada gözün sadece ön tabakasına geçmesi nedeniyle ön üveitlerin tedavisinde kullanılırken görme yetisinin azaldığı ve maküler ödemin risk oluşturduğu intermediyer üveitlerde perioküler olarak uygulanmaktadırlar. Ancak hastalığın doğası gereği ve lokal uygulamada yaşanan problemler nedeniyle çoğu hasta sistemik olarak uygulanan kortikosteroidlere gereksinim duyar (5). Bunun yanında bazı hastalarda sistemik kortikosteroid tedavisi hastalığın kontrol edilmesinde yetersiz kaldığında da



immünoşüpresif ilaç tedavisine başlanmaktadır. Behçet hastalarında olduğu gibi arka bölgenin dahil olduğu enfeksiyonlarda kortikosteroidler yetersiz kalır ve immünoşüpresif ilaçlar kullanılır (5).

Üveit hasta grubunun ana olarak kolşisin, immünoşüpresif ve oral steroid kullanmasından dolayı bu ilaçları kullananlar ile ilaç kullanmayan üveit hastaları karşılaştırılarak üveit tedavisinde kullanılan bu ilaçların ölçülen parametrelere etkisi değerlendirilmiştir. Bu ilaçlardan herhangi birini kullanan ve ilaç kullanmayan hastaların serum ve idrar neopterin düzeylerinde anlamlı farklılık bulunmamıştır. Kinürenin yolağındaki parametreler değerlendirildiğinde ise Kin/Trp oranlarının kolşisin ve immünoşüpresif kullanan hastalarda anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. Yine aynı grupta Altındağ ve diğ. (123)'nin in vitro olarak yapılan çalışmasında kolşisinin neopterin salınımını azaltma yönündeki etkisinin aksine istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kolşisin kullanan hastalarda Kin/Trp oranına paralel olarak serum neopterin düzeylerinde ~%44'lük bir artış gözlenmiştir. Kolşisine benzer şekilde immünoşüpresif ilaç kullananlarda da serum neopterin düzeyleri anlamlı olmamakla birlikte ~%26 artmıştır. Schroecksnel ve diğ. (124)'nin in vitro çalışmasında immünoşüpresif ilaçların neopterin oluşumunu triptofan yıkımı ile paralel şekilde azalttığı bulunmuştur. Yine aynı çalışmada, kullanılan immünoşüpresif ilaçlardan steroidlerin, IDO'yu ve neopterin üretimini baskılaması için diğeri ilaçlara oranla daha yüksek dozlara gerek olduğu bildirilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlarda steroid kullanan hastaların neopterin düzeyleri ve Kin/Trp oranı ilaç kullanmayan hastalara oranla artmakla birlikte istatistiksel anlam göstermemektedir. Sonuç olarak, mevcut literatür bilgisi ve çalışma verileri doğrultusunda, neopterin düzeylerinde ve IDO aktivitesinde gözlenen artışın kullanılan ilaç dozlarının hastalıkta gözlenen hücrel immün yanıtı baskılamak için yeterli olmadığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Neopterin ve IFN- $\gamma$  konsantrasyonları arasında genellikle anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, kronik hepatit C hastalarında IFN- $\alpha$ 2b tedavisi sonucunda bu korelasyonun bozulduğu, tedavinin bırakılması ile birlikte ise yeniden gözlendiği bildirilmiştir. Bu da kronik hepatit C'de IFN- $\alpha$ 2b tedavisinin IFN- $\gamma$  da artış meydana getirmeksizin neopterin konsantrasyonunu arttırdığı şeklinde

yorumlanmıştır (125). Çalışmamızda interferon tedavisi alan iki üveit hastasında serum ve idrar neopterin düzeylerinin oldukça yüksek bulunması, interferonun neopterin üretiminde bilinen en önemli uyaran olduğu bilgisini desteklemektedir. Neopterin düzeylerinin yüksekliğine kinürenin yolağına ait verilerin de eşlik etmesi nedeniyle interferon kullanan bireylere ait sonuçlar hasta gruplarının değerlendirilmesine dahil edilmemiştir.

Sonuç olarak, üveit hastalığı lokal oküler bir inflamasyon olmasına rağmen sistemik olarak immün sistemi aktive ettiği artmış kan neopterin ve atılan neopterin düzeyleri ile gösterilmiştir. Üveit hastalarında yükselmiş neopterin düzeylerine paralel olarak Kin/Trp oranındaIDO aktivitesine bağlı bir artış gözlenmesi, IDO'da gösterilen bu artışın da inflamasyon kaynaklı olduğunu desteklemektedir. Sistemik Behçet hastalığının tek başına bu yollar üzerinde değişikliğe neden olurken üveit ile beraber olması durumunda ilave bir etkisi olmadığı anlaşılmıştır. Pteridin ve kinürenin yollarında gözlenen değişikliklerin ise, üveit hastalığının aktif ve inaktif dönemlerinin ayırımında kullanılabilecek kadar özgün olmadığı belirlenmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Plata-Nazar, K., Jankowska, A. (2011) Clinical usefulness of determining the concentration of neopterin. *Pteridines*, 22, 77-89.
2. Hoffmann, G., Schobersberger, W. (2004) Neopterin: A mediator of the cellular immune system. *Pteridines*, 15, 107-112.
3. Schrocksnadel, K., Wirleitner, B., Winkler, C., Fuchs, D. (2006) Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. *Clinica Chimica Acta*, 364 (1-2), 82-90.
4. Widner, B., Wirleitner, B., Baier-Bitterlich, G., Weiss, G., Fuchs, D. (2000) Cellular immune activation, neopterin production, tryptophan degradation and the development of immunodeficiency. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 48, 251-258.
5. Jabs, D.A., Rosenbaum, J.T., Foster, C.S., Holland, G.N., Jaffe, G.J., Louie, J.S. ve diğeri. (2000) Guidelines for the use of immunosuppressive drugs in patients with ocular inflammatory disorders: Recommendations of an expert panel. *American Journal of Ophthalmology*, 130 (4), 492-513.
6. Zierhut, M., Schlote, T., Tomida, I., Stiemer, R. (2000) Immunology of uveitis and ocular allergy. *Acta Ophthalmologica Scandinavica. Supplement* (230), 22-25.
7. Akduman, L., O'Dwyer-Aydın, P. (2008). *Üveit El Kitabı*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
8. Berdowska, A., Zwirska-Korczala, K. (2001) Neopterin measurement in clinical diagnosis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 26 (5), 319-329.
9. Wachter, H., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, G., Weiss, G., Werner, E.R. ve Werner-Felmayer, G. (1992). *Neopterin, Biochemistry- Methods-Clinical Application*. Berlin: Walter de Gruyter.
10. Smith, I., Howells, D.W., Hyland, K. (1986) Pteridines and mono-amines: relevance to neurological damage. *Postgraduate Medical Journal*, 62 (724), 113-123.

11. Bjelaković, G., Jevtović-Stoimenov, T., Bjelaković, B.,Stojanović, I. (2004) Biochemical functions and clinical importance of unconjugated pteridines. *Facta Universitatis*, 11 (2), 49-54.
12. Foxton, R.H., Land, J.M.,Heales, S.J. (2007) Tetrahydrobiopterin availability in Parkinson's and Alzheimer's disease; potential pathogenic mechanisms. *Neurochemical Research*, 32 (4-5), 751-756.
13. Fuchs, D., Weiss, G., Reibnegger, G.,Wachter, H. (1992) The role of neopterin as a monitor of cellular immune activation in transplantation, inflammatory, infectious, and malignant diseases. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 29 (3-4), 307-341.
14. Hamerlinck, F.F. (1999) Neopterin: a review. *Experimental Dermatology*, 8 (3), 167-176.
15. Sucher, R., Schroecksadel, K., Weiss, G., Margreiter, R., Fuchs, D.,Brandacher, G. Neopterin, a prognostic marker in human malignancies. *Cancer Letters*, 287 (1), 13-22.
16. Hoffmann, G., Wirleitner, B.,Fuchs, D. (2003) Potential role of immune system activation-associated production of neopterin derivatives in humans. *Inflammation Research*, 52 (8), 313-321.
17. Laich, A., Neurauter, G., Wirleitner, B.,Fuchs, D. (2002) Degradation of serum neopterin during daylight exposure. *Clinica Chimica Acta*, 322 (1-2), 175-178.
18. Widner, B., Laich, A., Sperner-Unterweger, B., Ledochowski, M.,Fuchs, D. (2002) Neopterin production, tryptophan degradation, and mental depression--what is the link? *Brain, Behavior, and Immunity*, 16 (5), 590-595.
- 19.Oxenkrug, G.F. Interferon-gamma-inducible kynurenines/pteridines inflammation cascade: implications for aging and aging-associated psychiatric and medical disorders. *Journal of Neural Transmission*, 118 (1), 75-85.
20. Werner, E.R., Werner-Felmayer, G., Fuchs, D., Hausen, A., Reibnegger, R., Yim, J.J. ve diğçerleri. (1991) Biochemistry and function of pteridine synthesis in human and murine macrophages. *Pathobiology: Journal of Immunopathology, Molecular and Cellular Biology*, 59 (4), 276-279.

21. Murr, C., Widner, B., Wirleitner, B., Fuchs, D. (2002) Neopterin as a marker for immune system activation. *Current Drug Metabolism*, 3 (2), 175-187.
22. Schroecksnadel, K., Murr, C., Winkler, C., Wirleitner, B., Fuith, L.C., Fuchs, D. (2004) Neopterin to monitor clinical pathologies involving interferon- $\gamma$  production. *Pteridines*, 15 (3), 75-90.
23. Wirleitner, B., Reider, D., Ebner, S., Bock, G., Widner, B., Jaeger, M. ve diğeri. (2002) Monocyte-derived dendritic cells release neopterin. *Journal of Leukocyte Biology*, 72 (6), 1148-1153.
24. Werner-Felmayer, G., Baier-Bitterlich, G., Fuchs, D., Hausen, A., Murr, C., Reibnegger, G. ve diğeri. (1995) Detection of bacterial pyrogens on the basis of their effects on gamma interferon-mediated formation of neopterin or nitrite in cultured monocyte cell lines. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 2 (3), 307-313.
25. Denz, H., Fuchs, D., Huber, H., Nachbaur, D., Reibnegger, G., Thaler, J. ve diğeri. (1990) Correlation between neopterin, interferon-gamma and haemoglobin in patients with haematological disorders. *European Journal of Haematology*, 44 (3), 186-189.
26. Stahl-Hennig, C., Fendrich, C., Lücke, W., Widner, B., Hunsmann, G., Fuchs, D. (2002) Urinary neopterin indicates early infection and disease progression: Model studies with simian and human immunodeficiency viruses in macaques. *Pteridines*, 13 (1), 1-8.
27. Gisslen, M., Fuchs, D., Svennerholm, B., Hagberg, L. (1999) Cerebrospinal fluid viral load, intrathecal immunoactivation, and cerebrospinal fluid monocytic cell count in HIV-1 infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 21 (4), 271-276.
28. Brew, B.J., Dunbar, N., Pemberton, L., Kaldor, J. (1996) Predictive markers of AIDS dementia complex: CD4 cell count and cerebrospinal fluid concentrations of beta 2-microglobulin and neopterin. *Journal of Infectious Diseases*, 174 (2), 294-298.

29. Millner, M.M., Frantál, W., Thalhammer, G.H., Berghold, A., Aigner, R.M., Fuger, G.F. ve diğerleri. (1998) Neopterin concentrations in cerebrospinal fluid and serum as an aid in differentiating central nervous system and peripheral infections in children. *Clinical Chemistry*, 44 (1), 161-167.
30. Neuraüter, G., Grahmann, A.V., Klieber, M., Zeimet, A., Ledochowski, M., Sperner-Unterwöger, B. ve diğerleri. (2008) Serum phenylalanine concentrations in patients with ovarian carcinoma correlate with concentrations of immune activation markers and of isoprostane-8. *Cancer Letters*, 272 (1), 141-147.
31. Melichar, B., Solichová, D., Melicharová, K., Malířová, E., Čerňanová, M., Zádák, Z. (2006) Urinary neopterin in patients with advanced colorectal carcinoma. *International Journal of Biological Markers*, 21 (3), 190-198.
32. Kronberger, P., Weiss, G., Tschmelitsch, J., Fuchs, D., Salzer, G.M., Wachter, H. ve diğerleri. (1995) Predictive value of urinary neopterin in patients with lung cancer. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 33 (11), 831-837.
33. Reibnegger, G.J., Bichler, A.H., Dapunt, O., Fuchs, D.N., Fuith, L.C., Hausen, A. ve diğerleri. (1986) Neopterin as a prognostic indicator in patients with carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Research*, 46 (2), 950-955.
34. Girgin, G., Tolga Sahin, T., Fuchs, D., Kasuya, H., Yuksel, O., Tekin, E. ve diğerleri. (2009) Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *International Journal of Biological Markers*, 24 (4), 265-270.
35. Sahin, T.T., Yuksel, O., Girgin, G., Sipahi, H., Dikmen, K., Azili, C. ve diğerleri. (2009) Is neopterin level a predictive and differential biomarker in patients with thyroid disorders? *Journal of Endocrinological Investigation*, 32 (2), 147-149.
36. Melichar, B., Solichová, D., Svobodová, I., Urbánek, L., Melicharová, K. (2006) Urinary neopterin in patients with upper gastrointestinal, biliary and pancreatic carcinomas. *Pteridines*, 17, 20-24.

37. Weiss, G., Kronberger, P., Conrad, F., Bodner, E., Wachter, H., Reibnegger, G. (1993) Neopterin and prognosis in patients with adenocarcinoma of the colon. *Cancer Research*, 53 (2), 260-265.
38. Bower, J.E., Ganz, P.A., Aziz, N., Fahey, J.L. (2002) Fatigue and proinflammatory cytokine activity in breast cancer survivors. *Psychosomatic Medicine*, 64 (4), 604-611.
39. Yuksel, O., Sahin, T.T., Girgin, G., Sipahi, H., Dikmen, K., Samur, O. ve diğ erleri. (2007) Neopterin, catalase and superoxide dismutase in females with benign and malignant breast tumors. *Pteridines*, 18, 132-138.
40. Baydar, T., Palabıyık, S., Şahin, G. (2009) Neopterin: Günümüzün popüler biyogöstergesi mi? *Türkiye Klinikleri Journal of Medicinal Science*, 29 (5), 1280-1291.
41. Altındag, Z.Z., Sahin, G., Inanici, F., Hascelik, Z. (1998) Urinary neopterin excretion and dihydropteridine reductase activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 18 (3), 107-111.
42. Rho, Y.H., Solus, J., Raggi, P., Oeser, A., Gebretsadik, T., Shintani, A. ve diğ erleri. Macrophage activation and coronary atherosclerosis in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Care & Research (Hoboken)*, 63 (4), 535-541.
43. Kose, O., Arca, E., Akgul, O., Erbil, K. (2006) The levels of serum neopterin in Behcet's disease--objective marker of disease activity. *Journal of Dermatological Science*, 42 (2), 128-130.
44. Altındağ, Z.Z., Şahin, G., Akpek, G., Koç, Y., İşimer, A., Kansu, E. ve diğ erleri. (1995) Urinary neopterin levels as an indicator of disease activation in Behçet's disease. *Pteridines*, 6 (2), 79-83.
45. Schumacher, M., Halwachs, G., Tatzber, F., Fruhwald, F.M., Zweiker, R., Watzinger, N. ve diğ erleri. (1997) Increased neopterin in patients with chronic and acute coronary syndromes. *Journal of the American College of Cardiology*, 30 (3), 703-707.

46. Anwaar, I., Gottsater, A., Lindgarde, F., Mattiasson, I. (1999) Increasing plasma neopterin and persistent plasma endothelin during follow-up after acute cerebral ischemia. *Angiology*, 50 (1), 1-8.
47. Lhee, H.Y., Kim, H., Joo, K.J., Jung, S.S., Lee, K.B. (2006) The clinical significance of serum and urinary neopterin levels in several renal diseases. *Journal of Korean Medical Science*, 21 (4), 678-682.
48. Asci, A., Baydar, T., Cetinkaya, R., Dolgun, A., Sahin, G. (2010) Evaluation of neopterin levels in patients undergoing hemodialysis. *Hemodialysis International*, 14 (2), 240-246.
49. Wissmann, P., Geisler, S., Leblhuber, F., Fuchs, D. (2013) Immune activation in patients with Alzheimer's disease is associated with high serum phenylalanine concentrations. *Journal of the Neurological Sciences*, 329 (1-2), 29-33.
50. Widner, B., Leblhuber, F., Fuchs, D. (2002) Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, 109 (2), 181-189.
51. Palabiyik, S.S., Girgin, G., Tutkun, E., Yilmaz, O.H., Baydar, T. (2013) Immunomodulation and oxidative stress in denim sandblasting workers: changes caused by silica exposure. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 64 (3), 431-437.
52. Sarac, E.S., Girgin, G., Palabiyik, S.S., Charehsaz, M., Aydin, A., Sahin, G. ve diğ erleri. (2013) A pilot study on neopterin levels and tryptophan degradation in zinc-exposed galvanization workers. *Biological Trace Element Research*, 151 (3), 330-334.
53. Fuchs, D., Stahl-Hennig, C., Gruber, A., Murr, C., Hunsmann, G., Wachter, H. (1994) Neopterin--its clinical use in urinalysis. *Kidney International. Supplement*, 47, S8-11.
54. Rao, G.N., Cotlier, E. (1985) Biosynthesis of neopterin, sepiapterin, and biopterin in rat and human ocular tissues. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 26 (5), 768-770.



55. Palmer, H.E., Giovannoni, G., Stanford, M.R., Wallace, G.R.,Graham, E.M. (2001) Urinary neopterin in idiopathic retinal vasculitis. *The British Journal of Ophthalmology*, 85 (1), 30-33.
56. Kotter, I., Koch, S., Vonthein, R., Ruckwaldt, U., Amberger, M., Gunaydin, I. ve diğ erleri. (2005) Cytokines, cytokine antagonists and soluble adhesion molecules in patients with ocular Behcet's disease treated with human recombinant interferon-alpha2a. Results of an open study and review of the literature. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 23 (4 Suppl 38), S20-26.
57. Abi-Hanna, D., Wakefield, D. (1988) Increased serum neopterin levels in patients with acute anterior uveitis. *Current Eye Research*, 7 (5), 497-502.
58. Durukan, A.H., Hurmeric, V., Akgul, E.O., Kilic, S., Bayraktar, M.Z. (2007) Urinary neopterin levels in uveitis: is it a new activity marker? *Ocular Immunology and Inflammation*, 15 (4), 303-308.
59. Irschick, E.U., Sgonc, R., Bock, G., Wolf, H., Fuchs, D., Nussbaumer, W. ve diğ erleri. (2004) Retinal pigment epithelial phagocytosis and metabolism differ from those of macrophages. *Ophthalmic Research*, 36 (4), 200-210.
60. Laganovska, G., Martinsons, A., Pitrans, B., Widner, B., Fuchs, D. (2000) Neopterin and kynurenine concentrations in aqueous humour of the anterior chamber of the eye and in serum of cataract patients with pseudoexfoliation. *Pteridines*, 11, 94-99.
61. Richard, D.M., Dawes, M.A., Mathias, C.W., Acheson, A., Hill-Kapturczak, N., Dougherty, D.M. (2009) L-Tryptophan: Basic metabolic functions, behavioral research and therapeutic indications. *International Journal of Tryptophan Research*, 2, 45-60.
62. Rutella, S., Bonanno, G., De Cristofaro, R. (2009) Targeting indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) to counteract tumour-induced immune dysfunction: from biochemistry to clinical development. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*, 9 (2), 151-177.

63. Budavari, S., O'Neil, M.J., Smith, A., Heckelman, P.E., Kinneary, J.F. (1996). *The Merck Index-An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals*. New Jersey: Merck & Co.Inc.
64. van der Goot, A.T., Nollen, E.A. (2013) Tryptophan metabolism: entering the field of aging and age-related pathologies. *Trends in Molecular Medicine*, 19 (6), 336-344.
65. Chen, Y., Guillemin, G.J. (2009) Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy States. *International Journal of Tryptophan Research*, 2, 1-19.
66. Zamanakou, M., Germenis, A.E., Karanikas, V. (2007) Tumor immune escape mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Immunology Letters*, 111 (2), 69-75.
67. Murakami, Y., Hoshi, M., Imamura, Y., Arioka, Y., Yamamoto, Y., Saito, K. (2013) Remarkable role of indoleamine 2,3-dioxygenase and tryptophan metabolites in infectious diseases: potential role in macrophage-mediated inflammatory diseases. *Mediators of Inflammation*, 2013, 391984.
68. Widner, B., Leblhuber, F., Walli, J., Tilz, G.P., Demel, U., Fuchs, D. (2000) Tryptophan degradation and immune activation in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 107 (3), 343-353.
69. Taylor, M.W., Feng, G.S. (1991) Relationship between interferon-gamma, indoleamine 2,3-dioxygenase, and tryptophan catabolism. *The Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology*, 5 (11), 2516-2522.
70. Ball, H.J., Yuasa, H.J., Austin, C.J., Weiser, S., Hunt, N.H. (2009) Indoleamine 2,3-dioxygenase-2; a new enzyme in the kynurenine pathway. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41 (3), 467-471.
71. von Bubnoff, D., Hanau, D., Wenzel, J., Takikawa, O., Hall, B., Koch, S. ve diğerleri. (2003) Indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing antigen-presenting cells and peripheral T-cell tolerance: another piece to the atopic puzzle? *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 112 (5), 854-860.
72. King, N.J., Thomas, S.R. (2007) Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 (12), 2167-2172.

73. von Bubnoff, D., Koch, S., Bieber, T. (2003) New jobs for an old enzyme: the revival of IDO. *Trends in Immunology*, 24 (6), 296-297; author reply 298.
74. Mellor, A. (2005) Indoleamine 2,3 dioxygenase and regulation of T cell immunity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338 (1), 20-24.
75. Widner, B., Ledochowski, M., Fuchs, D. (2000) Interferon-gamma-induced tryptophan degradation: neuropsychiatric and immunological consequences. *Current Drug Metabolism*, 1 (2), 193-204.
76. Murr, C., Gerlach, D., Widner, B., Dierich, M.P., Fuchs, D. (2001) Neopterin production and tryptophan degradation in humans infected by *Streptococcus pyogenes*. *Medical Microbiology and Immunology*, 189 (3), 161-163.
77. Huang, A., Fuchs, D., Widner, B., Glover, C., Henderson, D.C., Allen-Mersh, T.G. (2002) Serum tryptophan decrease correlates with immune activation and impaired quality of life in colorectal cancer. *British Journal of Cancer*, 86 (11), 1691-1696.
78. Giusti, R.M., Maloney, E.M., Hanchard, B., Morgan, O.S., Steinberg, S.M., Wachter, H. ve diğeri. (1996) Differential patterns of serum biomarkers of immune activation in human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis, and adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 5 (9), 699-704.
79. Wolf, A.M., Wolf, D., Rumpold, H., Moschen, A.R., Kaser, A., Obrist, P. ve diğeri. (2004) Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human inflammatory bowel disease. *Clinical Immunology*, 113 (1), 47-55.
80. Brandacher, G., Winkler, C., Schroecksnadel, K., Margreiter, R., Fuchs, D. (2006) Antitumoral activity of interferon-gamma involved in impaired immune function in cancer patients. *Current Drug Metabolism*, 7 (6), 599-612.
81. Weinlich, G., Murr, C., Richardsen, L., Winkler, C., Fuchs, D. (2007) Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients. *Dermatology*, 214 (1), 8-14.
82. Uyttenhove, C., Pilotte, L., Theate, I., Stroobant, V., Colau, D., Parmentier, N. ve diğeri. (2003) Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on

tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nature Medicine*, 9 (10), 1269-1274.

83. Maes, M., Scharpe, S., Meltzer, H.Y., Okayli, G., Bosmans, E., D'Hondt, P. ve diğ erleri. (1994) Increased neopterin and interferon-gamma secretion and lower availability of L-tryptophan in major depression: further evidence for an immune response. *Psychiatry Research*, 54 (2), 143-160.

84. Pellegrin, K., Neurauter, G., Wirleitner, B., Fleming, A.W., Peterson, V.M., Fuchs, D. (2005) Enhanced enzymatic degradation of tryptophan by indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the tryptophan-deficient state seen after major trauma. *Shock*, 23 (3), 209-215.

85. Schrocksnadel, K., Widner, B., Bergant, A., Neurauter, G., Schennach, H., Schrocksnadel, H. ve diğ erleri. (2003) Longitudinal study of tryptophan degradation during and after pregnancy. *Life Sciences*, 72 (7), 785-793.

86. Schrocksnadel, H., Baier-Bitterlich, G., Dapunt, O., Wachter, H., Fuchs, D. (1996) Decreased plasma tryptophan in pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*, 88 (1), 47-50.

87. Frick, B., Schrocksnadel, K., Neurauter, G., Leblhuber, F., Fuchs, D. (2004) Increasing production of homocysteine and neopterin and degradation of tryptophan with older age. *Clinical Biochemistry*, 37 (8), 684-687.

88. Pertovaara, M., Raitala, A., Lehtimaki, T., Karhunen, P.J., Oja, S.S., Jylha, M. ve diğ erleri. (2006) Indoleamine 2,3-dioxygenase activity in nonagenarians is markedly increased and predicts mortality. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127 (5), 497-499.

89. Takikawa, O. (2007) Clinical aspects of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)-initiated tryptophan metabolism: IDO is a target of drug discovery for various diseases. *International Congress Series*, 1304, 290-297.

90. Mailankot, M., Nagaraj, R.H. (2010) Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase by interferon-gamma in human lens epithelial cells: apoptosis through the formation of 3-hydroxykynurenine. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 42 (9), 1446-1454.

91. Munipally, P.K., Agraharm, S.G., Valavala, V.K., Gundae, S.,Turlapati, N.R. Evaluation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression and kynurenine pathway metabolites levels in serum samples of diabetic retinopathy patients. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 117 (5), 254-258.
92. Raju, T.N., Kanth, V.R.,Reddy, P.U. (2007) Influence of kynurenines in pathogenesis of cataract formation in tryptophan-deficient regimen in Wistar rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45 (6), 543-548.
93. Başmak, H. (2005). *Göziin Anatomisi ve Fizyolojisi* (1 bs.). Eskişehir: Esen Ofset Matbaacılık
94. Park, K.L. (2004). *Anatomy of the Uvea*. M. Yanoff & J. S. Duker (Ed.). Ophthalmology (2bs., s. 113-114). St. Louis, MO: Mosby
95. Başar, D., Bengisu, Ü., İdil, M.K., Sezen, F.,Urgancıoğlu, M. (1979). *Göz Hastalıkları Ders Kitabı*. Beyazıt-İstanbul: Filiz Kitabevi.
96. Schewitz-Bowers, L.P., Lee R,Dick, A.D. (2010) Immune mechanisms of intraocular inflammation. *Expert Review of Ophthalmology*, 5 (1), 43-58.
97. Newell, F.W. (1982). *Ophthalmology Principles and Concepts* (5bs.). St Louis, Missouri: Mosby.
98. Tugal-Tutkun, İ. (2012) Üveitlere Genel Bakış. *Klinik Gelişim*, 25, 26-34.
99. Alexander, K.L. (2001). *Uveitis*. J. D. Bartlett & S. D. Jaanus (Ed.). Clinical Ocular Pharmacology (4bs., s. 715-728). USA: Butterworth-Heinemann.
100. Durrani, O.M., Tehrani, N.N., Marr, J.E., Moradi, P., Stavrou, P.,Murray, P.I. (2004) Degree, duration, and causes of visual loss in uveitis. *The British Journal of Ophthalmology*, 88 (9), 1159-1162.
101. Forster, D.J. (2004). *General approach to the uveitis patient and treatment strategies*. M. Yanoff & J. S. Duker (Ed.). Ophthalmology (2bs., s. 1115-1120). St. Louis, MO: Mosby.
102. Forrester, J.V. (1991) Uveitis: pathogenesis. *Lancet*, 338 (8781), 1498-1501.

103. Jabs, D.A., Nussenblatt, R.B., Rosenbaum, J.T. (2005) Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *American Journal of Ophthalmology*, 140 (3), 509-516.
104. Okada, A.A., Rao, N.A., Usui, M. (2004). *Behçet's Disease*. M. Yanoff & J. S. Duker (Ed.). *Ophthalmology* (2bs., s. 1191-1195). St. Louis, MO: Mosby
105. McClellan, K.A., Coster, D.J. (1987) Uveitis: a strategy for diagnosis. *Australian and New Zealand Journal of Ophthalmology*, 15 (3), 227-241.
106. Pararajasegaram, G. (2004). *Mechanisms of Uveitis*. M. Yanoff & J. S. Duker (Ed.). *Ophthalmology* (2bs., s. 1105-1112). St. Louis, MO: Mosby
107. Kacmaz, R.O., Kempen, J.H., Newcomb, C., Gangaputra, S., Daniel, E., Levy-Clarke, G.A. ve diğerleri. (2008) Ocular inflammation in Behcet disease: incidence of ocular complications and of loss of visual acuity. *American Journal of Ophthalmology*, 146 (6), 828-836.
108. Criteria for diagnosis of Behcet's disease. International Study Group for Behcet's Disease. (1990) *Lancet*, 335 (8697), 1078-1080.
109. Caspi, R.R. (1999) Immune mechanisms in uveitis. *Springer Seminars in Immunopathology*, 21 (2), 113-124.
110. Richards, J.C., Tay-Kearney, M.L., Murray, K., Manners, P. (2005) Infliximab for juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 33 (5), 461-468.
111. Kanski, J.J. (2000). *Clinical Ophthalmology* (4bs.). India: Ajanta Offset & Packagings Ltd.
112. ICH Harmonised tripartite Guideline. (November 2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1).
113. Widner, B., Werner, E.R., Schennach, H., Wachter, H., Fuchs, D. (1997) Simultaneous measurement of serum tryptophan and kynurenine by HPLC. *Clinical Chemistry*, 43 (12), 2424-2426.

114. Guney, E., Akcay, B.I., Erdogan, G., Unlu, C., Akcali, G., Bayramlar, H. (2012) The etiological features of anterior uveitis in a Turkish population. *Clinical Ophthalmology*, 6, 845-849.
115. Werner, E.R., Bichler, A., Daxenbichler, G., Fuchs, D., Fuith, L.C., Hausen, A. ve diğeri. (1987) Determination of neopterin in serum and urine. *Clinical Chemistry*, 33 (1), 62-66.
116. Diamondstone, L.S., Tollerud, D.J., Fuchs, D., Wachter, H., Brown, L.M., Maloney, E. ve diğeri. (1994) Factors influencing serum neopterin and beta 2-microglobulin levels in a healthy diverse population. *Journal of Clinical Immunology*, 14 (6), 368-374.
117. Sipahi, H., Girgin, G., Inanici, F., Ariogul, S., Sahin, G., Baydar, T. (2013) Tryptophan degradation and neopterin levels by aging. *Pteridines*, 24 (1), 33-39.
118. Yang, J.W., Ham, D.S., Kim, H.W., Lee, S.G., Park, S.K., Seo, S.K. (2012) Expression of Stat3 and indoleamine 2, 3-dioxygenase in cornea keratocytes as factor of ocular immune privilege. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 250 (1), 25-31.
119. Aydın-Akova, Y., Gür-Güngör, S. (2012). *Ocular Involvement in Behçet's Disease*. M. Khatami (Ed.). Inflammation, Chronic Diseases and Cancer-Cell and Molecular Biology, Immunology and Clinical Bases (s. 391-416). Rijeka, Croatia: InTech.
120. Keser, G., Oksel, F., Aksu, K., Kabasakal, Y., Gumusdis, G., Doganavs argil, E. ve diğeri. (2000) Serum neopterin levels in Behcet's syndrome. *Clinical Rheumatology*, 19 (4), 328-329.
121. Erturan, I., Basak, P.Y., Ozturk, O., Ceyhan, A.M., Akkaya, V.B. (2009) Is there any relationship between serum and urine neopterin and serum interferon-gamma levels in the activity of Behcet's disease? *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 23 (12), 1414-1418.
122. Irschick, E.U., Philipp, S., Shahram, F., Schirmer, M., Sedigh, M., Ziaee, N. ve diğeri. (2011) Investigation of bacterial and viral agents and immune status in

Behcet's disease patients from Iran. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 14 (3), 298-310.



123. Altindag, Z.Z., Werner-Felmayer, G., Sahin, G., Wachter, H., Fuchs, D. (1997) Colchicine derivatives inhibit neopterin production in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). *Clinical and Experimental Immunology*, 107 (3), 574-577.

124. Schroecksadel, S., Sucher, R., Kurz, K., Fuchs, D., Brandacher, G. (2011) Influence of immunosuppressive agents on tryptophan degradation and neopterin production in human peripheral blood mononuclear cells. *Transplant Immunology*, 25 (2-3), 119-123.

125. Fuchs, D., Norkrans, G., Wejstal, R., Reibnegger, G., Weiss, G., Weiland, O. ve diğeri. (1992) Changes of serum neopterin, beta 2-microglobulin and interferon-gamma in patients with chronic hepatitis C treated with interferon-alpha 2b. *The European Journal of Medicine*, 1 (4), 196-200.



EK-1

 **ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP  
FAKÜLTESİ İLAÇ DIŞI KLİNİK  
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU** 

**Bölümü :** Dekanlık  
**Servisi :** İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
**Sayı :** B.30.2.ATA.0.01.00/ 18  
**Konu :** Etik Kurul Kararı

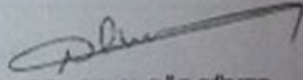
07.01.2013

**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA**

**İlgil:** 17.12.2012 tarih ve 184 sayılı yazınız.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 03.01.2013 tarih ve 1 nolu toplantısında, Öğretim Görevlisi Yrd.Doç.Dr. Sadullah KELEŞ tarafından hazırlanan "Üveit Hastalarında Pteridia Yolağının Değerlendirilmesi" isimli bilimsel çalışma protokolü ve ekli belgeleri gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler ile gönüllü bilgilendirme metni dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın Etik Kurallara uygun olduğuna mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

  
**Prof. Dr. Metin GÖRGÜNER**  
Etik Kurul Başkanı

**Eki** \_\_\_\_\_ :  
1 Adet Etik Kurul Kararı



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dil
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ/PLANI	-	-	Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	17.12.2012	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	ŞİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>	Data buce üniversite bilimsel araştırmalar biriminden tanımlanmış safhasan teçhizat ve alt yapı kullanılacak. Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine detaylı orijinal bütçesinin de yapılacaktır.	
	BİYolojik MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI(GAZİNOLUKLER)	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİK BİLDİRİM FORMLARI	<input type="checkbox"/>		
DİĞER: Başvuru Formu,Organizm Formu,Bilgilendirme Belgesi	<input type="checkbox"/>			
KARAR BELGELERİ	Karar No:17	Tarihi: 03.01.2013		

Yukarıdaki bilgileri verilen klinik araştırmaya başvuru dosyasını ile ilgili belgeler araştırmadan önceki amaç, yöntem ve yetkilerini dikkate alınarak incelenmiş çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlere gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yürürlükte, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BASKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. A. Metin GÖRGÜNER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Onay	Araştırma ile ilişkisi	Katılım *	İmza
Prof. Dr. A. Metin GÖRGÜNER	Genel Hastalıklar	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hilmi AKSOY	Biyokimya	Atatürk Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Zehra AKTÜRK	Aile Hekimliği	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mustafa GÖL	Fizyoloji	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hani ACİMOĞLU	Tıp Eğitimi	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Zeki HALICI	Farmakoloji	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Zeynep ÇAKIR	Acil Tıp	Atatürk Üniversitesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. M. Hamidullah UYANIK	Tıbbi Mikrobiyoloji	Atatürk Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Dr. Çoşkun YOLAŞ	Nöroloji	Sağlık Bakanlığı	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	
Dr. Adnan ÖNAL	İfeksiyon	Sağlık Bakanlığı	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Sef. Neşe TEKİDÖĞEN	Genel İdari Hizmetler	Sağlık Bakanlığı	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Üveit Hastalarında Pteridin Yolağının Değerlendirilmesi			
	VARSA ARAŞTIRMA PROTOKOL/PLAN KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Sadullah KELEŞ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Göz Hastalıkları			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırma Projesi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Atatürk Üniversitesi			
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Bireysel klinik araştırma			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan çalışması			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	