



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

**DENEYSEL SIÇAN ÜVEİT MODELİ VE ARPE-19 HÜCRE**  
**KÜLTÜRÜNDE TAUROURSODEOKSİKOLİK ASİDİN OKÜLER**  
**İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Yusuf Samet ATLIHAN**

**Antalya, 2025**



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

**DENEYSEL SIÇAN ÜVEİT MODELİ VE ARPE-19 HÜCRE**  
**KÜLTÜRÜNDE TAUROURSODEOKSİKOLİK ASİDİN OKÜLER**  
**İNFLAMASYON ÜZERİNE ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Yusuf Samet ATLIHAN**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Erkan DOĞAN**

*Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: TTU-2024-6587).*

*“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”*

**Antalya, 2025**

## TEŞEKKÜR

İhtisas eğitimimde bilgi, beceri ve tecrübelerini bana aktaran, üzerimde büyük emekleri olan, başta değerli Anabilim Dalı Başkanımız sayın **Prof. Dr. Hatice Deniz İLHAN**'a, değerli hocalarım; **Prof. Dr. Şansal GEDİK**, **Prof. Dr. Mete GÜLER**, **Doç. Dr. Aslı ÇETİNKAYA YAPRAK**, **Dr. Öğr. Üyesi Yusuf AYAZ**, **Dr. Öğr. Üyesi Çisil ERKAN POTA**, **Dr. Öğr. Üyesi Ali CEYLAN**, **Dr. Öğr. Gör. Olgar ÖCAL** ve eğitimimde emeği geçen **tüm öğretim üyelerine**,

Tez konumun belirlenmesinde ve tüm aşamalarında değerli katkılarını esirgemeyen, her zaman yanımda bulunup desteğini hissettiren, bilgi ve tecrübesinden faydalandığım değerli hocamlarım sayın **Prof. Dr. Mustafa ÜNAL**, **Prof. Dr. Mutay ASLAN**, **Prof. Dr. Cumhuri İbrahim BAŞSORGUN**, **Doç. Dr. Esmâ KIRIMLIOĞLU** ve **Dr. Öğr. Gör. Hazal TUZCU BALABAN**'a

Asistanlık dönemim boyunca eğitimimde büyük emeği olan, bilgi ve tecrübesinden faydalandığım, tez danışmanım, saygıdeğer hocam sayın **Doç. Dr. Mehmet Erkan DOĞAN**'a,

Tezimin tüm aşamalarında desteğini her daim hissettiğim, deneyleri birlikte yaptığımız çalışma arkadaşım **Doktora Öğrencisi Aleyna ÖZTÜZÜN ÜN**'e,

Birlikte çalışma şansı bulduğum, özveriyle çalışan **tüm araştırma görevlisi, hemşire, tekniker, yardımcı personel ve sekreter arkadaşlarıma**,

Hayatımın her anında ve tüm eğitim sürecimde karşılıksız sevgi ve sonsuz sabırlarını benden esirgemeyen, bütün başarılarımda en büyük katkıya sahip olan varlıkları ve sevgileriyle bana güven veren annem **Hacer ATLIHAN**'a ve babam **Fahri ATLIHAN**'a,

Her koşulda yanımda olan, tüm zorlukları birlikte göğüslediğimiz, hayat arkadaşım, sevgili eşim **Uzm. Dr. Ayşenur ATLIHAN**'a ve biricik kızım **İnci ATLIHAN**'a,

**En içten teşekkürlerimle...**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                      |          |
|----------------------------------------------------------------------|----------|
| Simgeler ve Kısaltmalar                                              | v        |
| Şekiller Dizini                                                      | vii      |
| Tablolar Dizini                                                      | viii     |
| Resimler Dizini                                                      | ix       |
| <b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>                                        | <b>1</b> |
| <b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>                                        | <b>3</b> |
| 2.1. Üvea Anatomisi.....                                             | 3        |
| 2.1.1. İris .....                                                    | 3        |
| 2.1.2. Siliyer Cisim .....                                           | 4        |
| 2.1.3. Koroid .....                                                  | 5        |
| 2.2. Üveit.....                                                      | 5        |
| 2.2.1. Üveitin Tanımı .....                                          | 5        |
| 2.2.2. Üveitin Epidemiyolojisi .....                                 | 6        |
| 2.2.3. Üveitlerin Sınıflandırılması.....                             | 6        |
| 2.2.3.1. Ön Üveitler.....                                            | 7        |
| 2.2.3.2. Orta Üveitler.....                                          | 10       |
| 2.2.3.3. Arka Üveitler.....                                          | 11       |
| 2.2.3.4. Panüveitler.....                                            | 12       |
| 2.2.4. Üveit Tedavisi .....                                          | 13       |
| 2.2.4.1. Kortikosteroidler .....                                     | 14       |
| 2.2.4.2. Sistemik İmmünmodüler Tedaviler.....                        | 15       |
| 2.2.4.2.1. Biyolojik Olmayan İmmünmodüler Tedaviler.....             | 18       |
| 2.2.4.2.1.1. Antimetabolitler .....                                  | 18       |
| 2.2.4.2.1.2. T hücre (Kalsinörin) İnhibitörleri.....                 | 21       |
| 2.2.4.2.1.3. Alkilleyici Ajanlar.....                                | 22       |
| 2.2.4.2.2. Biyolojik İmmünmodüler Tedaviler .....                    | 23       |
| 2.2.4.2.2.1. Tümör Nekroz Faktör (TNF- $\alpha$ ) İnhibitörleri..... | 23       |
| 2.2.4.2.2.2. Diğer Biyolojik Ajanlar.....                            | 25       |
| 2.2.4.3. Üveitte Diğer Tedaviler .....                               | 26       |

|                                                                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.4.4. Üveitte Cerrahi Tedavi.....                                                                                         | 27        |
| 2.3. İntraoküler İnflamasyon Mekanizmaları ve İmmünoloji .....                                                               | 28        |
| 2.4. Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi.....                                                                                  | 30        |
| 2.4.1. Endoplazmik Retikulum (ER) Yapı ve Fonksiyonları .....                                                                | 31        |
| 2.4.2. Endoplazmik Retikulum (ER) Stres Yolakları.....                                                                       | 31        |
| 2.5. Apoptozis .....                                                                                                         | 32        |
| 2.6. Tauroursodeoksikolikasit (TUDCA).....                                                                                   | 33        |
| 2.7. Deneysel Üveit Modeli .....                                                                                             | 33        |
| <b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>                                                                                            | <b>35</b> |
| 3.1. Deneysel Hayvan Modelinin Oluşturulması ve Deney Grupları .....                                                         | 35        |
| 3.2. Üveitin Klinik Olarak Değerlendirilmesi .....                                                                           | 37        |
| 3.3. Retinal Kalınlığın Ölçümü .....                                                                                         | 37        |
| 3.4. Hücre Kültürü.....                                                                                                      | 38        |
| 3.5. Hücre Canlılığı Analizi .....                                                                                           | 39        |
| 3.6. Retina Dokusunda İmmünohistokimyasal Boyama .....                                                                       | 39        |
| 3.7. İmmünofloresan Boyama .....                                                                                             | 40        |
| 3.8. TUNEL Boyama .....                                                                                                      | 41        |
| 3.9. Kaspaz 3 Aktivite Tayini .....                                                                                          | 42        |
| 3.10. Protein Ölçümleri .....                                                                                                | 43        |
| 3.11. İstatistiksel Analiz.....                                                                                              | 43        |
| <b>4. BULGULAR .....</b>                                                                                                     | <b>44</b> |
| 4.1. TUDCA'nın Endotoksin Kaynaklı Üveit Üzerine Etkisi .....                                                                | 44        |
| 4.2. İnsan Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde TUDCA ve LPS Etkisi .....                                                     | 46        |
| 4.3. Retina GRP78, Kaspaz-3 ve -12 İmmün Boyaması ve Kantitasyonu .....                                                      | 48        |
| 4.4. İnsan Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde GRP78, Kaspaz-3 ve -12<br>İmmünofloresan Boyaması ve Kantitatif Analizi ..... | 50        |
| 4.5. Apoptoz .....                                                                                                           | 52        |
| 4.6. Kaspaz-3 Aktivitesi.....                                                                                                | 52        |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                                                                                     | <b>55</b> |
| <b>6. SONUÇ.....</b>                                                                                                         | <b>62</b> |
| <b>7. ÖZET.....</b>                                                                                                          | <b>64</b> |

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| <b>8. ABSTRACT .....</b>  | <b>65</b> |
| <b>9. KAYNAKLAR .....</b> | <b>66</b> |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|         |                                                                                           |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| ACAID   | Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (Ön Kamaraya Özgü Bağışıklık Toleransı)      |
| ADA     | Adalimumab                                                                                |
| ANA     | Antinükleer Antikor                                                                       |
| ARPE-19 | Yetişkin İnsan Retinal Pigment Epitel Hücre Kültürü                                       |
| ASH     | Antijen Sunucu Hücre                                                                      |
| ATCC    | American Type Culture Collection (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu)                        |
| AÜ      | Arka Üveit                                                                                |
| BSA     | Bovin Serum Albumin                                                                       |
| DAB     | Diaminobenzidin                                                                           |
| DMEM    | Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Dulbecco ve Eagle'ın Modifiye Edilmiş Besiyer Ortamı) |
| EİÜ     | Endotoksinle İndüklenmiş Üveit                                                            |
| ER      | Endoplazmik Retikulum                                                                     |
| FBS     | Fetal Bovin Serum                                                                         |
| FDA     | Food and Drug Administration (ABD Gıda ve İlaç Dairesi)                                   |
| GİB     | Göz İçi Basıncı                                                                           |
| GRP78   | Glucose-Regulated Protein 78                                                              |
| HE      | Hematoksilen-Eozin                                                                        |
| IFN     | İnterferon                                                                                |
| i.m.    | İntramuskuler                                                                             |
| i.p.    | İntraperitoneal                                                                           |
| i.v.    | İntravitreal                                                                              |
| İS      | İmmünsüpresif                                                                             |
| JİA     | Juvenil İdiyopatik Artrit                                                                 |
| KP      | Keratik Prespitat                                                                         |
| KPY     | Katlanmamış Protein Yanıtı                                                                |
| KS      | Kortikosteroid                                                                            |

|               |                                                                                   |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| LPS           | Lipopolisakkarit                                                                  |
| Mg            | Miligram                                                                          |
| mm            | Milimetre                                                                         |
| mM            | Milimolar                                                                         |
| MMF           | Mikofenolat mofetil                                                               |
| MTX           | Metotreksat                                                                       |
| NaCl          | Sodyum Klorür                                                                     |
| NKS           | Normal Keçi Serumı                                                                |
| OÜ            | Orta Üveit                                                                        |
| ÖÜ            | Ön Üveit                                                                          |
| PBS           | Steril fosfat tamponlu salin                                                      |
| pNA           | p-Nitoanilin                                                                      |
| PPV           | Pars Plana Vitrektomi                                                             |
| RA            | Romatoid Artrit                                                                   |
| RPE           | Retina Pigment Epiteli                                                            |
| r-tPA         | Rekombinant Doku Plazminojen Aktivatörü                                           |
| s.k.          | Subkutan                                                                          |
| SD            | Standart Deviation (Standart Sapma)                                               |
| SUN           | Standardization of Uveitis (Nomenclature Üveit Terminolojisinin Standardizasyonu) |
| TdT           | Terminal deoksinükleotidil Transferaz                                             |
| TLR-4         | Toll-Like Reseptör 4                                                              |
| TNF- $\alpha$ | Tümör Nekroz Faktör alfa                                                          |
| TPMT          | Tiopürin S-metiltransferaz                                                        |
| TUDCA         | Taursodeoksikolik asit                                                            |
| TUNEL         | Terminal deoksinükleotidil Transferaz dUTP Nick End Labeling                      |
| UDCA          | Ursodeoksikolik Asit                                                              |
| VKH           | Vogt Koyanagi Harada                                                              |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil                                                                                                                         | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 4.1. TUDCA'nın sıçan gözlerinde oküler inflamasyon üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi.                                    | 45    |
| 4.2. TUDCA'nın ARPE-19 hücrelerinde hücre sağkalımı üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi.                                 | 47    |
| 4.3. Retina dokusunda GRP78, kaspaz-3 ve -12 immün histokimyasal boyamanın değerlendirilmesi.                                 | 49    |
| 4.4. ARPE-19 hücrelerinde GRP78, kaspaz-3 ve -12 seviyelerinin değerlendirilmesi.                                             | 51    |
| 4.5. Retina dokusunda ve ARPE-19 hücrelerinde apoptozun değerlendirilmesi.                                                    | 53    |
| 6. TUDCA'nın ER stresi ve apoptoz üzerindeki etkilerini gösteren <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> modellerin temsili şeması. | 63    |

**TABLÖLAR DİZİNİ**

| <b>Tablo</b>                                      | <b>Sayfa</b> |
|---------------------------------------------------|--------------|
| 2.1. Üveitlerin sınıflandırılması.                | 7            |
| 2.2. Ön kamara hücrelerinin derecelendirilmesi.   | 9            |
| 2.3. Ön kamara bulanıklığının derecelendirilmesi. | 10           |



**RESİM DİZİNİ**

| <b>Resim</b>                                                | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------|--------------|
| 3.1. İntravitreal LPS enjeksiyonun uygulanması (LPS grubu). | 36           |



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Üveit, gözün üveal dokularını etkileyen ve tedavi edilmediğinde kalıcı görme kaybına neden olabilen inflamatuvar bir göz hastalığıdır. Enfeksiyöz ajanlar, otoimmün mekanizmalar veya nedeni belirlenemeyen (idiyopatik) durumlar bu hastalığın gelişiminde rol oynayabilir. Bu durum, tüm dünyada geri dönüşsüz görme kaybının önde gelen nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Üveit patogeneğinde, kan-göz bariyerinin bozulması, inflamatuvar hücrelerin göz dokularına infiltrasyonu, sitokin ve kemokin salınımı gibi immünolojik süreçler, doku hasarına yol açarak hastalığın ilerlemesinde önemli rol oynar. Mevcut tedavi yaklaşımlarında kortikosteroidler ve immünsüpresif ilaçlar yaygın olarak kullanılmakla birlikte, bu ilaçların uzun süreli kullanımına bağlı olarak bazı yan etkiler gelişebilmektedir. Bu nedenle, inflamasyonu hedef alan ancak sistemik toksisite riski daha düşük olan yeni ve spesifik tedavi yaklaşımlarına duyulan ihtiyaç devam etmektedir.

Deneysel endotoksin ile indüklenen üveit (EİÜ), lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu ile oluşturulan ve insan üveitine benzer patolojik süreçleri taklit eden, iyi tanımlanmış bir inflamatuvar hastalık modelidir. Bu modelde LPS, Toll-like reseptör 4 (TLR4) üzerinden bağışıklık sistemini aktive ederek proinflamatuvar mediatörlerin salınımına ve kan-göz bariyerin bozulmasına neden olur. Aynı zamanda inflamasyon sırasında endoplazmik retikulum (ER) stresinin ve bununla ilişkili apoptotik mekanizmaların aktive olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ER stresinin inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadığına dair kanıtlar artmıştır.

Tauroursodeoksikolik asit (TUDCA), endojen bir safra asidi türevidir ve anti-inflamatuvar, anti-oksidatif ve anti-apoptotik etkileri ile dikkat çekmektedir. TUDCA'nın ER stresini azaltarak hücre hasarını önlediği, çeşitli nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalık modellerinde koruyucu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Ancak TUDCA'nın üveit gibi inflamatuvar göz hastalıklarındaki etkileri sınırlı olarak araştırılmıştır. Bu bağlamda, TUDCA'nın EİÜ modelinde inflamasyon, ER

stresi ve apoptoz üzerindeki olası koruyucu etkilerinin araştırılması klinik uygulamalar açısından önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda *in vivo* olarak ve ARPE-19 hücre kültüründe *in vitro* olarak oluşturulan inflamasyon modellerinde, TUDCA'nın inflamasyon, ER stresi ve apoptoz üzerindeki etkilerini araştırmaktır. TUDCA uygulamasının, bu patolojik süreçleri nasıl modüle ettiğinin değerlendirilmesiyle inflamatuvar göz hastalıklarındaki potansiyel tedavi edici rolünün ortaya konması hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Üvea Anatomisi

Üvea, göz küresinin orta tabakasını oluşturan ve zengin damar ağı nedeniyle 'damar tabaka' olarak da bilinen anatomik bir yapıdır. Üvea; iris, iris arkasındaki siliyer cisim ve retina ile sklera arasında yer alan koroid olmak üzere üç ana bölümden oluşur (1).

#### 2.1.1. İris

İris, üvea tabakasının ön kısmında yer alan ve dışarıdan bakıldığında gözün renkli bölgesi olarak görülebilen kısımdır. Embriyolojik olarak iki farklı kökenden gelişen tabakalardan oluşur. Ön kısmında, mezodermal kaynaklı ve gevşek kollajen liflerinden oluşan iris stroması bulunur. Bu stroma içerisinde; sfinkter pupilla kası, damar yapıları, sinir ağları ile birlikte fibroblastlar, melanositler ve mast hücreleri gibi çeşitli hücresel yapılar yer alır. Arka bölüm ise nöroektoderm kökenlidir ve posterior pigment epiteli adını alan bir yapı ile örtülüdür. Bu yapı, birbirine sıkı hücre bağlantılarıyla bağlı çift sıra halinde dizilmiş küboidal pigment hücrelerinden meydana gelir (2).

İris, ön ve arka kamara arasında yer alarak bu iki yapıyı birbirinden ayırır. Görme işlevi açısından, çevresel uyarılara karşı yapısal değişiklik göstererek ortama uyum sağlar. Örneğin; parlak ışıktaki refleks olarak ya da yakın mesafeye odaklanırken, akomodasyonla birlikte parasempatik yolaklar uyarılır ve pupilla çapı küçülür. Buna karşılık, karanlık veya loş ışık koşullarında pupilla genişleyerek retinaya ulaşan ışık miktarı artırılır. Bu mekanizma sayesinde retinaya düşen ışık miktarı dinamik olarak düzenlenmiş olur (3).

Üveitte iris dokusu etkilenebilir ve bu durum genellikle iritis olarak adlandırılır. İnflamasyonun etiyojisine bağlı olarak iris yapısında çeşitli morfolojik değişiklikler gözlenebilir. Örneğin, granümatöz üveit veya intraoküler lenfoma gibi durumlarda iris kalınlığında artış gözlenirken; herpetik üveit ve Fuchs heterokromik üveit gibi bazı hastalıklarda ise iris dokusunda atrofi gelişebilir. Bu

nedenle iris, intraoküler inflamasyonların ve bazı patolojik durumların tanısı değerlendirilmesinde önemli bir muayene bulgusu olarak kabul edilmektedir (4).

### 2.1.2. Siliyer Cisim

Siliyer cisim, koroidin öne doğru uzanmasıyla oluşan, üçgen biçiminde ve önemli işlevleri bulunan bir üveal yapıdır. Gözde iki temel görevi vardır: aköz hümör üretimini sağlamak ve akomodasyon mekanizmasına katkıda bulunmak. Yapısal olarak iki bölüme ayrılır: önde yer alan ‘pars plana’ ve arkada bulunan ‘pars plikata’. Yaklaşık 2 mm genişliğinde olan pars plikata, siliyer çıkıntılarının yer aldığı bölgedir. Bu çıkıntıların merkezinde bulunan stroma, iki katmanlı siliyer epitel hücreleriyle çevrilidir. Epitelin dış tabakası pigmentless, iç tabakası ise pigmentli hücrelerden oluşur. Aköz hümörün üretimi büyük ölçüde dış tabakadaki pigmentless epitel hücreleri tarafından gerçekleştirilirken, iç tabakada yer alan pigmentli epitel hücreleri kan-oküler bariyerin oluşumunda görev alır.

Pars plana ise, pars plikata'nın hemen arkasında yer alan ve yaklaşık 4 mm uzunluğunda, düz yapılı bir bölümdür. Bu bölümde iç yüzey, kübik şekilli epitel hücreleriyle; dış yüzey ise pigmentless epitel hücreleriyle kaplıdır. Bu pigmentless hücreler, mukopolisakkarit sentezleyerek vitreus yapısının oluşumuna katkıda bulunur. Ayrıca pars plana, cerrahi uygulamalarda büyük öneme sahiptir; limbustan yaklaşık 4 mm mesafede konumlanması sayesinde, vitreus boşluğuna yapılan girişlerde en güvenli posterior yol olarak tercih edilmektedir (5–7).

Siliyer kas, üç farklı kas lifi tipinden oluşur: longitudinal, radyal ve sirküler lifler. Bu lifler arasında longitudinal lifler skleral mahmuza yapışmıştır ve kasıldıklarında trabeküler ağ ve Schlemm kanalı üzerine çekme etkisi oluşturarak aköz hümörün dışa akımını kolaylaştırır bu sayede göz içi basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Sirküler lifler ise lens zonüllerini gevşeterek lensin daha küresel bir şekil almasını sağlar; bu da yakın mesafeye odaklanmayı mümkün kılan akomodasyon sürecinde temel işlev görür. Radyal lifler ise longitudinal ve sirküler lifleri birbirine bağlar. Siliyer kasın sinirsel uyarımı ise

okülomotor sinirin parasempatik dallarından kaynaklanan kısa siliyer sinirler aracılığıyla gerçekleşir (5).

### **2.1.3. Koroid**

Koroid, üveanın arka kısmında yer alan ve yoğun vasküler yapıya sahip dokudur. Özellikle retinanın dış tabakalarının perfüzyonunu sağlar, dolayısıyla görme işlevinin sürdürülmesinde kritik rol oynar. Koroidin ortalama kalınlığı yaklaşık 0,25 mm'dir, üç temel vasküler katmandan oluşur. En içte yer alan koryokapillaris tabakası, retinaya en yakın bölgedir ve yoğun kapiller pleksus içerir. Bunun hemen dışında konumlanan Sattler tabakası daha küçük çaplı damarları barındırırken, en dışta yer alan Haller tabakası ise geniş çaplı damarları içerir.

Koroid, beslenmesini kısa ve uzun posterior siliyer arterler ile anterior siliyer arterden alır. Bu yapı, gram doku başına düşen kan akımı açısından vücutta en yüksek perfüzyona sahip dokudur. Yoğun vasküler pleksus, retina dış tabakalarının yüksek metabolik gereksinimlerini karşılamak üzere yeterli oksijen ve besin desteğini sağlar. (8).

## **2.2. Üveit**

### **2.2.1. Üveitin Tanımı**

Üveit, üveal dokularda meydana gelen ve tedavi edilmediği takdirde görme kaybına yol açabilen inflamatuvar hastalıklar grubudur. Üvea terimi, etimolojik olarak Yunanca kökenli “*uva*” (üzüm) sözcüğünden türemiştir. Bu adlandırma, üveanın koyu mor rengi ve üzüm tanesini andıran yapısal görünümünü yansıtmaktadır. Anatomik olarak üvea dokusu; iris, siliyer cisim ve koroid olmak üzere üç farklı yapıdan oluşur. Bu yapılardan herhangi birinde gelişen inflamasyon, etkilenen anatomik bölgeye göre '-it' veya '-itis' ekiyle adlandırılır; örneğin iritis, siklitis ve koroidit gibi (9).

### 2.2.2. Üveitin Epidemiyolojisi

Üveitin insidansı ve prevalansı; yaş, cinsiyet, ırk, üveitin anatomik yerleşimi (ön, orta, arka ve panüveit), üveitin histopatolojik yapısı (granüloamatöz ya da non-granüloamatöz), inflamasyonun seyri (akut, kronik veya nükseden) ve altta yatan nedenlere (enfeksiyöz ya da enfeksiyöz olmayan) bağlı olarak farklılık gösterebilir. En sık rastlanan form, nedeni bilinmeyen (idiyopatik) ön üveittir. Enfeksiyöz kaynaklı üveit vakaları, özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın olup %30 ile %60 oranında görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde ise üveit etiyojisinde enfeksiyöz olmayan nedenler daha yaygın olup, sıklıkla otoimmün ve inflamatuvar mekanizmalarla ilişkilidir (10).

Yalçındağ ve ark. tarafından yapılan BUST çalışmasında, Türkiye'deki üveit vakalarının anatomik dağılımı incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre en sık karşılaşılan üveit tipi %44,3 ile ön üveit olup, bunu %26,7 ile panüveit, %19,9 ile arka üveit ve %9,1 ile en düşük oranda görülen orta üveit takip etmektedir. Çocukluk çağı üveit vakalarına ilişkin yapılan incelemelerde, ön üveit %39,8 ile en sık görülen anatomik alt tip olarak tanımlanmış; orta üveit ise %27,2 oranında bildirilmiştir. Üveit tiplerinin anatomik dağılımı açısından cinsiyetler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Etiyolojik sınıflamaya göre, vakaların %76,1'inin enfeksiyöz olmayan nedenlere, %15,6'sının ise enfeksiyöz etkenlere bağlı geliştiği bildirilmiştir. Enfeksiyöz olmayan grupta en sık neden %33 ile Behçet hastalığıdır. Bunun yanı sıra idiopatik üveit, Fuchs üveiti ve ankilozan spondilit de sık rastlanan diğer etiyojik faktörler arasında yer almaktadır. Behçet hastalığına sahip bireylerin %67,9'unun erkek olması, bu grubun cinsiyet dağılımında erkeklerin daha baskın olduğunu göstermektedir. Enfeksiyöz etiyoji içerisinde en sık bildirilen patojenik nedenler, %45 ile toksoplazma retinokoroiditi ve %38,5 ile olası herpetik ön üveittir (11).

### 2.2.3. Üveitlerin Sınıflandırılması

Üveitler; inflamasyonun anatomik yerleşimi, başlangıç zamanı, süresi ve klinik seyri gibi belirleyici özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Bu sınıflama,

hastalığın tanısı, takibi ve uygun tedavi planlamasında önemli avantajlar sağlar. Ancak, üveitin farklı klinik belirtilerle seyretmesi ve bu belirtilerin sıklıkla birbirine benzemesi, evrensel olarak kabul gören, anlaşılır ve kapsamlı bir sınıflama sisteminin oluşturulmasını güçleştirmektedir (12). Üveitlerin değişik sınıflandırma şekilleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 2.1.** Üveitlerin sınıflandırılması.

| Anatomik | Yaş Grubu     | Enflamatuvar<br>yanıt | Klinik seyir | Etiyolojik     |
|----------|---------------|-----------------------|--------------|----------------|
| Ön       | Çocukluk çağı | Granüloamatöz         | Hiperakut    | İdiopatik      |
| Orta     | Genç erişkin  | Nongranüloamatöz      | Akut         | Enfeksiyöz     |
| Arka     | Erişkin       |                       | Kronik       | Non-enfeksiyöz |
| Panüveit | İleri yaş     |                       | Tekrarlayan  |                |

#### 2.2.3.1. Ön Üveitler

Ön üveit (ÖÜ), üveit olguları arasında en sık karşılaşılan formdur. İris ve siliyer cismin inflamasyonu sonucu gelişir ve ön kamarada inflamatuvar hücrelerin varlığıyla karakterizedir. Vakaların büyük çoğunluğu idiyopatik kökenlidir; ancak etyolojide HLA-B27 ile ilişkili spondiloartropatiler ve viral etkenler de önemli rol oynamaktadır. İnflamasyon yalnızca ön kamarayla sınırlıysa bu tablo literatürde iritis olarak adlandırılırken, inflamatuvar hücreler retrolental (ön vitreus) boşlukta da izleniyorsa bu durum iridosiklit olarak tanımlanır (13).

Akut ÖÜ, genellikle ani başlangıç gösteren; göz ağrısı, kızarıklık ve fotofobi gibi semptomlarla karakterize bir klinik tablodur. Gözde hissedilen ağrı, inflamasyon sonucu ortaya çıkan siliyer cisim spazmına bağlıdır ve bu ağrının şiddeti, siliyer cismin tutulum derecesiyle doğrudan ilişkilidir. Akomodasyon refleksi ve pupilla hareketleri bu ağrıyı şiddetlendirebildiğinden, pupillanın sikloplejik ilaçlarla dilate edilmesi ağrı kontrolünde etkili bir yöntemdir. Ön kamarada biriken inflamatuvar hücreler ve protein içeriği veya meydana gelen vitrit bulanık görmeye yol açabilirken; bazı olgularda posterior segmentte gelişen maküler ödem gibi komplikasyonlar da görme keskinliğinde azalmaya neden olabilir. Hiperemi, özellikle limbus çevresindeki vasküler dilatasyon ile

belirginleşir ve bu durum siliyer enjeksiyon olarak tanımlanır. Bu tip hiperemi konjonktival hiperemiden farklı olarak daha derindir, anterior siliyer arterlerin dallarından kaynaklanır ve genellikle vazokonstriktör ajanlara karşı dirençlidir. Vasküler konjesyon başlıca inflamatuvar mediatörler olan histamin ve serotonin aracılığıyla gelişirken, prostaglandinlerin etkisiyle pupillada miyozis meydana gelebilir. Ayrıca iris stromasında inflamasyona bağlı ödem gelişerek iris konturlarının silikleşmesine neden olabilir. Özellikle herpetik etiyolojiye sahip olgularda iris dokusunda sektörel atrofi gelişebilir ve bu alanlarda pigment kaybı izlenebilir (13,14).

Özellikle granülomatöz üveit olgularında, iris veya pupilla kenarında granülomatoz inflamasyona bağlı nodüler yapılar gelişebilir. Pupillaya komşu bölgede yer alanlar Koeppe nodülleri, iris stromasında bulunanlar ise Busacca nodülleri olarak adlandırılır. Bu yapılar genellikle tüberküloz, sarkoidoz ve sempatik oftalmi gibi granülomatöz hastalıklarla ilişkilidir. Ancak Koeppe nodülleri, bazı granülomatöz olmayan üveit vakalarında da izlenebilir. Granülomatöz keratik presipitatlar (KP), aköz hümör içerisinde bulunan inflamatuvar hücrelerin, iris pigmenti, plazma proteinleri ve fibrin ile birlikte kornea endotel yüzeyine tutunması sonucu oluşur. Bu tip iridosiklit olgularında KP'ler tipik olarak iri, beyazımsı-gri renkte ve kabarık görünümlüdür; bu nedenle literatürde “mutton-fat” (koyun yağı benzeri) keratik presipitatlar olarak tanımlanırlar. Genellikle inflamasyonun kontrol altına alınmasıyla gerilerler, ancak bazı durumlarda kornea endotelinde kalıcı izler kalabilir.

Ön üveit olgularında, siliyer cismin inflamasyonuna bağlı olarak aköz hümör üretimi azalabilir; bu da göz içi basıncında (GİB) düşüklüğe ya da normal seviyelerde seyretmesine neden olabilir. Öte yandan, inflamatuvar hücrelerin trabeküler ağda birikmesi veya inflamasyona bağlı trabekülit gelişmesi halinde GİB artışı da görülebilir. Bu tür GİB artışı özellikle viral kaynaklı ön üveitlerde sık rastlanabilen bir durumdur (14,15).

ÖÜ olguları, çoğu zaman uygun topikal anti-inflamatuvar tedaviyle klinik olarak kontrol altına alınabilir. Eğer tedavi, aşamalı olarak kesilebiliyor ve tedavinin sonlanmasından itibaren en az üç ay boyunca nüks gözlenmiyorsa, bu

durum sınırlı süreli üveit olarak tanımlanır. Üveit tablosu tek bir atakla sınırlı kalabileceği gibi, zamanla tekrarlayan ataklarla da seyredebilir (13).

Uzun süreli veya şiddetli ÖÜ olgularında; korneada subepitelyal kalsiyum tuzlarının birikimi (bant keratopati), korneal stromal ödem, iris yapısında dejeneratif değişiklikler, arka sineşi (iris-lens), katarakt, maküla ödemi ve optik sinir başında ödem gibi çeşitli komplikasyonlar gelişebilir. Ancak bu tür arka segment bulgularının varlığı, her zaman inflamasyonun arka kutbu tuttuğu anlamına gelmez; ön segmentteki inflamatuvar süreçlerin dolaylı etkileriyle de gelişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır (13).

Ön kamarada bulunan inflamatuvar hücreler (Tyndall fenomeni) ve vasküler geçirgenliğin artmasına bağlı olarak sızan proteinlerin oluşturduğu flare, inflamatuvar yanıtın şiddetini değerlendirmede önemli göstergelerdendir ve bu parametreler doğrultusunda derecelendirme yapılmaktadır. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) çalışma grubunun kriterlerine göre, ön kamara hücre sayısı ve flare derecelendirmesi Tablo 2.2 ve Tablo 2.3'te sunulmuştur (12).

**Tablo 2.2.** Ön kamara hücrelerinin derecelendirilmesi.

| Derece* | Hücre sayısı** |
|---------|----------------|
| 0       | <1             |
| 0,5+    | 1–5            |
| 1+      | 6–15           |
| 2+      | 16–25          |
| 3+      | 26–50          |
| 4+      | > 50           |

\*Hipopiyonun varlığı ayrıca belirtilmelidir.

\*\*Yarık mikroskopun ince ışık ayarı kullanılarak, ışınlar 45° açıyla yönlendirilir ve 1 mm<sup>2</sup> alandaki hücre sayısı belirlenir.

**Tablo 2.3.** Ön kamara bulanıklığının derecelendirilmesi.

| Derece | Tanım                                     |
|--------|-------------------------------------------|
| 0      | Yok                                       |
| 1+     | Hafif                                     |
| 2+     | Orta (iris ve lens detayları seçiliyor)   |
| 3+     | Belirgin (iris ve lens detayları bulanık) |
| 4+     | Şiddetli (fibrinöz eksüda)                |

#### 2.2.3.2. Orta Üveitler

Orta üveit (OÜ), koroid veya retina tutulumu olmaksızın, asıl olarak vitreus boşluğunda meydana gelen inflamasyonla karakterizedir. Klinik literatürde bu tablo; pars planitis, posterior siklit ya da hyalit terimleri ile de anılmaktadır. OÜ, üveit olguları içerisinde %0,9 ile %22,9 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir. Tüm anatomik alt gruplar (ön, orta, arka ve panüveit) arasında OÜ, ön ve arka üveitlere kıyasla daha az sıklıkta görülmektedir. Her yaş grubunda ortaya çıkabilmekle birlikte, özellikle ikinci ve dördüncü dekatlar arasında daha sık görüldüğü rapor edilmektedir (16).

OÜ kliniğinde en sık karşılaşılan semptomlar; bulanık görme ve göz önünde uçuşan cisimlerin (floaters) algılanmasıdır. İzole OÜ olgularında, göz ağrısı, fotofobi ve konjonktival hiperemi gibi belirtiler genellikle görülmez ya da oldukça hafif düzeydedir; ancak tabloya eşlik eden AÜ varlığında, bu bulgular daha belirgin hale gelebilir. Görme kaybı başlangıçta genellikle hafiftir, ancak ciddi azalma durumları çoğunlukla maküla ödemi, retina dekolmanı gibi arka segment komplikasyonlarına bağlı olarak gelişmektedir. Bununla birlikte, OÜ bazı bireylerde tamamen asemptomatik olabilir ve özellikle konuşma öncesi dönemdeki çocuklar gibi iş birliği sınırlı hasta gruplarında, rutin göz muayenesi sırasında tesadüfen saptanabilir. Bu nedenle OÜ bazı hastalarda tanının atlanmasına yol açabilecek sessiz bir tablo gösterebilir (16).

OÜ olgularında, yarıık lamba biyomikroskopisi ile yapılan değerlendirmelerde vitritis sıklıkla ayırt edici bir bulgu olarak karşımıza çıkar.

Vitreus içerisinde yer alan inflamatuvar hücreler ve protein eksüdatları, Nussenblatt sınıflandırma sistemine göre 0,5+ ile 4+ arasında değişen düzeylerde vitröz bulanıklığa neden olur. Bu bulanıklığın tedavi sürecinde azalması veya tamamen kaybolması, inflamasyonun kontrol altına alındığını gösteren önemli bir parametredir. Bazı olgularda, vitreus tabanı, pars plana ve periferik retina bölgelerinde biriken inflamatuvar materyaller, küçük yuvarlak opasiteler şeklinde “snow ball (kar topu)” ya da bu oluşumların birleşmesiyle “snow bank (kar bankı)” şeklinde izlenebilir. Ayrıca, pars plana bölgesinde fibrovasküler membranlar ve periferik retinal venüllerde periflebitik değişiklikler gözlenebilir. OÜ çoğu zaman yalnızca oküler bulgularla sınırlı kalmakla birlikte, bazı hastalarda multiple skleroz, sarkoidoz, Lyme hastalığı, Whipple hastalığı, sifiliz, tüberküloz ve bağ dokusu hastalıkları gibi sistemik patolojilerle ilişkili olabilir (17).

#### **2.2.3.3. Arka Üveitler**

Arka üveitler (AÜ), inflamasyonun retina ve koroid gibi arka segment yapılarıyla sınırlı üveit alt grubunu oluşturur. Klinik olarak ÖÜ’lerden farklı şekilde, konjonktival hiperemi ve ağrı gibi ön segment bulguları genellikle gözlenmez. Üveit olgularının yaklaşık %19,9’unu arka üveitler oluşturmaktadır. Türkiye’de AÜ’in en yaygın nedeni Behçet hastalığı olarak bildirilirken, Avrupa ülkelerinde daha sık olarak idiopatik nedenlere ve enfeksiyöz etkenlere bağlı arka üveitler rapor edilmektedir (11).

AÜ, görme kaybıyla en sık ilişkilendirilen üveit alt tipidir ve genellikle ağrısız bir klinik seyir gösterir. Etiyolojik olarak enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz nedenlerle gelişebilir. Enfeksiyöz etkenler arasında bakteriler, virüsler, mantarlar ve parazitler yer alırken; non-enfeksiyöz nedenler arasında immünolojik mekanizmalar, alerjik reaksiyonlar, neoplastik süreçler ve idiopatik olgular bulunmaktadır. İnflamasyonun vitreusun arka sınırına veya daha gerisinde oluşması durumunda, vitreus içerisinde hücre artışı, flare, opasiteler ve zamanla arka vitreus dekolmanı gelişebilir. AÜ kliniğinde sıklıkla dört ana patolojik tablo ile karşılaşılır: koroidit, retinit, retinal vaskülit ve papillit. Koroidit, tipik olarak sarımsı veya grimsi, yama şeklinde lezyonlarla karakterizedir. Retinit, retinada beyazımsı,

bulanık odaklar halinde izlenir. Vaskülit genellikle retina venüllerini etkileyen inflamasyondur, ancak bazı durumlarda arteriyolları da tutabilir. Papillit, optik sinir başında ödem ve hiperemi ile karakterize bir klinik tablodur (9,18).

AÜ’de topikal tedavinin arka segmente yeterli düzeyde penetre olamaması nedeniyle sistemik tedavi gereklidir. Enfeksiyöz olmayan AÜ olgularında, ilk basamakta sıklıkla sistemik KS’ler tercih edilmekte olup; hastalığın süresi, şiddeti ve etiyolojik faktörlere bağlı olarak immünsüpresif ve biyolojik ajanlar tedavi protokolüne eklenebilmektedir. Enfeksiyöz AÜ olgularında ise tedavi, altta yatan etiyolojik nedene yönelik olarak planlanmalıdır (18).

#### **2.2.3.4. Panüveitler**

Panüveit, iris, siliyer cisim ve koroid dahil olmak üzere üveanın tüm anatomik tabakalarını etkileyen yaygın ve ciddi bir inflamasyon tipidir. Etiyolojik açıdan hem ekzojen enfeksiyonlar hem de sistemik dolaşım ile göze ulaşan (endojen) enfeksiyonlar sorumlu olabilir. Panüveite yol açan enfeksiyonlar arasında sifiliz, tüberküloz gibi bakteriyel; kabakulak, çiçek hastalığı gibi viral; toksoplazmozis gibi protozoal etkenler bulunur. Ayrıca Behçet hastalığı gibi immün aracı inflamatuvar hastalıklar, retinoblastom ve koroid melanomu gibi primer oküler maligniteler ile lösemi, lenfoma ve histiyositik sarkom gibi sistemik hematolojik neoplaziler “maskeli sendrom” adıyla panüveit benzeri tablolar oluşturabilir. Göz küresine yönelik künt veya penetran travma sonrası gelişen sempatik oftalmopati ile katarakt cerrahisi, trabekülektomi ve vitreoretinal girişimler gibi bazı göz içi operasyonlardan sonra da postoperatif panüveit gelişebilir.

Ağrı, fotofobi, kızarıklık, uçuşan cisimler (floaters) ve görme keskinliğinde azalma gibi semptomlar olabilir. Muayenede, ön üveit, orta üveit ve arka üveite ait bulgular izlenir. Panüveit, üveite bağlı körlük ve görsel morbiditenin başlıca nedenidir. Panüveitte prognoz, altta yatan neden ve ciddiyete bağlı olarak değişir. Erken tanı konulmaz veya tedavi yetersiz kalırsa, kalıcı görme kaybı gelişebilir. Bu nedenle, her panüveit vakasında erken teşhis ve uygun tedavi ile yönetilmesi büyük önem taşır (19,20).

#### 2.2.4. Üveit Tedavisi

Herhangi bir tedavi protokolünün planlanmasından önce, hastanın mevcut klinik bulguları kapsamlı biçimde değerlendirilmelidir. Tanının doğrulanmasına yönelik uygun laboratuvar analizleri ve görüntüleme yöntemleri planlanmalı; gerekli görüldüğü takdirde ilgili uzmanlık dallarından konsültasyon istenmelidir. Planlanan tedavi rejiminin uzun süreli uygulanma gerekliliği, oluşturabileceği ekonomik yük, potansiyel yan etkiler ve toksisite riski hakkında hastaya tedavi öncesinde ayrıntılı bilgi verilmesi; hasta uyumunun sağlanması ve tedavi başarısının artırılması açısından kritik öneme sahiptir.

Üveit tedavisinin planlanmasında, inflamasyonun şiddeti, eşlik eden komplikasyonlar ve hastaya özgü risk faktörleri multidisipliner bir yaklaşımla bütüncül olarak değerlendirilmelidir. Tanının konmasını takiben, uygun tedavi protokolü gecikmeksizin başlatılmalı; tedavi süreci ise, öncelikle ilk basamak tedavi seçenekleriyle başlanıp, klinik yanıt ve hastalık seyri doğrultusunda daha güçlü tedavi seçeneklerine kademeli geçişi öngören basamaklı bir strateji çerçevesinde sürdürülmelidir. Bu strateji, hem inflamasyonun kontrol altına alınmasını hem de tedaviye bağlı yan etkilerin en aza indirilmesini sağlayarak hasta açısından en uygun klinik sonuçların elde edilmesine olanak tanır (21).

Üveit tedavisinin temel hedefleri; görme keskinliğinin korunması ve iyileştirilmesi, maküla ödemi gibi görmeyi tehdit eden komplikasyonların iyileştirilmesi, intraoküler inflamasyonun etkin biçimde kontrol altına alınması ve nüksün önlenmesidir. Üveit tedavisi, genel olarak lokal ve sistemik uygulamalar olmak üzere iki ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Lokal tedaviler arasında, siliyer cisim spazmına bağlı ağrının azaltılması ve posterior sineşi oluşumunun önlenmesi amacıyla midriatik ve sikloplejik ajanlardan yararlanılır. Ayrıca topikal, subkonjonktival, perioküler, retrobulber veya intravitreal yolla uygulanan KS'ler, lokal inflamasyonun kontrol altına alınmasında önemli rol oynamaktadır. Sistemik tedavi ise, enfeksiyöz etkenlere yönelik antimikrobiyal ajanların yanı sıra sistemik KS'lerin ve immünmodülatör/immünsüpresif ilaçların oral veya parenteral yolla uygulanmasını içermektedir (22).

#### 2.2.4.1. Kortikosteroidler

Enfeksiyöz olmayan üveit olgularında birinci basamak tedavi genellikle KS monoterapisidir. KS'ler, üveitin anatomik tutulumuna göre farklı farmasötik formlarda uygulanabilir. Ön üveit tedavisinde, topikal uygulama tercih edilmekte olup; özellikle prednizolon %1 veya deksametazon %0,1 preparatları sıklıkla tercih edilmektedir (23). Topikal KS'ler, başta kornea ve ön kamara permeabiliteleri olmak üzere farmakokinetik özellikleri nedeniyle ÖÜ tedavisinde birinci basamak tedavi ajanı olarak tercih edilmektedir. Afakik hastalarda ise nadiren de olsa arka segment inflamasyonuna yönelik sınırlı etkinliklerinden yararlanmak amacıyla kullanılabilir. Topikal tedavide doz titrasyonu, inflamasyonun şiddetine göre belirlenmeli; başlangıçta yüksek dozlarda uygulanarak inflamasyon hızlı biçimde kontrol altına alındıktan sonra, tedavi kademeli olarak azaltılmalıdır (24).

Perioküler KS enjeksiyonları; ön kamara içinde daha yüksek ilaç konsantrasyonları elde etmek, hızlı terapötik yanıt sağlamak ve arka segment inflamasyonunu baskılamak amacıyla uygulanmaktadır. Bu uygulamalar subkonjonktival, subtenon veya retrobulber yollardan gerçekleştirilebilir. Subkonjonktival enjeksiyonlar; topikal tedaviye yardımcı olmak, şiddetli inflamatuvar ataklarda hızlı remisyona sağlamak veya topikal tedaviye uyumsuzluk gösteren hastalarda alternatif bir yöntem olarak değerlendirilebilir. Ancak literatürde, subkonjonktival enjeksiyonların topikal KS tedavisine anlamlı düzeyde üstünlük sağlamadığına dair bulgular mevcuttur. Subtenon enjeksiyonları ise, subkonjonktival yola kıyasla daha etkin kabul edilmekte olup, ön segment ve lens düzeyinde daha yüksek ilaç konsantrasyonlarına ulaşılması nedeniyle glokom ve katarakt gibi KS'ye bağlı yan etkilerin gelişme riskini artırmaktadır (24,25).

Sistemik KS'ler, şiddetli oküler inflamasyon varlığında tedaviye eklenmelidir. En sık tercih edilen form, oral prednizondur ve genellikle 1–2 mg/kg doz aralığında başlanır; tedavi süreci boyunca klinik yanıtla göre kademeli doz azaltımı yapılır. İnflamasyonun yoğun olduğu, tüm üveal tabakaların yanı sıra optik sinir tutulumu bulunan olgularda ise oküler remisyona sağlamak amacıyla intravenöz KS tedavisine ihtiyaç duyulabilir. Bu durumda sıklıkla metilprednizolon tercih edilir; 30 mg/kg dozda (maksimum 1 gram) intravenöz olarak, genellikle üç

ardışık gün boyunca uygulanan yüksek doz (pulse) tedaviyle başlanır ve sonrasında oral KS'lerle tedavi sürdürülür (26).

Üveit tedavisinde uzun süreli KS kullanımı, hem oküler hem de sistemik düzeyde ciddi yan etkilere neden olabileceğinden dikkatle yönetilmelidir. Bu nedenle, tedavi süresi boyunca en kısa sürede etkin dozun azaltılması ve mümkünse tedavinin sonlandırılması, komplikasyonların önlenmesi açısından büyük önem taşır. Topikal veya sistemik KS uygulamaları; katarakt, glokom ve kalıcı görme kaybı gibi oküler yan etkilere yol açabilir. Sistemik KS kullanımına bağlı olarak ise; kilo alımı, Cushingoid görünüm, akne, enfeksiyonlara yatkınlık, hipertansiyon, sıvı retansiyonu, diyabetes mellitus, hiperlipidemi ve osteoporoz gibi çeşitli metabolik ve endokrin komplikasyonlar ortaya çıkabilir. Özellikle pediatrik hastalarda, KS'lerin büyüme ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri olabileceğinden, bu yaş grubunda daha titiz bir izlem gereklidir. Yüksek doz KS tedavisine yeterli klinik yanıt alınamaması ya da inflamasyonun ilerlemesi durumunda, alternatif tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi gerekmektedir (26,27).

#### **2.2.4.2. Sistemik İmmünmodüler Tedaviler**

Kronik ve şiddetli üveit olgularında, KS'lere yanıt alınamadığında veya uzun süreli KS kullanımının yan etkilerinden kaçınılması gerektiğinde immünmodülatör tedavilere başvurulur. Bu ilaçlar, bağışıklık sisteminin farklı yollarını etkileyerek anti-inflamatuar etki gösterir. İmmünmodülatör tedaviler biyolojik olmayan ve biyolojik ajanlar olarak iki grupta sınıflandırılır.

Biyolojik olmayan ajanlar; antimetabolitler (örneğin metotreksat, azatioprin), T lenfosit inhibitörleri (örneğin siklosporin) ve alkilleyici ajanlar (örneğin siklofosfamid) olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır. Bu ilaçlar, çoğunlukla sistemik inflamasyonun uzun vadeli kontrolü amacıyla kullanılmakta olup, tedavi süreci genellikle multidisipliner izlem ve yakın takip gerektirmektedir. Biyolojik ajanlar ise bağışıklık sisteminin spesifik proinflamatuvar hedeflerine yöneltilmiş, biyoteknolojik ajanlardır. Bu grup içerisinde tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) inhibitörleri başta olmak üzere interlökin antagonistleri gibi çeşitli sitokin

hedefli tedavi seçenekleri yer almaktadır. Güncel olarak, enfeksiyöz olmayan AÜ tedavisinde ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış tek biyolojik ajan adalimumab'dır. Öte yandan, alkilleyici ajanların malignite riski ve fertilité üzerindeki olası yan etkileri nedeniyle, yalnızca refrakter veya ağır seyirli inflamasyon varlığında; dikkatli hasta seçimi ve kar-zarar analizi sonrasında kullanılmalıdır (28).

Sistemik immunmodölatör tedavi aşğıdaki durumlarda enfeksiyöz olmayan oküler inflamasyonun tedavisi için kullanılmaktadır:

- Görmeyi tehdit eden intraoküler inflamasyon veya nekrotizan sklerit.
- KS tedavisine yetersiz yanıt alınması.
- Sistemik veya lokal KS'lerin kontrendike olduğı veya sistemik/oküler yan etkiler nedeniyle tedavinin tolere edilemediğı durumlar.
- Sistemik KS dozunun 7,5 mg/gün altına düşürülemediğı durumlar.

İmmünmodölatör tedaviye başlanmadan önce, hastada aktif enfeksiyon varlığı, yakın dönemde canlı aşı uygulanıp uygulanmadığı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile hematolojik değerlerde tedaviye engel oluşturabilecek potansiyel kontrendikasyonlar dikkatle değerlendirilmelidir. Ayrıca, gebelik, emzirme durumu, doğum planları ve kontrasepsiyon gibi üreme sağlığına yönelik faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır. Biyolojik ajanlar genellikle hızlı bir başlangıç etkisi gösterirken, biyolojik olmayan immünmodölatör ilaçların terapötik yanıt oluşturmaları haftalar, hatta aylar sürebilmektedir. Bu nedenle, immünmodölatör etkinin ortaya çıkmasına kadar geçen sürede, KS'lerle köprü tedavisi uygulanması gerekebilir (28,29).

İmmünmodölatör tedaviye başlanmadan önce, hastaya potansiyel yan etkiler ayrıntılı biçimde açıklanmalı ve tedavi sürecinde karşılaşılabilecek riskler konusunda bilgilendirme yapılmalıdır. Bu ajanlar çoğunlukla iyi tolere edilse de, ciddi komplikasyonlar riski nedeniyle olguların düzenli aralıklarla laboratuvar testleri ile yakından izlenmesi gereklidir. Biyolojik olmayan immünmodölatör

ilaçlar arasında yer alan antimetabolitler ve T hücresi inhibitörleri; hepatotoksisite, nefrotoksisite ve kemik iliği baskılanması gibi yan etkiler gösterebilirken, alkilleyici ajanlar infertiliteye yol açabilir ve hematolojik malignite (lösemi, lenfoma) riskini artırabilir. Biyolojik ajanlar ise infüzyon veya enjeksiyon sırasında akut reaksiyonlara neden olabilmektedir. Özellikle TNF- $\alpha$  inhibitörleri, multipl skleroz, konjestif kalp yetmezliği ve lenfoma gelişme riskini artırabileceğinden dikkatli kullanılmalıdır. Tüm immünmodülatör ajanlar, bağışıklık sistemini baskılayarak fırsatçı enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırma potansiyeline sahiptir (30,31). Bu risklere rağmen, ABD'de yürütülen ve enfeksiyöz olmayan üveitli 7.957 hastayı kapsayan SITE (Göz Hastalıklarında Sistemik İmmünsüpresif Tedavi Çalışması) kohort çalışması, azatioprin, metotreksat, mikofenolat mofetil, siklosporin veya sistemik KS kullanan hastaların, bu tedavileri almayanlarla benzer genel ve kanserle ilişkili ölüm oranlarına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca çalışma, TNF- $\alpha$  inhibitörleri de dahil olmak üzere immünmodülatör tedavi alan bireylerde mortalite açısından anlamlı bir artış olmadığını göstermiştir. Öte yandan, bazı bulgular immünmodülatör tedavi ile melanom dışı cilt kanseri riskinin artabileceğini öne sürmektedir. Bu nedenle, hastalara güneşten korunma ve güneş kremi kullanımı konusunda danışmanlık verilmesi önerilmektedir. Uzun süreli yüksek doz KS veya alkilleyici ajan kullanan hastalarda *Pneumocystis jirovecii* enfeksiyonuna karşı trimetoprim-sülfametoksazol ile profilaksi uygulanması önerilir. İmmünmodülatör tedaviye başlamadan önce, ideal olarak tüm rutin aşılamaların tamamlanması önerilir. Rutin aşılarla ek olarak, yaş sınırlaması olmaksızın pnömokok aşısı, inaktif zona aşısı, yıllık inaktif influenza aşısı ve COVID-19 aşısı da önerilen aşılar arasında yer almaktadır (32).

Hastalarda etkili ve tolere edilebilir bir tedavi rejimi oluşturmak amacıyla, gerekirse birden fazla immünmodülatör ajan denenebilir. Oküler inflamasyonun, immünmodülatör tedavi altında ve mümkün olan en düşük dozda KS ile birlikte en az 12 ay süreyle (pediatrik olgularda bu süre daha uzun olabilir) kontrol altında tutulması durumunda, ilaçların kademeli olarak azaltılması düşünülmelidir. Bununla birlikte, immünmodülatör tedavinin tamamen sonlandırılmasına yönelik karar, üveitin klinik şiddeti, seyri ve hastaya özgü risk faktörleri dikkate alınarak, tedavi kararı bireyselleştirilmiş bir yaklaşımla verilmelidir (28).

#### **2.2.4.2.1. Biyolojik Olmayan İmmünmodüler Tedaviler**

##### **2.2.4.2.1.1. Antimetabolitler**

Antimetabolit ilaç grubu içerisinde azatioprin, metotreksat ve mikofenolat mofetil yer almaktadır. Bu ajanlar, özellikle KS kullanımının sınırlandırılması ya da tamamen sonlandırılması gereken durumlarda, tercih edilen immünmodülatör seçenekler arasındadır. Azatioprin kullanımına bağlı yan etki sıklığının, diğer antimetabolitlerle karşılaştırıldığında bir miktar daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Buna karşın, mikofenolat mofetilin terapötik etkiye ulaşma süresinin daha kısa olduğu bilinmektedir. Antimetabolitler tek başına çoğu olguda etkili olmakla birlikte, optimal inflamasyon kontrolünün sağlanabilmesi için antimetabolit ajanlar sıklıkla düşük doz sistemik KS tedavisiyle birlikte kullanılmaktadır (33).

##### **Azatioprin (AZA)**

Azatioprin, bir pürin nükleozid analogu olup, DNA sentezi ve RNA transkripsiyonunu inhibe ederek immün yanıtı baskılayıcı etki gösterir. Yetişkin hastalarda önerilen günlük oral doz aralığı 2–2,5 mg/kg'dır. En sık karşılaşılan yan etkiler; bulantı, kusma ve gastrointestinal rahatsızlıklar olup, bu yan etkiler nedeniyle hastaların yaklaşık %25'inde tedavi kesilmek zorunda kalınmaktadır. Nadir görülmekle birlikte, azatioprin kullanımına bağlı ciddi bir komplikasyon olan kemik iliği supresyonu ve buna bağlı gelişen pansitopeni riski, özellikle allopurinol ile eşzamanlı kullanımlarda belirgin şekilde artmaktadır. Hepatotoksisite ise azatioprinle ilişkili bir diğer önemli yan etkidir ve çoğu zaman doz azaltımıyla geri dönüşümlü olabilir. Bu nedenle, tedavi süresince karaciğer fonksiyon testleri ve tam kan sayımı düzenli aralıklarla izlenmelidir.

Azatioprin tedavisine verilen bireysel yanıt farklılıkları, büyük ölçüde bu ilacın aktif metaboliti olan 6-merkaptopürinin biyotransformasyonunu düzenleyen tiopürin S-metiltransferaz (TPMT) enzimindeki genetik varyasyonlarla ilişkilidir. Bu enzimin aktivitesini değerlendirmek amacıyla genotipleme testleri yapılabilir ve bu sayede doz ayarlamaları daha hassas biçimde planlanabilir. TPMT enzim

aktivitesi çok düşük ya da tamamen yok olan bireylerde (yaklaşık %0,3), ciddi toksisite riski nedeniyle azatioprin kullanımı önerilmez. Orta düzeyde TPMT aktivitesine sahip hastalarda ise (yaklaşık %11), tedaviye genellikle azaltılmış dozlarla başlanması uygundur. Enzim aktivitesi yüksek olan çoğunlukta ise (%89), daha yüksek dozlara tolere edilebilirlik söz konusu olduğundan, standart veya artırılmış dozlarla tedavi planlanabilir.

Azatioprin; Behçet hastalığı, OÜ, Vogt Koyanagi Harada (VKH) hastalığı, sempatik oftalmi ve nekrotizan sklerit gibi çeşitli enfeksiyöz olmayan üveit yönetiminde tercih edilen bir ilaçtır. Genel olarak, azatioprin ile tedavi edilen hastaların yaklaşık %50'si inflamasyonu kontrol altına alarak, prednizon dozlarını günlük 10 mg veya daha düşük seviyelere indirebilir (34).

### **Metotreksat (MTX)**

Metotreksat (MTX), folik asit yapısına benzerliği nedeniyle folat metabolizmasında yer alan ve dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe eden bir antimetabolittir. Bu özelliğiyle DNA sentezini baskılamakla birlikte, anti-inflamatuar etkilerini esas olarak hücre dışına salınan adenozin aracılığıyla gösterir. Diğer antimetabolitlerden farklı olarak MTX, erişkin hastalarda genellikle haftalık 15–25 mg doz aralığında uygulanmaktadır. Pediatrik kullanımda ise doz, hastanın vücut yüzey alanına göre hesaplanır. İlacın uygulanma yolları arasında oral, subkutan, intramüsküler ve intravenöz formlar bulunur; parenteral yoldan uygulandığında biyoyararlanımı belirgin şekilde artış gösterir. MTX genel olarak iyi tolere edilmekle birlikte, oküler inflamasyonun tam olarak baskılanması ve terapötik etkinin ortaya çıkması 6 aya kadar sürebilir.

MTX tedavisi sırasında ortaya çıkabilecek yan etkileri azaltmak amacıyla, folat desteği genellikle günlük 1–2 mg dozunda eş zamanlı olarak verilir. Folat desteği özellikle saç dökülmesi ve oral ülser gibi folat eksikliğiyle ilişkili yan etkileri hafifletmede etkilidir. Tedavi alan hastaların yaklaşık %10'unda gastrointestinal semptomlar ve iştahsızlık görülebilenken, %15'e kadarında karaciğer enzimlerinde geçici yükselme ile seyreden hepatotoksisite gelişebilmektedir. Bununla birlikte, ilacın uzun süreli kullanımında siroz oldukça

nadir olup, bu komplikasyon %0,1'in altında olduğu bildirilmektedir. MTX'in bilinen teratojenik etkileri nedeniyle, üreme çağındaki bireylerde tedavi süresince etkin doğum kontrol yöntemlerinin uygulanması büyük önem taşır. Ayrıca, tedavi güvenliğini sağlamak amacıyla tam kan sayımı ve karaciğer fonksiyon testlerinin belirli aralıklarla ve düzenli olarak izlenmesi önerilmektedir (35).

MTX, özellikle juvenil idiyopatik artrit (JIA) bağlı üveit olmak üzere, sarkoidoz ve sklerit gibi çeşitli oküler inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yaygın şekilde kullanılan bir immünmodülatördür. Çocuk hastalarda, etkili anti-inflamatuvar etkileri ve güvenilirlik profili sayesinde sıklıkla birinci basamak tedavi seçeneği olarak tercih edilmektedir. İntravitreal (i.v.) uygulama formu, öncelikli olarak vitreoretinal lenfoma tedavisinde kullanılmakla birlikte, son yıllarda üveit ve buna bağlı gelişen maküla ödeminin yönetiminde de potansiyel bir tedavi seçeneği olarak araştırılmaktadır (35,36).

#### **Mikofenolat mofetil (MMF)**

Mikofenolat mofetil (MMF), inozin monofosfat dehidrogenaz enzimini inhibe ederek, DNA sentezini baskılar ve bu yolla T ve B lenfositlerin proliferasyonunu engeller. Erişkin hastalarda, genellikle günde iki kez 1–1,5 gr oral dozda uygulanır. Günlük 10 mg'ın altında prednizon ile kombine kullanıldığında, üveit kontrolünün sağlanması ortalama dört ay sürebilmektedir. MMF tedavisi alan hastaların %20'sinden daha azında yan etki bildirilmiş olup, en sık karşılaşılan sorunlar gastrointestinal sistemle ilişkili rahatsızlıklardır. Nadiren görülmekle birlikte, CD4<sup>+</sup> T lenfosit sayısında azalma meydana gelebileceği için, hastaların periyodik tam kan sayımı ile hematolojik açıdan izlenmesi önerilmektedir (37,38).

MMF, pediatrik üveit yönetiminde MTX'in yerine kullanılabilecek güvenli ve etkili bir alternatif ilaç olarak değerlendirilmektedir. Ancak teratojenik etkileri nedeniyle gebelik süresince kullanımı kontrendikedir. Bu nedenle, hem kadın hem de erkek hastalarda gebelik planlamadan önce tedavi sonlandırılmalı ve etkili kontraseptif yöntemlerin kullanımına özen gösterilmelidir (39).

#### 2.2.4.2.1.2. T hücre (Kalsinörin) İnhibitörleri

Siklosporin, *Beauveria nivea* adlı bir mantar türünden; takrolimus ise *Streptomyces tsukubaensis* isimli bir bakteriden elde edilen güçlü immünsüpresif ajanlardır. Bu ilaçlar, kalsinörin enzimine etki ederek T hücre reseptörlerinden gelen sinyallerin iletimini engeller. Bu etki sonucunda, interlökin-2 (IL-2) geninin transkripsiyonu baskılanır ve CD4<sup>+</sup> T lenfositlerinin yüzey reseptör ekspresyonu azalır. Bu mekanizma sayesinde immün sistemin aşırı ve zararlı yanıtları kontrol altına alınabilir (40).

#### Siklosporin

Siklosporin, etkisini IL-2 sentezini baskılayarak ve T lenfosit aktivasyonunu engelleyerek gösterir. Erişkin hastalarda önerilen başlangıç dozu, mikronize form için 2 mg/kg/gün, klasik formülasyon için ise 2,5 mg/kg/gün'dür. Tedavi süresince doz, ilacın terapötik düzeyleri, olası toksisite ve klinik yanıt göz önünde bulundurularak genellikle 1–5 mg/kg/gün aralığında bireyselleştirilir. En sık bildirilen yan etkiler arasında sistemik hipertansiyon ve nefrotoksisite yer alırken; parestezi, gastrointestinal semptomlar, halsizlik, aşırı kıllanma (hipertrikoz) ve diş eti büyümesi (gingival hiperplazi) gibi yan etkiler de görülebilir. Siklosporin, özellikle KS intoleransı gelişen hastalarda, Behçet hastalığına bağlı üveit ve VKH hastalığı gibi durumların tedavisinde tercih edilmektedir. Ancak nörolojik tutulumun eşlik ettiği Behçet hastalarında, potansiyel nörotoksisite riski nedeniyle siklosporin kullanımından kaçınılması önerilir (41).

#### Takrolimus

Takrolimus tedavisine, erişkin hastalarda genellikle oral yolla 0,10–0,15 mg/kg/gün doz aralığında başlanmaktadır. Siklosporin ile kıyaslandığında daha düşük nefrotoksisite riski taşıdığı bildirilmiştir. Ancak her iki kalsinörin inhibitörü de potansiyel nefrotoksiteye neden olabileceğinden, tedavi süresince hastaların düzenli olarak böbrek fonksiyon testleri ve tam kan sayımı ile izlenmesi önerilmektedir (42). Siklosporin ve takrolimus, AÜ ve OÜ tedavisinde karşılaştırılabilir düzeyde klinik etkinlik göstermektedir. Bununla birlikte,

takrolimus'un hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi metabolik yan etkiler açısından daha avantajlı bir güvenlik profiline sahip olduğu bildirilmiştir (43).

#### **2.2.4.2.1.3. Alkilleyici Ajanlar**

Bu ilaç grubu, alkilleyici ajanlar sınıfında yer alan siklofosfamid ve klorambusil bileşiklerini içermektedir. Her iki ajan da DNA sentezini bozar ve doğrudan DNA hasarı oluşturarak hücre döngüsünün durmasına neden olur. DNA hasarı yoluyla apoptozun indüklenmesi, özellikle T ve B lenfositlerin proliferasyonu ile immün fonksiyonlarını baskılamakta; bu yolla alkilleyici ajanlar belirgin immünoşüpresif etki göstererek çeşitli otoimmün hastalıkların tedavisinde klinik kullanım alanı bulmaktadır (44).

#### **Siklofosfamid**

Siklofosfamid, nitrojen mustard türevleri arasında yer alan güçlü bir alkilleyici ajandır. Etkisini, DNA ve RNA'daki pürin bazlarına kovalent bağlanarak DNA replikasyonunu bozmak suretiyle gösterir. Bu mekanizma, T ve B lenfositlerde apoptoza yol açarak hem hücresel hem de humoral immün yanıtı etkili bir şekilde baskılar. Üveit tedavisinde erişkin hastalarda önerilen başlangıç oral dozu genellikle 2 mg/kg/gün'dür; ancak gelişebilecek toksisiteye bağlı olarak doz bireysel toleransa göre ayarlanmalıdır (44).

Siklofosfamid tedavisi sırasında en sık karşılaşılan yan etkiler arasında kemik iliği baskılanması ve hemorajik sistit yer almaktadır. Bu nedenle hastaların düzenli olarak, tedavi protokolüne göre haftalık veya aylık aralıklarla tam kan sayımı ve idrar analizi ile izlenmesi gereklidir. Mikroskobik hematüri genellikle artırılmış sıvı alımı ile düzelebilirken, makroskobik hematüri gelişmesi durumunda ilacın kesilmesi önerilmektedir (44,45). Siklofosfamid tedavisine bağlı olarak teratojenik etki, infertilite ve alopesi gibi yan etkiler ortaya çıkabilir. Ayrıca, bu ilaç diğer immünmodülatör tedavilere kıyasla fırsatçı enfeksiyonlara, özellikle *Pneumocystis jirovecii* pnömonisine karşı artmış duyarlılık ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, tedavi süresince profilaktik olarak trimetoprim-sülfametoksazol uygulanması yaygın bir yaklaşımdır (46).

## **Klorambusil**

Klorambusil, DNA sentezini bozan etkisiyle hücre bölünmesini durduran alkilleyici bir kemoterapötiktir. Genellikle erişkin hastalarda günlük 0,1–0,2 mg/kg doz aralığında uygulanmaktadır. Siklofosfamide benzer şekilde, kemik iliği baskılanması ve uzun vadede hematolojik malignite gelişme riski gibi ciddi yan etkilerle ilişkilidir. Ayrıca, fertilité üzerinde olumsuz etkileri olabilir ve teratojenik potansiyel taşır. Literatürde, dirençli sempatik oftalmi, Behçet hastalığı ve diğer ağır üveit sendromlarında %66–75 oranında etkili olduğu; bazı hastalarda uzun dönemli ilaçsız remisyon sağladığı bildirilmiştir (47).

### **2.2.4.2.2. Biyolojik İmmünmodüler Tedaviler**

Üveit kaynaklı inflamasyon, immün hücreler ile çeşitli sitokinlerin etkileşimi sonucu gelişen karmaşık bir immün yanıt sürecidir. Bu süreçte yer alan proinflamatuvar sitokinleri ve diğer mediatörleri hedef alarak etkisizleştiren ilaçlar, biyolojik ajanlar olarak sınıflandırılmaktadır. Biyolojik olmayan immünmodülatör ajanlardan farklı olarak, biyolojik tedaviler özgül hedeflere yönelik etki mekanizmalarıyla öne çıkar. Kısa vadede daha düşük oranda sistemik yan etki profiline sahip olmalarına rağmen, uzun dönemde sekonder enfeksiyonlar ve sekonder maligniteler gibi ciddi komplikasyonların gelişme riski bulunmaktadır (48).

#### **2.2.4.2.2.1. Tümör Nekroz Faktör (TNF- $\alpha$ ) İnhibitörleri**

TNF- $\alpha$ ; JİA, ankilozan spondilit ve diğer spondiloartrit alt tiplerinin patogeneğinde önemli bir rol oynayan sitokindir. Üveit tedavisinde TNF- $\alpha$  inhibitörleri arasında en sık ve etkili şekilde kullanılan ajanlar adalimumab ve infliksimab olup, bu ilaçlar çeşitli üveit ile ilişkili hastalıklarda yüksek etkinlik göstermekte ve genellikle iyi tolere edilmektedir. Özellikle Behçet hastalığında, bazı yazarlar TNF- $\alpha$  inhibitörlerini birinci basamak tedavi olarak önermektedir. Öte yandan, certolizumab ve golimumab gibi diğer TNF- $\alpha$  blokörlerine ilişkin klinik veri sayısı sınırlı olup, bu ajanların etkinliği konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç

vardır (49). Plasental geçiş göstermemesi nedeniyle, certolizumab gebelik sürecinde üveit tedavisine ihtiyaç duyan hastalar için potansiyel bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebilir. Etanercept, oküler inflamatuvar hastalıklar için etkili değildir. Hatta romatoid artrit (RA) tedavisinde kullanılan etanerceptin, paradoksal olarak önemli sayıda yeni üveit vakasıyla ilişkilendirildiği bilinmektedir. Sonuç olarak, mevcut kılavuzlar etanercepti üveit tedavisinde önermemektedir (50).

### **Adalimumab (ADA)**

Adalimumab (ADA), tümüyle insan kaynaklı bir IgG1 monoklonal antikor olup, TNF- $\alpha$ 'ya karşı geliştirilmiştir ve enfeksiyöz olmayan üveit tedavisinde FDA onayı alan ilk sistemik biyolojik ajandır. Subkutan (s.k.) yolla uygulanan bu ilaç, hastalar tarafından evde kendi kendine uygulanabilir. Tedaviye genellikle 80 mg'lık bir başlangıç dozu ile başlanır; bu dozu izleyen bir hafta sonra ise 40 mg/0.8 mL şeklinde, iki haftada bir idame dozları uygulanır. Tamamen insan antikoru yapısında olması nedeniyle, ADA'nın immunojenitesi infliksimaba göre daha düşüktür. Uygulama bölgesinde lokal enjeksiyon reaksiyonları gelişebilse de, bu yan etkiler çoğunlukla hafif düzeyde kalır. MTX ile kombine kullanımı, adalimumabın serum konsantrasyonunu artırırken, antikor gelişim riskini azaltmaktadır (51,52).

VISUAL III alışması da dahil olmak üzere çeşitli klinik araştırmalar, enfeksiyöz olmayan üveite sahip erişkin bireylerde ADA tedavisinin, hem aktif hastalık döneminde hem de remisyonun sürdürülmesinde plaseboya kıyasla anlamlı tedavi başarısı sağladığını ortaya koymuştur. Hastalığın başlangıç evresinden bağımsız olarak, ADA ile tedavi edilen olgularda ataksız dönemlere ulaşma oranı daha yüksek saptanmış ve bu etkinin 52 haftaya kadar sürdüğü gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, ADA grubunda plasebo ile karşılaştırıldığında advers olaylar ve ciddi yan etkilerin daha yüksek oranda bildirildiği dikkat çekmektedir (53).

ADA, infliksimaba yanıt vermeyen ya da tolerans geliştiren hastalar için etkili bir alternatif tedavi seçeneği sunmaktadır. Ayrıca, infliksimab ile hastalık kontrolü sağlanmış ancak tedaviye s.k. enjeksiyon yoluyla devam etmek isteyen olgularda uygun bir geçiş tedavisi olarak değerlendirilebilir (54).

### **İnfliksımab**

İnfliksımab, TNF- $\alpha$ 'ya karşı geliştirilmiş, fare ve insan kaynaklı bölgeleri içeren kimerik bir IgG1 kappa monoklonal antikordur. Tedaviye genellikle 5–10 mg/kg doz aralığında intravenöz infüzyon ile başlanır. Başlangıç protokolü kapsamında infüzyonlar 0., 2. ve 6. haftalarda uygulanır; ardından idame tedavisi olarak, uygulama her 4 ila 8 haftada bir tekrarlanır (55).

İnfliksımab, Behçet üveiti, sarkoidoz, VKH hastalığı ve HLA-B27 ile ilişkili AÜ gibi çeşitli non-enfeksiyöz üveit formlarında aktif inflamasyonun baskılanması ve nükslerin önlenmesinde etkinliği kanıtlanmış bir biyolojik ajandır. Bununla birlikte, tedaviye bağlı olarak gelişebilecek yan etkiler arasında ilaç kaynaklı lupus benzeri semptomlar, sistemik vasküler tromboz, konjestif kalp yetmezliği, yeni ortaya çıkan maligniteler, demiyelinizan hastalıklar ve vitreus kanaması sayılabilir. Ayrıca, üçten fazla infüzyon uygulanan hastaların yaklaşık %75'inde antinükleer antikor (ANA) pozitifliği geliştiği bildirilmiştir (56).

#### **2.2.4.2.2.2. Diğer Biyolojik Ajanlar**

### **Tosilizumab**

Tosilizumab, interlökin-6 (IL-6) reseptörüne bağlanarak IL-6 aracılı sinyal iletimini inhibe eden, insan kaynaklı bir monoklonal antikordur ve öncelikli olarak RA tedavisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı vakalarda enfeksiyöz olmayan üveitin yönetiminde de etkili olabileceği gösterilmiştir (57). Bu konuda yapılan STOP-Uveitis adlı randomize kontrollü çalışmada (n = 37), enfeksiyöz olmayan üveite sahip hastalara 6 ay süreyle intravenöz tosilizumab (4 veya 8 mg/kg) uygulanmış ve sonuç olarak görme keskinliğinde artış, santral makula kalınlığında azalma ile vitreus opasitelerinde belirgin olarak azalma saptanmıştır. Bu çalışma, klasik immünmodülatör tedavilere yanıtı olmayan veya bu tedavilere intolerans gelişen hastalarda, tosilizumabın biyolojik ajan olarak etkili bir alternatif olabileceğini ortaya koymuştur. Biyolojik ajanların üveit tedavisindeki rolünü destekleyen önemli öncü çalışmalardan biridir (57,58).

## **Rituksimab**

Rituksimab, CD 20 yüzey antijenine sahip hücrelere, özellikle olgun B lenfositlerine karşı geliştirilmiş kimerik bir monoklonal antikordur. Genellikle her 6 ayda bir intravenöz infüzyon şeklinde uygulanmaktadır. Klinik uygulamalarda Behçet hastalığına bağlı retinal vaskülit, granülomatoz polianjitis ve RA ilişkili sklerit gibi immün sistemi etkileyen hastalıklarda etkinliği gösterilmiştir. Ayrıca, çeşitli vaka serileri rituksimabın dirençli JİA ile ilişkili üveit olgularında da tedavi başarısı sağlayabildiğini ortaya koymuştur. Özellikle KS ve çoklu immünmodülatör tedavilere yanıt alınamayan vakalarda, rituksimab potansiyel bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilmektedir (59,60).

## **İnterferon (IFN) alfa-2a/2b**

İnterferon (IFN) alfa-2a ve alfa-2b, s.k. yolla uygulandığında bazı non-enfeksiyöz üveit tiplerinde terapötik etki göstermektedir. Özellikle Behçet hastalığına bağlı üveit olgularında, antiviral, immünmodülatör ve anti-anjiyojenik özellikleri sayesinde inflamasyonun baskılanmasında yüksek başarı oranlarına ulaşılmış; çeşitli çalışmalarda bu oranın %90'a yaklaştığı bildirilmiştir. Buna karşın, Behçet hastalığı dışındaki üveit olgularında IFN tedavisinin etkinliği daha sınırlı kalmakta; bu grupta inflamasyon kontrolü yaklaşık %60 oranında sağlanabilmektedir. Bazı çalışmalarda, IFN alfa-2b'nin üveite sekonder maküla ödemi tedavisinde etkili olabileceği gösterilmiştir. Bu tedaviye başlanmadan önce, hastanın mevcut immünmodülatör ajanlarının kesilmesi önerilir. Tedavinin başlangıcında grip benzeri semptomlar görülebilir; ayrıca IFN tedavisine bağlı başlıca yan etkiler arasında depresyon, lökopeni ve trombositopeni bulunur (61,62).

### **2.2.4.3. Üveitte Diğer Tedaviler**

Topikal olarak uygulanan midriyatik ve sikloplejik ajanlar, ÖÜ tedavisinde iris ile lens arasındaki arka sineşi oluşumunun önlenmesi ve mevcut sineşilerin açılması açısından terapötik önem taşımaktadır. Ayrıca, siliyer cisim spazmına bağlı olarak gelişen fotofobi ve oküler ağrının hafifletilmesinde de etkili rol oynamaktadırlar. Kısa etkili sikloplejik ajanlar olan %1 tropikamid, %1

siklopentolat hidroklorür ve %2,5 fenilefrin, pupilla hareketliliğini koruyarak sineşi riskini azaltmakta ve tedavi sonrasında pupilla fonksiyonunun daha hızlı normale dönmesini sağlamaktadır (63).

Oral karbonik anhidraz inhibitörleri, üveite bağlı gelişen maküler ödemin tedavisinde destekleyici ajanlar olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar, esas olarak RPE düzeyindeki iyon pompa aktivitesini modüle ederek etki gösterir. Böylece retinal vasküler sızıntıyı doğrudan hedeflemekten ziyade, RPE kaynaklı difüz sıvı geçişini azaltarak ödemin gerilemesine katkıda bulunabilirler (64).

İntrakameral uygulanan fibrinolitik ajanlar, özellikle rekombinant doku plazminojen aktivatörü (r-tPA), katarakt cerrahisi sonrası gelişen yoğun fibrin reaksiyonlarının yönetiminde ve akut fibrinöz HLA-B27 ilişkili AÜ vakalarında terapötik amaçla kullanılmıştır (65).

#### **2.2.4.4. Üveitte Cerrahi Tedavi**

Üveit tedavisinde cerrahi yaklaşımlar, çoğunlukla hastalığın neden olduğu komplikasyonların yönetimi amacıyla uygulanmaktadır. Bununla birlikte, bazı cerrahi işlemler hem terapötik hem de tanısal amaçlar doğrultusunda gerçekleştirilir. Üveite bağlı olarak doğrudan gelişen ya da uzun süreli steroid tedavisine sekonder ortaya çıkan katarakt ve glokom gibi komplikasyonların cerrahi müdahale gerektirebildiği bilinmektedir. Bant keratopati ve korneal skarların tedavisinde çeşitli cerrahi teknikler kullanılabilir. Öte yandan, viral retinit, pars planit ve Behçet hastalığı gibi inflamatuvar hastalıklarda görülen regmatojen veya traksiyonel retina dekolmanlarının tedavisinde pars plana vitrektomi (PPV) gerekmektedir. Tanı amacıyla ön kamaradan sıvı örnekleme yapılabilirdiği gibi, bazı AÜ veya panüveit vakalarında da tanısal PPV uygulanmaktadır. Literatürde, cerrahi müdahalelerin üveite bağlı inflamasyonu ve makula ödemi azaltmada etkili olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (66).

Sonuç olarak cerrahi girişimler, üveit tedavisinde genellikle yardımcı ve tamamlayıcı bir yaklaşım olarak değerlendirilmekte olup, asıl tedavi yöntemi olarak tek başına yeterli değildir. Cerrahi müdahaleler, esas olarak tıbbi tedaviye dirençli

vakalarda, komplikasyon geliştiğinde veya tanı koyma sürecinde destekleyici olarak uygulanır. Bununla birlikte, bu işlemler tıbbi immünosüpresif tedavi ile eş zamanlı olarak planlandığında daha başarılı sonuçlar verebilmekte; cerrahi sonrası inflamasyonun kontrol altına alınması da medikal tedavinin devamlılığını gerektirmektedir. Bu bağlamda cerrahi yöntemler, üveitin doğrudan tedavisinden ziyade, sekellerin yönetimi ve hastalığın gidişatına yönelik müdahalelerde destekleyici rol üstlenmektedir (67,68).

### **2.3. İntraoküler İnflamasyon Mekanizmaları ve İmmünoloji**

Göz, immün sistemden kısmen ayrıcalıklı kabul edilen ve doğal immün toleransın fizyolojik olarak geliştiği organlardan biridir. Bu immün ayrıcalık, görme fonksiyonunun devamlılığını sağlamak amacıyla inflamasyona bağlı doku hasarını sınırlayan çok katmanlı bir immün regülasyon mekanizması aracılığıyla korunmaktadır. Söz konusu immün regülasyon; anatomik bariyerlerin varlığı, göz dokularındaki lenfatik drenajın sınırlı olması, antijen sunumunun ve immün hücre aktivasyonunun lokal düzeyde tutulması ve immün yanıtı baskılayan hücresel ve humoral faktörlerin birlikte ve uyum içinde çalışmasıyla sağlanmaktadır (69).

Gözde bulunan kan-aköz ve kan-retina bariyerleri, bağışıklık hücreleri ile makromoleküllerin intraoküler alanlara geçişini sıkı şekilde denetleyerek, gözün immün ayrıcalığını sürdürmesinde temel bir rol oynamaktadır. Ön kamarada dolaşan aköz humor, düşük protein içeriğine sahip olmasına karşın, immün yanıtların düzenlenmesinde rol oynayan sitokinler, nöropeptidler ve kompleman inhibitörleri gibi çeşitli biyolojik molekülleri içeren kompleks bir sıvıdır. Bu ortam, iris, siliyer cisim ve kornea endotel hücreleri ile bağışıklık sisteminin hücresel bileşenleri arasında düzenleyici bir iletişim ağı kurulmasına olanak tanır. Siliyer cisimde yer alan fenestralı kılcal damarlar, plazma proteinlerinin stromaya geçişine izin verirken, pigmentli ve pigmentsiz siliyer epitel tabakaları arasında yer alan sıkı hücre bağlantıları, büyük moleküllerin aköz humora doğrudan geçişini engelleyerek seçici geçirgenliğe sahip bir bariyer görevi üstlenir (70).

RPE, koryokapillaris ve koroid, gözün arka segmentinde immün yanıtın şekillenmesinde rol oynayan başlıca mikroçevresel yapılardır. Retina damar sistemini oluşturan endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar, iç kan-retina bariyerini meydana getirirken; RPE hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ise dış kan-retina bariyerini, yani retina ile koroid arasındaki moleküler geçişi sınırlayan yapıyı oluşturur. Koryokapiller damarlar yüksek geçirgenliğe sahip olup, plazma proteinlerinin koroid stromasına geçişine olanak tanır. Ancak gözde klasik anlamda işlev gören bir lenfatik drenaj sistemi bulunmamaktadır. Retina ve koroid dokusu, antijen sunumu yapabilme kapasitesine sahip mikrogliya, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi immün hücreleri barındırarak, lokal bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde görev alır (71).

Retinada yerleşik olarak bulunan mikrogliya hücreleri, özellikle ganglion hücreleri ile dış pleksiform tabaka arasında lokalize olur ve çevresel uyaranlara yanıt olarak morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler gösterebilir. Öte yandan, koroid ve koryokapiller bölgede bulunan makrofajlar ile dendritik hücreler, başlıca antijen sunucu hücreler (ASH) olarak görev yapar ve lokal immün yanıtların şekillenmesinde önemli rol oynar. RPE hücreleri ise hem fiziksel bariyer özelliği hem de immünmodülatör kapasitesiyle gözün immün ayrıcalığında merkezi rol üstlenir. Uygun uyarı koşullarında, bu hücreler HLA sınıf II moleküllerini ekspresse edebilir ve T lenfositlerle doğrudan etkileşime girerek adaptif bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesine katkıda bulunabilir (72). Ayrıca RPE hücreleri, TLR aracılığıyla patojenleri tanıma özelliğine sahiptir ve bu sayede doğuştan gelen immün yanıtların başlatılmasında önemli bir rol üstlenir. RPE hücrelerinin salgıladığı çeşitli çözünür immünoregülatör moleküller, ASH'ler ile efektör T lenfositlerin aktivasyonunu baskılayabilir; bunun yanı sıra, düzenleyici T hücreler ile miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerin indüklenmesini teşvik ederek göz içi immün yanıtların dengelenmesine katkıda bulunur (73).

Fizyolojik koşullar altında, retina ve koroid dokularında T ve B lenfositlerin varlığı oldukça sınırlıdır. Ayrıca, eozinofil ve nötrofil gibi granülosit hücre tipleri bu bölgelerde neredeyse hiç bulunmadığı bildirilmiştir (74). Bununla birlikte, çeşitli klinik veya deneysel inflamatuvar koşullar altında T ve B lenfositler, makrofajlar ve

nötrofiller gibi immün hücreler retina, koroid ve koryokapillaris bölgelerine infiltrasyon gösterebilir. Bu süreçte koroid dokusu, immün yanıtın düzenlenmesinde rol oynayan hücreler için birikim alanı oluşturarak potansiyel bir immün hücre rezervuarı işlevi görebilir (75).

Ön kamarada tanımlanmış olan ACAID (anterior chamber-associated immune deviation; ön kamaraya özgü bağışıklık toleransı) mekanizmasına benzer bir immün ayrıcalık, retina ve subretinal alanda da gözlemlenmektedir. Subretinal boşluğa uygulanan antijenlerin, güçlü bir sistemik T hücre yanıtı oluşturmada düzenleyici T hücrelerin aktivasyonunu teşvik edebildiği gösterilmiştir. Bu durum, gözün arka segmentinin de immün tolerojenik bir mikroçevreye sahip olduğunu ve lokal immün yanıtların sistemik immüniteden farklı şekilde düzenlendiğini ortaya koymaktadır (76). ACAID, gecikmiş tip aşırı duyarlılık ve sitotoksik T lenfosit yanıtlarının baskılandığı, bunun yerine düzenleyici T hücrelerin ön plana çıktığı tolerojenik bir immün profil oluşturur. Bu immün sapma/tolerans mekanizması, aynı zamanda antikor yanıtlarını kompleman sistemini aktive etmeyen izotiplere yönlendirerek, antikor aracılı doku hasarının engellenmesine katkı sağlar (77). Bu immün düzenleyici mekanizmalar, yalnızca inflamatuvar yanıtların kontrol altına alınmasında değil, aynı zamanda günümüzde önemi giderek artan retinal transplantasyon, gen tedavileri ve kök hücre temelli tedavi yaklaşımlarının başarısı açısından da kritik bir rol oynamaktadır. RPE, perisitler ve retina-koroid bileşenleri tarafından salgılanan sitokinler özellikle TGF- $\beta$ 2, immün mikroçevrenin yeniden şekillenmesinde temel düzenleyici faktörler arasında yer alır. Gözde gelişen bağışıklık toleransı, yalnızca dış kaynaklı patojenlere karşı değil; aynı zamanda otoantijenlere ve çeşitli terapötik girişimlere karşı da seçici bir denge kurarak, immün sistemin potansiyel zararlı etkilerini en aza indirirken görsel fonksiyonların sürdürülebilirliğini sağlamayı hedefler (78).

#### **2.4. Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi**

#### **2.4.1. Endoplazmik Retikulum (ER) Yapı ve Fonksiyonları**

ER, sitoplazmada yer alan, membran yapısına sahip ve birbirine bağlı alt yapılardan oluşan pleomorfik bir organeldir. İlk kez tanımlandığında, sitoplazma boyunca uzanan ince ve karmaşık bir dantel yapısına benzetilmiştir. Geniş membran yüzeyi ihtiyacını karşılamak için ER, hücre tipine ve işlevine bağlı olarak farklı dağılım ve katlanma desenleri sergiler ve bu sayede sitoplazma içinde ağ benzeri bir yapı meydana getirir. Sitoplazma içindeki bu geniş ağ yapısı, çok sayıda organelle bağlantı halindedir ve hücre içi ile dışı arasındaki sinyal iletişiminin düzenlenmesinde rol oynar. Fonksiyonel açıdan bakıldığında, ER yalnızca protein sentezi ve lipid metabolizmasında değil, aynı zamanda hücrel enerji dengesi ile metabolik yanıtların koordinasyonunda da önemli bir rol oynar. Bu yönüyle, hücre içinde dinamik bir "besin sensörü" gibi işlev görür. Hücrenin metabolik durumunu izleyerek çeşitli fizyolojik süreçleri yöneten ER, aynı zamanda hücre yaşamının sürdürülmesi veya apoptoz gibi ölüm programlarının tetiklenmesinde de belirleyici bir organel olarak görev yapar (79).

#### **2.4.2. Endoplazmik Retikulum (ER) Stres Yolakları**

Hücrel homeostazın bozulmasına neden olan hipoksi, açlık ve enfeksiyonlar gibi çeşitli stres faktörleri, ER'deki dengenin yeniden kurulmasını amaçlayan adaptif yanıtların devreye girmesine yol açar. Bu fizyopatolojik duruma ER stresi adı verilir. ER stresi geliştiğinde, hücre içi düzeni korumak amacıyla bazı koruyucu sinyal yolları aktive olur. Ancak bu düzenleyici mekanizmalar yetersiz kalırsa, hücre ölümüne yol açan süreçler tetiklenir. Uzun ya da şiddetli ER stresine maruz kalan hücrelerde, ölüm; mitokondriyal yolla ilerleyen intrinsek apoptoz, ekstrinsek apoptoz sinyalleme, nekroz/nekroptoz veya otofaji gibi farklı mekanizmalarla gerçekleşebilir. ER stresine verilen hücrel yanıt; stresin türüne, süresine ve şiddetine göre değişkenlik gösterir. Dolayısıyla, ER stresi yalnızca hücrel dengeyi korumaya yönelik bir yanıt mekanizması değil, aynı zamanda pek çok hastalığın patogeneğinde ortak rol oynayan önemli bir süreçtir. Özellikle nörodejeneratif hastalıklar, kanser, metabolik bozukluklar ve inflamatuvar süreçlerde ER stresinin önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bu nedenle ER stresi,

birçok farklı patolojik durumda hedeflenebilecek potansiyel bir terapötik odak olarak değerlendirilmektedir (80,81).

Hücre ER stresine maruz kaldığında, bu durumu algılayan bazı sensör proteinlerin aktivasyonu ile hücresel dengeyi yeniden kurmaya yönelik ardışık yanıtlar devreye girer. ER stresinin başlıca nedenlerinden biri, protein katlanma sürecindeki bozulmalardır. Bu durumda, katlanmamış protein yanıtı (KPY) olarak bilinen sinyal yolları aktive olur. KPY, yanlış katlanmış proteinlerin birikimini önlemek için koruyucu proteinlerin sentezini artırır; aynı zamanda genel protein sentezini baskılayarak ER stresini azaltır. Bu yanıt, üç temel sensör protein olan PERK, IRE1 ve ATF6 aracılığıyla düzenlenir. KPY kapsamında ayrıca hatalı proteinlerin uzaklaştırılması, protein katlama kapasitesinin artırılması ve gerektiğinde otofajinin uyarılması gibi mekanizmalar da devreye girer. Sürecin sonunda aktive olan XBP1, ATF4 ve CHOP gibi transkripsiyon faktörleri, hücre içi dengenin yeniden sağlanmasına katkı sunar (80,82).

ER stresine yanıt oluşturan üç temel sensör proteininin lümenal bölgelerinde bulunan Glukoz Düzenleyici Protein 78 (GRP78), bir şaperon olarak görev yapar ve bu sensörleri inaktif durumda tutarak hücresel homeostazı sürdürür. ER lümeninde yanlış katlanmış veya anormal proteinlerin birikmesi durumunda GRP78 bu sensörlerden ayrılır ve bunun sonucunda KPY olarak bilinen sinyal yolları aktive olur. Günümüzdeki çalışmalar, KPY'nin sadece protein katlanma bozukluklarına yanıt vermekle kalmayıp, aynı zamanda bağışıklık düzenlemesi, metabolik homeostazın korunması ve hücresel farklılaşma gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde de önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (82,83).

## **2.5. Apoptozis**

Apoptoz, hücre çoğalmasını dengelemek, doku homeostazını sürdürmek ve hasarlı ya da işlevini yitirmiş hücreleri elimine etmek üzere gelişmiş programlı bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Bu süreç; hücre hacminde azalma, kromatin yoğunlaşması ve kaspaz enzimlerinin aktivasyonu gibi karakteristik yapısal değişikliklerle ilerler. Apoptoz iki ana yolak üzerinden başlatılır: ekstrinsik yol,

TNF ailesi ligand-reseptör etkileşimleriyle (örneğin FasL/FasR, TNF- $\alpha$ /TNFR1) aktive olurken; intrinsik yol ise DNA hasarı, büyüme faktörü eksikliği veya ER stresi gibi içsel sinyallere yanıt olarak mitokondri kaynaklı gelişir. Her iki yolak da kaspazların aktifleşmesiyle hücre ölümüne yol açar. Mitokondriyal yolda sitokrom c, Smac/Diablo ve HtrA2/Omi gibi proteinler sitoplazmaya salınır; bunlar apoptotik sinyalleri artırırken, Bcl-2 ailesi proteinleri bu süreci dengeleyici rol oynar. Bcl-2, Bcl-xl gibi antiapoptotik proteinler hücreyi korurken; Bax, Bak gibi proapoptotik proteinler mitokondri zarının geçirgenliğini artırarak apoptozisi başlatır. Bu sayede hücre yaşamı ve ölümü arasında hassas bir denge sağlanır (84).

## **2.6. Tauroursodeoksikolik asit (TUDCA)**

TUDCA, ursodeoksikolik asidin (UDCA) taurin ile konjugasyonu sonucu oluşan ve endojen olarak sentezlenen hidrofilik bir safra asidi türevidir. İnsan metabolizmasında yalnızca düşük konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen, özellikle Ursidae (aygiller) familyasına ait türlerin safrasında yüksek oranlarda yer almaktadır. TUDCA, ER stresini hafifletme ve hücre içi proteinlerin düzgün katlanmasını destekleme kapasitesi sayesinde 'kimyasal şaperon' olarak sınıflandırılmakta ve bu özelliğiyle hücresel homeostazın korunmasına katkıda bulunan farmakolojik açıdan değerli bir molekül olarak değerlendirilmektedir (85).

Klinik uygulamalarda, TUDCA'nın hepatoprotektif etkileri nedeniyle primer biliyer kolanjit gibi karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanımı onaylanmıştır. Ayrıca, nörodejeneratif hastalıklar, metabolik bozukluklar ve inflamatuvar durumlarda potansiyel terapötik etkileri araştırılmaktadır. Sonuç olarak, TUDCA, hem klinik hem de deneysel çalışmalarda, ER stresinin azaltılması ve inflamasyonun modülasyonu yoluyla hücresel koruma sağlamada önemli bir bileşik olarak öne çıkmaktadır. TUDCA, UDCA'ya kıyasla ER stresini azaltmada, protein katlanma yanıtını düzenlemede ve apoptozun engellenmesinde daha etkili bir ajandır. Bu yönleriyle TUDCA, farklı hastalıkların tedavisinde değerlendirilebilecek umut verici bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmaktadır (86).

## **2.7. Deneysel Üveit Modeli**

EİÜ, üveit patogenezinin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan ve akut inflamatuvar yanıtı modelleyen bir deneysel sistemdir. Bu modelde, gram negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit (LPS), deney hayvanlarına intravenöz, i.v., i.p. veya s.k. yolla uygulanabilir. İlk olarak 1943 yılında Ayo tarafından tanımlanan bu model, LPS'nin konak organizmadaki makrofajların CD14 reseptörlerine bağlanması yoluyla güçlü bir bağışıklık yanıtını tetiklemesi esasına dayanır. Bu etkileşim, inflamatuvar sürecin başlatılmasında ve immün sistem aktivasyonunun anlaşılmasında önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Bu uyarılma sonucunda kompleman sisteminin aktive olmasının yanında başta TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8 olmak üzere çeşitli proinflamatuvar sitokinler, oksidatif stres molekülleri ve araşidonik asit metabolitleri salınır. LPS'nin subletal dozda uygulanmasıyla genellikle 24 saat içinde zirve yapan, miyozis, konjonktival hiperemi, siliyer hiperemi, protein sızıntısı ve ön kamarada hücre infiltrasyonu ve bulanıklık ile karakterize oküler inflamasyon gelişir. Nötrofillerin baskın olduğu bu ilk fazı, monosit infiltrasyonunun öne çıktığı ikinci faz izler. Kan-aköz bariyerin bozulması ve aköz humordeki protein düzeylerinin artışı, modelin üveitte gözlenen inflamatuvar süreçleri başarıyla taklit etmesini sağlar. EİÜ modeli, sitokinler, adezyon molekülleri ve immün düzenleyici ajanların rolünü araştırmak için vazgeçilmez bir deneysel araç olarak kabul edilmektedir (87).

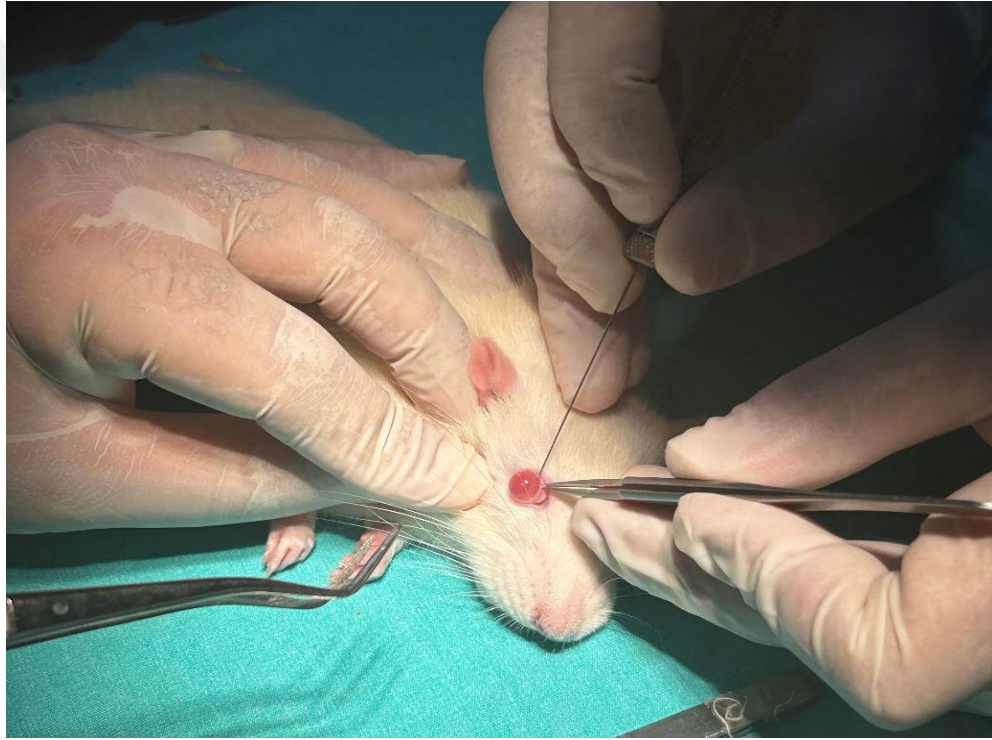
### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2023 tarih ve 15 sayılı kararıyla etik açıdan uygun bulunmuştur ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göz Hastalıkları, Biyokimya, Patoloji ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalları'nın katkılarıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, ortalama ağırlıkları 400-450 gram olan, 6 aylık 48 adet Wistar-albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Denekler, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde,  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  oda sıcaklığında, 12 saat ışık (07:00–19:00) ve 12 saat karanlık (19:00–07:00) koşullarında özel olarak yaptırılmış kafeslerde barındırılmıştır. Yemler çelik kaplarda, su ise cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verilmiştir. Tüm gruba standart sıçan yemi sağlanmış, su ve yiyecek alımları *ad libitum* şekilde yapılmış ve hayvanların günlük bakımları altlarının temizlenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışma, hayvanların sağ gözleri kullanılarak yürütülmüştür.

#### 3.1. Deneyel Hayvan Modelinin Oluşturulması ve Deney Grupları

Çalışmaya 48 sıçan dahil edildi. Sıçanlar, her biri 12 denekten oluşan 4 gruba rastgele ayrıldı: Grup 1, kontrol; Grup 2, LPS; Grup 3, TUDCA; Grup 4, LPS + TUDCA. Üveit daha önce tarif edildiği gibi tek bir intravitreal (i.v.) LPS enjeksiyonu ile indüklendi (87). Sıçanlar i.p. olarak 80 mg/kg ketamin ve 12 mg/kg ksilazin hidroklorür ile anestezi altına alındı. *Escherichia coli*'den elde edilen LPS (kat. no: L4391, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, ABD) 1 mg/ml konsantrasyonda olacak şekilde steril PBS içerisinde çözülerek 30 gauge iğne yardımıyla üst temporal bölgeden konjonktiva ve sklera geçilerek 5 µl hacminde vitreus boşluğuna enjekte edildi. TUDCA grubu için; TUDCA literatürde daha önce tanımlandığı üzere (kat. no: 580549, EMD Millipore Corp. Billerica, MA, ABD), %0,9'luk NaCl içinde çözülerek 250 mg/kg olacak şekilde i.p. uygulandı (88). LPS+TUDCA grubu için; her sıçana ilk olarak i.p. TUDCA (250 mg/kg) ve 2 saat sonra 5 µL LPS i.v. olarak uygulandı. Kontrol grubundaki sıçanlara aynı volümde %0,9'luk NaCl i.p. olarak uygulandı. Ardından 2 saat sonra i.v. steril PBS uygulaması gerçekleştirildi.

Sıçanlarda ağrı oluşmaması için i.v. enjeksiyonları takiben 12 saatlik aralıklarla iki kez intramüsküler (i.m.) tramadol hidroklorür (2 mg / kg; Contramal, Abdi İbrahim, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Uygulamalardan 24 saat sonra tüm gruplarda sağ gözler biyomikroskop altında detaylı olarak değerlendirilerek klinik olarak üveit skorlaması yapıldı ve ön segment fotoğrafları çekildi daha sonra enükleasyon gerçekleştirildi. Sakrifiye edilen sıçanlardan alınan gözler patolojik inceleme ve immün histokimyasal boyamalar için formalin ile muamele edilerek toplandı. Biyokimyasal parametrelerin ölçümü için alınan gözlerden retina tabaka diseksiyonu yapılarak çıkarılan dokular 300 µl PBS içerisinde -80° C’de saklandı.



**Resim 3.1.** İntravitreal LPS enjeksiyonunun uygulanması (LPS grubu).

**Grup I – Kontrol:** Bu gruptaki sıçanlara i.p. yoldan %0,9 NaCl çözeltisi, TUDCA çözeltisi ile eşdeğer hacimde enjekte edilmiştir. İki saat sonra, her bir göze 5 µL steril fosfat tamponlu salin PBS i.v. olarak uygulanarak kontrol grubu oluşturulmuştur.

**Grup II – LPS:** Deneysel üveit modeli oluşturmak amacıyla, *Escherichia coli* kaynaklı LPS (kat. no: L4391, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) PBS

içerisinde 1 mg/mL konsantrasyonunda çözülmüştür. Bu çözeltiden 5 µL hacmindeki doz, i.v. yolla uygulanarak üveit indüklenmiştir.

**Grup III – TUDCA:** Bu gruptaki sıçanlara, %0,9 NaCl içinde çözülen TUDCA (kat. no: 580549, EMD Millipore Corp., Billerica, MA, ABD), 250 mg/kg dozunda i.p. olarak uygulanmıştır.

**Grup IV – LPS + TUDCA:** Bu grupta, LPS ile deneysel üveit indüksiyonundan iki saat önce, her bir hayvana 250 mg/kg dozunda TUDCA i.p. olarak enjekte edilmiştir. Ardından, LPS i.v. olarak uygulanmıştır.

### 3.2. Üveitin Klinik Olarak Değerlendirilmesi

Klinik skorum Behar-Cohen ve arkadaşlarının daha önce belirttiği gibi değerlendirilmiştir (89).

Grade 0 : İnflamasyon bulgusu yok,

Grade 1 : İris ve konjonktiva damarlarına bağlı hiperemi,

Grade 2 : Ön kamarada flare ile iris ve konjonktiva damarlarına bağlı hiperemi,

Grade 3 : Ön kamarada yoğun flare ve yoğun iris hiperemisi,

Grade 4 : Grade 3 bulgularına ek olarak pupiller alanda fibrinöz eksüda ve posterior segmentin görülmesini engelleyen bulanıklık.

LPS enjeksiyonunu takiben 24. saatte biyomikroskopik olarak muayene edilmiştir. Göz içi inflamasyonun yoğunluğu, klinik skorum sistemi ile değerlendirilmiştir.

### 3.3. Retinal Kalınlığın Ölçümü

Uygulamadan sonra elde edilen göz dokularından parafin kesitler alınarak hematoxilen & eozin (H&E) ile boyaması yapıldı. H&E boyalı 4 mikron

kalınlığındaki parafin kesitlerde total retina kalınlığı değerlendirildi. Slaytlar ışık mikroskobu altında (Olympus IX81, Tokyo, Japonya) analiz edildi. Niceliksel analiz ImageJ-Fiji programı kullanılarak yapıldı. Elde edilen sonuçlar 8.4.3 GraphPad Prism yazılımı ile analiz edildi.

### 3.4. Hücre Kültürü

ARPE-19 insan retina pigment epitel hücre hattı American Type Culture Collection tarafından sağlanmıştır (ATCC; Manassas, Virginia, ABD). Hücrelerin çoğaltılması, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) ve Ham's Nutrient Mixture (F-12)'nin 1:1 oranında karışımı (Biowest, L0093, Nuaillé, Fransa) kullanılarak gerçekleştirildi. 500 ml'lik besiyeri içerisine son konsantrasyonu % 10 (v/v) olacak şekilde fetal bovin serum (FBS; Capricorn Scientific, FBS-11A, Ebsdorfergrund, Almanya), son konsantrasyonu %1 (v/v) olacak şekilde L-Glutamin (Biowest, L4687, Nuaillé, Fransa) son konsantrasyonu % 1 (v/v) olacak şekilde 100 U/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisin (Gibco, 15140-122, Life Technologies Corporation, Grand Island, ABD) ve her 500 ml besiyeri için 100 µl olacak şekilde Amfoterisin-B (Gibco, 15290-026, Life Technologies Limited, Paisley, İngiltere) eklendi. Hazırlanan karışım 0,22 µm bottle-top filtreden geçirilerek steril hale getirildi ve kullanılmak üzere +4 °C'de saklandı. ARPE-19 hücreleri %80-90 yoğunluğa ulaştıkları zaman %0,05 tripsin-EDTA (Gibco, Life Technologies Limited, Paisley, İngiltere) ile tutundukları flasksın yüzeyinden kaldırıldı ve yeni flaskslara pasajlandı. Çalışmamız boyunca 7. ile 14. arası pasaj hücreleri kullanıldı. Hücresel üveit modeli oluşturmak için 1 mg/ml stok LPS steril PBS içerisinde hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltisinden 5, 10, 25 ve 50 µg/ml konsantrasyonlarındaki dozlar 8-12-24 saat inkübasyon sürelerinde uygulanarak hücre canlılığı doz ve saate bağlı olarak analiz edildi (90).

TUDCA'nın suda çözünürlüğü (100 mg/ml) göz önünde bulundurularak 5,2 mg TUDCA (Moleküler Ağırlık: 521 g) 1 ml steril %0,9'luk izotonik NaCl çözeltisi içinde çözüldü. TUDCA stok solüsyonu (10 mM) kullanılarak 0,1, 0,25, 0,5 ve 0,75 mM ara dozlar hazırlandı ve 24 saat inkübasyon süresi sonunda TUDCA'nın hücre canlılığına olan etkisi değerlendirildi (91).

### 3.5. Hücre Canlılığı Analizi

Hücre canlılığı, mitokondriyal metabolik aktiviteye dayalı MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) kolorimetrik testi ile belirlendi. 5 mg MTT tozu 1 ml PBS içinde çözüldü. Ardından hücre kültüründe kullanılmak amacıyla 0,22 µm çapındaki filtreden geçirilerek steril hale getirildi. 96 kuyucuklu plakanın her kuyucuğunda 10.000 hücre olacak şekilde 200 µl hacimde hücre ekildi. Ekimi yapılan hücreler yüzeye tutunmaları amacıyla 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon bitiminde her kuyucuğa 200 µl belirlenen konsantrasyonlarda doz uygulamaları yapıldı ve 12-18-24 saat inkübasyon süreleri bittikten sonra karanlık ortamda MTT protokolü gerçekleştirildi. İnkübasyon medyumunu aspire edildi ve her kuyucuğa medyum ile hazırlanmış olan %10 (v/v) MTT çözeltisinden 100 µl eklendi. Plaka dışından ışık geçirmeyecek şekilde kaplanarak 2 saat boyunca 37 °C, %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe bekletildi. İnkübasyon bitiminde kuyucukların dibinde mor renkli formazan kristallerinin oluştuğu görüldü. Kuyucuklardaki sıvı aspire edildi ve ardından her bir kuyucuğa 100 µl DMSO eklendi. Formazan kristallerinin çözünmesi için 96 kuyucuklu plaka 5 dakika boyunca yatay çalkalayıcı üzerinde bekletildi. Bu aşamadan sonra mikropilaka okuyucuda (MicroQuant Plate Reader, Bio-Tek Instruments Inc. Vermont, ABD) 570 ve 690 nm’de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. 690 nm’deki absorbans değerleri 570 nm’deki absorbans değerlerinden çıkarıldı. Hücre canlılığının yüzdesi, kontrol grubundaki absorbansın %100 hücre canlılığını temsil edeceği şekilde hesaplandı [Hücre canlılığı (%) = (Abs örnek/Abs kontrol) × 100]. MTT testi sonuçlarına göre her bir hücre hattı için dört farklı deney grubu oluşturuldu. 1) Kontrol [sağlıklı ARPE-19 hücreleri]; 2) LPS [24 saat 5 µg/ml LPS ile muamele edilmiş hücreler]; 3) TUDCA [24 saat 0,5 mM TUDCA uygulanan hücreler]; 4) LPS+TUDCA [24 saat inkübasyonda LPS ve TUDCA ile muamele edilmiş hücreler].

### 3.6. Retina Dokusunda İmmünohistokimyasal Boyama

Alınan gözler %10 formalin tampon solüsyonunda fikse edildikten sonra transvers düzlemde kesildi. Dokular fosfat tamponunda yıkandıktan sonra parafinde bloklanarak 4 µm kesitler alındı. Peroksidaz boyaması için kesitler deparafinize

edilecek, rehidrasyondan sonra Tris tamponunda yıkandı. İmmünohistokimyasal boyama için Dako Omnis Kapalı Sistem İmmünohistokimya Boyama Cihazı (Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) kullanıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için kesitler %3 hidrojen peroksit ile 5 dk muamele edildi. Primer antikor uygulaması 60 dk 25 °C’de gerçekleştirildi. Tavşan poliklonal anti-GRP78 (1:200, bs-1219R, Bioss, Massachusetts, ABD), tavşan poliklonal anti-kaspaz 3 (1:300, BT-AP01199, BTLAB, Zhejiang, Çin) ve tavşan poliklonal anti-kaspaz 12 (1:200, ab62463, Abcam, İngiltere) primer antikorları kullanıldı. Negatif kontrol grupları için primer antikor yerine %5’lik normal keçi serumu (NKS) eklenerek boyama protokolü uygulandı. Doku kesitlerinde sekonder antikor olarak biyotinle işaretli antikor uygulandı ve renklenme reaksiyonu için streptavidin-peroksidaz konjugatı kullanıldı. Dokuda görülen boyanma ImageJ-Fiji programı kullanılarak kuantifiye edildi. Elde edilen sonuçlar 8.4.3 GraphPad Prism yazılımı ile analiz edildi.

### **3.7. İmmünofloresan Boyama**

Flask içerisinde %80-90 yoğunluğa ulaşan hücreler tripsinizasyon işlemi ile kaldırıldı ve hücre sayımı yapılarak her kuyucuğa yaklaşık 100.000 hücre olacak şekilde 8 kuyucuklu lama (Merck Millipore, Cork, İrlanda) ekim yapıldı. Ekim yapıldıktan sonra lam gece boyunca 37 °C, %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe bekletilerek hücrelerin tutunması ve morfoloji kazanması sağlandı. %70-80 yoğunluğa ulaşmış olan hücrelere deney gruplarına göre doz uygulamaları yapıldı ve sonrasında besiyeri aspire edilerek kuyucuklar soğuk PBS ile iki kez yıkandı. Hücreler oda sıcaklığında ve taze hazırlanmış %4 paraformaldehit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ile 10 dakika fikse edildikten sonra üç kez soğuk PBS ile yıkandı. Yıkamanın ardından PBS içerisinde hazırlanmış %0,2 Triton-X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) ile 10 dakika permeabilizasyon yapıldı. Permeabilizasyonu takiben 5 kez soğuk PBS ile yıkama yapıldı ve 30 dakika PBS içerisinde hazırlanmış %5 NKS ile inkübe edilerek bloklama yapıldı. 30 dakikalık inkübasyonun ardından bloklama çözeltisi uzaklaştırıldı ve kuyucuk başına 200 µl olacak şekilde tavşan poliklonal anti-GRP78 (1:200, bs-1219R, Bioss, Massachusetts, ABD), tavşan poliklonal anti-kaspaz 3 (1:300, BT-AP01199,

BTLAB, Zhejiang, Çin), tavşan poliklonal anti-kaspaz 12 (1:200, ab62463, Abcam, İngiltere) primer antikorları eklenerek 4 °C'de ve karanlıkta bir gece boyunca inkübe edildi. Ertesi gün chamber slidelar oda sıcaklığında 5 kez PBS ile yıkandı. Ardından karanlık ortamda her kuyucuğa 200 µL Alexa Fluor-488 konjuge keçi anti-tavşan (1:1000, #ab150077, Abcam, Cambridge, MA, ABD) sekonder antikoru eklendi ve 45 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon bitiminde kuyucuklar PBS ile 3 kez yıkandı. Yıkama işlemi bittikten sonra hücre çekirdeğini gözlemlemek için DAPI boyaması (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, ABD) yapıldı. Lamaların görüntülenmesi floresan mikroskopta (Olympus IX81, inverted fluorescein microscope Tokyo, Japonya) uygun filtreler kullanılarak yapıldı. Yapılan görüntülemelere göre floresans yoğunluğu NIH ImageJ 1.53e yazılımıyla analiz edildi. Her grup için hücrelerin floresans ışıma yapan bölgeleri baz alındı ve floresan yoğunluk ölçüldü. Hücrelerde doğrulanmış total floresans (CTCF) miktarlarını hesaplayabilmek için “CTCF= Integrated Yoğunluk – (Seçilen hücrenin alanı x Background okumaları ortalaması)” formülü kullanıldı.

### 3.8. TUNEL Boyama

Retinal doku örneklerinde apoptozun tespiti, üretici talimatlarına uygun olarak TUNEL *İn Situ* Apoptoz Kiti (E-CK-A331, Elabscience, Houston, Teksas, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu kit, horseradish peroksidaz (HRP) ve diaminobenzidin (DAB) aracılığıyla, TdT (Terminal deoksinükleotidil transferaz) katalizli dUTP uç işaretleme TUNEL yöntemiyle apoptozun saptanmasını amaçlamaktadır. Parafin bloklardan elde edilen doku kesitleri, deparafinizasyon amacıyla 37 °C'de bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Bunu takiben doku kesitleri, kit protokolü doğrultusunda azalan konsantrasyonlarda etanol serisinden geçirilmiştir. Yıkama işleminin ardından her kesite 100 µL 1X proteinaz K çözeltisi uygulanarak 37 °C'de 20 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Sonrasında doku kesitleri, endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek amacıyla hazırlanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonunda 20 dakika inkübe edilmiştir. İzleyen aşamada her kesite 100 µL TdT dengeleme solüsyonu ilave edilmiş ve 37 °C'de 30 dakika süreyle inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Ardından her kesite 100 µL enzim solüsyonu eklenerek 37

°C'de 1 saat 20 dakika inkübe edilmiştir. Yıkama işlemi sonrası her kesite 100 µL Streptavidin-HRP konjugatı uygulanmış ve 37 °C'de 30 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Apoptozun görselleştirilmesi amacıyla her kesite 100 µL DAB substrat çözeltisi eklenmiş ve 5 dakika inkübe edilmiştir. Nükleer karşı boyama için Mayer's hematoksilin kullanılmıştır. Boyama işlemi sonrası, doku kesitleri ters alkol serisinden geçirilerek işlemler tamamlanmıştır.

Hücre kültüründe TUNEL boyaması için %80–90 konfluansa ulaşan hücreler tripsin ile flasktan uzaklaştırılarak sayılmış ve her kuyucuğa yaklaşık 10.000 hücre olacak şekilde 8 kuyucuklu chamber-slide'a ekilmiştir. Hücrelerin tutunması için plaklar 37 °C, %5 CO<sub>2</sub> inkübatörde bir gece inkübe edilmiştir. %70–80 yoğunluğa ulaşan hücelere deney gruplarına göre ajan uygulanmıştır. Sonrasında ortam uzaklaştırılmış, hücreler soğuk PBS ile üç kez yıkanmıştır. Hücreler %4 paraformaldehit ile 10 dk fikse edilip PBS ile yıkanmıştır. Ardından %0,2 Triton X-100 ile 10 dk permeabilize edilip tekrar PBS ile yıkanmıştır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 10 dk bloklama yapıldıktan sonra yine PBS ile yıkanmıştır. Her kuyucuğa 100 µL 1X Proteinaz K eklenerek 37 °C'de 10 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra 100 µL TdT Equilibration solüsyonu ve ardından TdT enzim solüsyonu uygulanarak sırasıyla 10 dk ve 1 saat inkübasyon yapılmıştır. Streptavidin-HRP ile 30 dk, ardından DAB ile 5 dk inkübasyon yapılmıştır. Karşı boyama Mayer's hematoksilin ile gerçekleştirilmiştir. Preparatlar alkol serisinden geçirilerek kapatılmış, ışık mikroskobu ile görüntülenmiş ve ImageJ-Fiji yazılımı ile analiz edilmiştir.

### **3.9. Kaspaz 3 Aktivite Tayini**

Kaspaz 3 aktivitesi doku ve hücre lizatlarından kaspaz 3 aktivite kiti kullanılarak ölçüldü. (E-CK-A383, Elabscience, Houston, Teksas, ABD). Test sarı pNA (p-Nitroanilin) oluşturmak için AC-DEVD-pNA substratını katalize edebilen kaspaz 3 aktivitesine dayanmaktadır. pNA, 405 nm'de absorpsiyona sahiptir. Deney gruplarındaki dokular 300 µL soğuk PBS ile homojenize edildi. Homojenatlar 11000xg'de 10-15 dakika boyunca santrifüjlenip süpernatant toplandı. Deney gruplarından elde edilen hücre pelletleri 100 µL soğutulmuş hücre lizis tamponu ile

süspanse edildi. Ardından hücreler tamamen parçalanana kadar sonikasyon (Bandelin Sonopuls HD 2070, Bandelin Elec., Almanya) yapıldı. 4° C'de 11000 × g'de 10-15 dakika santrifüj edilerek hücre lizatı elde edildi. Kit prospektusunda verilen ölçüm protokolü uygulandı ve örnekler 405 nm'de kolorometrik olarak ölçüldü. Örneklerde oluşan pNA miktarı standart eğriden hesaplandı ve bir ünite enzim aktivitesi, bir saatte 37°C'de 1 nmol Ac-DEVD-pNA'yı parçalayan enzim miktarı olarak kabul edilerek sonuçlar U/ mg protein olarak rapor edildi.

### **3.10. Protein Ölçümleri**

Retina dokusu ve ARPE-19 hücre lizatlarında protein konsantrasyonları 595 nm'de modifiye Bradford yöntemiyle ölçüldü. Yöntemde standart olarak bovin serum albümin (BSA) ile Coomassie Plus reaktifi içeren ticari kit kullanıldı (Pierce Chemical Company, Rockford, ABD). Protein konsantrasyonu BSA standart grafiği yardımıyla hesaplandı.

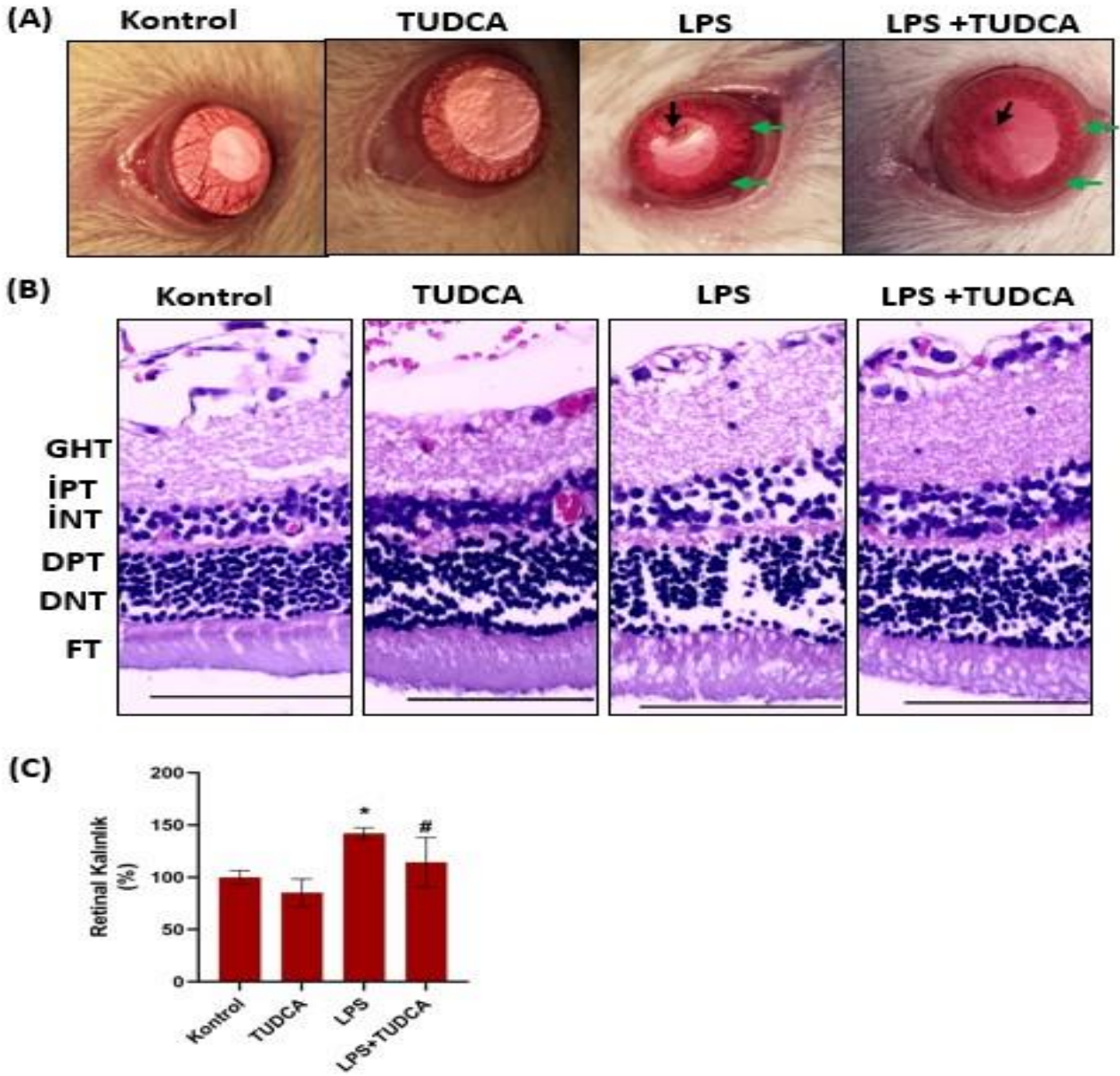
### **3.11. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler 8.4.3 GraphPad Prism yazılımı kullanılarak yapıldı. (GraphPad Yazılımı, San Diego, Kaliforniya, ABD). Normallik testleri ile veri dağılımı belirlendi. Normal olmayan veriler için parametrik olmayan testler kullanıldı. Deney grupları Kruskal-Wallis veya tek yönlü ANOVA kullanılarak karşılaştırıldı, ardından önemli farklılıklar bulunduğunda belirli grup farklılıklarını belirlemek için post-hoc testler yapıldı. Sonuçlar şekil açıklamalarında detaylandırılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. TUDCA'nın Endotoksin Kaynaklı Üveit Üzerine Etkisi

İlk olarak, TUDCA'nın sıçanlarda EIÜ üzerindeki etkilerini inceledik. Sıçanlara, LPS enjeksiyonundan 2 saat önce TUDCA verildi ve 24 saat sonra, gözlerin ön segmentinde inflamatuvar bulgular gözlendi ve görüntülendi. **Şekil 1A**'da gösterildiği gibi, kontrol grubunda veya tek başına TUDCA verilen grupta inflamatuvar yanıt gözlenmemiştir. LPS grubunda, LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra sıçanlarda konjonktival hiperemi, siliyer hiperemi ve ön kamarada bulanıklık ve fibröz eksüdalar görüldü. Bununla birlikte, bu klinik bulgular LPS+TUDCA grubunda daha hafif derecede izlendi. H&E ile boyanmış retina kesitlerinin histopatolojik incelemesinde, LPS verilen sıçanlarda 24 saat sonra ölçülen retina kalınlıklarının diğer deney gruplarına göre anlamlı olarak arttığını tespit ettik (**Şekil 1B**). Total retina kalınlık ölçümlerinin ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri, kontrol grubunda,  $100 \pm 6,39$ ; TUDCA grubunda  $85,30 \pm 13,14$ ; LPS grubunda  $141,95 \pm 5,54$  ve LPS+TUDCA grubunda  $114,19 \pm 23,86$  olarak hesaplandı (**Şekil 1C**). LPS+TUDCA grubunda retina kalınlığı, LPS grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulundu ( $p<0,001$ ).

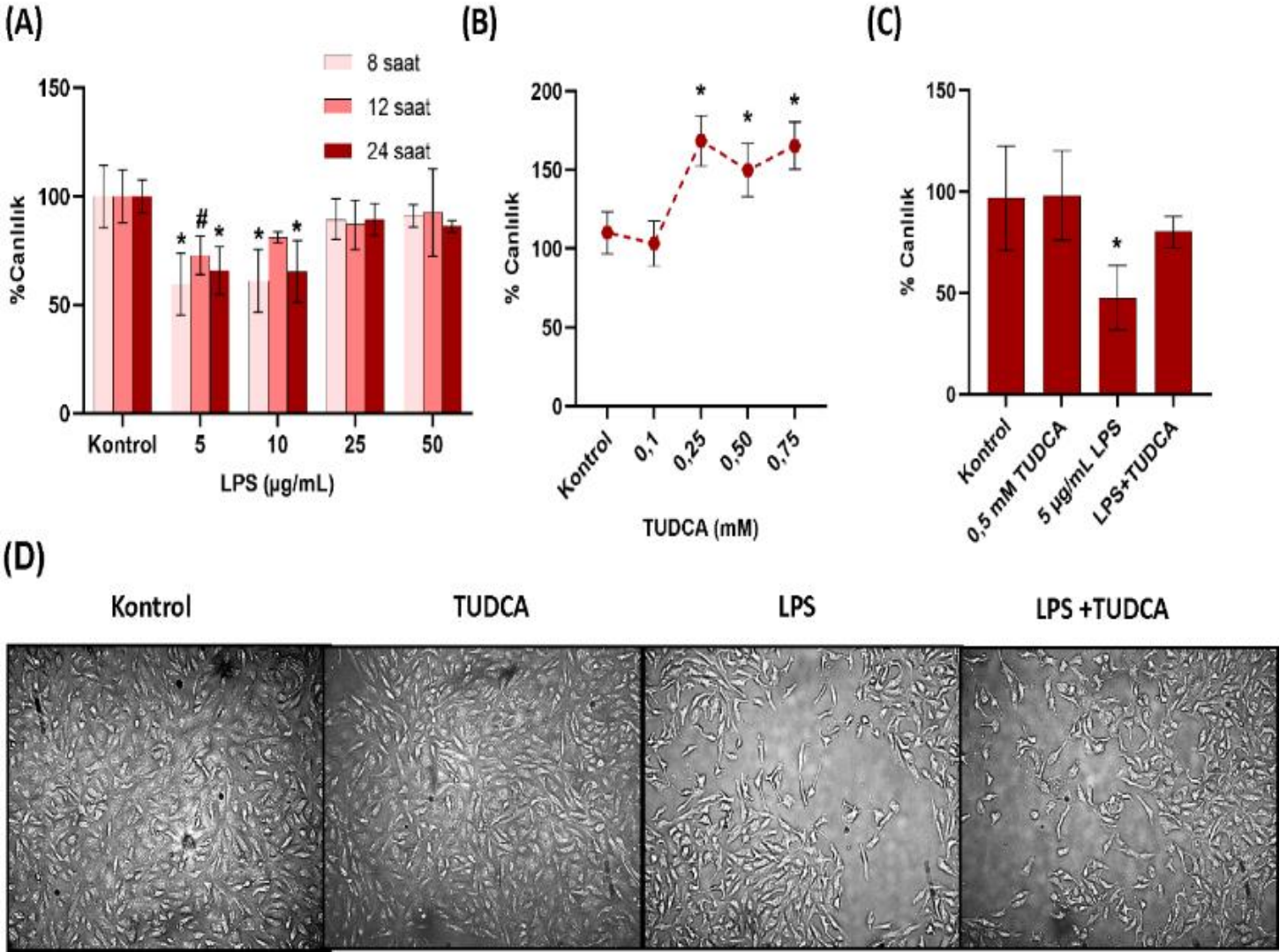


**Şekil 4.1. (A)** TUDCA'nın sıçan gözlerinde oküler inflamasyon üzerindeki etkisi. LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra oküler inflamasyon değerlendirildi. Dört farklı tedavi grubunun ön segmentinin temsili oküler görüntüleri. Kontrol ve TUDCA ile tedavi edilen sıçanlarda inflamasyon gözlenmedi. İntravitreal LPS uygulanan sıçanlarda myozis, fibrinöz eksüda (siyah ok) ve hiperemi (yeşil ok) meydana geldi. TUDCA ile tedavi edilen sıçanlarda, inflamatuvar yanıtın hafiflediği gözlemlenmiştir. **(B)** Retina kalınlığının değerlendirilmesi için H&E ile boyanmış doku kesitlerinin temsili görüntüleri. GHT, ganglion hücre tabakası; İPT, iç pleksiform tabaka; İNT, iç nükleer

tabaka; DPT, dış pleksiform tabaka; DNT, dış nükleer tabaka; FT, fotoreseptör tabakası. Ölçek çubuğu: 50 µm. **(C)** LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra tüm retina kalınlığı ImageJ Fiji programıyla değerlendirildi. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapmayı (SD) ve n=6'yı temsil etmektedir. Kontrol grubunda ölçülen total retinal kalınlık ölçümlerinin ortalama değeri %100 olarak değerlendirildi. İstatistiksel analiz için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey'in çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. \*, p=0,003 diğer tüm gruplar ile kıyaslandığında. #, p<0,001, LPS grubu ile kıyaslandığında.

#### **4.2. İnsan Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde TUDCA ve LPS Etkisi**

ARPE-19 hücrelerinin 25 ve 50 µg/ml LPS ile inkübasyonu 8-24 saat aralığında sitotoksisite göstermezken, 5 ve 10 µg/ml LPS istatistiksel olarak anlamlı ölçüde sitotoksikti (**Şekil 4.2A**). ARPE-19 hücrelerinin 24 saat boyunca 0,25, 0,50 ve 0,75 mM TUDCA ile inkübasyonu, kontrol ve 0,1 mM TUDCA gruplarına kıyasla hücre canlılığını önemli ölçüde arttırmıştır (**Şekil 4.2B**). Hücrelerin 24 saat 5 µg/ml LPS ile 0,5 mM TUDCA ile muamelesi, hücre canlılığını kontrol seviyelerine yaklaştırmış, LPS+TUDCA ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark oluşmamıştır (**Şekil 4.2C**). 24 saat boyunca 5 µg/ml LPS ile inkübe edilen hücrelerde sayısal bir azalma kaydedilmiş; ayrıca hücre büzüşmesi, kültür kabı yüzeyinden ayrılma ve yuvarlaklaşma gibi morfolojik değişiklikler gözlemlenmiştir. Hücrelere 24 saatlik LPS uygulaması ile 0,5 mM TUDCA verilmesi sonucunda morfolojik değişimlerde azalma gözlemlendi (**Şekil 4.2D**).

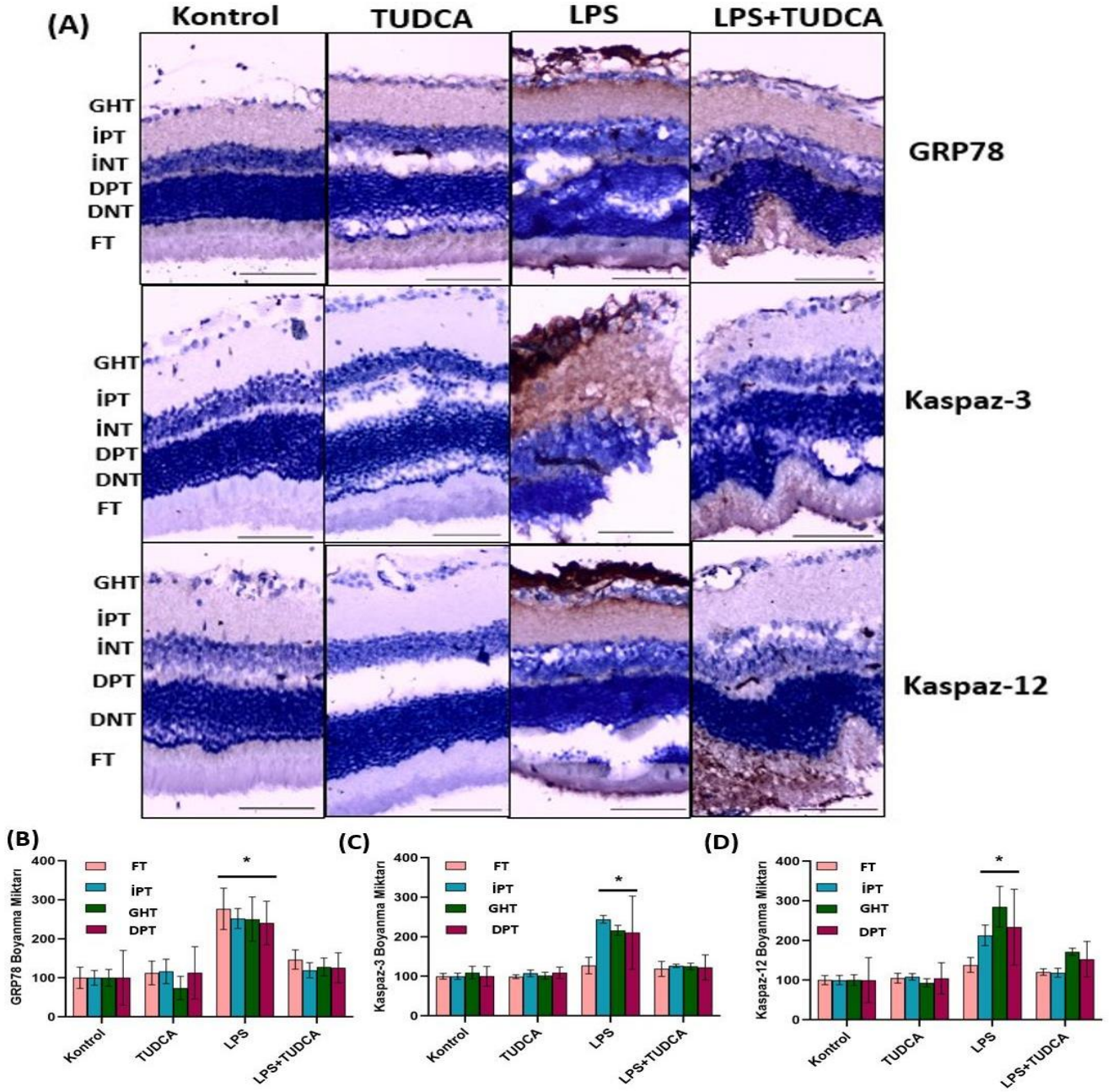


**Şekil 4.2.** **A)** ARPE-19'a LPS uygulamasının 8, 12 ve 24 saatlik canlılık analizi. Veriler 6 ayrı deneyi temsil etmektedir ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz çift yönlü ANOVA ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p < 0,001$ , kontrol, 25 ve 50  $\mu\text{g/mL}$  grupları ile aynı zaman aralığında karşılaştırıldığında. #,  $p < 0,001$ , kontrol ve 50  $\mu\text{g/mL}$  grupları ile aynı zaman aralığında karşılaştırıldığında. **B)** ARPE-19 hücrelerinde TUDCA uygulamasının doza bağımlı 24 saatlik hücre canlılık analizi. Veriler 8-12 ayrı deneyi temsil etmektedir ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü ANOVA ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p < 0,001$ , kontrol ve 0,1 mM grupları ile karşılaştırıldığında. **C)** ARPE-19 hücrelerinde LPS ve TUDCA uygulamasının 24 saatlik hücre canlılık analizi. Veriler 9-10 ayrı deneyi temsil

etmektedir ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü ANOVA ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,001$ , diğer gruplar ile karşılaştırıldığında. **D)** LPS ve TUDCA uygulanan ARPE-19 hücrelerinin ışık mikroskop görüntüsü (20X büyütme). Hücrelerde 24 saat TUDCA (0,5 mM) uygulaması sonucu bir değişim gözlenmezken, 24 saat 5  $\mu\text{g/mL}$  LPS uygulaması sonucunda küçülme, kümelenme, yüzeyden ayrılma ve yuvarlaklaşma gibi morfolojik değişimler gözlendi. LPS grubunda hücre popülasyonunda da bir azalma kaydedildi. 24 saat 0,5 mM TUDCA uygulamasının, LPS uygulamasına bağlı morfolojik bozulmaları azalttığı gözlemlendi.

#### **4.3. Retina Dokusunda GRP78, Kaspaz-3 ve -12 İmmün Boyaması ve Kantitasyonu**

LPS verilen grupta retina tabakaları incelendiğinde GHT, İPT, DPT ve FT boyunca artmış GRP78, kaspaz-3 ve -12 pozitif boyanma gözlenmiştir (**şekil 4.3A**). LPS uygulanmasını takiben GHT ve FT tabakalarında yaygın immün boyama dikkat çekti. İmmün boyama, kontrol ve TUDCA ile tedavi edilen grupların gözlerinde belirgin değildi. Image J Fiji programı ile elde edilen immün boyama yüzdesi, LPS grubu sıçanlarda kontrol, TUDCA ve LPS+TUDCA grubu sıçanlara göre istatistiksel olarak artış gösterdi (**şekil 4.3B, 4.3C ve 4.3D**).



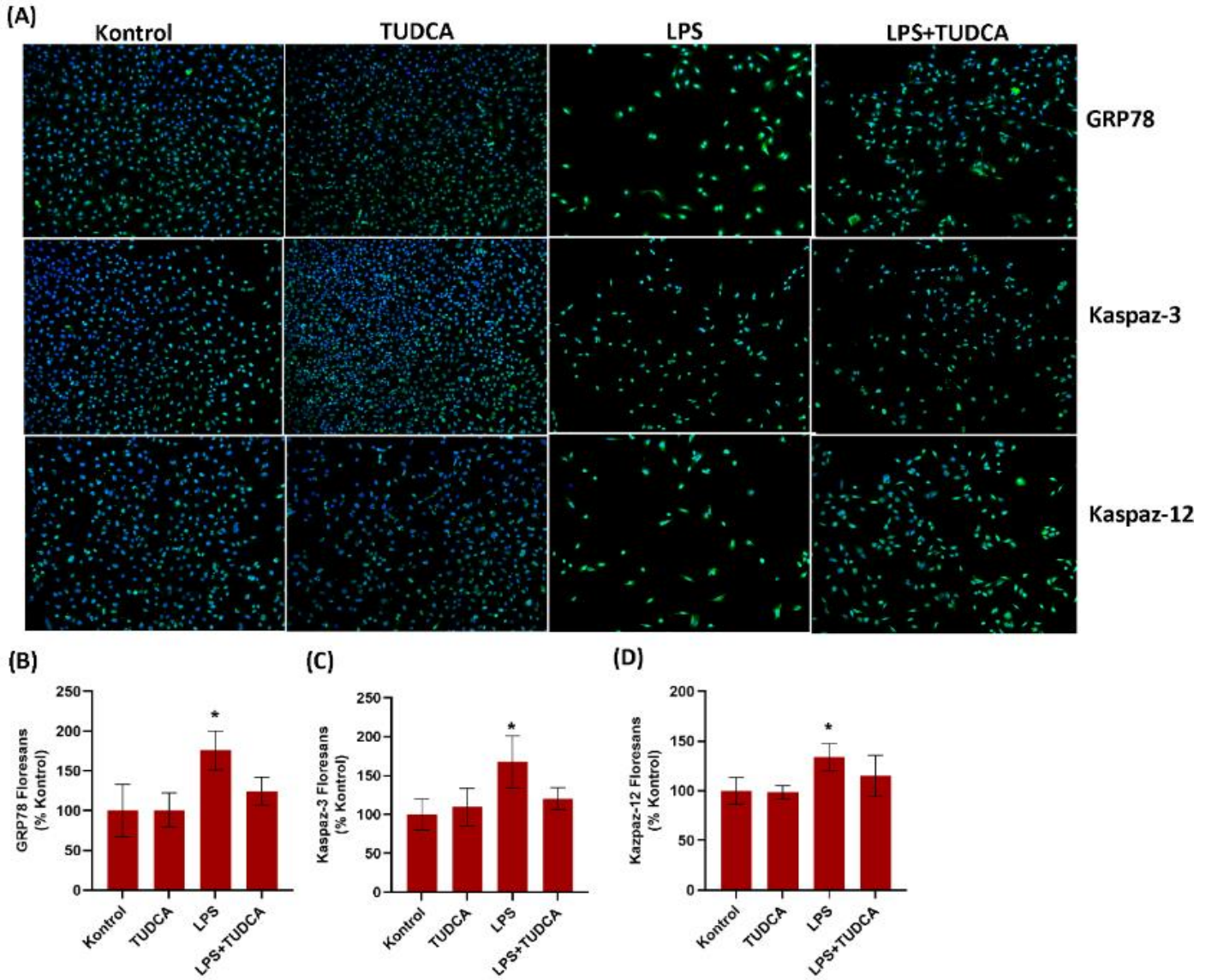
**Şekil 4.3.** (A) Retina dokusunda GRP78, kaspaz-3 ve -12 immün histokimyasal boyamanın görüntüleri. Ölçek çubuğu: 50  $\mu$ m. (B) GRP78'in immün boyama yoğunluğu LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra ImageJ Fiji programı ile ölçüldü. Değerler ortalama  $\pm$  SD'dir. n = 6'dır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) olup, çoklu karşılaştırmalar Tukey'in çoklu karşılaştırmaları ile yapılmıştır. \*, p < 0,05, diğer tüm gruplara göre (FT için p=0,006, İPT için p=0,004, GHT için p=0,044, DPT için p=0,008). (C) Kaspaz-3'ün immün boyanma yoğunluğu LPS

enjeksiyonundan 24 saat sonra ImageJ Fiji programı ile ölçüldü. Değerler ortalama  $\pm$  SD'dir.  $n = 6$ 'dır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) olup, çoklu karşılaştırmalar Tukey'in çoklu karşılaştırmaları ile yapılmıştır. \*,  $p < 0,001$ , diğer tüm gruplara göre (İPT için  $p < 0,001$ , GHT için  $p < 0,001$ , DPT için  $p = 0,003$ , FT için  $p = 0,610$ ). **(D)** Kaspaz-12'nin immün boyanma yoğunluğu LPS enjeksiyonundan 24 saat sonra ImageJ Fiji programı ile ölçüldü. Değerler ortalama  $\pm$  SD'dir.  $n = 6$ 'dır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (ANOVA) olup, çoklu karşılaştırmalar Tukey'in çoklu karşılaştırmaları ile yapılmıştır. \*,  $p < 0,05$  diğer tüm gruplara kıyasla (İPT için  $p = 0,002$ , GHT için  $p < 0,001$ , DPT için  $p = 0,002$ , FT için  $p = 0,588$ ).

#### **4.4. İnsan Retinal Pigment Epitel Hücrelerinde GRP78, Kaspaz-3 ve -12 İmmünofloresan Boyaması ve Kantitatif Analizi**

LPS ile muamele edilen ARPE-19 hücrelerinde GRP78, kaspaz-3 ve kaspaz-12'ye karşı pozitif immünofloresan boyanmanın belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir (**Şekil 4.4A**). ImageJ yazılımı kullanılarak yapılan kantitatif analizde, floresan boyanma yüzdesi LPS grubunda kontrol, TUDCA ve LPS+TUDCA gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir (**Şekil 4.4B, 4.4C ve 4.4D**).

GRP78, kaspaz-3 ve kaspaz-12 için floresan boyanma oranları (ortalama  $\pm$  SD) kontrol grubunda sırasıyla  $100 \pm 33,04$ ,  $100 \pm 19,86$  ve  $100 \pm 13,42$  olarak ölçülmüştür. LPS grubunda bu değerler sırasıyla  $175,51 \pm 24,44$ ,  $167,57 \pm 33,46$  ve  $133,79 \pm 13,87$  olarak hesaplanmıştır. TUDCA ile tedavi edilen grupta ise GRP78, kaspaz-3 ve kaspaz-12 için floresan boyanma oranları sırasıyla  $109,28 \pm 36,18$ ,  $109,46 \pm 24,07$  ve  $105,21 \pm 18,73$  olarak belirlenmiştir. LPS+TUDCA grubunda bu oranlar sırasıyla  $124,43 \pm 17,61$ ,  $120,50 \pm 13,91$  ve  $115,05 \pm 20,35$  olarak kaydedilmiştir. Bu bulgular, LPS'nin ER stresi ve apoptoz belirteçlerini belirgin şekilde artırdığını, TUDCA uygulamasının ise bu artışı engellediğini göstermektedir.



**Şekil 4.4.** İnsan RPE hücrelerinde GRP78, kaspaz-3 ve -12 seviyeleri. LPS, 24 saat boyunca 5 µg / mL LPS ile muamele edilen hücreler; TUDCA, 24 saat boyunca 0,5 mM TUDCA verilen hücreler; LPS + TUDCA, LPS (5 µg / mL) ve TUDCA (0,5 mM) ile 24 saat muamele edilen hücreler. **(A)** ARPE-19 hücrelerinde GRP78, kaspaz-3 ve -12'nin immünofloresan boyanması. 20X büyütme. **(B)** ImageJ programı ile GRP78 floresan boyamanın kantitasyonu. Veriler 11-12 ayrı deneyi temsil eder ve değerler ortalama ± SD olarak verilmiştir. İstatistiksel değerlendirme tek yönlü ANOVA analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p < 0,001$ , tüm gruplarla karşılaştırıldığında. **(C)** ImageJ programı ile kaspaz-3 floresan boyamanın kantitasyonu. Veriler 12 ayrı deneyi temsil eder ve

değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel değerlendirme tek yönlü ANOVA analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,001$ , tüm gruplarla karşılaştırıldığında. **(D)** ImageJ programı ile kaspaz-12 floresan boyamanın kantitasyonu. Veriler 12 ayrı deneyi temsil eder ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel değerlendirme tek yönlü ANOVA analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,05$ , tüm gruplarla karşılaştırıldığında (kontrol vs. LPS  $p<0,001$ ; TUDCA vs LPS  $p<0,001$ ; LPS+TUDCA vs. LPS  $p=0,016$ ).

#### 4.5. Apoptoz

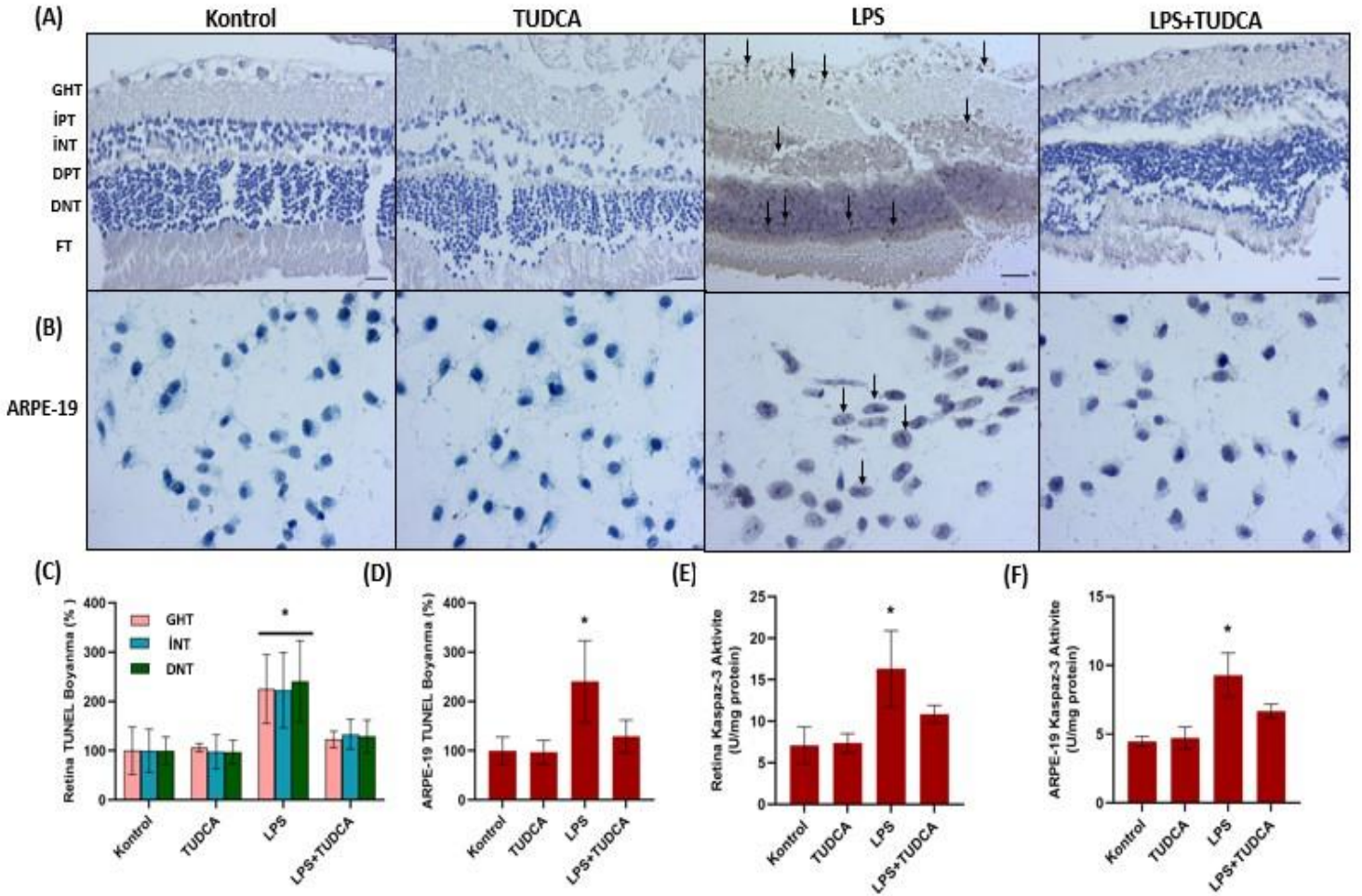
**Şekil 4.5A**, deney gruplarının her birinden retina TUNEL boyamasının temsili fotoğraflarını göstermektedir. Tüm deney gruplarının özellikle GHT, DNT ve İNT’inde apoptotik hücreler izlendi; retinada TUNEL-pozitif hücreler de belirlendi (**Şekil 4.5C**). Retinal TUNEL boyaması LPS grubunda kontrol, TUDCA ve LPS+TUDCA gruplarına göre anlamlı artış gösterdi. TUDCA ile tedavi, LPS grubu sıçanlarda apoptotik hücrelerin yüzdesini önemli ölçüde azalttı.

5  $\mu\text{g/ml}$  LPS ile 24 saat muamele edilen ARPE-19 hücrelerinde apoptoz, diğer deney gruplarına göre önemli ölçüde artmıştır. TUDCA ile tedavi, LPS ile inkübe edilmiş ARPE-19 hücrelerini apoptoza karşı korumuştur (**Şekil 4.5B**). TUNEL-pozitif ARPE-19 hücreleri de ölçüldü (**Şekil 4.5D**). TUNEL pozitif boyanmış hücrelerin yüzdesi (ortalama  $\pm$  SD), LPS grubunda ( $222,98 \pm 53,79$ ) kontrol ( $100 \pm 35,08$ ), TUDCA ( $104,81 \pm 39,59$ ) ve LPS+TUDCA ( $126,55 \pm 27,57$ ) gruplarına kıyasla anlamlı bir artış gösterdi. TUDCA ile tedavi, LPS grubu sıçanlarda apoptotik hücrelerin yüzdesini önemli ölçüde azaltmıştır.

#### 4.6. Kaspaz-3 Aktivitesi

Retina kaspaz-3 aktivitesi (ortalama  $\pm$  SD) LPS ile tedavi edilen grupta ( $16,30 \pm 4,60$  U/mg), kontrol ( $7,07 \pm 2,25$  U/mg), TUDCA ( $7,37 \pm 1,14$  U/mg) ve LPS+TUDCA ( $10,85 \pm 1,05$  U/mg) gruplarına kıyasla önemli bir artış göstermiştir (**Şekil 4.5E**). TUDCA ile tedavi, LPS ile tedavi edilen sıçanlarda kaspaz aktivitesini

önemli ölçüde azaltmıştır. ARPE-19 hücrelerinin LPS ile 24 saat inkübasyonu, kaspaz-3 aktivitesini ( $9,50 \pm 1,79$  U/mg) kontrol ( $4,46 \pm 0,31$  U/mg), TUDCA ( $4,66 \pm 0,90$  U/mg) ve LPS+TUDCA gruplarına ( $6,59 \pm 0,41$  U/mg) kıyasla önemli ölçüde artırdı (Şekil 4.5F). 0,5 mM TUDCA ile tedavi, LPS ile muamele edilen hücrelerde kaspaz-3 aktivitesini azalttı ve LPS ile LPS + TUDCA ile tedavi edilen gruplar arasında kaspaz-3 aktivitesi arasında anlamlı fark bulundu.



**Şekil 4.5.** Retina dokusunda ve ARPE-19 hücrelerinde apoptoz. **(A)** Deney gruplarında retina TUNEL boyaması temsili fotoğrafları. Retina tabakalarında morfolojik bozulma (siyah ok). Ölçek çubuğu: 50  $\mu$ m. **(B)** ARPE-19 hücrelerinde TUNEL boyamasının temsili ışık mikroskop görüntüleri (40X büyütme). LPS, 24 saat boyunca 5  $\mu$ g / mL LPS verilen hücreler; TUDCA, 24 saat boyunca 0,5 mM TUDCA ile muamele edilen hücreler; LPS + TUDCA, 24 saat LPS (5  $\mu$ g / mL) ve TUDCA (0,5 mM) ile muamele edilen hücreler. Hücrelerde morfolojik bozulma (siyah ok). **(C)** ImageJ Fiji programı ile retina TUNEL boyamasının kantitasyonu. Veriler 6 ayrı

deneyi temsil eder ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü ANOVA ile yapıldı. Gruplar arasındaki fark Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,05$ , tüm gruplarla karşılaştırıldığında (GHT için LPS vs Kontrol  $p=0,001$ , LPS vs TUDCA  $p=0,003$ , LPS vs LPS + TUDCA  $p=0,002$ ; İNT için LPS vs Kontrol  $p=0,002$ , LPS vs TUDCA  $p=0,001$ , LPS vs LPS + TUDCA  $p=0,009$ ; DNT için LPS vs Kontrol  $p<0,001$ , LPS vs TUDCA  $p<0,001$ , LPS vs LPS + TUDCA  $p=0,007$ ). **(D)** ImageJ Fiji programı ile ARPE-19 hücrelerinde TUNEL boyamasının kantitasyonu. Veriler 6 ayrı deneyi temsil eder ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü ANOVA ile yapıldı. Gruplar arasındaki fark Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,05$ , tüm gruplarla karşılaştırıldığında (LPS vs Kontrol  $p=0,003$ ; LPS vs. TUDCA  $p=0,003$ ; LPS vs. LPS + TUDCA  $p=0,003$ ). **(E)** Retina kaspaz-3 aktivitesi. Veriler 6-8 ayrı deneyi temsil eder ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü ANOVA ile yapılmıştır. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,05$ , diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında (LPS vs Kontrol  $p<0,001$ ; LPS vs. TUDCA  $p<0,001$ ; LPS vs. LPS + TUDCA  $p=0,005$ ). **(F)** ARPE-19 hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesi. Veriler 8 ayrı deneyi temsil eder ve değerler ortalama  $\pm$  SD olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz tek yönlü ANOVA ile yapılmıştır. Gruplar arasındaki farklılık Tukey testi ile belirlendi. \*,  $p<0,001$ , diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında (LPS vs Kontrol  $p<0,001$ ; LPS vs. TUDCA  $p<0,001$ ; LPS vs. LPS + TUDCA  $p<0,001$ ).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma, TUDCA'nın hem *in vivo* hem de *in vitro* deneysel modellerde oküler dokular üzerinde anlamlı düzeyde koruyucu etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Bulgular, TUDCA'nın ER stresi, apoptoz ve inflamasyon gibi patolojik süreçleri baskılayarak gözdeki doku hasarını azalttığını göstermektedir. Elde edilen sonuçlar mevcut literatürle uyumlu olup, TUDCA'nın terapötik potansiyelini desteklemekte ve bu etkilerin moleküler temellerine ilişkin anlayışımıza katkıda bulunmaktadır.

Denek grubundaki albino Wistar sıçanlarında i.p. anestezi altında uygulanan tek doz i.v. LPS enjeksiyonu ile deneysel üveit modeli başarıyla oluşturulmuştur. Elde edilen model, önceki literatürle uyumlu biçimde akut üveiti taklit etmekte olup, kemirgenlerde inflamatuvar göz hastalıklarının incelenmesinde yaygın olarak kullanılan güvenilir bir yöntemdir (92–94). İntraoküler inflamasyonun düzeyi, üveit bulgularının objektif ve tekrarlanabilir şekilde değerlendirilmesini mümkün kılan, yaygın kabul görmüş bir klinik skorlama sistemi ile belirlenmiştir (95). Bu değerlendirme sistemine göre, inflamasyon şu şekilde derecelendirildi: **Derece 0**, inflamasyon yok; **Derece 1**, hafif derecede inflamasyon bulguları; **Derece 2**, iris ve konjonktival damarların orta derecede genişlemesi ve hiperemisi; **Derece 3** belirgin siliyer hiperemi, konjonktival hiperemi ve ön kamara reaksiyonu/bulanıklığı; ve **Derece 4**, derece 3 bulgularına ek olarak ön kamarada fibrinoid eksüdaların varlığı. Önceki çalışmalarla uyumlu olarak gözlemlerimiz LPS uygulamasını takiben inflamasyon şiddetinde zamana bağlı bir artış olduğunu gösterdi (96,97). Klinik değerlendirmeler, i.v. enjeksiyondan 3 saat sonra yaklaşık 1,6 derece, 6 saat sonra 2,4 derece, 12 saat sonra 3,8 derece ve 24 saat sonra 4,0 derece inflamasyon skorlarının oluştuğunu göstermiştir. Bu bulgular, inflamatuvar yanıtın 24. saatte maksimum düzeye ulaştığını göstermektedir. Bu zamana bağlı değişim doğrultusunda ve yerleşik protokollere uygun şekilde, enükleasyon 24. saatte gerçekleştirilmiş; böylece inflamasyonun en yoğun olduğu dönemde alınan doku örnekleri, histopatolojik, immünohistokimyasal ve moleküler analizler için en uygun şekilde değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, deneysel modelimizin geçerliliğini desteklemekte ve LPS ile indüklenen üveit modelinin, TUDCA gibi

yeni tedavi stratejilerinin değerlendirilmesinde güvenilir ve tekrarlanabilir bir araç olduğunu ortaya koymaktadır. Bulgularımızın literatürdeki verilerle uyumlu olması, modelimizin akut oküler inflamasyonu ve farmakolojik müdahale yöntemlerini incelemedeki bilimsel önemini daha da pekiştirmektedir.

Çalışmamızda TUDCA, 250 mg/kg dozunda i.p. olarak uygulandı. Bu doza, daha önceki deneysel sıçan modellerinde ER stresini etkin şekilde azalttığı bildirilmiştir (98–100). TUDCA, kolestatik hastalıklar, primer biliyer kolanjit ve non-alkolik steatohepatit gibi çeşitli karaciğer bozukluklarının tedavisinde klinik olarak kullanılan endojen, hidrofilik bir safra asidi türevidir. Özellikle hepatoprotektif etkileriyle ön plana çıkan bu bileşik, farklı sistemik inflamatuvar ve hücre stres durumlarında da koruyucu potansiyele sahiptir. ER stresini azaltıcı, mitokondriyal fonksiyonu düzenleyici ve hücre içi sinyal iletim yolları üzerindeki modulator etkileri sayesinde hepatosit apoptozunu önleyerek karaciğer hasarının ilerlemesini engelleyebilir. Ayrıca, anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri aracılığıyla oksidatif stresin azaltılmasına katkı sağlar ve bu yolla hepatositlerin hayatta kalma kapasitesini artırır. Klinik ve deneysel çalışmalarda, TUDCA'nın ER stres yanıtı üzerindeki baskılayıcı etkisi, onun sistemik düzeyde de potansiyel tedavi edici bir ajan olabileceğini göstermektedir (101). TUDCA, UDCA'nın taurinle konjuge edilmiş bir formudur ve farmakokinetik özellikleri ve metabolik özellikleri kemirgenlerde kapsamlı bir şekilde tanımlanmıştır ayrıca TUDCA'nın hücre koruyucu etkisi UDCA'ya kıyasla daha güçlüdür (102). Hem TUDCA hem de UDCA plazmada serbest ve konjuge formlarda dolaşmakta olup, vücudun çeşitli sıvı bölmelerine yayılabilmektedir. TUDCA, oral veya parenteral yoldan alındığında safra asidi havuzuna katılarak enterohepatik dolaşıma girer ve karaciğerden safraya aktif sekresyon yoluyla atılır. Özellikle karaciğer hücreleri tarafından alınması ve safra yoluyla atılımı, onun hedef doku olan karaciğerde yüksek lokal konsantrasyonlara ulaşmasını sağlar. TUDCA'nın yarı ömrü türler arasında değişkenlik göstermekle birlikte, kemirgen modellerinde kısa süreli sistemik dolaşım sonrası karaciğer ve safra kesesi dokularında birikim gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, suda yüksek çözünürlüğe sahip olması ve hidrofilik yapısı sayesinde lipofilik safra asitlerinin toksik etkilerini nötralize edici özellik sergileyerek, hücre koruyucu etkisini artırır (103). Önceki çalışmalar i.p. uygulanan

TUDCA'nın kan-retina bariyerini geçebileceğini göstermiştir. Retina dekolmanı gibi RPE'nin ve kan-retina bariyerinin bozulmuş olduğu bir sıçan modelinde, TUDCA'nın sistemik uygulamadan sonra göz içi dokulara ulaştığı gösterilmiştir. Bu nedenle, TUDCA'nın sistemik yoldan uygulanmasının retina gibi ulaşması zorlu hedef dokularda terapötik konsantrasyonlara ulaşabilmesi açısından uygulanabilir ve etkili bir yaklaşım sunduğu düşünülmektedir (104). Greenwood ve ark.'nın deneysel otoimmün üveit modeli üzerine yaptıkları çalışmada, kan-retina bariyerinin belirgin şekilde bozulduğu ve bu bariyer hasarının inflamatuvar hücrelerin retina dokusuna infiltrasyonuna olanak sağladığı gösterilmiştir kan-retina bariyerinin bu şekilde geçirgenliğini yitirmesi, sadece immün hücrelerin değil, sistemik dolaşımda bulunan diğer moleküllerin de retina mikrosirkülasyonunu geçerek dokulara ulaşabilmesine zemin hazırlamaktadır. Bu bağlamda, hidrofilik bir safra asidi olan TUDCA'nın da sistemik yoldan uygulandığında, bozulmuş kan-retina bariyeri aracılığıyla retina dokusuna geçebileceği ve burada potansiyel terapötik etkiler gösterebileceği düşünülmektedir ayrıca TUDCA'nın i.v. enjeksiyon veya topikal damla formunda uygulanmasına yönelik gelecekte yapılacak çalışmalar için de yol gösterici olabileceği düşünülmektedir (105). Çalışmamızda i.p. TUDCA uygulamamız farmakolojik açıdan gerekçelendirilmiş olup, retinal patolojilerde ER stresini azaltmayı hedefleyen yerleşik protokollerle uyum göstermektedir.

Çalışmamız, TUDCA'nın sıçanlarda EİÜ'in klinik ve histopatolojik bulgularını anlamlı ölçüde hafiflettiğini ortaya koymuştur (Şekil 1). Konjonktival hiperemi, siliyer hiperemi, miyozis, ön kamara bulanıklığı ve fibröz eksüda gibi inflamatuvar bulgularda gözlenen azalma ile retina kalınlığındaki azalma, TUDCA'nın belirgin anti-inflamatuvar etkilerini desteklemektedir. Elde edilen bu sonuçlar, TUDCA'nın oküler inflamasyon modellerinde etkinliğini gösteren önceki çalışmalarla uyumluluk sergilemektedir (106,107). Moleküler düzeyde, TUDCA'nın anti-inflamatuvar etkileri, ER stres yollarını düzenleme yeteneğine bağlanabilir (108). ER stresinin, üveit patogenezinde önemli bir rol oynadığı hipotezi günümüzde giderek daha fazla kabul görmektedir. Hücre içi homeostazın bozulduğu durumlarda ER'de yanlış katlanmış veya birikmiş proteinlerin artışıyla birlikte aktive olan KPY mekanizması, inflamatuvar yanıtların tetiklenmesinde ve

sürdürülmesine neden olur. Özellikle makrofajlar, mikroglialar ve RPE hücrelerinde ER stresinin, proinflamatuvar sitokin salınımını artırarak retinal inflamasyonu şiddetlendirdiği gösterilmiştir. Kronik veya kontrolsüz ER stresinin devamı ise, doku hasarı, apoptoz ve immün cevaba bağlı hasarın sürdürülmesiyle sonuçlanabilir. Bu nedenle ER stres yanıtı, üveit gibi inflamatuvar göz hastalıklarının hem patofizyolojisinde hem de potansiyel tedavi hedeflerinin belirlenmesinde önemli bir moleküler mekanizma olarak değerlendirilmektedir (109,110). Bu bilgiler doğrultusunda, TUDCA'nın ER stresini azaltma kapasitesi, terapötik etkilerinin temel mekanizmalarından biri olabileceği düşünülmektedir.

Oksidatif stres ve inflamasyona karşı RPE hücre yanıtlarını modellemek amacıyla yaygın olarak kullanılan ARPE-19 hücre kültürü, TUDCA'nın etkilerine yönelik mekanizmaların anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır. Daha önceki çalışmalarla uyumlu şekilde, düşük doz LPS'nin (5–10 µg/ml) belirgin düzeyde sitotoksikite oluşturduğunu gözlemledik (111,112). Buna karşın, daha yüksek LPS konsantrasyonlarında benzer sitotoksik etkinin gözlenmemesi, muhtemelen TLR4 gibi örüntü tanıma reseptörlerinin yüksek dozlara karşı duyarsızlaşması (desensitizasyon) veya farklı sinyal yollarının aktive olmasıyla ilişkilendirilebilir (113). TUDCA, LPS'ye maruz bırakılan hücrelerde hücre canlılığını anlamlı düzeyde artırarak koruyucu etkisini ortaya koymuştur (Şekil 4.2). Bu bulgu, morfolojik değerlendirmelerle de desteklenmiş; TUDCA uygulaması, LPS kaynaklı hücre hasarı ve stresine bağlı morfolojik değişimleri belirgin şekilde azaltmıştır (114).

Çalışmamızın immün boyama analizleri, LPS uygulamasının çeşitli retinal tabakalarda ER stres belirteci GRP78 ile birlikte, kaspaz-3 ve kaspaz-12 gibi apoptozla ilişkili proteinlerin ekspresyon düzeylerini anlamlı ölçüde artırdığını ortaya koymuştur. Özellikle kaspaz-12, ER stresine bağlı olarak gelişen apoptoz sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. ER membranına lokalize olmuş bir sistein proteazdır, klasik mitokondriyal apoptoz yollarından bağımsız olarak aktive edilmektedir ve ER kaynaklı hücresel hasarlara yanıt olarak apoptozu başlatabilmektedir. Kaspaz-12'nin aktivasyonu, özellikle yanlış katlanmış proteinlerin birikimi, kalsiyum dengesizliği ve oksidatif stres gibi ER içi

homeostazın bozulduğu durumlarda tetiklenmektedir. Bu proteaz, ER stresine özgü bir sensör görevi görerek CHOP, GRP78 ve diğer ER stres belirteçleriyle birlikte KPY sürecinin başarısız olması durumunda hücre ölümünü programlayan bir mekanizmanın parçası olarak devreye girmektedir. Dolayısıyla, kaspaz-12, ER stresine bağlı patolojik durumların tanımlanmasında ve bu sürecin modülasyonuna yönelik terapötik yaklaşımların geliştirilmesinde önemli bir biyobelirteç ve hedef molekül olarak değerlendirilmektedir. Diğer kaspazların çoğunlukla intrinsik (mitokondriyal yol) ya da ekstrinsik (ölüm reseptörü aracılı yol) apoptoz yolları üzerinden aktive edilmesine karşın, kaspaz-12 özgün olarak ER stresine bağlı faktörlerle uyarılmaktadır (115). Kaspaz-12 çeşitli mekanizmalar ile aktif hale geldikten sonra, mitokondriyal apoptoz yoluna ihtiyaç duymaksızın doğrudan kaspaz-9'u, ardından ise kaspaz-3'ü etkinleştirerek, ER kaynaklı hücresel stres durumlarında özgün bir apoptoz mekanizmasını başlatabilir (116). TUDCA tedavisi, bu moleküler belirteçlerin ifade düzeylerinde anlamlı bir azalma sağlamış; bu bulgu, TUDCA'nın retinal dokuda ER stresini ve buna bağlı apoptozu azaltıcı potansiyeline işaret etmektedir (117,118). Bu bulgular, TUDCA'nın retinal hücrelerde ER stresine karşı gelişen yanıtları düzenleyebildiğini gösteren önceki araştırmalarla uyumlu niteliktedir (Şekil 4.3). TUDCA, ER fonksiyonunu dengeleyerek ve ER stresi kaynaklı apoptotik yolların aktivasyonunu baskılayarak, LPS ile indüklenen hücresel hasara karşı retinal hücreleri koruyabilir. Bu koruyucu etki, özellikle ER stresinin retinal dejenerasyon ve görme kaybında önemli bir rol oynadığı üveit patofizyolojisi bağlamında büyük klinik önem taşımaktadır.

Çalışmamızın *in vivo* bulgularıyla uyumlu olarak, ARPE-19 hücrelerinde gerçekleştirilen immünofloresan analizler, TUDCA'nın LPS ile uyarılan GRP78, kaspaz-3 ve kaspaz-12 ekspresyon artışını anlamlı şekilde azalttığını göstermiştir (Şekil 4). Bu veriler, TUDCA'nın RPE hücrelerinde ER stresini ve buna bağlı apoptoz sinyalleşmesini hafifletici etkisini desteklemektedir (114). TUDCA'nın ER stres belirteçlerini baskılayıcı etkisinin, KPY mekanizmasının düzenlenmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu etki özellikle, ER stresi kaynaklı apoptoz sürecinde merkezi rol oynadığı bilinen PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 sinyal yolunun inhibisyonu aracılığıyla gerçekleştiği düşünülmektedir (119). Bu sinyal yolunun

baskılanmasıyla birlikte, TUDCA'nın apoptoz sürecinde yer alan aşağı akım efektörlerin aktivasyonunu engelleyebileceği; böylece hücrel fonksiyonların korunmasını ve hücre canlılığının sürdürülmesini sağlayabileceği öngörülmektedir.

TUNEL analizi ve kaspaz-3 aktivite düzeylerinin ölçümü, TUDCA'nın hem retinal dokuda hem de ARPE-19 hücrelerinde LPS ile indüklenen apoptozu anlamlı düzeyde baskıladığını ortaya koymuştur (Şekil 4.5). TUNEL-pozitif hücre sayısındaki azalma ve kaspaz-3 aktivitesindeki düşüş, TUDCA'nın EİÜ modeli bağlamında gösterdiği anti-apoptotik etkileri güçlü biçimde desteklemektedir. Bu bulgular, TUDCA'nın kaspaz aktivasyonunu baskılayarak apoptozu engellediğini vurgulayan önceki çalışmalarla da örtüşmektedir (85,100,120). TUDCA'nın bu apoptotik sinyal yollarını düzenleyici etkisi, inflamatuvar göz hastalıklarında retinal hücre ölümünü engelleyerek görsel fonksiyonun korunmasına katkı sağlayabilir.

Bununla birlikte, bu çalışmanın bazı sınırlılıkları da dikkate alınmalıdır. En önemlilerinden biri, yalnızca tek bir TUDCA dozu kullanılarak değerlendirme yapılmış olmasıdır. Farklı doz düzeylerinin test edilmemesi, TUDCA'nın etki mekanizmasının doz-bağımlı olup olmadığını ortaya koyma açısından bir eksiklik teşkil etmektedir. Ayrıca, analizlerin yalnızca tek bir zaman noktasında, yani 24. saatte yapılmış olması, tedaviye verilen yanıtın zaman içerisindeki değişimini izlemeyi mümkün kılmamıştır. Bu durum, TUDCA'nın hücrel stres ve apoptoz üzerindeki etkilerinin başlangıç, pik ve çözülme evrelerini değerlendirmeyi kısıtlamış; dolayısıyla sonuçların genellenebilirliğini ve zaman dinamikleriyle ilişkisini sınırlamıştır. Gelecek çalışmalarda farklı doz ve zaman noktalarının sistematik olarak karşılaştırılması, TUDCA'nın etkilerini daha kapsamlı ve güvenilir şekilde ortaya koymak açısından önem arz etmektedir. Ayrıca, pratik kullanım kolaylığı ve yaygınlığına rağmen çalışmada tercih edilen ARPE-19 hücre kültürü, bazı önemli sınırlamaları da beraberinde getirmektedir. Bu hücre kültürü, uzun süreli kültür koşullarında fenotipik stabilite göstermesi ve deneysel manipülasyonlara uygunluğu nedeniyle sıkça kullanılmakla birlikte, primer insan RPE hücrelerinin *in vivo* fizyolojik, morfolojik ve fonksiyonel özelliklerini tam olarak yansıtmayabilir. Dolayısıyla, elde edilen veriler RPE hücrelerinin doğal biyolojik yanıtlarını sınırlı ölçüde temsil edebilir ve bu durum sonuçların klinik

olarak genellenebilirliğini kısıtlayabilir. Gelecek çalışmalarda, primer insan RPE hücrelerinin veya *in vivo* modellerin kullanılması, TUDCA'nın retinada gösterdiği etkilerin daha doğru biçimde değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır. Çalışmamızın hem *in vivo* hem de *in vitro* koşullarda değerlendirme içermesi, bu iki modelin sınırlılıklarını dengeleme ve elde edilen bulguların geçerliliğini artırma açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu yönüyle, çalışmamızın metodolojik açıdan güçlü yanlarından birini oluşturmaktadır. TUDCA'nın hücre düzeyinde ER stres ve apoptoz belirteçleri analiz edilmiş olsa da nedensellik doğrudan ortaya konulamamış ve olası alternatif sinyal yollarının katkısını değerlendirmek tam olarak mümkün olmamıştır. Sistemik olarak uygulanan TUDCA'nın retinal koruyucu etkisinin, doğrudan retina dokusunda lokal bir yanıt mı oluşturduğu yoksa sistemik düzeydeki düzenleyici mekanizmalar aracılığıyla mı gerçekleştiği tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bununla birlikte, özellikle ER stresine verilen yanıtların türler arasında farklılık göstermesi, elde edilen bulguların klinik uygulamalara aktarılabilirliğini sınırlayabilecek bir diğer önemli faktör olarak değerlendirilmelidir. LPS ile indüklenen modelin akut inflamatuvar yanıtı yansıtmaması nedeniyle, kronik ya da otoimmün üveit formlarını tam olarak temsil etmediği dikkate alınmalıdır. Son olarak, bu çalışmada görsel işlevin doğrudan değerlendirilmemiş olması, TUDCA'nın fonksiyonel düzeydeki etkilerini belirleme açısından önemli bir sınırlılık oluşturmaktadır. Örneğin, elektroretinografi, görsel uyarılmış potansiyeller gibi elektrofizyolojik testlerle desteklenecek veriler, elde edilen moleküler ve histolojik bulguların görsel fonksiyonla ilişkilendirilmesini sağlayarak çalışmanın klinik anlamda değerini artıracaktır. Bu sınırlılıkların gelecekteki araştırma tasarımlarında dikkate alınması, TUDCA'nın inflamatuvar göz hastalıklarındaki terapötik rolünü daha kapsamlı ve derinlemesine anlamamıza katkı sunacaktır.

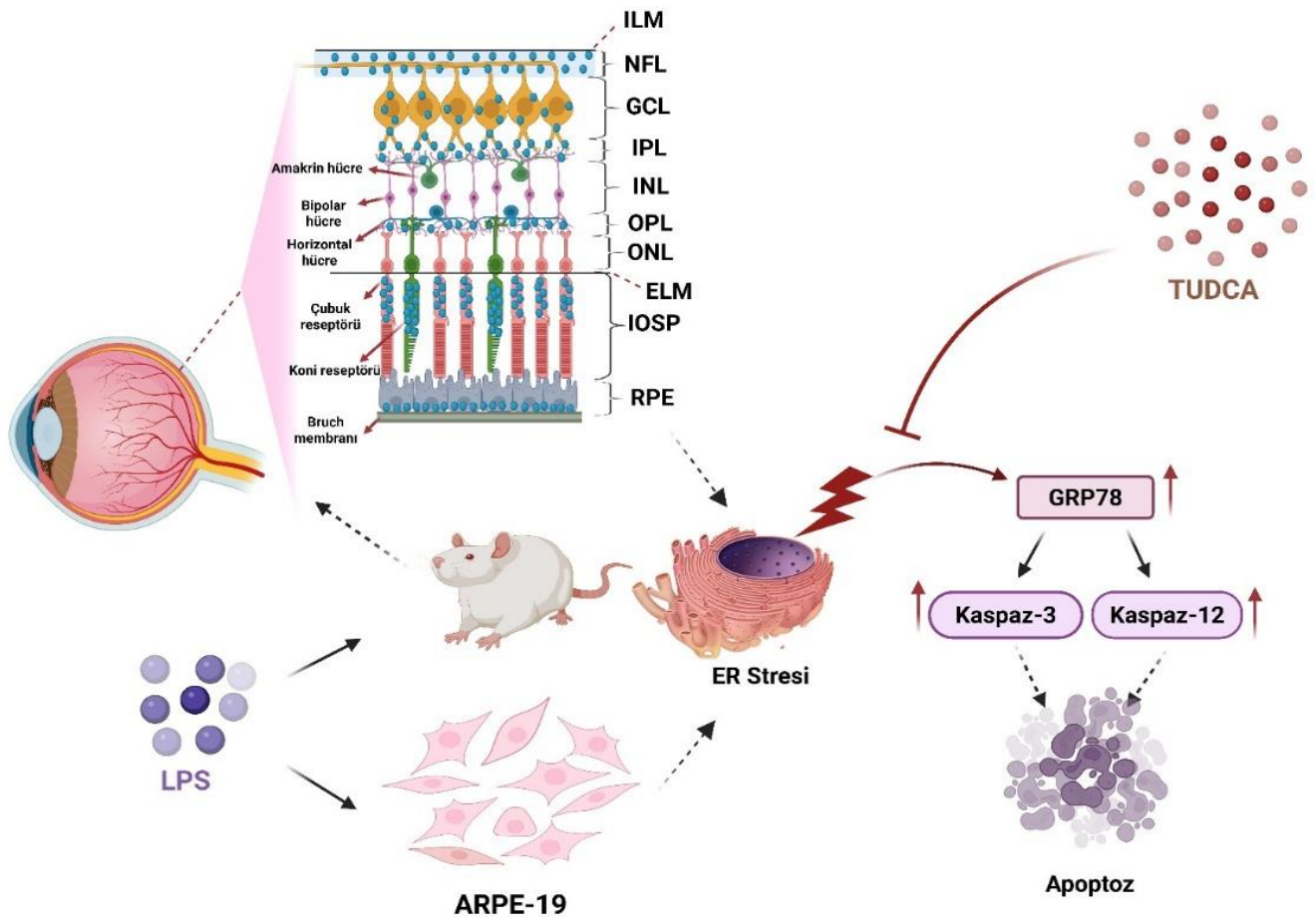
## 6. SONUÇ

Bu çalışma, TUDCA'nın hem *in vivo* (EİÜ modeli) hem de *in vitro* (ARPE-19 hücre kültürü) sistemlerde inflamatuvar göz hastalıklarına karşı etkilerini eşzamanlı olarak değerlendiren ilk araştırmadan biri olma özelliği taşımaktadır. TUDCA'nın, inflamasyona ilişkin mekanizmaları sistemik ve hücresel düzeyde bütüncül bir yaklaşımla ele alması, çalışmayı literatürde özgün bir konuma yerleştirmekte ve mevcut bilimsel bilgiye anlamlı katkılar sunmaktadır.

Elde edilen veriler, TUDCA'nın deneysel üveit modelinde ve retinal hücre kültüründe belirgin anti-inflamatuvar ve sitoprotektif etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, TUDCA uygulamasının sadece oküler inflamatuvar yanıtı değil, aynı zamanda ER stresi ve apoptoza bağlı hücre ölümünü de anlamlı düzeyde baskıladığı gösterilmiştir. Bu bulgular, TUDCA'nın farklı hastalık modellerinde tanımlanan koruyucu etkileriyle uyumlu olup, oküler inflamatuvar hastalıklarda potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

TUDCA'nın göz içi inflamasyon, hücresel stres yanıtları ve hücre ölüm mekanizmaları üzerindeki düzenleyici etkileri, üveit gibi inflamatuvar göz hastalıklarında yeni tedavi stratejileri geliştirilmesi açısından umut verici görünmektedir. Bununla birlikte, bu öncül bulguların güçlendirilmesi için farklı dozlamaları, uzun süreli uygulamaları ve görsel işlev testlerini içeren ileri düzey prelinik ve translasyonel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca, primer insan retinal hücreleri üzerinde yapılacak destekleyici çalışmalar, TUDCA'nın klinik uygulanabilirliğine ilişkin daha net kanıtlar sağlayabilir.

Sonuç olarak bu çalışma, TUDCA'nın inflamatuvar göz hastalıklarında yalnızca patofizyolojik mekanizmalar düzeyinde değil, aynı zamanda potansiyel bir tedavi hedefi olarak da değerlendirilebilecek çok yönlü etkilerini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, elde edilen veriler gelecekte yürütülecek araştırmalara ışık tutacak sağlam bir bilimsel zemin oluşturmaktadır.



**Şekil 6.** TUDCA'nın ER stresi ve apoptoz üzerindeki etkilerini gösteren *in vivo* ve *in vitro* modellerin temsili şeması.

## 7. ÖZET

**Giriş:** Endotoksinle indüklenen üveit (EİÜ), akut oküler inflamasyonu modellemek için yaygın olarak kullanılan ve insan üveitinin bazı özelliklerini yansıtan güvenilir bir deneysel modeldir. Anti-inflamatuar ve hücre koruyucu özelliklere sahip bir safra asidi olan Tauroursodeoksikolik Asit (TUDCA), endoplazmik retikulum (ER) stresi ve apoptoz mekanizmalarını hedefleyerek inflamatuvar hasarı azaltabilir. Bu çalışma, TUDCA'nın *in vivo* ve *in vitro* EİÜ modellerindeki koruyucu etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Erkek Wistar sıçanlarında, lipopolisakkarit (LPS) enjeksiyonu ile EİÜ modeli oluşturulmuş; bazı gruplara intraperitoneal TUDCA uygulaması yapılmıştır. Retinal pigment epitel (RPE) hücre modeli olarak ARPE-19 hücre kültürü kullanılmıştır. Oküler inflamasyon klinik ve histolojik yöntemlerle değerlendirilmiştir. İmmunohistokimya ve immüno Floresan boyamalar ile Glukoz Düzenleyici Protein 78 (GRP78), kaspaz-3, kaspaz-12 ve apoptoz belirteçleri analiz edilmiştir. Ayrıca, kaspaz-3 aktivite ölçümleri ve TUNEL analizleri apoptoz düzeylerini değerlendirmek için uygulanmıştır.

**Bulgular:** TUDCA uygulaması, sıçanlarda LPS ile indüklenen inflamasyonu ve retinal kalınlaşmayı anlamlı derecede azaltmıştır. ARPE-19 hücrelerinde, TUDCA uygulaması LPS'ye bağlı hücre canlılığı kaybını önlemiş ve morfolojik hasarı hafifletmiştir. Her iki modelde de TUDCA tedavisi sonrası GRP78, kaspaz-3 ve kaspaz-12 ekspresyon düzeylerinde azalma gözlenmiştir. TUNEL ve kaspaz-3 aktivite testleri, TUDCA'nın retina dokusunda ve hücre kültüründe apoptozu azalttığını doğrulamıştır.

**Tartışma:** Bu bulgular, TUDCA'nın inflamasyonda aktive olan ER stresi ve apoptoz yollarını etkin bir şekilde baskıladığını göstermektedir. Hem anti-inflamatuar hem de sitoprotektif etkileri, TUDCA'nın oküler inflamatuvar hastalıklarda potansiyel bir tedavi adayı olarak değerlendirilebileceğini desteklemektedir.

**Sonuç:** TUDCA, EİÜ modelinde klinik, histopatolojik ve moleküler düzeylerdeki inflamatuvar yanıtı anlamlı ölçüde baskılamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptoz, Endoplazmik Retikulum (ER) Stresi, Endotoksinle İndüklenen Üveit (EİÜ), İnflamasyon, Tauroursodeoksikolik asit (TUDCA).

## 8. ABSTRACT

**Purpose:** Endotoxin-induced uveitis (EIU) is a widely recognised experimental model of acute ocular inflammation, that mimics certain features of human uveitis. Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA), a bile acid known for its anti-inflammatory and cytoprotective properties, may alleviate retinal damage by modulating endoplasmic reticulum (ER) stress and apoptosis pathways. This study aims to investigate the protective effect of TUDCA both *in vivo* and *in vitro* in EIU models.

**Materials and Methods:** EIU was induced in male Wistar rats by intravitreal injection of lipopolysaccharide (LPS), with a subset of animals previously treated intraperitoneally with TUDCA. ARPE-19 cells were used to model the stress of the retinal pigment epithelium *in vitro*. Clinical and histopathological examinations evaluated the ocular inflammation. Immunohistochemistry and immunofluorescence staining were used to detect the ER stress marker glucose-regulated protein 78 (GRP78), caspase-3, caspase-12, and apoptosis. Caspase-3 activity assays and TUNEL staining were used to further quantify the apoptotic response.

**Results:** Pretreatment with TUDCA significantly reduced LPS-induced ocular inflammation and retinal thickening in rats. In ARPE-19 cells, TUDCA restored the viability of cells impaired by LPS exposure and ameliorated morphological damage. Both *in vivo* and *in vitro* models showed decreased expression of GRP78, caspase-3, and caspase-12 after TUDCA administration. TUNEL and caspase-3 assays confirmed the reduced apoptosis after treatment.

**Discussion:** These results show that TUDCA effectively suppresses ER stress and apoptotic signalling pathways activated during inflammation. Its combined anti-inflammatory and cytoprotective effects argue in favour of considering TUDCA as a potential therapeutic candidate in ocular inflammatory diseases.

**Conclusions:** In the EIU model, TUDCA significantly suppresses the inflammatory response at clinical, histopathological, and molecular levels.

**Keywords:** Apoptosis, Endoplasmic Reticulum (ER) Stress, Endotoxin-Induced Uveitis (EIU), Inflammation, Tauroursodeoxycholic Acid (TUDCA)

## 9. KAYNAKLAR

1. Krishna, U., Ajanaku, D., Denniston, A. K., & Gkika, T. (2017). Uveitis: a sight-threatening disease which can impact all systems. *Postgraduate medical journal*, 93(1106), 766–773. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2017-134891>
2. Bales, T. R., Lopez, M. J., & Clark, J. (2023). Embryology, eye. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
3. Editorial Committee for the BCSC. Editorial Committee BCSC ® Basic and Clinical Science Course TM Fundamentals and Principles of Ophthalmology. 2024th-2025 ed. ed. Vol. Section 2. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2024. 70–74 p.
4. Invernizzi, A., Cigada, M., Savoldi, L., Cavuto, S., Fontana, L., & Cimino, L. (2014). In vivo analysis of the iris thickness by spectral domain optical coherence tomography. *The British journal of ophthalmology*, 98(9), 1245–1249. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304481>
5. Editorial Committee for the BCSC. Editorial Committee BCSC ® Basic and Clinical Science Course TM Fundamentals and Principles of Ophthalmology. 2024th-2025 ed. ed. Vol. Section 2. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2024. 74–79 p.
6. Tasman W. Choroid and suprachoroid. Tasman W. Duane's Ophthalmology CD-ROM ed. 1st ed. Tasman W, & JEA, editor. Philadelphia; 2006. 13–22 p.
7. Forrester J V., Dick AD, McMenamin PG, Roberts F, Pearlman E. Anatomy of the eye and orbit. *The Eye*. 2016;1-102.e2.
8. Editorial Committee for the BCSC. Editorial Committee BCSC ® Basic and Clinical Science Course TM Fundamentals and Principles of Ophthalmology. 2024th-2025 ed. ed. Vol. Section 2. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2024. 79–82 p.
9. Akbatur HH. Behçet Hastalığı, Endoftalmiler ve Üveitler. 1. Baskı. Akbatur HH ŞA, editor. Vols. 1. Baskı, Ankara: Ankara: Atlas Kitabevi; 2002. 5–25 p.

10. Tsirouki, T., Dastiridou, A., Symeonidis, C., Tounakaki, O., Brazitikou, I., Kalogeropoulos, C., & Androudi, S. (2018). A Focus on the Epidemiology of Uveitis. *Ocular immunology and inflammation*, 26(1), 2–16. <https://doi.org/10.1080/09273948.2016.1196713>
11. Yalçındağ, F. N., Özdal, P. C., Özyazgan, Y., Batıoğlu, F., Tugal-Tutkun, I., & BUST Study Group (2018). Demographic and Clinical Characteristics of Uveitis in Turkey: The First National Registry Report. *Ocular immunology and inflammation*, 26(1), 17–26. <https://doi.org/10.1080/09273948.2016.1196714>
12. Jabs, D. A., Nussenblatt, R. B., Rosenbaum, J. T., & Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group (2005). Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *American journal of ophthalmology*, 140(3), 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.03.057>
13. Gueudry, J., & Muraine, M. (2018). Anterior uveitis. *Journal francais d'ophtalmologie*, 41(1), e11–e21. <https://doi.org/10.1016/j.jfo.2017.11.003>
14. Özçetin H. Göz Hastalıkları 3.Baskı, Bursa: Nobel Tıp Kitabevi . 3rd ed. Bursa: Nobel Tıp Kitabevi; 2003. 62–63 p.
15. Elnahry, A. G., & Elnahry, G. A. (2023). Granulomatous Uveitis. In StatPearls. StatPearls Publishing.
16. Sancho, L., Kramer, M., Koriati, A., Eiger-Moscovich, M., Sharon, Y., & Amer, R. (2019). Complications in Intermediate Uveitis: Prevalence, Time of Onset, and Effects on Vision in Short-Term and Long-Term Follow-Up. *Ocular immunology and inflammation*, 27(3), 447–455. <https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1420203>
17. Teo, A. Y. T., Betzler, B. K., Hua, K. L. Q., Chen, E. J., Gupta, V., & Agrawal, R. (2023). Intermediate Uveitis: A Review. *Ocular immunology and inflammation*, 31(5), 1041–1060. <https://doi.org/10.1080/09273948.2022.2070503>

18. Forrester, J. V. (1990). Endogenous posterior uveitis. *The British Journal of Ophthalmology*, 74(10), 620.
19. Bansal, R., Gupta, V., & Gupta, A. (2010). Current approach in the diagnosis and management of panuveitis. *Indian journal of ophthalmology*, 58(1), 45–54. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.58471>
20. Kunimi, K., Usui, Y., Tsubota, K., Kezuka, T., & Goto, H. (2021). Intraocular surgery under adalimumab therapy in patients with refractory uveitis: a single center study of 23 eyes. *Japanese journal of ophthalmology*, 65(6), 836–842. <https://doi.org/10.1007/s10384-021-00871-3>
21. Agrawal R. (2012). Current concepts and future directions in the pathogenesis and management of non infectious uveitis. *Eye (London, England)*, 26(6), 890–891. <https://doi.org/10.1038/eye.2012.44>
22. Selmi C. (2014). Diagnosis and classification of autoimmune uveitis. *Autoimmunity reviews*, 13(4-5), 591–594. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.01.006>
23. Jabs, D. A., Rosenbaum, J. T., Foster, C. S., Holland, G. N., Jaffe, G. J., Louie, J. S., Nussenblatt, R. B., Stiehm, E. R., Tessler, H., Van Gelder, R. N., Whitcup, S. M., & Yocum, D. (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. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(00\)00659-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(00)00659-0)
24. Foster, C. S., Alter, G., DeBarge, L. R., Raizman, M. B., Crabb, J. L., Santos, C. I., Feiler, L. S., & Friedlaender, M. H. (1996). Efficacy and safety of rimexolone 1% ophthalmic suspension vs 1% prednisolone acetate in the treatment of uveitis. *American journal of ophthalmology*, 122(2), 171–182. [https://doi.org/10.1016/s0002-9394\(14\)72008-2](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(14)72008-2)
25. Leibowitz, H. M., & Kupferman, A. (1977). Periocular injection of corticosteroids: an experimental evaluation of its role in the treatment of corneal inflammation. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 95(2), 311–314. <https://doi.org/10.1001/archopht.1977.04450020112019>

26. Gamalero, L., Simonini, G., Ferrara, G., Polizzi, S., Giani, T., & Cimaz, R. (2019). Evidence-Based Treatment for Uveitis. *The Israel Medical Association journal : IMAJ*, 21(7), 475–479.
27. Thorne, J. E., Woreta, F. A., Dunn, J. P., & Jabs, D. A. (2010). Risk of cataract development among children with juvenile idiopathic arthritis-related uveitis treated with topical corticosteroids. *Ophthalmology*, 117(7), 1436–1441. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2009.12.003>
28. Jabs D. A. (2018). Immunosuppression for the Uveitides. *Ophthalmology*, 125(2), 193–202. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2017.08.007>
29. Dick, A. D., Rosenbaum, J. T., Al-Dhibi, H. A., Belfort, R., Jr, Brézin, A. P., Chee, S. P., Davis, J. L., Ramanan, A. V., Sonoda, K. H., Carreño, E., Nascimento, H., Salah, S., Salek, S., Siak, J., Steeples, L., & Fundamentals of Care for Uveitis International Consensus Group (2018). Guidance on Noncorticosteroid Systemic Immunomodulatory Therapy in Noninfectious Uveitis: Fundamentals Of Care for UveitiS (FOCUS) Initiative. *Ophthalmology*, 125(5), 757–773. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2017.11.017>
30. Jabs, D. A., Nussenblatt, R. B., Rosenbaum, J. T., & Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group (2005). Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *American journal of ophthalmology*, 140(3), 509–516. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.03.057>
31. Levy-Clarke, G., Jabs, D. A., Read, R. W., Rosenbaum, J. T., Vitale, A., & Van Gelder, R. N. (2014). Expert panel recommendations for the use of anti-tumor necrosis factor biologic agents in patients with ocular inflammatory disorders. *Ophthalmology*, 121(3), 785–96.e3. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2013.09.048>
32. Kempen, J. H., Daniel, E., Gangaputra, S., Dreger, K., Jabs, D. A., Kaçmaz, R. O., Pujari, S. S., Anzaar, F., Foster, C. S., Helzlsouer, K. J., Levy-Clarke, G. A., Nussenblatt, R. B., Liesegang, T., Rosenbaum, J. T., & Suhler, E. B. (2008). Methods for identifying long-term adverse effects of treatment in patients with eye diseases: the Systemic Immunosuppressive Therapy for Eye

- Diseases (SITE) Cohort Study. *Ophthalmic epidemiology*, 15(1), 47–55.  
<https://doi.org/10.1080/09286580701585892>
33. Rathinam, S. R., Gonzales, J. A., Thundikandy, R., Kanakath, A., Murugan, S. B., Vedhanayaki, R., Lim, L. L., Suhler, E. B., Al-Dhibi, H. A., Doan, T., Keenan, J. D., Rao, M. M., Ebert, C. D., Nguyen, H. H., Kim, E., Porco, T. C., Acharya, N. R., & FAST Research Group (2019). Effect of Corticosteroid-Sparing Treatment With Mycophenolate Mofetil vs Methotrexate on Inflammation in Patients With Uveitis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 322(10), 936–945. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.12618>
  34. Pasadhika, S., Kempen, J. H., Newcomb, C. W., Liesegang, T. L., Pujari, S. S., Rosenbaum, J. T., Thorne, J. E., Foster, C. S., Jabs, D. A., Levy-Clarke, G. A., Nussenblatt, R. B., & Suhler, E. B. (2009). Azathioprine for ocular inflammatory diseases. *American journal of ophthalmology*, 148(4), 500–509.e2. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2009.05.008>
  35. Pasadhika, S., Kempen, J. H., Newcomb, C. W., Liesegang, T. L., Pujari, S. S., Rosenbaum, J. T., Thorne, J. E., Foster, C. S., Jabs, D. A., Levy-Clarke, G. A., Nussenblatt, R. B., & Suhler, E. B. (2009). Azathioprine for ocular inflammatory diseases. *American journal of ophthalmology*, 148(4), 500–509.e2. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2009.05.008>
  36. Multicenter Uveitis Steroid Treatment Trial (MUST) Research Group, Writing Committee:, Acharya, N. R., Vitale, A. T., Sugar, E. A., Holbrook, J. T., Burke, A. E., Thorne, J. E., Altaweel, M. M., Kempen, J. H., & Jabs, D. A. (2023). Intravitreal Therapy for Uveitic Macular Edema-Ranibizumab versus Methotrexate versus the Dexamethasone Implant: The MERIT Trial Results. *Ophthalmology*, 130(9), 914–923. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2023.04.011>
  37. Thorne, J. E., Jabs, D. A., Qazi, F. A., Nguyen, Q. D., Kempen, J. H., & Dunn, J. P. (2005). Mycophenolate mofetil therapy for inflammatory eye disease. *Ophthalmology*, 112(8), 1472–1477. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2005.02.020>

38. Teoh, S. C., Hogan, A. C., Dick, A. D., & Lee, R. W. (2008). Mycophenolate mofetil for the treatment of uveitis. *American journal of ophthalmology*, 146(5), 752–760.e7603. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.03.004>
39. Doycheva, D., Deuter, C., Stuebiger, N., Biester, S., & Zierhut, M. (2007). Mycophenolate mofetil in the treatment of uveitis in children. *The British journal of ophthalmology*, 91(2), 180–184. <https://doi.org/10.1136/bjo.2006.094698>
40. Safarini, O. A., Keshavamurthy, C., & Patel, P. (2023). Calcineurin inhibitors. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
41. Kaçmaz, R. O., Kempen, J. H., Newcomb, C., Daniel, E., Gangaputra, S., Nussenblatt, R. B., Rosenbaum, J. T., Suhler, E. B., Thorne, J. E., Jabs, D. A., Levy-Clarke, G. A., & Foster, C. S. (2010). Cyclosporine for ocular inflammatory diseases. *Ophthalmology*, 117(3), 576–584. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2009.08.010>
42. Hogan, A. C., McAvoy, C. E., Dick, A. D., & Lee, R. W. (2007). Long-term efficacy and tolerance of tacrolimus for the treatment of uveitis. *Ophthalmology*, 114(5), 1000–1006. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2007.01.026>
43. Murphy, C. C., Greiner, K., Plskova, J., Duncan, L., Frost, N. A., Forrester, J. V., & Dick, A. D. (2005). Cyclosporine vs tacrolimus therapy for posterior and intermediate uveitis. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960)*, 123(5), 634–641. <https://doi.org/10.1001/archopht.123.5.634>
44. Pujari, S. S., Kempen, J. H., Newcomb, C. W., Gangaputra, S., Daniel, E., Suhler, E. B., Thorne, J. E., Jabs, D. A., Levy-Clarke, G. A., Nussenblatt, R. B., Rosenbaum, J. T., & Foster, C. S. (2010). Cyclophosphamide for ocular inflammatory diseases. *Ophthalmology*, 117(2), 356–365. <https://doi.org/10.1016/j.opthta.2009.06.060>
45. Martin, F., Lauwerys, B., Lefèbvre, C., Devogelaer, J. P., & Houssiau, F. A. (1997). Side-effects of intravenous cyclophosphamide pulse therapy. *Lupus*, 6(3), 254–257. <https://doi.org/10.1177/096120339700600307>
46. Gupta, D., Zachariah, A., Roppelt, H., Patel, A. M., & Gruber, B. L. (2008). Prophylactic antibiotic usage for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in

- patients with systemic lupus erythematosus on cyclophosphamide: a survey of US rheumatologists and the review of literature. *Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*, 14(5), 267–272. <https://doi.org/10.1097/RHU.0b013e31817a7e30>
47. Patel, S. S., Dodds, E. M., Echandi, L. V., Couto, C. A., Schlaen, A., Tessler, H. H., & Goldstein, D. A. (2014). Long-term, drug-free remission of sympathetic ophthalmia with high-dose, short-term chlorambucil therapy. *Ophthalmology*, 121(2), 596–602. <https://doi.org/10.1016/j.ophttha.2013.09.009>
  48. Trivedi, A., & Katelaris, C. (2019). The use of biologic agents in the management of uveitis. *Internal medicine journal*, 49(11), 1352–1363. <https://doi.org/10.1111/imj.14215>
  49. Sfrikakis, P. P., Markomichelakis, N., Alpsoy, E., Assaad-Khalil, S., Bodaghi, B., Gul, A., Ohno, S., Pipitone, N., Schirmer, M., Stanford, M., Wechsler, B., Zouboulis, C., Kaklamanis, P., & Yazici, H. (2007). Anti-TNF therapy in the management of Behcet's disease--review and basis for recommendations. *Rheumatology (Oxford, England)*, 46(5), 736–741. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kem034>
  50. Lim, L. L., Fraunfelder, F. W., & Rosenbaum, J. T. (2007). Do tumor necrosis factor inhibitors cause uveitis? A registry-based study. *Arthritis and rheumatism*, 56(10), 3248–3252. <https://doi.org/10.1002/art.22918>
  51. Suhler, E. B., Lowder, C. Y., Goldstein, D. A., Giles, T., Lauer, A. K., Kurz, P. A., Pasadhika, S., Lee, S. T., de Saint Sardos, A., Butler, N. J., Tessler, H. H., Smith, J. R., & Rosenbaum, J. T. (2013). Adalimumab therapy for refractory uveitis: results of a multicentre, open-label, prospective trial. *The British journal of ophthalmology*, 97(4), 481–486. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2012-302292>
  52. Jaffe, G. J., Dick, A. D., Brézin, A. P., Nguyen, Q. D., Thorne, J. E., Kestelyn, P., Barisani-Asenbauer, T., Franco, P., Heiligenhaus, A., Scales, D., Chu, D. S., Camez, A., Kwatra, N. V., Song, A. P., Kron, M., Tari, S., & Suhler, E. B. (2016). Adalimumab in Patients with Active Noninfectious Uveitis. *The New*

- England journal of medicine, 375(10), 932–943.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1509852>
53. Suhler, E. B., Adán, A., Brézin, A. P., Fortin, E., Goto, H., Jaffe, G. J., Kaburaki, T., Kramer, M., Lim, L. L., Muccioli, C., Nguyen, Q. D., Van Calster, J., Cimino, L., Kron, M., Song, A. P., Liu, J., Pathai, S., Camez, A., Schlaen, A., van Velthoven, M. E. J., ... Dick, A. D. (2018). Safety and Efficacy of Adalimumab in Patients with Noninfectious Uveitis in an Ongoing Open-Label Study: VISUAL III. *Ophthalmology*, 125(7), 1075–1087. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2017.12.039>
  54. Takase, K., Ohno, S., Ideguchi, H., Uchio, E., Takeno, M., & Ishigatsubo, Y. (2011). Successful switching to adalimumab in an infliximab-allergic patient with severe Behçet disease-related uveitis. *Rheumatology international*, 31(2), 243–245. <https://doi.org/10.1007/s00296-009-1178-y>
  55. Tracey, D., Klareskog, L., Sasso, E. H., Salfeld, J. G., & Tak, P. P. (2008). Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacology & therapeutics*, 117(2), 244–279. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.10.001>
  56. Lichtenstein, L., Ron, Y., Kivity, S., Ben-Horin, S., Israeli, E., Fraser, G. M., Dotan, I., Chowers, Y., Confino-Cohen, R., & Weiss, B. (2015). Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review. *Journal of Crohn's & colitis*, 9(9), 806–815. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjv096>
  57. Oldfield, V., Dhillon, S., & Plosker, G. L. (2009). Tocilizumab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs*, 69(5), 609–632. <https://doi.org/10.2165/00003495-200969050-00007>
  58. Sepah, Y. J., Sadiq, M. A., Chu, D. S., Dacey, M., Gallemore, R., Dayani, P., Hanout, M., Hassan, M., Afridi, R., Agarwal, A., Halim, M. S., Do, D. V., & Nguyen, Q. D. (2017). Primary (Month-6) Outcomes of the STOP-Uveitis Study: Evaluating the Safety, Tolerability, and Efficacy of Tocilizumab in Patients With Noninfectious Uveitis. *American journal of ophthalmology*, 183, 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2017.08.019>

59. Ng, C. C., Sy, A., & Cunningham, E. T., Jr (2021). Rituximab for non-infectious Uveitis and Scleritis. *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, 11(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12348-021-00252-4>
60. Cao, H., & Ma, X. (2024). Rituximab in the Treatment of Non-Infectious Uveitis: A Review. *Journal of inflammation research*, 17, 6765–6780. <https://doi.org/10.2147/JIR.S477708>
61. Gueudry, J., Wechsler, B., Terrada, C., Gendron, G., Cassoux, N., Fardeau, C., Lehoang, P., Piette, J. C., & Bodaghi, B. (2008). Long-term efficacy and safety of low-dose interferon alpha2a therapy in severe uveitis associated with Behçet disease. *American journal of ophthalmology*, 146(6), 837–44.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.08.038>
62. Kötter, I., Zierhut, M., Eckstein, A. K., Vonthein, R., Ness, T., Günaydin, I., Grimbacher, B., Blaschke, S., Meyer-Riemann, W., Peter, H. H., & Stübiger, N. (2003). Human recombinant interferon alfa-2a for the treatment of Behçet's disease with sight threatening posterior or panuveitis. *The British journal of ophthalmology*, 87(4), 423–431. <https://doi.org/10.1136/bjo.87.4.423>
63. Özyazgan Y. Üveitlerde Medikal Tedavi. *Türkiye Klinikleri Oftalmoloji - Özel Konular*. 2008;1(2):101–18.
64. Pepple, K. L., Nguyen, M. H., Pakzad-Vaezi, K., Williamson, K., Odell, N., Lee, C., Leveque, T. K., & Van Gelder, R. N. (2019). RESPONSE OF INFLAMMATORY CYSTOID MACULAR EDEMA TO TREATMENT USING ORAL ACETAZOLAMIDE. *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 39(5), 948–955. <https://doi.org/10.1097/IAE.0000000000002044>
65. Hu, W. F., Etheridge, T., & Larochelle, M. B. (2024). Use of Intracameral Tissue Plasminogen Activator During Uveitic Cataract Surgery. *Ocular immunology and inflammation*, 32(5), 673–677. <https://doi.org/10.1080/09273948.2023.2194410>
66. Murthy, S. I., Pappuru, R. R., Latha, K. M., Kamat, S., & Sangwan, V. S. (2013). Surgical management in patient with uveitis. *Indian journal of ophthalmology*, 61(6), 284–290. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.114103>

67. Becker, M., & Davis, J. (2005). Vitrectomy in the treatment of uveitis. *American journal of ophthalmology*, 140(6), 1096–1105. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2005.07.017>
68. Bajraktari, G., Jukić, T., Kalauz, M., Oroz, M., Radolović Bertetić, A., & Vukojević, N. (2023). Early and Late Complications after Cataract Surgery in Patients with Uveitis. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 59(10), 1877. <https://doi.org/10.3390/medicina59101877>
69. Streilein J. W. (2003). Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nature reviews. Immunology*, 3(11), 879–889. <https://doi.org/10.1038/nri1224>
70. Biros D. (2008). Anterior chamber-associated immune deviation. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 38(2), 309–vii. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2007.12.006>
71. Biros D. (2008). Anterior chamber-associated immune deviation. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 38(2), 309–vii. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2007.12.006>
72. Mochizuki, M., Sugita, S., & Kamoi, K. (2013). Immunological homeostasis of the eye. *Progress in retinal and eye research*, 33, 10–27. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2012.10.002>
73. Stein-Streilein J. (2008). Immune regulation and the eye. *Trends in immunology*, 29(11), 548–554. <https://doi.org/10.1016/j.it.2008.08.002>
74. Caspi R. R. (2006). Ocular autoimmunity: the price of privilege?. *Immunological reviews*, 213, 23–35. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2006.00439.x>
75. Streilein J. W. (1995). Immunological non-responsiveness and acquisition of tolerance in relation to immune privilege in the eye. *Eye (London, England)*, 9 ( Pt 2), 236–240. <https://doi.org/10.1038/eye.1995.46>
76. Streilein J. W. (2003). Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nature reviews. Immunology*, 3(11), 879–889. <https://doi.org/10.1038/nri1224>

77. Caspi R. (2008). Autoimmunity in the immune privileged eye: pathogenic and regulatory T cells. *Immunologic research*, 42(1-3), 41–50. <https://doi.org/10.1007/s12026-008-8031-3>
78. Denniston, A. K., Kottoor, S. H., Khan, I., Oswal, K., Williams, G. P., Abbott, J., Wallace, G. R., Salmon, M., Rauz, S., Murray, P. I., & Curnow, S. J. (2011). Endogenous cortisol and TGF-beta in human aqueous humor contribute to ocular immune privilege by regulating dendritic cell function. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 186(1), 305–311. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001450>
79. Almanza, A., Carlesso, A., Chintla, C., Creedican, S., Doultzinos, D., Leuzzi, B., Luís, A., McCarthy, N., Montibeller, L., More, S., Papaioannou, A., Püschel, F., Sassano, M. L., Skoko, J., Agostinis, P., de Belleruche, J., Eriksson, L. A., Fulda, S., Gorman, A. M., Healy, S., ... Samali, A. (2019). Endoplasmic reticulum stress signalling - from basic mechanisms to clinical applications. *The FEBS journal*, 286(2), 241–278. <https://doi.org/10.1111/febs.14608>
80. Iurlaro, R., & Muñoz-Pinedo, C. (2016). Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *The FEBS journal*, 283(14), 2640–2652. <https://doi.org/10.1111/febs.13598>
81. Saveljeva, S., Mc Laughlin, S. L., Vandenabeele, P., Samali, A., & Bertrand, M. J. (2015). Endoplasmic reticulum stress induces ligand-independent TNFR1-mediated necroptosis in L929 cells. *Cell death & disease*, 6(1), e1587. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.548>
82. Hetz, C., & Papa, F. R. (2018). The Unfolded Protein Response and Cell Fate Control. *Molecular cell*, 69(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.017>
83. Lee A. S. (2001). The glucose-regulated proteins: stress induction and clinical applications. *Trends in biochemical sciences*, 26(8), 504–510. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(01\)01908-9](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(01)01908-9)
84. Elmore S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>

85. Chen, F., Ge, Z., Li, N., Yu, Z., Wu, R., Zhao, Y., He, X., & Cai, G. (2022). TUDCA protects against tunicamycin-induced apoptosis of dorsal root ganglion neurons by suppressing activation of ER stress. *Experimental and therapeutic medicine*, 24(2), 509. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11436>
86. Freitas, I. N., da Silva, J. A., Jr, de Oliveira, K. M., Lourençoni Alves, B., Dos Reis Araújo, T., Camporez, J. P., Carneiro, E. M., & Davel, A. P. (2023). Insights by which TUDCA is a potential therapy against adiposity. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1090039. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1090039>
87. Aslan, M., Yucel, I., Ciftcioglu, A., Savaş, B., Akar, Y., Yucel, G., & Sanlioglu, S. (2007). Corneal protein nitration in experimental uveitis. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 232(10), 1308–1313. <https://doi.org/10.3181/0702-RM-34>
88. Aslan, M., Kırac, E., Yılmaz, Ö., Ünal, B., Konuk, E. K., Özcan, F., & Tuzcu, H. (2018). Effect of tauroursodeoxycholic acid on PUFA levels and inflammation in an animal and cell model of hepatic endoplasmic reticulum stress. *Human & experimental toxicology*, 37(8), 803–816. <https://doi.org/10.1177/0960327117734621>
89. Behar-Cohen, F. F., Savoldelli, M., Parel, J. M., Goureau, O., Thillaye-Goldenberg, B., Courtois, Y., Pouliquen, Y., & de Kozak, Y. (1998). Reduction of corneal edema in endotoxin-induced uveitis after application of L-NAME as nitric oxide synthase inhibitor in rats by iontophoresis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 39(6), 897–904.
90. Ozal, S. A., Turkekul, K., Gurlu, V., Guclu, H., & Erdogan, S. (2018). Esculetin Protects Human Retinal Pigment Epithelial Cells from Lipopolysaccharide-induced Inflammation and Cell Death. *Current eye research*, 43(9), 1169–1176. <https://doi.org/10.1080/02713683.2018.1481517>
91. Afşar, E., Kırımlıoğlu, E., Çeker, T., Yılmaz, Ç., Demir, N., & Aslan, M. (2020). Effect of ER stress on sphingolipid levels and apoptotic pathways in retinal pigment epithelial cells. *Redox biology*, 30, 101430. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101430>

92. Aslan, M., Yucel, I., Ciftcioglu, A., Savaş, B., Akar, Y., Yucel, G., & Sanlioglu, S. (2007). Corneal protein nitration in experimental uveitis. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 232(10), 1308–1313. <https://doi.org/10.3181/0702-RM-34>
93. Aslan, M., Yücel, I., Akar, Y., Yücel, G., Ciftçioğlu, M. A., & Sanlioglu, S. (2006). Nitrotyrosine formation and apoptosis in rat models of ocular injury. *Free radical research*, 40(2), 147–153. <https://doi.org/10.1080/10715760500456219>
94. Cousins, S. W., Guss, R. B., Howes, E. L., Jr, & Rosenbaum, J. T. (1984). Endotoxin-induced uveitis in the rat: observations on altered vascular permeability, clinical findings, and histology. *Experimental eye research*, 39(5), 665–676. [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(84\)90065-4](https://doi.org/10.1016/0014-4835(84)90065-4)
95. Fleisher, L. N., Ferrell, J. B., & McGahan, M. C. (1990). Ocular inflammatory effects of intravitreally injected tumor necrosis factor-alpha and endotoxin. *Inflammation*, 14(3), 325–335. <https://doi.org/10.1007/BF00915816>
96. Rosenbaum, J. T., McDevitt, H. O., Guss, R. B., & Egbert, P. R. (1980). Endotoxin-induced uveitis in rats as a model for human disease. *Nature*, 286(5773), 611–613. <https://doi.org/10.1038/286611a0>
97. Herbort, C. P., Okumura, A., & Mochizuki, M. (1988). Endotoxin-induced uveitis in the rat. A study of the role of inflammation mediators. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 226(6), 553–558. <https://doi.org/10.1007/BF02169204>
98. Zhang, J., Fan, Y., Zeng, C., He, L., & Wang, N. (2016). Tauroursodeoxycholic Acid Attenuates Renal Tubular Injury in a Mouse Model of Type 2 Diabetes. *Nutrients*, 8(10), 589. <https://doi.org/10.3390/nu8100589>
99. Sankrityayan, H., Shelke, V., Kale, A., & Gaikwad, A. B. (2023). Evaluating the potential of tauroursodeoxycholic acid as add-on therapy in amelioration of streptozotocin-induced diabetic kidney disease. *European journal of pharmacology*, 942, 175528. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.175528>

100. Amaral, J. D., Viana, R. J., Ramalho, R. M., Steer, C. J., & Rodrigues, C. M. (2009). Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. *Journal of lipid research*, 50(9), 1721–1734. <https://doi.org/10.1194/jlr.R900011-JLR200>
101. Häussinger, D., & Kordes, C. (2017). Mechanisms of Tauroursodeoxycholate-Mediated Hepatoprotection. *Digestive diseases* (Basel, Switzerland), 35(3), 224–231. <https://doi.org/10.1159/000450915>
102. Roda, A., Hrelia, P., Paolini, M., Calzolari, M., Grigolo, B., Simoni, P., Aldini, R., & Forti, G. C. (1991). Pharmacokinetics of ursodeoxycholic acid in rat. *Pharmacological research*, 23(4), 327–335. [https://doi.org/10.1016/1043-6618\(91\)90048-3](https://doi.org/10.1016/1043-6618(91)90048-3)
103. Crosignani, A., Setchell, K. D., Invernizzi, P., Larghi, A., Rodrigues, C. M., & Podda, M. (1996). Clinical pharmacokinetics of therapeutic bile acids. *Clinical pharmacokinetics*, 30(5), 333–358. <https://doi.org/10.2165/00003088-199630050-00002>
104. Mantopoulos, D., Murakami, Y., Comander, J., Thanos, A., Roh, M., Miller, J. W., & Vavvas, D. G. (2011). Tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) protects photoreceptors from cell death after experimental retinal detachment. *PloS one*, 6(9), e24245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024245>
105. Greenwood J. (1992). The blood-retinal barrier in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU): a review. *Current eye research*, 11 Suppl, 25–32. <https://doi.org/10.3109/02713689208999508>
106. Alhasani, R. H., Almarhoun, M., Zhou, X., Reilly, J., Patterson, S., Zeng, Z., & Shu, X. (2020). Tauroursodeoxycholic Acid Protects Retinal Pigment Epithelial Cells from Oxidative Injury and Endoplasmic Reticulum Stress In Vitro. *Biomedicines*, 8(9), 367. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8090367>
107. Li, J., Huang, Z., Jin, Y., Liang, L., Li, Y., Xu, K., Zhou, W., & Li, X. (2024). Neuroprotective Effect of Tauroursodeoxycholic Acid (TUDCA) on In Vitro and In Vivo Models of Retinal Disorders: A Systematic Review. *Current neuropharmacology*, 22(8), 1374–1390. <https://doi.org/10.2174/1570159X21666230907152207>

108. Vang, S., Longley, K., Steer, C. J., & Low, W. C. (2014). The Unexpected Uses of Urso- and Tauroursodeoxycholic Acid in the Treatment of Non-liver Diseases. *Global advances in health and medicine*, 3(3), 58–69. <https://doi.org/10.7453/gahmj.2014.017>
109. Chen, X., Shi, C., He, M., Xiong, S., & Xia, X. (2023). Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 352. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01570-w>
110. Jing, G., Wang, J. J., & Zhang, S. X. (2012). ER stress and apoptosis: a new mechanism for retinal cell death. *Experimental diabetes research*, 2012, 589589. <https://doi.org/10.1155/2012/589589>
111. Ozal, S. A., Turkekul, K., Gurlu, V., Guclu, H., & Erdogan, S. (2018). Esculetin Protects Human Retinal Pigment Epithelial Cells from Lipopolysaccharide-induced Inflammation and Cell Death. *Current eye research*, 43(9), 1169–1176. <https://doi.org/10.1080/02713683.2018.1481517>
112. Wu, N., Luo, Q., Huang, Y., Wan, L., Hou, X., Jiang, Z., Li, Y., Qiu, J., Chen, P., Yu, K., Zhuang, J., & Yang, Y. (2023). Lithium Chloride Exerts Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects by Inhibiting Microglial Activation in LPS-Induced Retinal Injury. *Investigative ophthalmology & visual science*, 64(3), 35. <https://doi.org/10.1167/iovs.64.3.35>
113. Wiger, C. W., Ranheim, T., Arnesen, H., Vaage, J., Pischke, S. E., Yndestad, A., Stensløy, K. O., & Torp, M. K. (2025). TLR4 Inhibition Attenuated LPS-Induced Proinflammatory Signaling and Cytokine Release in Mouse Hearts and Cardiomyocytes. *Immunity, inflammation and disease*, 13(1), e70133. <https://doi.org/10.1002/iid3.70133>
114. Afşar, E., Kırımlıoğlu, E., Çeker, T., Yılmaz, Ç., Demir, N., & Aslan, M. (2020). Effect of ER stress on sphingolipid levels and apoptotic pathways in retinal pigment epithelial cells. *Redox biology*, 30, 101430. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101430>
115. Nakagawa, T., Zhu, H., Morishima, N., Li, E., Xu, J., Yankner, B. A., & Yuan, J. (2000). Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific

- apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature*, 403(6765), 98–103.  
<https://doi.org/10.1038/47513>
116. Hitomi, J., Katayama, T., Taniguchi, M., Honda, A., Imaizumi, K., & Tohyama, M. (2004). Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress depends on activation of caspase-3 via caspase-12. *Neuroscience letters*, 357(2), 127–130. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2003.12.080>
  117. Alhasani, R. H., Almarhoun, M., Zhou, X., Reilly, J., Patterson, S., Zeng, Z., & Shu, X. (2020). Tauroursodeoxycholic Acid Protects Retinal Pigment Epithelial Cells from Oxidative Injury and Endoplasmic Reticulum Stress In Vitro. *Biomedicines*, 8(9), 367. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8090367>
  118. Li, J., Huang, Z., Jin, Y., Liang, L., Li, Y., Xu, K., Zhou, W., & Li, X. (2024). Neuroprotective Effect of Tauroursodeoxycholic Acid (TUDCA) on In Vitro and In Vivo Models of Retinal Disorders: A Systematic Review. *Current neuropharmacology*, 22(8), 1374–1390. <https://doi.org/10.2174/1570159X21666230907152207>
  119. Chen, X., Shi, C., He, M., Xiong, S., & Xia, X. (2023). Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal transduction and targeted therapy*, 8(1), 352. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01570-w>
  120. Xie, Q., Khaoustov, V. I., Chung, C. C., Sohn, J., Krishnan, B., Lewis, D. E., & Yoffe, B. (2002). Effect of tauroursodeoxycholic acid on endoplasmic reticulum stress–induced caspase-12 activation. *Hepatology*, 36(3), 592–601.