

Ratlarda Endotoksin ile Oluşturulan Üveit Modelinde Hiperbarik Oksijen Tedavisi ile Dekametazonun Etkinliğinin İncelenmesi

Ali Erdal GÜNEŞ*, Fatih Mehmet ADIBELLİ**, Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU***, Mehmet DÜŞÜNÜR**, Muhammed Emin GÜLDÜR****, İsmail KOYUNCU*****, Ataman GÖNEL*****, Elif ADIBELLİ*****, Ayhan SAĞLIK**, Müslüm TOPTAN**, Tuğba GÖNCÜ**

ÖZET

Amaç: Üveit görme kaybının eşlik ettiği patofizyolojisinin henüz anlaşılamadığı üveanın enflamatuvar hastalığıdır. Kortikosteroidler üveit tedavisinin bilinen ana basamağıdır. Hiperbarik oksijen tedavisi son yıllarda kullanımı artmakta ve anti-enflamatuar etkileri bilinmektedir. Çalışmada lipopolisakkarit ile deneysel olarak üveit oluşturduğumuz ratlarda hiperbarik oksijen tedavisi ve deksametazonun ayrı ayrı ve birlikte etkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: 38 adet Wistar albino rat rastgele 5 gruba ayrıldı. Sham, kontrol, hiperbarik oksijen tedavisi, Dekametazon ve hiperbarik oksijen tedavisi+deksametazon grubu oluşturuldu. Deneysel olarak üveit oluşturmak için sham grubu dışında diğer gruplara ayak tabanına lipopolisakkarit uygulandı. 24 saatte 4 doz hiperbarik oksijen tedavisi ve tek doz intraperitoneal deksametazon uygulandı. Tüm gruplarda vitreus ve aköz humor sıvılarında biyokimyasal çalışmalar ve histopatolojik incelemeler yapıldı.

Bulgular: Vitreus ve aköz humordeki biyokimyasal parametreler (ICAM-1, visfatin, IL-1 β , TNF α) ve histopatolojik görüntüler yalnız kortikosteroid tedavisinin en iyi tedavi grubu olduğu, hiperbarik oksijen tedavisinin prognoz açısından anlamlı bir farklılık oluşturmadığı ve kortikosteroid tedavisine eklenen hiperbarik oksijen tedavisinin mevcut etkileri de azalttığı görülmüştür.

Sonuç: Hiperbarik oksijen tedavisinin göz hastalıklarında kullanımı sınırlıdır. Üveit için daha önce yapılmış çalışmaların aksine, çalışmamızda hiperbarik oksijen tedavisinin üveit tedavisinde prognoza pozitif etkisi gözlemlenmemiştir. Fakat bilinen tedavi yöntemlerine seçenek olabilmesi için daha farklı hiperbarik oksijen tedavisi planları ile yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Üveit, Hiperbarik oksijenasyon, Dekametazon, Lipopolisakkaritler

Investigation of the Effectiveness of Dexametazon and Hyperbaric Oxygen Treatment in Endotoxin-Induced Uveitis Models in Rats

ABSTRACT

Objective: Uveitis is an inflammatory disease of uveitis, which is accompanied by visual loss and whose pathophysiology is not completely yet understood. Corticosteroids are the main step in the treatment of uveitis. Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) has been used frequently in recent years and its anti-inflammatory effects are known. In this study, we investigated the effects of hyperbaric oxygen therapy and dexamethasone separately and together in rats with lipopolysaccharides induced uveitis.

Material and Method: 38 Wistar albino rats were randomly assigned to 5 groups. Sham, control, hyperbaric oxygen therapy, Dexamethasone and hyperbaric oxygen therapy + Dexamethasone groups were formed. Experimental lipopolysaccharides toxins was applied to groups except sham group for experimental uveitis. Biochemical studies on vitreous and aqueous humor fluids and histopathologic examinations were performed in all groups.

Results: Biochemical parameters (ICAM-1, visfatin, IL-1 β , TNF α) on vitreous and aqueous humor and histopathological images showed that solely corticosteroid treatment was the best treatment. Hyperbaric oxygen therapy treatment did not produce any significant difference in prognosis and it has been shown that treatment with hyperbaric oxygen therapy added to corticosteroid therapy also reduces the current effects.

Conclusion: Hyperbaric oxygen therapy has limited use in eye diseases. Unlike previous studies, we did not observe any positive prognosis of hyperbaric oxygen therapy on uveitis treatment in our study. However, there is a need for new hyperbaric oxygen therapy schemes and new studies in order to be able to choose the usual treatment methods.

Keywords: Uveitis, Hyperbaric oxygenation, Dexamethasone, Lipopolysaccharides

* Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa. ** Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa. *** Çukurova Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, Adana. **** Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa. ***** Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa. ***** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı, Adana.

Yazışma Adresi: Ali Erdal Güneş, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Ana Bilim Dalı Osmanbey Kampüsü, 63300 Şanlıurfa. e-posta: aerdalg@gmail.com

Tarihi: 14.06.2018 Kabul Tarihi: 08.08.2018

Quick Response Kod:	Bu makaleye online erişim
	Website: http://www.medicalnetwork.com.tr • e-posta: oftalmoloji@medicalnetwork.com.tr
	Bu çalışmanın kaynak olarak gösterimi: Güneş AE, Adıbelli FM, Dağlıoğlu YK, Düşünür M, Güldür ME, Koyuncu İ, Gönel A, Adıbelli E, Sağlık A, Toptan M, Göncü T. Ratlarda Endotoksin ile Oluşturulan Üveit Modelinde Hiperbarik Oksijen Tedavisi ile Deksameta- zonun Etkinliğinin İncelenmesi. MN Oftalmoloji 2018;25(4):208-214

Giriş

Üveit, katarakt gibi başka göz hastalıklarının da eşlik edebildiği üveanın enflamatuvar hastalığıdır.¹ Dünya çapında görme kaybının en önemli nedeni olup enfeksiyon, otoimmün hastalıklar, travma gibi nedenlerle de üveit gelişebilmektedir.² Üveitteki görme kaybının en önemli nedeni göz içi dokulardaki enflamasyon ve buna bağlı olarak gelişen kataraktır.³

Deneyssel olarak intravitreal lipopolisakkarit (LPS) uygulayarak üveit geliştirilebilir.⁴ LPS sonrası enflamatuvar yanıt gelişimi, aköz humör sekresyonunda azalma ve vasküler permeabilitede azalma oluşur.⁵ LPS enjeksiyonu sonrası makrofaj aktivasyonu gelişir ve sekonder olarak TNF- α , IL-6, IL-1 β gibi sitokin ve kemokinlerin kandaki miktarı artar.⁶ Lökositlerin migrasyonu ve adezyonu endotel üzerinde ve kemokinlerle birlikte oluşmaktadır.⁷ ICAM-1 enflamatuvar hücrelerin kapillerden dokulara migrasyonunu sağlar.⁸ Enflamatuvar yanıtta ICAM-1 hücre adezyonunda, proliferasyonunda ve infiltrasyonunda önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir.⁹ Visfatin, T hücre aktivasyonu sağlayan ve IL6, TNF- α , IL-1 β gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımını artıran bir adipositokindir. Ayrıca lenfosit ve monositler üzerinde kemotaktik etkisi vardır.¹⁰ Bu sitokinler, üveitin patofizyolojisinin anlaşılması ve ilaç araştırmaları için uzun yıllar kullanılmıştır.¹¹

Hiperbarik oksijen tedavisi (HBOT) IL-1, IL-6, and TNF- α seviyelerini düşürerek anti-enflamatuvar etki göstermektedir.¹² HBOT bu kemokinlerin seviyesini azaltarak enflamasyonu baskılar. Sistemik kortikosteroidler de enflamasyonu hızlı bir şekilde kontrol altına almaktadır.¹³ Son yıllarda kortikosteroidler immünsüpresif etkilerinden dolayı üveit tedavisinin ana basamağını oluşturmaktadır.

Bu çalışmadaki amacımız HBOT ve deksametazonun deneyssel üveit modelindeki etkisini incelemektir. Bu etkiyi aköz humör ve vitreusta TNF- α , IL-6, IL-1 β ve ICAM-1 seviyeleri ve histopatolojik incelemelerle ortaya koymaya çalıştık.

Gereç ve Yöntem

Sunduğumuz deneyssel çalışmada LPS enjekte edilerek üveit oluşturan ratlarda HBO tedavisi ve deksametazonun etkilerini inceledik. Çukurova Üniversitesi (Adana, Türkiye) hayvan deneyleri yerel etik kurulundan alınan onayla yine aynı üniversitenin deney hayvanları laboratuvarında uygulanmıştır. Çalışmalar Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yapılmıştır.

Çalışmamızda 38 adet erkek Wistar Albino rat (250-300 g ağırlığında, 8 haftalık) kullanıldı. Çalışmada hayvanlar standart kafeslerde, 12 saatlik gündüz/gece siklusunda ve devamlı beslenme şeklinde takip edildi. Beş gruba rastgele ayrılan ratlardan Grup 1 (n=8) sham grubu, Grup 2 (n=8) kontrol grubu, Grup 3 (n=8) HBOT grubu, Grup 4 (n=7) deksametazon grubu, Grup 5 (n=7) HBOT+deksametazon grubu olarak belirlendi (Tablo 1).

Ratlar, Ketazol (75 mg/kg, Richter Pharma AG, Wels, Austria) ve XylazinBio (8 mg/kg, Bioveta PLC, Ivanovie, Czech Republic) ile anestezi yapıldıktan sonra deneyssel üveit gerçekleştirmek için LPS kullanılmıştır. Endotoksin üveiti 200 μ g LPS (100 μ g her ayaktabanına verilecek şekilde) *Salmonella typhimurium* toksini (LPS, L6511 of Salmonella enterica serotype typhimurium, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 0,2 mL izotonik çözelti içerisinde verildi (Resim 1). LPS enjeksiyonunu takiben ratlara 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek doz deksametazon (Dekort 8 mg/ 2 mL, Deva İlaç, İstanbul, Türkiye) verildi (0,5 mg/100 μ L intraperitoneal). Kontrol ve sham grubu için ise aynı miktarda izotonik çözelti yine intraperitoneal verildi. HBOT tedavisi uygulaması için hayvan deney kabini (Barotech DK, İstanbul, Türkiye) kullanıldı. HBOT, üçüncü ve dördüncü gruba 24 saatte 4 kez olacak şekilde (0, 6, 12 ve 18. saatlerde) ilk 15 dakika kompresyon 2,5 ATA'da 60 dk ve 15 dakika dekompresyon olmak üzere uygulandı. Her seanstan önce kabin 5 dakika %100 oksijen ile yıkandıktan sonra tedaviye başlandı. Tedavi boyunca çıkış vanası kontrollü açılarak dakikada 2-3 litre olmak üzere her tedavide kabin ventile edildi. Tedavi sırasında basınç odasında ratlar devamlı olarak beslenebildiler.

Tablo 1: Ratlarda grupların dağılımı, uygulanan metot ve tedaviler

Grup No	Grup ismi	Ayaktabanı enjeksiyon	İntraperitoneal & Tedavi	Hayvan sayısı
1	Sham	İzotonik	İzotonik	8
2	Kontrol	Endotoksin	İzotonik	8
3	HBOT	Endotoksin	İzotonik +HBOT	8
4	Deksametazon	Endotoksin	Deksametazon	7
5	HBOT+Deksametazon	Endotoksin	Deksametazon+HBOT	7

HBOT: Hiperbarik oksijen tedavisi



Resim 1: Ratlara lipopolisakkarit uygulaması

Grup 1 (Sham): Birinci gün ayak tabanından izotonik enjeksiyonu sonrası tek doz intraperitoneal izotonik verildikten sonra ikinci gün sakrifiye edildi. Sağ gözdeki aköz humor ve vitreustan örnekler alındı. Sol göz patolojik değerlendirme için ayrıldı.

Grup 2 (Kontrol): Birinci gün ayak tabanından LPS enjeksiyonu sonrası tek doz intraperitoneal izotonik verildikten sonra ikinci gün sakrifiye edildi. Sağ gözdeki aköz humor ve vitreustan örnekler alındı. Sol göz patolojik değerlendirme için ayrıldı.

Grup 3 (HBOT): Birinci gün ayak tabanından LPS enjeksiyonu sonrası ilk 24 saatte 4 doz (0, 6, 12 ve 18. saatlerde) HBOT verildikten sonra ikinci gün sakrifiye edildi. Sağ gözdeki aköz humor ve vitreustan örnekler alındı. Sol göz patolojik değerlendirme için ayrıldı.

Grup 4 (Deksametazon): Birinci gün ayak tabanından LPS enjeksiyonu sonrası tek doz intraperitoneal deksametazon tedavisi verildi. İkinci gün sakrifiye edildi. Sağ gözdeki aköz humor ve vitreustan örnekler alındı. Sol göz patolojik değerlendirme için ayrıldı.

Grup 5 (HBOT ve Deksametazon): Birinci gün ayak tabanından LPS enjeksiyonu sonrası tek doz intraperitoneal deksametazon tedavisi verildi. Sonrasında ilk 24 saatte 4 doz (0, 6, 12 ve 18. saatlerde) HBOT verildikten sonra ikinci gün sakrifiye edildi. Sağ gözdeki aköz humor ve vitreustan örnekler alındı. Sol göz patolojik değerlendirme için ayrıldı.

İkinci gün ratlar, Ketazol (75 mg/kg, Richter Pharma AG, Wels, Austria) ve XylazinBio (8 mg/kg, Bioveta PLC, Ivanovie, Czech Republic) ile anestezi yapıldıktan sonra sakrifiye edildi. İntravitreal enjeksiyonlar limbustan 30G iğne ile yapıldı (Resim 2). Aköz humor ve vitreustan alınan bütün örnekler +4 °C de 12,000 rpm/3dk santrifüj edilip -80 derecede saklandı. Aköz humor ve vitreusta anti-enflamatuvar etkiler için ICAM, TNF alfa, interlökin-1β ve visfatin bakılmıştır.

Rat ICAM-1 PicoKine™ (Boster Biological Technology, Pleasanton CA, USA, Catalog # EK0372) 31.2pg/mL-2000 pg/mL, Rat TNF-α Platinum (eBioscience, San Diego, CA Catalog # BMS622) 39.1-2,500 pg/mL, Rat IL-1 beta (eBioscience, San

Diego, CA, USA Catalog # BMS630) 31.3-2,000 pg/mL, Rat Visfatin, ELISA (Cusabio, Biotech, Wuhan, China Catalog # CSB-EO 8941r) 3.12 ng/mL-200 ng/mL ticari kit kullanılarak, alınan örneklerde enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile firma katalog bilgileri önerileri uygulanarak otomatik ölçümü yapıldı.



Resim 2: Tedavi sonrası ratların gözlerinden 30 G iğne ile vitreus ve aköz humor sıvılarının toplanması

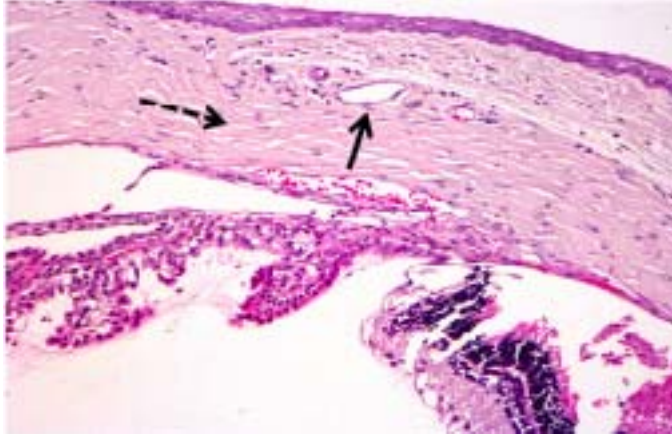
Sol göz çıkarıldıktan hemen sonra oda sıcaklığındaki %10 formaldehit içerisine konuldu. Rutin işlemlerden sonra göz parafine gömüldü. Parafine gömülü gözlerden 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Olympus BX51 marka ışıklı mikroskop ile Hematoksilen-Eozin boyama ile preparatlardan histolojik değerlendirme yapıldı. Histopatolojik sınıflamada Evre 1: Her bölgede 1-10 hücre, Evre 2: 11-30 hücre, Evre 3: 31-100 hücre, Evre 4: 101-300 hücre olarak değerlendirildi.

İstatistiksel analizde, SPSS 20.0 (IBM Inc.; SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY, ABD) programı kullanıldı. Veriler ortalama ve standart sapma olarak gösterildi. Verilerin dağılımının normal olduğunu değerlendirmek için One-sample Kolmogorov Smirnov testi kullanıldı. Veriler normal dağıldığından ve birden fazla grup olduğundan One-way Anova testi kullanıldı. $P < 0,05$ olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

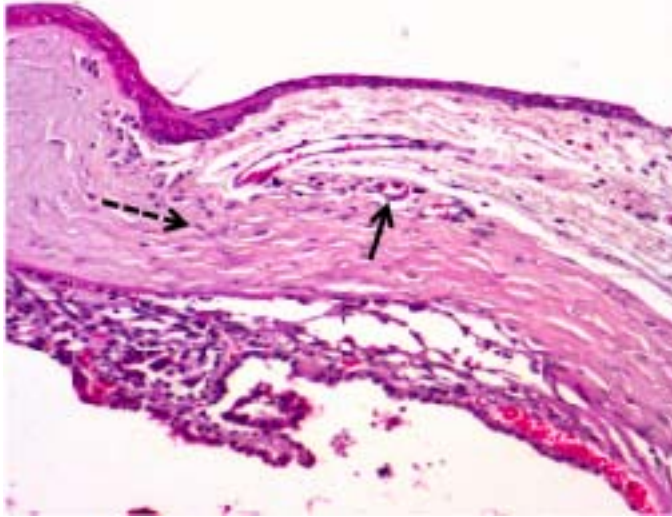
Bulgular

Çalışma sonunda ratların hepsi yaşadığından çalışmaya dâhil edilen ratların tümünden örnekler alındı. Histopatolojik incelemede sham grubunda normal kornea ve üvea görüntüsü izlendi (Resim 3). Bu durum çalışmaya aldığımız ratların başta sağlıklı olduğunu göstermektedir. Kontrol grubunda ise enflamatuvar hücre sayısının arttığı, ödem-konjesyon ve nötrofil kümelerinin olduğu görülmüştür (Resim 4). Bu durum deneysel üveit uygulamamızın başarısını göstermektedir. HBOT alan grupta kontrol grubuna göre hafif bir iyileşme olduğu görülmüştür (Resim 5). Kontrol grubuna göre hafif fibrotik değişiklikler gözlenen preparatı iyileşme açısından değerlendirdiğimizde anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Deksametazon grubunda ise tek doz kortikosteroidin tedavide etkin olduğunu göstermiştir. İnfiltratif enflamatuvar hücrelerin azalmasıyla birlikte, ödem ve konjesyonun azaldığı perivasküler

enflamatuvar hücrelerin azaldığı ve belirgin fibrotik doku artışı ile karakterize iyileşme bulguları elde edildi (Resim 6). Dekametazon ve HBOT alan son gruptaki histopatolojik bulguların yalnızca HBOT alan bulgulardan iyi fakat yalnızca deksametazon alan gruptan iyi olmadığı görülmüştür (Resim 7) (Tablo 2).

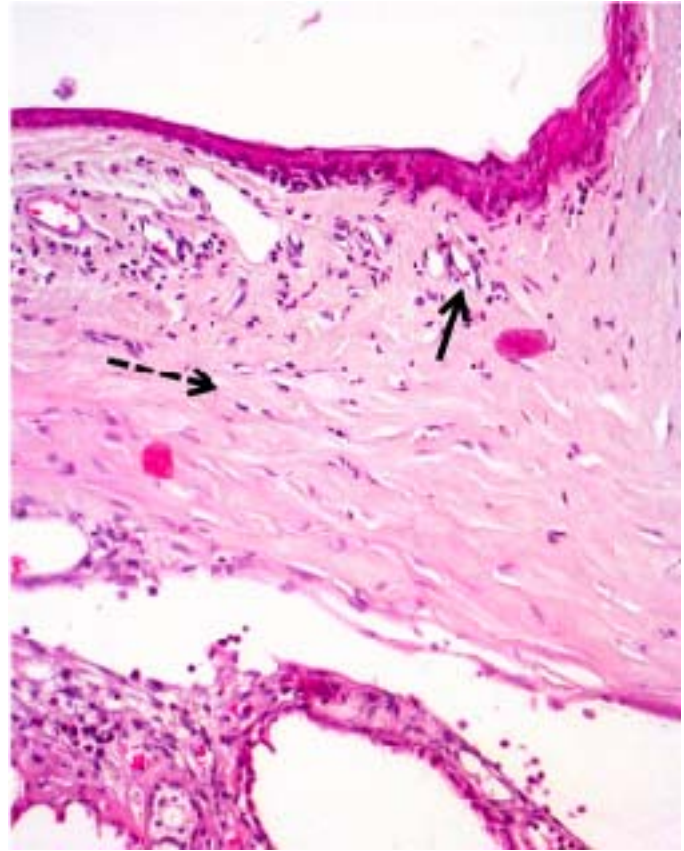


Resim 3: Sham grubuna ait normal siliyer cisim dokusu (H&E, x200)

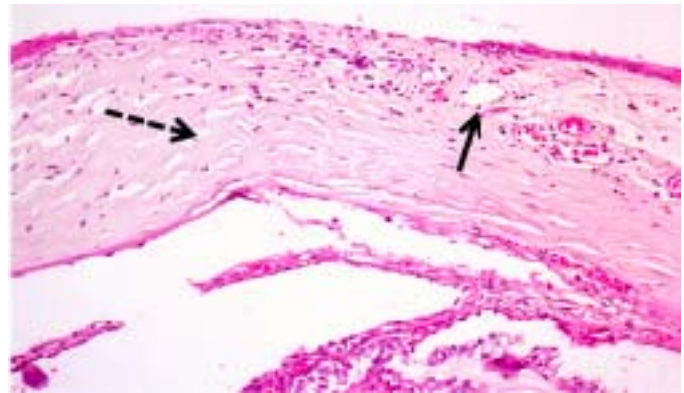


Resim 4: Kontrol grubuna ait inflamasyon gelişmiş siliyer cisim dokusu (H&E, x200) (kesikli ok: Doku içi ödem, enflamasyon, nötrofil infiltrasyonu. kalın ok: Perivasküler enflamasyon)

Biyokimyasal incelemeler hem vitreus sıvısında hem de aköz humordan alınan örneklerden çalışılmıştır. Vitreustan alınan örneklerde ICAM-1 kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,002$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,005$). Visfatin, kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır



Resim 5: HBOT sonrası enflamasyona az derecede cevap vermiş Grup 3'e ait siliyer cisim dokusu (H&E, x200) (Kesikli ok: Doku içi ödem, nispeten azalmış enflamasyon. Kalın ok: Perivasküler enflamasyon mevcut)

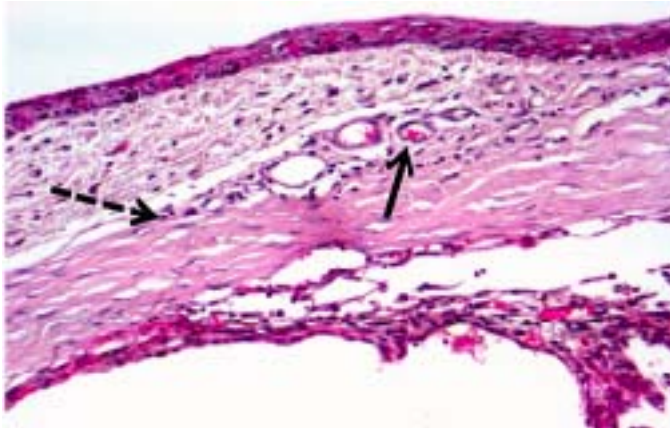


Resim 6: Dekametazon tedavisi sonrası enflamasyona iyi derecede cevap vermiş Grup 4'e ait siliyer cisim dokusu (H&E, x200) (Kesikli ok: Azalmış doku içi ödem, azalmış enflamasyon ve nötrofil infiltrasyonu, doku içerisinde fibrozis odakları mevcut. Kalın ok: Azalmış perivasküler enflamasyon mevcut)

Tablo 2: Histopatolojik görüntülerin istatistiği

Gruplar	Sham	Kontrol	Deksametazon	HBOT	Deksametazon +HBOT	P
Hücre Sayısı	31,3±2,2 ^a	884,8±45,6 ^b	155,2±10,4 ^c	194,3±28,2	158,2±20	<0.05

¶ azalma, ^a ^b ye göre anlamlı; ^b değerindeki artış ^a ya göre anlamlı; $p<0,05$. HBOT: Hiperbarik oksijen tedavisi



Resim 7: Hiperbarik oksijen tedavisi ve deksametazon tedavisi sonrası enflamasyona iyi derecede cevap vermiş Grup 5'e ait siliyer cisim dokusu (H&E, x200) (Kesikli ok: Kontrol grubuna göre azalmış doku içi ödem, azalmış enflamasyon, doku içerisinde düşük seviyede fibrozis odakları mevcut. Kalın ok: Perivasküler enflamasyon mevcut)

($p=0,017$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p=0,019$). IL-1 β , kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,01$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,01$) ve ek olarak deksametazon grubundaki değer sadece HBOT alan gruptaki değere göre anlamlı derecede azalmıştır. TNF α , kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,017$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre an-

lamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Vitreus sıvısında tüm belirteçlerde HBOT alan ve HBOT+deksametazon alan gruplardaki değerler tedavi sonrası kontrol grubuna göre azalmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Tablo 3).

Aköz humörden alınan örneklerde ICAM-1, kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,001$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,005$). Visfatin, kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,001$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p=0,01$). IL-1 β , kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,001$), deksametazon alan grupta ise kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır ($p=0,014$). TNF α , kontrol grubunda sham grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,017$), deksametazon alan gruptaki değişiklik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Aköz humor sıvısında tüm belirteçlerde HBOT alan ve HBOT+deksametazon alan gruplardaki değerler tedavi sonrası kontrol grubuna göre azalmış olsa da istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Tablo 4).

Tartışma

Hiperbarik oksijen tedavisinin yeni endikasyonlarla birlikte kullanımı artmış ve ülkemizdeki HBOT merkezleri son yıllarda hızla artmıştır. Göz hastalıklarında HBOT endikasyon listesi sınırlıdır. Üveit hakkında HBOT etkinliği açısından yapılan çalışmalar HBOT tedavisinin üveit prognozunu iyileştirdiği yönündedir.^{14,15}

Tablo 3: Vitreus sıvısında çalışılan biyokimyasal parametrelerin analizi

Biyokimyasal parametreler	Sham	Kontrol	HBOT	Deksametazon	Deksametazon +HBOT	P
ICAM-1	1254,91 $\pm$ 334	2279,62 $\pm$ 166	1988,64 $\pm$ 200	1483,88 $\pm$ 497	1629,22 $\pm$ 531	0.001 α
VISFATIN	12,83 $\pm$ 3	92,04 $\pm$ 2	72,48 $\pm$ 71	13,88 $\pm$ 4	45,22 $\pm$ 36	0.002 β
IL-1 β	103,99 $\pm$ 7	150,23 $\pm$ 10	133,33 $\pm$ 12	110,15 $\pm$ 15	125,07 $\pm$ 12	<0,001 Ω
TNF α	148,52 $\pm$ 12	194,94 $\pm$ 10	192,84 $\pm$ 47	153,11 $\pm$ 2	166,39 $\pm$ 6	0,002 Υ

α : Sham ile kontrol grup: $p=0.002$, sham ile HBOT grup: $p=0.045$, Deksametazon ile kontrol grup: $p=0.025$

β : Sham ile kontrol grup: $p=0.017$, Deksametazon ile kontrol grup: $p=0.019$

Ω : Sham ile kontrol grup: $p<0.001$, sham ile HBOT grup: $p=0.006$, Deksametazon ile kontrol grup: $p<0.001$, ilaç ile HBOT $p=0.041$

Υ : Sham ile kontrol grup: $p=0.030$, sham ile HBOT grup: $p=0.042$, Deksametazon ile kontrol grup: $p<0.054$

Tablo 4: Aköz humor sıvısında çalışılan biyokimyasal parametrelerin analizi

Biyokimyasal parametreler	Sham	Kontrol	HBOT	Deksametazon	Deksametazon +HBOT	p
ICAM 1	1960,91 $\pm$ 556	2951,09 $\pm$ 125	2858,89 $\pm$ 226	2326,50 $\pm$ 176	2653,61 $\pm$ 102	<0.001 α
VISFATIN	10,64 $\pm$ 2	43,63 $\pm$ 4	38,07 $\pm$ 6	29,37 $\pm$ 2	34,10 $\pm$ 7	<0.001 β
IL-1 β	90,38 $\pm$ 6	158,98 $\pm$ 11	135,88 $\pm$ 22	122,55 $\pm$ 14	128,87 $\pm$ 22	<0.001 Ω
TNF α	148,74 $\pm$ 12	195,16 $\pm$ 10	193,06 $\pm$ 47	153,33 $\pm$ 2	166,61 $\pm$ 6	0.002 Υ

α : Sham ile kontrol grup: $p<0.001$, sham ile HBOT grup: $p=0.001$, sham ile deksa+HBOT grup $p=0.009$, ilaç ile kontrol grup: $p=0.021$

β : Sham ile diğer gruplar: $p<0.001$, Deksametazon ile kontrol grubu $p=0.001$

Ω : Sham ile kontrol grup: $p<0.001$, sham ile Deksametazon grubu $p=0.038$, sham ile HBOT grup $p=0.002$, sham ile deksametazon+HBOT $p=0.009$, Deksametazon ile kontrol grup: $p=0.014$

Υ : Sham ile kontrol grup: $p=0.030$, sham ile HBOT grup: $p=0.042$

Çalışmamızda üveitte yalnız HBOT'un ve deksametazon ile birlikte HBOT'un rutin uygulanan deksametazon tedavisi ile karşılaştırdık. HBOT diğer çalışmaların aksine prognoza etkisi yoktu. Hatta rutin tedaviye eklenen HBOT, yalnız kortikosteroid tedavisinden daha başarısız sonuçlar elde etti.

Lipopolisakkarit deneysel üveit oluşturmak için birçok çalışmada başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Sunduğumuz çalışmamızda ayak tabanı uygulaması yapılmıştır.⁷ Kontrol grubundaki histolojik bulgular ve biyokimyasal parametrelerdeki sham grubuna göre istatistiksel anlamlı değişiklikler göstermesi deneysel yöntemin başarısını ispatlamaktadır. İntravitreal, intraperitoneal ve subkutanöz uygulamalar diğer deneysel yöntemlerdir.

Birçok patolojik mekanizması açıklanmasına rağmen üveit, altında enflamatuvar yanıtın ve immünolojik mediyatörlerin sorumlu olduğu, fizyopatolojisi iyi çözülmemiş bir hastalıktır.⁷ Enflamatuvar mediyatörlerin vazoaktif etkisiyle, konjoktival hipe-remi oluşur ve iris damarlarında enflamasyon gelişmesi ile üveit gelişmektedir. Enflamasyona yanıt olarak göz içinde hücre hasarı oluşur. Damar geçirgenliğini artışı sonrası kan retina bariyeri bozulması sonucu santral retinal şişmesi ve maküler ödem gelişir.¹⁶

Üveitte sistemik steroid immünsupresif ajan olarak başarılı bir tedavi yöntemidir fakat cushingoid görünüm, kilo alma, gastrointestinal yakınmalar, diyabet, insomnia ve osteoporoz gibi sistemik yan etkiler tedavi sürecine eşlik etmektedir.¹³ Steroidlerin katarakt ve glokom gibi lokal yan etkileri de mevcuttur. Üveit tedavisinde iki sitokin inhibitörü anti TNF α ve anti IL-6 üveit tedavisinde başarılı olarak uygulanmıştır.¹⁷ Deneysel üveit yapılmış bir çalışmada anti-enflamatuvar sitokin olan IL-10 ile enflamasyon baskılanmış ve hücre infiltrasyonu önlenmiştir.¹⁸ Anti-vasküler endotelyal growth faktör (VEGF) tedavisi de üveit tedavisinde uygulanmıştır. On üç hastadan 5 inde iyileşme sağlanmıştır.¹⁹

Deniz seviyesinde vücutta çözünmüş oksijen miktarı normalde 100 mL kanda 0,3 mL kadardır. Çözünmüş oksijen miktarı soluduğumuz havadaki parsiyel oksijen basıncının artması ile artar. Örneğin bir basınç odasında 3 ATA (atmosfer absolut) %100 oksijen solunması ile çözünmüş oksijen miktar 6 mL'ye kadar çıkmaktadır. Zaten ortalama vücut dokusu, dinlenme halinde 5 mL oksijen kullanmaktadır. Bu durumda tedavi sırasında hasta, hemoglobinden bağımsız olarak ihtiyacı olan oksijeni çözünmüş olarak karşılayabilmektedir. HBOT, IL-1, IL-6, and TNF- α seviyelerini azaltarak anti-enflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir.¹² Deneysel çalışmalarda HBOT lökositlerin yuvarlanma ve adezyonlarını inhibe ederek anti inflamatuvar etki ettiğini göstermiştir.²⁰ Çalışmamızda yalnız HBOT alan grubun kontrol grubuna göre daha iyi biyokimyasal değer ve histopatolojik görüntü elde edilmesini HBOT'un bu etkisine bağlayabiliriz. Kortikosteroid tedavisinden daha iyi sonuçlar elde edilememesini ise HBOT'un VEGF seviyelerini artırarak etki etmesine bağlanabilir. Üveit tedavisinde anti-VEGF kullanımı denenirken,¹⁹ VEGF salınımını artıran²⁰ HBOT'un üveit tedavisindeki başarısı sunduğumuz çalışma ile paralel olarak sınırlı kalmıştır.

Maküler ödem uzun dönemde maküla dejenerasyonu ile sonuçlanır. Miyake ve ark.²¹ yaptığı çalışmada görme fonksiyonu bozulmuş maküler ödemi olan iki hastaya başarılı bir şekilde tedavi etmiştir. Tedavisi 2 ATA ve 3 ATA olmak üzere 60 dakikalık günlük 2 seans 25 günlük tedavi vermiştir. Asetazolamid tedavisini de eklediği protokolde HBOT görmeyi artırdığını, asetazolamidin makülada hiperfloresansı iyileştirdiğini belirtmiştir. Okinami ve ark.²² üveite sekonder maküler ödem oluşmuş hastalara 14 gün ile 17 gün arasında 2 ATA 60 dakika HBOT verdiği çalışmada 11 gözde düşük oranda fayda sağlamış ve 1 hastada belirgin iyileşme görülmüştür. 46 yaşında posterior üveite bağlı maküler ödemi olan kadın hastaya 2 ATA'da 75 dakikalık 25 seanslık tedavi uygulanmış, HBOT'den fayda gören hasta sonrası görmeyi tehdit eden maküler ödemli üveit hastalarında HBOT yardımcı tedavi olarak düşünülebileceği ifade edilmiştir.²³ Bahsedilen çalışmalarda tedavi protokolü uyguladığımız protokolle benzeşmektedir. Fakat tedavi seansı olarak bizim tedavimizin sayıca az olduğu görülmüştür. Nitekim HBOT seansları uzun süren çalışmalarda, HBOT istenilen faydayı sağlayamamış ve yardımcı tedavi olarak düşünülebileceği ifade edilmiştir. Deneysel olarak bildirilen iki çalışmada 2 ATA 90 dakika 8 seans ve metilprednizolon tedavisi verilmiştir.^{14,15} Çalışmalarda HBOT anti-ödem ve anti-enflamatuvar etkisiyle hastaya fayda sağlayacağı ve steroid tedavisiyle birlikte kombine tedavide yüksek doz steroide maruz kalmayı önleyeceği belirtilmiştir. Erşanlı ve ark.¹⁴ yaptığı çalışmada HBOT etkisini steroid tedavisi ile karşılaştırılabilecek şekilde iyi bulmuştur. Çalışmamızda yukarıda belirtilen iki deneysel çalışmanın aksine yalnız HBOT, yalnız deksametazon tedavisinin etkilerinin çok gerisinde kalmıştır. Üstelik yalnız deksametazonun etkileri, HBOT ve deksametazonun kombine edildiği tedavi protokolünden daha iyi sonuçlar elde etmiştir. Buradan da anlaşılabileceği gibi diğer deneysel çalışmalarda ki bulguların aksine, HBOT tek başına verildiğinde, düşük başarısı ile birlikte deksametazon ile kombine edildiğinde deksametazonun etkilerini de azalttığı açık bir şekilde görülmüştür. Sunduğumuz çalışmaya göre HBOT'un tek başına veya yardımcı tedavi olarak denenmesi uygun değildir.

Ayrıca HBOT'un kanda nitrik oksit (NO) seviyelerini artırdığı bilinmektedir.²⁴ Bir çalışmada ise LPS ile NO sentezinin arttığı ve bu yüksek NO seviyelerinin kan-aköz humör bariyerini bozduğunu belirtmişlerdir.²⁵ Yüksek NO seviyelerinden dolayı HBOT alan gruplardaki iyileşmenin düşük seviyede olmasını bahsedilen mekanizmayla açıklayabiliriz.

Sonuç

Çalışmamızda zaten bilindiği gibi deksametazonun üveit tedavisinde önemli bir yeri olduğunu gösterdik. Daha önce yapılan çalışmaların aksine anti-enflamatuvar etkileri bilinen HBOT, çalışmamızda üveit tedavisinde tek başına veya yardımcı tedavi olarak pozitif bir etki yaratamamıştır. Fakat bilinen tedavi yöntemlerine seçenek olabilmesi için daha farklı HBOT planları ile yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Collins BK, Moore CP. Diseases and surgery of the canine uvea. In: Gelatt KN. Veterinary ophthalmology. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins 1999:755-95.
2. Nguyen QD, Hatef E, Kayen B, et al. A cross-sectional study of the current treatment patterns in noninfectious uveitis among specialists in the United States. *Ophthalmology* 2011;118:184-90.
3. Siddique SS, Suelves AM, Baheti U, Foster CS. Glaucoma and uveitis. *Surv Ophthalmol* 2013;58:1-10.
4. Wang XQ, Liu HL, Wang GB, et al. Effect of artesunate on endotoxin-induced uveitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:916-9.
5. Gonçalves RM, Teixeira AL, Campos WR, Orefice F. O papel das quimiocinas nas uveítes. *Arq Bras Oftalmol* 2007;70:363-70.
6. Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal* 2001;13:85-94.
7. Uchida T, Honjo M, Yamagishi R, Aihara M. The anti-inflammatory effect of ripasudil (K-115), a Rho kinase (ROCK) inhibitor, on endotoxin-induced uveitis in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:5584-5593.
8. Kimura K, Ito M, Amano M, et al. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science*. 1996;273:245-8.
9. Peng F, Wu D, Gao B, et al. RhoA/Rho-kinase contribute to the pathogenesis of diabetic renal disease. *Diabetes* 2008;57:1683-92.
10. Versini M, Jeandel PY, Rosenthal E, Shoenfeld Y. Obesity in autoimmune diseases: not a passive bystander. *Autoimmun Rev* 2014;13:981-1000.
11. de Vos AF, van Haren MA, Verhagen C, Hoekzema R, Kijlstra A. Kinetics of intraocular tumor necrosis factor and interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:1100-6.
12. Gunes AE, Aktas S. Effect of hyperbaric oxygen therapy on complete blood count. *Undersea Hyperb Med*. 2017;44:357-364.
13. Winterhalter S, Behrens UD, Salchow D, Joussen AM, Pleyer U. Dexamethasone implants in paediatric patients with noninfectious intermediate or posterior uveitis: first prospective exploratory case series. *BMC Ophthalmol* 2017;17(1):252.
14. Erşanlı D, Karadayi K, Toyran S, et al. The Efficacy of Hyperbaric Oxygen for the Treatment of Experimental Uveitis Induced in Rabbits. *Ocul Immunol Inflamm* 2005;13(5):383-8.
15. Toyran S, Erşanlı D, Elbüken E, et al. Tavşanlarda Geliştirilen Deneyisel Üveit Modelinde HBO (Hiperbarik Oksijenizasyon) Tedavisinin Etkinliğinin Araştırılması. *T Oft Gaz* 2003;3:644-654
16. Zola M, Briamonte C, Lorenzi U, Machetta F, Grignolo FM, Fea AM. Treatment of refractory uveitic macular edema: results of a first and second implant of long-acting intravitreal dexamethasone. *Clin Ophthalmol* 2017;11:1949-1956.
17. Hoekzema R, Verhagen C, van Haren M, Kijlstra A. Endotoxin-induced uveitis in the rat. The significance of intraocular interleukin-6. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:532-9.
18. Hayashi S, Guex-Crosier Y, Delvaux A, Velu T, Roberge FG. Interleukin 10 inhibits inflammatory cells infiltration in endotoxin-induced uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:633-6.
19. Cordero Coma M, Sobrin L, Onal S, Christen W, Foster CS. Intravitreal bevacizumab for treatment of uveitic macular edema. *Ophthalmology* 2007 114:1574-1579.e1.
20. Al-Waili NS, Butler GJ. Effects of hyperbaric oxygen on inflammatory response to wound and trauma: possible mechanism of action. *Sci World J* 2006;6:425-41.
21. Miyake Y, Awaya S, Takahashi H, Tomita N, Hirano K. Hyperbaric oxygen and acetazolamide improve visual acuity in patients with cystoid macular edema by different mechanisms. *Arch Ophthalmol* 1993;111:1605-6.
22. Okinami S, Nihira M, Iwaki M, Sunakawa M, Arai I. Hyperbaric oxygen therapy for cystoid macular edema in uveitis. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1992;46:199-201.
23. Suttrop-Schulten MS, Riemsdijk FC, Rothova A, van der Kley FC. Long-term effect of repeated hyperbaric oxygen therapy on visual acuity in inflammatory cystoid macular oedema. *Br J Ophthalmol* 1997;81:329.
24. Elayan IM, Axley MJ, Prasad PV, Ahlers ST, Auker CR. Effect of hyperbaric oxygen treatment on nitric oxide and oxygen free radicals in rat brain. *J Neurophysiol* 2000;83:2022-9.
25. Smith JR, Hart PH, Williams KA. Basic pathogenic mechanisms operating in experimental models of acute anterior uveitis. *Immunol Cell Biol* 1998;76:497-512