

LİPOKSİGENAZ VE SİKLOKSİGENAZ İKİLİ İNHİBİTÖRÜ BW-755 C'nin TAVŞANLARDA DENEYSEL ÜVEİT ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Murat KAYA (x)
Dr. Gülay GÜLLÜLÜ (x)
Dr. Şule GÖK (xx)
Dr. Abdulkadir REİS (xxx)
Dr. Gürsel ARSEVEN (xxxx)
Dr. Selahattin ÇELEBİ (xxxxx)

ÖZET :

Üveitlerin immunopatogenezi ve mekanizmaları halen bir muamma olarak kalmaya devam etmektedir. Lökotrienlerin üveitlerde enflamasyon yönünden önemli mediatörler oldukları düşünülmektedir.

Biz lipoksigenaz ve sikloksigenazın ikili inhibitörü olan BW-755 C'nin etkisini tavşanlarda deneysel üveit üzerinde araştırdık.

Tavşanlar Complete Freund Adjuvant ve stafilokok antijenleri ile sensitize edildikten iki hafta sonra aynı antijen ön kamaralarına inoküle edildi.

Deneysel grupta ön kamara işlemlerinden 30 dakika önce 30 dakika sonra I.V. BW-755 C uygulandı.

24 saat sonra hayvanlar öldürüldü ve enükle edilen gözleri histopatolojik olarak incelendi. BW-755 C uygulanmayan kontrol grubunda sadece ön kamara ve ön vitreyi de içine alan dikkat çekici bir polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu vardı. BW-755 C uygulanan gözlerde ise, dokular daha az önemli idi ve sadece ön kamara ve irisi tutan hafif ve orta derecelerde bir akut enflamatuvar infiltrasyon vardı.

Bu bulgular gösteriyor ki BW-755 C, modelimizde enflamasyonu azaltmada etkili olmuştur ve üveitler üzerinde potansiyel bir terapötik etkisi olabilir.

Anahtar kelimeler: BW-755 C, Lökotrienler, Deneysel üveit.

(x)	Atatürk Üniv Tıp Fak.	Göz Hasta.	Anabilim Dalı Öğr. Üyesi.
(xx)	"	"	"
(xxx)	"	"	Farmakoloji Anabilim Dalı Araş. Gör.
(xxxx)	"	"	Patoloji Anabilim Dalı Öğr. Üyesi.
(xxxxx)	"	"	Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğr. Üyesi.

GİRİŞ:

Üveitlerin birçok tipinde patogeneze, rekürrens ve iyileşme nedenleri çok az bilindiğinden, üveit ve göz içi enflamasyonları, oftalmoloji için en önemli problemlerin başında gelmektedir.

Göz içi enflamasyonları, görme fonksiyonunda azalma ya da kayıp ile seyreden önemli yapısal değişiklikler yaparlar.

Üveit patogenezinde, immünolojik ve enflamatuar faktörlerin kritik roller oynadığı düşünülmektedir. Bu faktörlerin en son tanımlanan grubunu lökotrienler oluşturur ki, bunlar arasıdonik asid metabolizması ürünleri olup, nötrofillerin içinde oluşurlar(1).

Oküler enflamasyonlarda lökotrienlerin rolü hayvan deneylerinde gösterilmiştir. S-antijen üveitli sıçanlarda hümr aközde yükselmiş lökotrien (LT) C₄ tesbit edilmiştir (2). Tavşanlarda konjonktival alkali yanıkları ve katarakt ekstraksiyonu sonrasında, hümr aközde yüksek seviyede LTB₄ ve C₄ bulunmuştur (3).

Bhattacharjee ve arkadaşları tavşanların ön kamaralarına, LTB₄ verdiklerinde, doza bağımlı olarak artan polimorfonükleer lökositler gözlemişlerdir (4).

Bigaard ve arkadaşları, topikal ragweed antijeni ile allerjik hastaların gözyaşlarında LTC₄/D₄ seviyelerinde yükselme tesbit etmişlerdir (6).

Astım, erişkin respiratuar distress sendromu, kronik bronşit, kistik fibrozis, psoriasis, enflamatuar barsak hastalığı ve myocard iskemisi gibi hastalıklarda artmış lökotrien seviyeleri rapor edilmiştir (7,8,9).

Bu çalışmada, özellikle lipoksigenaza etkili inhibisyonu olan BW-755 C'nin [[3-amino- 1-CM (trifluoromethyl) phenyl]-2-pyrazoline] tavşanlarda oluşturulmuş deneysel üveit üzerindeki potansiyel terapötik etkisi araştırıldı.

MATERYAL VE METOD:

Deneyimizde 25 erkek albino-New-zealand tavşan (2500-3500 g) kullanıldı.

Tavşan gözünün histolojik yapısına aşinalık sağlamak için bazı tavşanların sağlam gözleri enükle edildi ve histolojik kesitler hazırlandı.

Antijen ve Kimyasal Maddeler:

BW-755 C, Wellcome Laboratuvarı (İngiltere), Complete Freund Adjuvant (CFA) Difco Laboratuvarı (Detroit, Michigan, U.S.A)'ndan getirildi.

Stafilokok antijenleri Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda hazırlandı (1200-1500 milyon staph./ml).

Hayvan Grupları ve İmmünizasyon:

Grup I: Ön kamara inokülasyonundan 2 hafta önce, 1 ml CFA ve 1ml stafilokok antijen solüsyonu ile subkütan olarak immünize edilmiş 10 adet tavşan.

Grup II: Aynı antijenle aynı şekilde immünize edilmiş 15 adet tavşan.

Ön Kamara İnokülasyon:

Hayvanlara, ketamin İ.M. kullanarak anestezi uygulandı. Ön kamara hipotansiyonu için 30 no'lu steril iğne ile parasentez yapıldı. Her iki gruptaki hayvanların ön kamaralarına 0.1 m/stafilokok antijeni solüsyonu verildi. Tüm hayvanların yalnızca sağ gözleri kullanıldı.

Terapötik İşlem:

Grup I'de, ön kamara inokülasyonundan 30 dakika önce sağ kulak veninden 2 ml saline solüsyonu verildi. Grup II'de ise 5 mg BW-755 C 2 ml saline solüsyonu içinde eritilerek verildi. Ön kamara inokülasyonundan 30 dakika sonra aynı işlemler tekrar edildi.

24 saat sonra, ön kamara enflamasyonunu değerlendirmek için biomikroskop muayenesi yapıldı ve tüm hayvanlarda ön kamara enflamasyonu derecelendirildi. Daha sonra öldürülen hayvanların gözleri enükle edildi ve histopatolojik inceleme için hazırlandı.

Enflamasyonun Slit Lamp Derecelendirilmesi:

Skor Biomikroskop Bulguları

- 1 Hafif silier enjeksiyon, nadir tındal ve hücre
- 2 Silier enjeksiyon+orta derecede tındal ve hücre
- 3 Silier enjeksiyon, myotik pupilla ve bulutsu aköz hümör

Tüm histolojik kesitler maskeli yöntemle incelendi. Slit lamp muayene skorları Ki-kare testi ile analiz edildi.

SONUÇLAR:

Normal tavşan gözlerinde, kornea, iris, silier cisim, vitreous ve koroid tamamen sağlam olup, gerek ön kamara, gerekse arka kamarada herhangi bir iltihabi hücre gözlenmedi.

Ön kamaraya stafilokok antijeni verilmeden ve verildikten 30 dakika sonra

sadece saline solüsyonu uygulanan hayvanlarda ön kamara ve irisi tutan orta-ağır derece arasında akut enflamatuvar infiltrasyon görüldü (Şekil1).

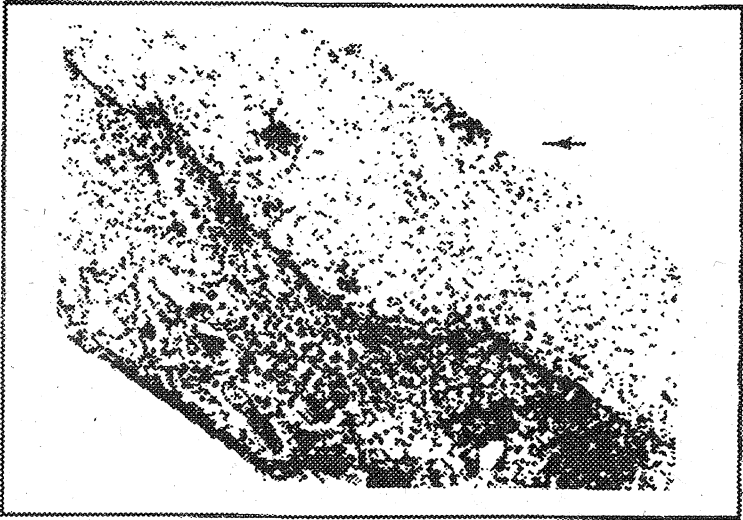
BW-755 C uygulanan gözlerde ise, dokular daha az ödemli idi ve yalnızca ön kamarada hafif-orta arasında değişen akut infiltrasyon vardı (Şekil 2). Bu grupta hiçbir hayvanda arka kamara ve ön vitreusda hücre görülmedi.

Slit-lamp infiltrasyonu skor sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir.

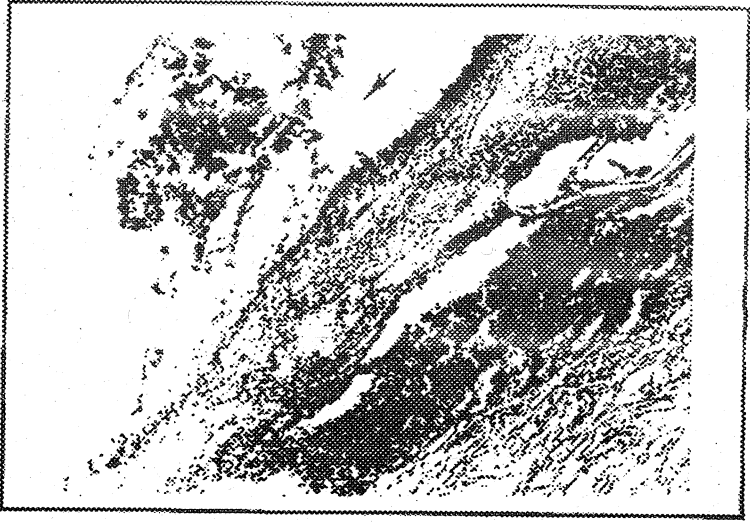
Tablo 1: Slit-Lamp Muayenesinin Sonucuna Göre Enflamasyon Skorları.

Grup	Hayvan Sayısı	Enflamasyon Derecesi		
I	1	1	$\chi^2: 11.95$	$p<0.01$
	4	2		
	5	3		
II	10	1		
	5	2		
	0	3		

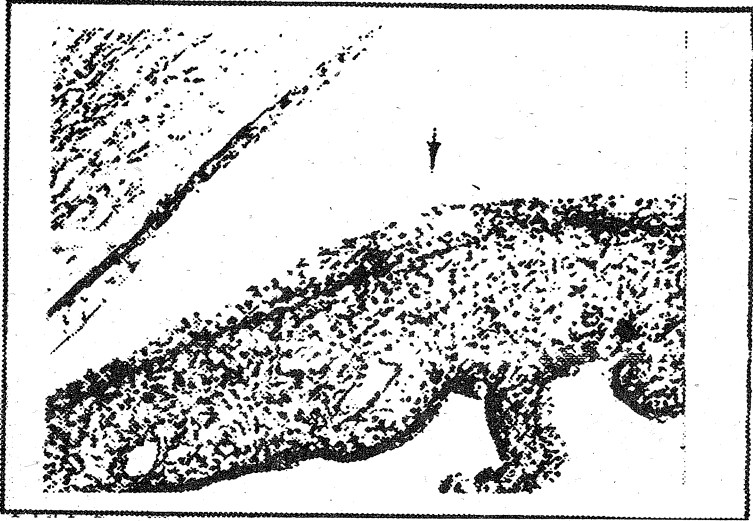
Grup II'de enflamasyon, kontrol grubuna kıyasla daha az bulunmuştur. (Şekil 3).



Şekil 1: Grup I'de yer alan bir tavşanın ön kamara ve irisi. Ön kamarada polimorfontükleer lökositlerin çoğunlukta olduğu yoğun hücre infiltrasyonu ve eozinofilik eksüdasyon görülmektedir. Iris dokusu da akut iltihabi hücrelerle infiltridir. H&E, 100x.



Şekil 2: Grup I'de yer alan başka bir tavşanın arka kamara ve irisi. Arka kamarada akut iltihabi infiltrasyon izlemekte H&E. 100x.



Şekil 3: Grup II'de yer alan bir tavşanın ön kamara ve irisi. Polimorfonükleer lökositlerden oluşan ince bir infiltrasyon tabakası izlenmekte. H&E. 100x.

TARTIŞMA:

Üveit ve diğer bazı hastalıklarda mediatör adı verilen potent moleküller önemli rol oynamaktadır. Bunların geniş bir bölümünü araşidonik asid metabolitleri olan, membran fosfolipidlerinden kaynaklanmış lökotrienler oluşturur (10).

BW-755 C, araşidonik asid metabolizmasının hem lipoksigenaz, hem de sikloksigenaz yollarının ikili inhibitörü olup, LTB₄ ve diğer lökotrienlerin inhibisyonunu sağlar (11,12).

Stanley ve arkadaşları BW-755 C'nin etkilerini iskemik myokard hasarının oklüzyonreperfüzyon modelinde araştırmışlar ve BW-755 C'nin myokard hasarını azalttığını gözlemişlerdir (13).

Yapılan bir çalışmada BW-755 C'nin nötrofil migrasyonunu azalttığı tesbit edilmiştir (14).

Bu çalışmada da BW-755 C'nin göz içi enflamasyonunu azalttığı gösterilmiştir. BW-755 C uygulanan gözlerde yalnızca ön kamaralarda hafif-orta arasında değişen derecelerde akut enflamatuar hücreler gözlenirken, kontrol grubunda daha yoğun bir iltihabi infiltrasyon vardı. Ayrıca bu grupta arka kamara ve ön vitreusda da iltihabi hücreler görüldü.

Bu çalışmada öyle gözükmektedir ki, BW-755 C'nin anti-enflamatuar etkileri araşidonik asid metabolizmasındaki değişiklikler yoluyla olmuştur ve üveitler üzerinde potansiyel bir terapötik etkisi olabilir.

SUMMARY

EFFECT OF LIPOXYGENASE AND CYCLOXYGENASE ENZYMES INHIBITOR BW-755 C ON EXPERIMENTAL UVEITIS IN A RABBIT MODEL

Immunopathogenesis and mechanism of uveitis still remain as an enigma. Leukotrienes are thought to be prominent proinflammatory mediators in uveitis. We evaluated the efficacy of BW-755 C, a dual inhibitor of lipoxygenase and cyclooxygenase, in a model of experimental uveitis in rabbit.

Rabbits were sensitised with Complete Freund Adjuvant (CFA) and staphylococcus antigens two weeks before anterior chamber inoculation of the same antigen.

In experimental group, I.V. administration of BW-755 C was applied 30 minutes before and after anterior chamber challenge.

24 hours later animals were sacrificed and eyes were evaluated histopathologically.

In control group with no BW-755C administration, there was a marked infiltration with polymorphonuclear leukocytes in involving not only anterior chamber but also posterior chamber and anterior vitreous. But in BW-755 C treated eyes, tissues were less edematous and there was a mild to moderate acute inflammatory infiltration involving only anterior chamber and iris.

These data indicate that BW-755C is effective to minimize the inflammation in our model and may have a potential therapeutic effect on uveitis.

Key Words: BW-755C, Leukotrienes, experimental uveitis.

KAYNAKLAR

- 1- Palmblad J et al. Leukotriene B₄ is a potent and stereospecific stimulator of neutrophil chemotaxis and adherence, *Blood*. 58, No 3, 658-661, 1981.
- 2- Mahlberg K, Usitalo RJ, Palkama A et al. Phospholipase A-2 and leukotriene C₄ in experimental uveitis. *ARVO Abst.* 26: 98, 1985
- 3- Borodic G, Conte J, Aswad M et al. Aqueous humor leukotriene levels in animal models of inflammation. *ARVO Abst.* 26: 99, 1985.
- 4- Bhattacharjee P et al. Effect of lipoxygenase products on leukocyte accumulation in the rabbit eye. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.* 9: 325-330, 1982.
- 5- Bisgaard HF, Hatchinson AW et al. Detection of leukotriene C₄ like immunoreactivity in tear fluid from subjects challenged with specific allergen. *Prostaglandins.* 27: 369-374, 1984;
- 6- Parker J, Edwards J et al. Leukotrienes in the aqueous humor of patients with uveitis. *Arch Ophthalmol.* Vol 104: 722-724, May 1986.
- 7- Goetzl EJ, Payan DG, Goldman DW. Immunopathogenetic roles of leukotrienes in human diseases. *J Clin Immunol.* 4: 79-84, 1984.
- 8- Lefer AK. Leukotrienes as mediators of ischemia and shock. *Biochem Pharmacol.* 35: 123-127, 1986.
- 9- Feurstein G, Hallenbeck JM. Prostaglandins, leukotrienes and platelet activating factor in shock. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 27: 301-313, 1987.
- 10- Lynder WD, Fyeisch J. Leukotriene receptor antagonists as potential therapeutic agents. *Ann Rev Pharmacol Toxicol.* 29: 123-143, 1989.

- 11- Armour CL, Hughes JM, Seale JP, Temple OM. Effect of lipoxygenase inhibitors on release of slow reacting substances from human lung. *Eur J Pharmacol.* 72: 93, 1981.
- 12- Hedgurst P, Dahlen SE, Gustafson L, Hammerstrom S, Samuelson B. Biological profile of leukotrienes C4 and D4. *Acta Physiol Scand.* 110: 331, 1980.
- 13- Stanley RJ, Benedict RL. Effect of BW-755C in an occlusion-reperfusion model of ischemic myocardial injury. *Am Heart J.* 8-13, July 1983.
- 14- Higas GA, Eakins KE, Mugridge KG, Moncada S, Vane JR. effects of non-steroidal antiinflammation drugs on leukocyte migration in carrageenan-induced inflammation. *Eur J Pharmacol.* 66: 81, 1980.