

**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

**CİVCİV EMBRİYOLARINDA OLUŞTURULAN
DENEYSEL KATARAKT MODELİNDE A, D ve E
VİTAMİNLERİNİN OKSİDATİF STRES VE
İNFLAMATUVAR MARKIRLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Mervenur UYAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Doç. Dr. Halit Buğra KOCA**

**Bu çalışma; Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimi tarafından 21.LİS.001 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

2023-AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Yüksek Lisans Öğrencisinin

Adı Soyadı: Mervenur Uyar

İmza:

Danışmanın

Ünvanı, Adı Soyadı: Doç. Dr. Halit Buğra Koca

İmza:

KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Halit Buğra Koca danışmanlığında Mervenur UYAR tarafından hazırlanan “Civciv Embriyolarında Oluşturulan Deneysel Katarakt Modelinde A, D ve E Vitaminlerinin Oksidatif Stres ve İnflamatuvar Markılar Üzerine Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

14 /06/ 2023

JÜRİ:

Başkan : Prof. Dr. Ahmet KAHRAMAN

(Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

.....

Üye : Prof. Dr. Ömer HAZMAN

(Afyon Kocatepe Üniversitesi)

.....

Üye : Doç. Dr. Halit Buğra KOCA

(Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi)

.....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... /...../

.....

Prof. Dr. Özal Özcan

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım boyunca hep yanımda olan, bilgisini ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, tez hazırlama sürecimin her aşamasındaki büyük katkılarından, ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu sabır ve hoşgöründen dolayı başta danışmanım Doç. Dr. Halit Buğra Koca'ya;

Yüksek lisans eğitimim sürecinde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Kahraman'a, Prof. Dr. Sefa Çelik'e, Prof. Dr. Tülay Köken'e;

Tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Abdülkadir BİLİR başta olmak üzere tüm Anatomi Anabilim Dalı öğretim üyesi ve araştırma görevlilerine;

Bugüne kadar eğitim sürecime katkısı olan, hayatıma dokunan tüm hocalarıma;

Her zaman olduğu gibi bu süreçte de yanımda olan değerli arkadaşlarıma;

Her an sevgi ve destekleriyle yanımda olan, her başarımın esas sahipleri annem Gülnur Uyar ve babam Abdullah Uyar'a;

Tezimin hazırlanmasındaki desteğinden dolayı AFSÜ BAP Birimi'ne, teşekkür ederim.

Mervenur UYAR

Afyonkarahisar, Haziran 2023

CİVCİV EMBRİYOLARINDA OLUŞTURULAN DENEYSEL KATARAKT MODELİNDE A, D ve E VİTAMİNLERİNİN OKSİDATİF STRES VE İNFLAMATUVAR MARKIRLAR ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Mervenur Uyar

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi
Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Haziran 2023
Danışman: Doç. Dr. Halit Buğra Koca**

ÖZET

Katarakt dünyada önlenabilir körlüğün ve görme bozukluğunun önemli bir nedenidir. İleri yaş, diyabet, sigara kullanımı, kortikosteroidler gibi etmenler lens yapısının bozulmasına sebep olarak katarakt oluşumunda rol oynamaktadır. Lenste ve diğer oküler dokularda bulunan antioksidan savunma sistemleri lense serbest oksijen radikallerinin toksik etkilerine karşı korurlar. Çeşitli sebeplerle oksidatif denge bozulduğu zaman lenste artan oksidatif hasar katarakt oluşumuna neden olur. Literatürde antioksidan ajanlar olarak bazı vitaminlerin reaktif oksijen türlerini nötralize ederek ve lens hücre zarlarını stabilize ederek oksidatif stresi iyileştirdiği belirtilmiştir. Bu kapsamda antioksidan etkilerinin ve metabolizmadaki bir dizi işlevlerinin katarakt oluşumunu engelleyebileceğini düşünerek A, D ve E vitaminlerinin etkilerinin civciv embriyolarında steroid kaynaklı katarakt modelinde araştırılması amaçlandı.

Çalışmamızda kontrol grubu, hidrokortizon hemisüksinat sodyum (HC) grubu ve çeşitli dozlarda A, D ve E vitamin grupları oluşturuldu. Embriyolardan elde edilen lenslerde katarakt derecelendirmesi yapıldı ve lens interlökin 6 (IL-6), tümör nekroz faktör α (TNF- α), glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü. Çalışmamızın sonucunda kontrol grubunda yer alan embriyolara ait lenslerin hepsinin katarakt derecesini 1 olarak belirledik. Yalnızca HC uyguladığımız grupta ortalama katarakt derecesini 4,5 olarak belirledik. Vitamin uyguladığımız gruplarda ise katarakt derecesi HC grubuna göre anlamlı düşük idi. IL-6, TNF- α 'nın vitamin uygulanan grupların bazı dozlarında düşük olması; GSH ve SOD'un ise yüksek olması

Çalışmamızdaki tüm vitaminlerin doza bağlı olarak antioksidan etki göstererek toksisiteye karşı koruyucu etkileri olduğunu ve antikatarakt etki gösterdiklerini düşündürmektedir. MDA'nın ise sadece A vitaminin tüm dozlarında HC grubuna göre anlamlı düşük olması A vitamininin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini D ve E vitamininin böyle bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: A Vitamini, D Vitamini, E Vitamini, Katarakt, Lens, Steroid, Oksidatif Stres, İnflamasyon



INVESTIGATION OF THE EFFECT OF VITAMINS A, D AND E ON OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATORY MARKERS IN EXPERIMENTAL CATARACT MODEL CREATED IN CHICK EMBRYO

Mervenur Uyar

**Afyonkarahisar University of Health Sciences
Institute of Graduate Education Department of Medical Biochemistry
Master's Thesis
June 2023
Supervisor: Assoc. Prof. Halit Buğra Koca**

ABSTRACT

Cataract is a major cause of preventable blindness and visual impairment worldwide. Advanced age, diabetes, smoking, and the use of corticosteroids are factors that contribute to the deterioration of lens structure and play a role in cataract formation. Antioxidant defense systems present in the lens and other ocular tissues protect against the toxic effects of free oxygen radicals. When this balance is disrupted due to various reasons, increased oxidative damage in the lens leads to cataract formation. In the literature, it has been stated that some vitamins act as antioxidant agents by neutralizing reactive oxygen species and stabilizing lens cell membranes, thus improving oxidative stress. In this context, it was aimed to investigate the effects of vitamins A, D and E in a steroid-induced cataract model in chick embryos, considering that their antioxidant effects and a series of functions in metabolism may prevent cataract formation.

In our study, we established a control group, a hydrocortisone group, and vitamin A, D, and E groups with various doses. Cataract grading was performed on the lenses obtained from the embryos, and levels of Lens interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA) were measured. As a result of our study, we determined that all lenses from the embryos in the control group had a cataract grade of 1. In the group where only HC was applied, the average cataract grade was determined as 4.5. However, in the vitamin-treated groups, the cataract grade was significantly lower compared to the HC group. The lower levels of

IL-6 and TNF- α in some doses of the vitamin-treated groups, as well as the higher levels of GSH and SOD, suggest that all the vitamins in our study exhibited dose-dependent antioxidant effects, providing protection against toxicity and demonstrating anti-cataract effects. On the other hand, MDA was significantly lower only in all doses of vitamin A compared to the HC group, indicating that vitamin A inhibited lipid peroxidation while vitamins D and E did not have such an effect.

Keywords: Vitamin A, Vitamin D, Vitamin E, Cataract, Lens, Steroid, Oxidative Stress, Inflammation



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	I
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	II
KABUL VE ONAY	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER	IX
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ	XIV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	XVI
2. GENEL BİLGİLER	1
2.1. GÖZÜN YAPISI.....	1
2.2. KATARAKT	4
2.2.1. Risk Faktörleri	4
2.2.2. Katarakt Sınıflandırması	5
2.3. A VİTAMİNİ	9
2.4. D VİTAMİNİ	15
2.5. E VİTAMİNİ.....	19
2.6. OKSİDATİF STRES VE KATARAKT	23
2.7. KATARAKTTA ANTİOKSİDAN SAVUNMA.....	26
2.7.1. Malondialdehit (MDA).....	27
2.7.2. Glutasyon	30
2.7.3. Süperoksit Dismutaz	33
2.7.4. Tümör Nekroz Faktörü Alfa	35
2.7.5. İnterlökin-6	36
2.8. CİVCİV EMBRİYO MODELİNDE STEROİD KAYNAKLI KATARAKT OLUŞUMU	37

2.9. A, D, E VİTAMİNLERİNİN HAYVAN DENEY MODELLERİNDE UYGULANAN DOZLARI	38
2.9.1. A Vitamini	38
2.9.2. D Vitamini	39
2.9.3. E Vitamini.....	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1. DENEY HAYVANLARI	42
3.2. LABORATUVAR KOŞULLARI	42
3.3. GRUPLARIN OLUŞTURULMASI VE DENEY AŞAMASI.....	43
3.4. KATARAKT DERECELENDİRMESİ AŞAMASI.....	45
3.5. BİYOKİMYASAL ANALİZ AŞAMASI	45
3.5.1. Protein Ölçümü.....	45
3.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. KATARAKT DERECELERİNE AİT BULGULAR	47
4.2. BİYOKİMYASAL PARAMETRELERE AİT BULGULAR.....	48
4.2.1. Lens IL-6 Düzeyleri.....	48
4.2.2. Lens TNF- α Düzeyleri.....	49
4.2.3. Lens GSH Düzeyleri.....	50
4.2.4. Lens MDA Düzeyleri.....	51
4.2.5. Lens SOD Düzeyleri.....	52
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	64
7. KAYNAKLAR	65
EKLER.....	79
EK-1. İNTİHAL RAPORU	79
EK-2. ETİK KURUL ONAYI	81
ÖZGEÇMİŞ	82

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ATP: Adenozin-5'-trifosfat
atRA: All-*trans* Retinoik Asit
ARC: Yaşa Bağlı Katarakt
°C: Santigrat Derece
Ca: Kalsiyum
CAT: Katalaz
CO₂: Karbondioksit
CYP24A1: 24-hidroksilaz
CYP27B1: 1 α -hidroksilaz
CYP450: Sitokrom P450
D₃: Kolekalsiferol
D₂: Ergokalsiferol
DBP: D vitamini Bağlayıcı Protein
dk: Dakika
DNA: Deoksiribo Nükleik Asit
DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü
ER: Endoplazmik Retikulum
ETS : Elektron Taşıma Sistemi
FAO: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FGF23: Fibroblast Büyüme Faktörü 23
GALK1: Galaktokinaz-1
GPx: Glutasyon Peroksidaz
gr: Gram
GSSG: Okside Glutasyon
HC: Hidrokortizon Hemisüksinat Sodyum
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
HO₂·: Hidroperoksil Radikali
HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IL-6: İnterlökin-6
IU: international unit
Kg: Kilogram
L: Litre
M: Molar

mg: Miligram
mM: Milimolar
mm: Milimetre
mmol: Milimol
ml: mililitre
NADP⁺: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NF-Kb: Nuclear Factor kappa B
Nm: Nanometre
NO: Nitrik Oksit
NO₂: Azot Dioksit
NOX: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrür Oksidaz
Nrf2: Nükleer Faktör 2
O₂^{•-}: Süperoksit Anyon Radikali
•OH: Hidroksil Radikali
ONOO⁻: Peroksinitrit
P: Fosfor
PO₄³⁻: Fosfat
PUFA: Çoklu Doymamış Yağ Asitlerinin
RPE: Retinal Pigment Epiteli
PSC: Posterior Subkapsüler Katarakt
PTH: Paratiroid Hormon
RAE: Retinol Aktivite Eşdeğeri
RBP: Retinol Bağlayıcı Protein
RDA: Önerilen Günlük Miktar
RE: Retinil Ester
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
RPE: Retinal Pigment Epiteli
RXR: Retinoik X Reseptörü
SH: Sülfhidril
SIC: Steroid Kaynaklı Katarakt
SOD: Süperoksit Dismutaz
SPF: Specific Patogen Free
TAS: Total Antioksidan Seviye

TBA: Tert-Bütil Alkol
TBARS: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Ürünleri
TNF- α : Tümör Nekroz Faktörü Alfa
TOS: Total Oksidan Seviye
UV: Ultraviyole
UVA: Ultraviyole A
UVB: Ultraviyole B
VDR: D Vitamini Reseptörü
XO: Ksantin Oksidaz
 α -TTP: α -Tokeferol Transfer Proteinini
 γ -GCS: γ -Glutamil Sistein Sentetaz
 μ m: Mikrometre
 μ l: Mikrolitre
 μ mol: Mikromol
25(OH)D₃: 25-hidroksivitamin D
1,25(OH)₂D₃: 1,25-dihidroksivitamin D

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4. 1. Lens Il-6 Düzeyleri.....	48
Tablo 4. 2. Lens Tnf-A Düzeyleri.....	49
Tablo 4. 3. Lens Gsh Düzeyleri.....	50
Tablo 4. 4. Lens Mda Düzeyleri.....	51
Tablo 4. 5. Lens Sod Düzeyleri.....	52



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Gözün Yapısı	2
Şekil 2. 2. Re, Retinol, B-Karoten, Retinal Ve Retinoik Asitin Metabolik İlişkileri Ve İzoprenoid Birim, A-Karoten, 9-Cis Ra Ve 11-Cis-Retinalin Yapıları.....	9
Şekil 2. 3. A Vitamininin Diyetle Alınması Ve Taşınması.....	12
Şekil 2. 4. Kataraktı Önlemek İçin Karotenoidlerin Etki Mekanizmalarını Gösteren Şematik Diyagram.....	15
Şekil 2.5. D Vitaminini Kimyasal Yapıları.	16
Şekil 2. 6. D Vitaminini Sentezinin Şematik Gösterimi.	17
Şekil 2. 7. E Vitaminini İzofomlarının Kimyasal Yapısı.	20
Şekil 2. 8. Başlıca Reaktif Oksijen Türleri.	24
Şekil 2. 9. Mda Oluşumu Ve Metabolizması.	28
Şekil 2. 10. $O_2^{\bullet -}$ Reaksiyonları Ve Dönüşümleri.....	34
Şekil 3. 1. Çalışma Aşamasına Ait Görseller.....	43
Şekil 3. 2. Yumurta Kabuğunun Kırılarak Embriyonun Çıkarılması Aşaması Ve Yumurtadan 17. Günde Çıkarılmış Embriyo Görüntüsü.....	44
Şekil 3. 3. Cıvıv Embriyo Ve Lens Görüntüsü.....	44
Şekil 4. 1. Katarakt Derecelerine Ait Görseller.....	47
Şekil 4. 2. Lens Il-6 Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	49
Şekil 4. 3. Tnf-A Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	50
Şekil 4. 4. Lens Gsh Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	51
Şekil 4. 5. Lens Mda Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	52
Şekil 4. 6. Lens Sod Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	53

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Göz merceğindeki opaklık veya ışık saçılmasının klinik korelasyonu olan katarakt, genellikle yüksek moleküler ağırlıklı protein kümelerinin varlığından veya mercek yapısının bozulmasından kaynaklanır ve yaş, kadın cinsiyeti, genetik yatkınlık, sigara, diyabet, ilaç alımı ve ultraviyole B (UVB) radyasyonuna çevresel maruziyet ile ilişkili çok faktörlü bir hastalıktır (Prokofyeva ve ark., 2013; Shiels ve Hejtmancik, 2019). Katarakt için en önemli faktörler ise göz merceğinin oksidatif ve glikatif yük dahil çevresel stres faktörlerine maksimum düzeyde maruz kalmasıdır. Bundan dolayı antioksidan ve antiglikatif takviyelerin uygulanması, katarakt progresyonu riskini azaltılabileceği düşünülmektedir (Ishida ve ark., 2020).

Diyet faktörlerinden vitaminlerin alımı katarakt riskinde oksidatif stres ile ilişkili olarak dikkat çekmektedir. A ve C vitamini, reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyen yaygın bir antioksidan türüdür. A vitamini, kornea netliğinin ve göz görmesinin korunmasında kritik bir bileşiktir. A vitamini ve karotenoidlerin, reaktif oksijeni azaltarak ultraviyole (UV) kaynaklı oksidatif stresi hafiflettiği bilinmektedir. A vitamini ve karotenoidlerin bu nötralize edici etkisi nedeniyle göz bozukluklarına, özellikle katarakta karşı koruyucu olduğu düşünülür. Çalışmalar da daha yüksek serum retinol seviyesinin katarakt riskini önemli ölçüde azalttığını ileri sürmektedir (Choi ve ark., 2020). Neredeyse her dokuda D vitamini reseptörünün (VDR) bulunması ve yüzlerce geni kontrol eden genom boyunca binlerce VDR bağlanma bölgesinin daha yakın zamanda keşfedilmesiyle ve bunun çoklu biyolojik süreçler üzerindeki etkisinin son birkaç yıldır binlerce yayın tarafından kanıtlanmasıyla D vitaminine olan ilgi muazzam bir şekilde hızlanmıştır (Bikle, 2014). Yapılan bir çalışmada da katarakt hastalarında ciddi bir eksiklikle birlikte tüm gruplarda 25-Hidroksi Vitamin D (25-OH D) seviyeleri referans seviyelerin altında bulunmuştur. Nükleer katarakt hastaları ise en düşük 25-OH D seviyelerini göstermiştir. Bu sonuçlar, yaşa bağlı katarakt (ARC) hastalarında 25-OH D eksikliğinin rolüne dikkat çekmiştir (Abdellah ve ark., 2019). E Vitamini ise hücre antioksidan savunma sistemindeki yağda çözünen başlıca bileşendir. Antioksidan aktivitesi nedeniyle vücutta çok sayıda önemli rolü vardır. Oksidasyon, kanser, yaşlanma, artrit ve katarakt dahil olmak üzere çok sayıda olası durum ve hastalıkla ilişkilendirilmiştir; E vitamininin bunlara karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Rizvi ve ark., 2014).

Katarakt oluşumunun hayvan modelleri hem kataraktın etyopatogenezi incelemek hem de potansiyel önleyici terapötikleri test etmek için oldukça önemlidir. Daha önce fare, sıçan, tavşan, köpek, zebra balığı, buzağı, civciv gibi farklı hayvan modelleri farklı tip kataraktları incelemek için kullanılmıştır (Ishida ve ark., 2020). Önceki çalışmalar, hidrokortizon uygulaması ile civciv embriyolarında bir katarakt üretilebileceğini göstermiştir (Nishigori ve ark., 1987).

Tüm bunlar sonucunda A, D ve E vitaminlerinin antioksidan etkilerinin ve metabolizmadaki önemli bir dizi işlevlerinin katarakt oluşumunu engelleyebileceğini düşünerek; çalışmamızda, civciv embriyolarındaki steroid kaynaklı deneysel katarakt modeli üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

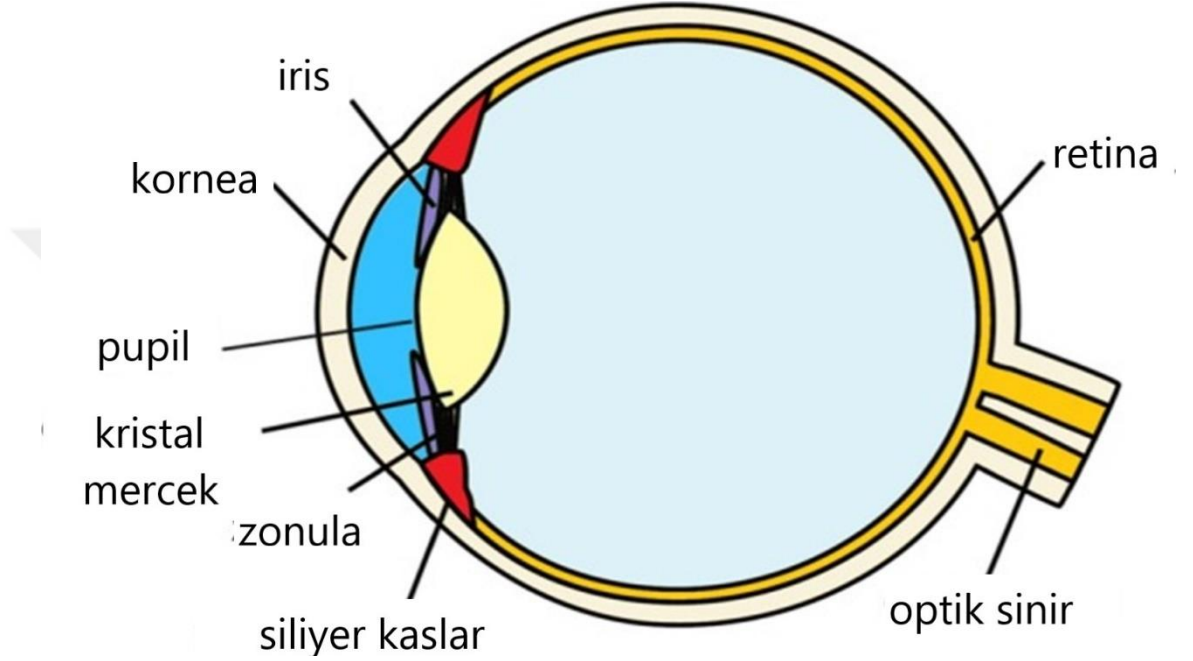
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gözün Yapısı

Gözler 22-26 mm çapında bir küredir. Göz küresi, göz çukurunun (orbita) kemikleri tarafından çevrelenmektedir. Gözler, göz kapakları ile dış etkenlerden korunurlar, ayrıca göz kapaklarının kırpma refleksi gözleri dış etkenlerden korur. Kapaklardan başka gözyaşı bezleri (glandula lakrimas) ve onun drenaj sistemleri (nazolakrimal sistem), orbita içindeki diğer oluşumlar ve kirpikler gözün yardımcı organlarını oluştururlar. Gözün; beyaz sklera tabakasının tam ortasında kornea tabakası bulunur. Orta tabakayı teşkil eden uvea 3 bölümden oluşmuştur: Önde gözün rengini veren iris, ortada corpus ciliare, geride ise gözün büyük bir bölümünün beslenmesini sağlayan koroidea yer alır. En iç tabakada ise görme fonksiyonun başlangıcını meydana getiren retina vardır. Skleranın ön kısmı ve kapakların arka yüzünü konjonktiva adındaki 2 katlı saydam, sümüksü bir zar sarar. Kornea ile iris arasında 2,5 mm derinliğinde içi aköz hümör adındaki saydam sıvı ile dolu ön kamara, iris ile lens adını verdiğimiz göz içi merceği arasında yine aköz hümör ile dolu arka kamara adındaki odacıklar mevcuttur. Lensin arkasındaki saydam vitreus gözün 3/4'ünü doldurur, küreye şeklini verir. En arkada, retinadaki görmeyi beyine iletecek olan optik sinir başı bulunur (Blumental ve ark., 1991; Duncan ve ark., 1997).

Lens şeffaf, vaskülarizasyonu ve inervasyonu olmayan optik bir organdır. Lens, irisin arkasında ve vitreusun önünde patellar fossada yer alır. Ön yüzde en tepe noktaya ön kutup, arka yüzde en tepe noktaya ise arka kutup denir. Lensin ön kutbu ile korneanın ön kısmı birbirinden yaklaşık 3,5 mm uzaklıktadır. Arka yüzey ise, ligamentum hyaloidokapsülare olarak adlandırılan bir alanda vitreus ile temas halindedir. Vitreusun hyaloid yüzü ile lens kapsülü arasında Berger alanı olarak adlandırılan potansiyel bir boşluk bulunmaktadır. Lens, ön yüz eğimi arka yüz eğiminden daha düz olan bikonveks yapıdadır. Lensin ön ve arka yüzünün birleştiği yere ekvator denir. Lens, zonüller aracılığı ile ekvatoradan siliyer proseslere tutunmuştur. Ön ve arka zonül lifleri ise lens ekvatorunun 1-2 mm ön ve arkasına, lens içine 2 mikron girerek yapışırlar. Ön lifler, arka liflere göre 1 mm daha önden yapışır. Ekvatoryal zonüllerin uzalıp kısılması akomodasyonu sağlar (Karel, 2001).

İnsan gözünün optik yapısı, göz küresinin arkasında bulunan retinadaki görüntüyü oluşturan dört dokudan oluşur (Şekil 2.1). Bu dokulardan kornea gözün odaklanmasından sorumludur. Göz bebeği ve kristalin lens ise net bir görüntü elde etmek için optik bilgiyi düzenler. İris, göz bebeği çapını ayarlayan kastır. Işığa tepki olarak bilinen bu etki dokuya gelen ışık aksını kontrol eder (Ivanova, 2020).



Şekil 2. 1. Gözün Yapısı (Ivanova, 2020).

Göz merceği ışığı retinaya iletir ve odaklar, burada fotoreseptörler ışığı algılar ve diğer retinal hücrelerle birlikte görsel sinyallere dönüştürür ve optik sinir yoluyla optik kortekse iletilmeden önce ilk süreç gerçekleşmiş olur. Bu işlev, gelişim sırasında lens ekvatoruna doğru lateral olarak göç eden, burada ters dönen, uzayan, lens kristalleri de dahil olmak üzere lense özgü büyük miktarlarda protein sentezleyen ve son olarak saydamlıklarını artırmak için organellerini bozan tek bir ön epitel hücre tabakasından oluşan lens yapısı tarafından kolaylaştırılır. Merkezi çekirdek hücreleri daha sonra birbirini takip eden lens epitel hücreleri tarafından kaplanır böylece sonunda lens çekirdeği adı verilen olgun lif hücrelerinden oluşan bir yapı oluştururlar. Bu süreç embriyogenez sırasında başlar ve gelişme sırasında maksimum aktiftir ve yaşam boyunca kademeli olarak devam eder, bu nedenle yaşlı lif hücreleri lens çekirdeğinde bulunur ve etrafında daha genç kortikal lif hücreleri ekvatorunda katman oluşturmaya devam eder (Dawes ve ark., 2018). Her ikisinden de sapmalar ışığı dağıtabileceği için hem lens fiber hücrelerinin organel içermeyen yapısı hem de lens içindeki hassas dizilimleri lens şeffaflığı ve görüşü için önemlidir.

Lens yaşam boyunca büyümeye devam eder. Doğumda, ekvatoryal çapı yaklaşık 6,4 mm, anteroposterior çapı 3,5 mm'dir ve yaklaşık 90 mg ağırlığındadır. Yetişkin lensinin ekvatoryal çapı 9-10 mm, anteroposterior çapı 5 mm ve ağırlığı yaklaşık 255 mg'dır (American Academy of Ophthalmology, 2017). Lens, farklılaşmanın çeşitli aşamalarındaki ektodermal hücrelerden oluşur ve lens kapsülü olan bir bazal lamina ile çevrilidir. Dışta epitelyal bir tek tabakadan oluşurken, içte lensin büyük kısmını oluşturan yoğun olarak düzenlenmiş lif hücrelerinden oluşan kabuklarla karakterizedirler. En yüzeysel lifler metabolik olarak aktif, çekirdekli hücrelerken, yetişkin merceğinin çoğunu oluşturan daha derindeki lifler organelsizdir. Gelişim ve şeffaflık için gereken enerjiyi esas olarak glukozdan alır. Epitelyal adenozin-5-trifosfat'ın (ATP'nin) % 50'si aerobik olarak elde edilirken, bir bütün düşünüldüğünde lensin yaklaşık % 70'i anaerobik glikolizden elde edilir (Winkler ve Riley, 1991).

Lensin proteinleri ağırlığının yaklaşık % 33'ünü oluşturur ve yüksek kırılma indeksinden sorumludur. Mercek kristalinleri, alfa, beta ve gama, bu proteinlerin % 90'ından fazlasını oluşturur. Diğer proteinler arasında aktin, filensin ve spektrin gibi hücre iskeleti ve zar proteinleri, taşıyıcılar ve kanal proteinleri, hücre iletişimi ile ilgili bağlantı proteinleri ve metabolizma, protein sentezi ve yıkımı ile ilgili birçok enzim yer alır (Sharma ve Santhoshkumar, 2009). Alfa-kristalin, yapısal bir protein olmasının yanı sıra lens şeffaflığının korunmasında kilit bir rol oynar (Bloemendal ve ark., 2004). Lens proteinleri vücuttaki en uzun ömürlü proteinlerden bazılarıdır ve çok sayıda posttranslasyonel modifikasyonun hedefidir. Bu modifikasyonlar, özellikle fosforilasyon, protein çözünürlüğünün ve aktivitelerinin düzenlenmesinde rol oynar. Önceki çalışmalar normal ve kataraktlı lenslerde fosforile proteinlerin farklı şekilde ifade edildiğini göstermiş ve protein fosforilasyonunun kataraktın oluşumunu ve gelişimini etkilediğini düşündürmüştür (Zhang ve ark., 2021).

Kristal merceğin şeffaflığı, damarsızlığına, organellerin azlığına, lifler arası dar boşluklara ve hücre ve proteinlerinin düzenli organizasyonuna bağlıdır (Michael ve Bron, 2011). Lens lifi hücreleri ribozomlardan ve diğer organellerden yoksun olduğu için hasarlı veya değiştirilmiş proteinleri onaramazlar. Lens kristallerinin organizmanın ömrü boyunca dayanabilmesi için son derece stabil olması ve lensin güçlü homeostatik metabolizmasını sürdürmesi gerekir (Kantorow ve ark., 2004; Linetsky ve ark., 2008). Merkezi nükleer lif hücreleri, içsel enerji kaynağı olarak çoğunlukla glikolize bağımlıdır,

bu da bu homeostatik faaliyetler için mevcut enerjiyi sınırlar. Bununla birlikte, lens homeostazının ve şeffaflığının sürdürülmesi için kritik görünen intrinsik bir sıvı dolaşımı yoluyla ön epitelden önemli ölçüde metabolik destek alırlar (Gao ve ark., 2018). Bu nedenle, lens hassas bir şekilde dengelenmiş anatomik ve biyokimyasal bir sistemi temsil eder ve herhangi bir parçasının bozulması lens saydamlığının kaybına veya katarakta neden olabilir (Shiels ve Hejtmancik, 2019).

2.2. Katarakt

Katarakt, genetik ve çevresel risk faktörleri arasındaki karmaşık etkileşimleri içeren çok faktörlü yaşa bağlı dejeneratif bir hastalıktır (Zhang ve ark., 2021). Bununla birlikte bazı durumlarda katarakt, diğer oküler ve/veya sistemik anormalliklerle ilişkili veya izole bir lens fenotipi şeklinde klasik bir Mendel bozukluğu (~1/10.000 doğum) olarak kalıtılabilir. Katarakt, gelişmekte olan ülkelerde körlüğün % 50'sinden sorumluyken, gelişmiş ülkelerde körlüğün yalnızca % 5'inden sorumludur ve orta ve düşük gelirli ülkelerde körlüğün önde gelen nedenidir (Khanna ve ark., 2011). Kristal, lensin opaklığı olarak tanımlanır ve merceğin kırılma indisinin ışık kaynağına uzaklığıyla değiştiği gösterilmiştir. Kırılma indeksindeki bu değişim, lens hücre yapısındaki, lens proteinlerindeki veya her ikisinin kombinasyonundaki değişiklikler de dahil olmak üzere çeşitli değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Shiels ve Hejtmancik, 2017). Yapılan çalışmalar insan lens dokusundaki proteinlere ve lipidlere yönelik oksidatif hasarın, katarakt patogenezinde hayati bir rol oynadığı göstermiştir. Lens için önemli antioksidan ajanlar olarak vitaminler reaktif oksijen türlerini nötralize ederek ve lens hücre zarlarını stabilize ederek ışığa bağlı oksidatif stresi iyileştirdiği belirtilmiştir (Jiang ve ark., 2019).

2.2.1. Risk Faktörleri

Katarakt gelişimi genetik faktörün yanı sıra yaş, cinsiyet, radyasyona maruz kalma, oksidasyon, fiziksel yaralanma, beslenme şekli ve kullanılan ilaçlarla da ilişkilidir. Bu faktörler anormal gen ifadesine yol açabilir ve lensin şeffaflığını etkileyebilir böylelikle de katarakt oluşturabilir (Zhu ve Zhang, 2021).

Kataraktın kadın cinsiyette insidansı erkek cinsiyetten daha yüksektir ve bu farkın postmenopozal yıllardaki östrojen eksikliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar sigara içenlerde katarakt riskinin 2-3 kat arttığını göstermiştir. Sigara

dozundaki artış, nükleer opasitelerin şiddetinin artması ile ilişkilidir. Sigara dumanında bulunan aromatik bileşikler, lentiküler bileşenlerde oksidasyona neden olmaktadır. Alkol kullanımı da lens oksidatif strese ve alkolün doğrudan toksik etkilerine duyarlı olduğu için katarakta neden olabilmektedir. Kortikosteroidler, sedatifler, kinolin, metotreksat, ergot, sülfanilamid, streptozotosin, metoksalen, miyotikler, oral kontraseptifler ve tiyazid diüretikler gibi birçok ilaç katarakta neden olabilir. Sistemik steroidlere ek olarak topikal steroidler, inhale steroidler ve steroid kremler de katarakt ile ilişkilendirilmiştir. Birçok çalışmada ultraviyole radyasyon senil katarakt ile ilişkilendirilmiştir. Kızılötesi ışınlar uzun süre maruz kalma, tipik olarak cam endüstrisi işçilerinde görülen diskoid arka subkapsüler opasitelere ve eksofoliyasyon sendromuna neden olabilir. Yine mikrodalga radyasyonuna maruz kalmak, X ışınlarına, gama ışınlarına veya nötronlara maruz kalma katarakt ile ilişkilendirilebilir. Kataraktın gelişmesine kadar genellikle 6 aydan birkaç yıla kadar değişen latent bir dönem vardır. Yetersiz korunan teknisyenler, malign tümörler için tedavi edilen hastalar ve atom enerjisi santrallerinde çalışanlarda katarakt gelişme riski daha yüksektir (Gupta ve ark., 2014).

Kataraktlar genellikle ileri yaşlarda görülmekle birlikte her yaşta gelişebilir. Katarakt oranı 80 yaş üstü kişilerde % 68,3 iken 50 yaş altında olan kişilerde sadece % 2,5'tir (Öktem ve Aslan, 2021). Yaşlanma, katarakt gelişiminde en önemli risk faktörüdür. 70 yaşında katarakt gelişme riski, 50 yaşındaki riske göre yaklaşık 13 kat fazladır (Hiller ve ark., 1983). Snellen skalasına göre görme keskinliğini 20/40 seviyesinin altına düşüren önemli katarakt oranı 40-49 yaşında % 2,5, 50-59 yaşında % 6,8, 60-69 yaşında % 20, 70-79 yaşlarında % 42,8 ve 80 yaş üstü kişilerde % 68,3 olarak belirlenmiştir (Öktem ve Aslan, 2021).

2.2.2. Katarakt Sınıflandırması

Kataraktlar seyrine göre doğumsal ve edinsel olarak anatomik lokalizasyonuna göre kortikal, nükleer, subkapsüler ve mikst olarak; etiyolojisine göre konjenital ve infantil, senil, travmatik, komplike, patolojik ve sekonder olarak sınıflandırılır (Atalay, 2021). Morfolojik tiplerin ayırt edilmesi risk faktörleri her katarakt tipi için farklı olduğu için önemlidir. Klinik olarak lens, kortikal, nükleer ve posterior subkapsüler katarakt (PSC) opasitelerinin varlığı açısından eğitimli bir profesyonel tarafından bir slit-lamp kullanılarak incelenir ve derecelendirilir (Javitt ve ark., 1996). Bir diğer gruplandırma sistemi ise yaşa göredir. Katarakt, yaşamın ilk yılında görülürse konjenital olarak yaşamın

ilk on yılı içinde ortaya çıkarsa juvenil olarak adlandırılır. ARC'ler ise genellikle 50 veya belki de 60 yaşından sonra ortaya çıkar ve senil olarak adlandırılır (Shiels ve Hejtmancik, 2017).

Konjenital kataraktlar genellikle lens mikro mimarisinin bozulmasıyla ilişkilendirilir. Konjenital kataraktlar, mutant protein yapısı ve işlevi için ciddi fonksiyonel sonuçları olan mutasyonlardan kaynaklanabilirler. İzole veya primer konjenital kataraktlar şu anda en az 44 genetik lokusla ilişkilendirilmiş olup, nükleer, lameller, sutural, polar ve total dahil olmak üzere çok çeşitli lens opasitesi morfolojileri sergilemektedir. Bu lokusların 11'inde nedensel genler tanımlanmamış olsa da keşfedilen genler, göz merceğindeki kritik biyolojik süreçleri tanımlayan bir dizi fonksiyonel gruba girme eğilimindedir. Mutant geninin bulunduğu katarakt familyalarının yaklaşık % 45'i lens kristalinlerinde mutasyonlar gösterir, yaklaşık % 12'si çeşitli büyüme veya transkripsiyon faktörlerinde mutasyonlara sahiptir; % 16'sı konneksinlerde mutasyonlar gösterir, yaklaşık % 5'inin her biri ara filament proteinlerinde, zar proteinlerinde veya protein bozunma aparatlarında mutasyonlar gösterir ve yaklaşık % 8'i lipid metabolizması için olanlar da dahil olmak üzere çeşitli diğer fonksiyonel olarak farklı genlerde mutasyonlar gösterir (Shiels ve Hejtmancik, 2017). Konjenital kataraktlar izole bir kusur olarak ortaya çıkmanın yanı sıra mikroftalmi, aniridia veya mikrokornea gibi diğer ön kamara gelişim anomalileriyle de ilişkili olabilir. Lens opasiteleri ayrıca kromozom anormallikleri, deoksiribo nükleik asit (DNA) onarım eksiklikleri, Lowe sendromu veya Nance Horan Sendromu gibi multisistem genetik bozuklukların bir parçası olabilir (Selcen ve Engel, 2003).

ARC, tüm dünyada geri döndürülebilir körlük ve görme bozukluğunun önde gelen nedenidir. Yaşla birlikte kademeli olarak görme ve ışık iletimi kaybına yol açan lens opaklığı ile karakterizedir (Yan ve Wang, 2016). Prenatal olarak başlayan biyokimyasal ve biyofiziksel değişiklikler lensin ışık dağıtımı, renklenmesi ve katılığında artışa yol açar. Bunlar lens çekirdeğini korteksten daha fazla etkiler ve yaşamın ilk 50 yılında uyum kaybının temelini oluşturur. Yaşla birlikte lens sertliğinde sürekli bir artış vardır ve bu artış lens çekirdeğinde kortekse göre daha fazladır (Weeber ve ark., 2007). Yaşlanmayla kristal lensin kalınlığı ve ağırlığı kademeli olarak artar, mercek çekirdeği sıkıştırılır ve sertleştirilir, mercek proteinleri değiştirilir ve sarıdan kahverengiye bir renk alır. Sonuç olarak, merceğin saydamlığı ve kırılma indisi değişir (Yan ve Wang, 2016). Orta yaşın yaklaşmasıyla birlikte şaparon fonksiyonunun ilerleyici kaybına, merceğin serbest radikal

yakalama kapasitesinde karşılık gelen bir düşüş eşlik eder, böylece lens proteinleri oksidasyon riskine giderek daha fazla maruz kalır. İndirgenmiş glutatyon (GSSG) düzeyi yaşla birlikte lineer olarak azalır (Harding, 1970). Nükleer katarakta lens çekirdeğinde düşük veya ölçülemeyen GSH seviyeleri bulunur (Michael ve Bron, 2011). Lens protein glikasyonu ve birikimli ileri glikasyon son ürünü oluşumunun, yaşa bağlı kataraktogenezdeki ana mekanizmalardan biri olduğuna inanılmaktadır. En yaygın lens proteinleri olan kristalinler, insan ömrü boyunca dönüşüm gösteremezler. Bu uzun ömürlü proteinler, yaşa bağlı kataraktogenez için birincil mekanizmalardan bazıları olduğuna inanılan oksidasyon ve glikasyon dahil sentez sonrası modifikasyonlara karşı hassastır (Yan ve Wang, 2016). Kristalinler, doğal hallerinde sıkıca katlanmış ancak yapılarında ve işlevlerinde erken yaşlardan itibaren büyük enzimatik olmayan değişikliklere uğrayan, özünde kararlı proteinlerdir. Uğradığı değişiklikler arasında tiyolasyon, deamidasyon, glikasyon, karbamilasyon, cys-metilasyon, fosforilasyon, asetilasyon ve ayrıca kristalin fragmanlarının kesilmesine ve salınmasına yol açan proteoliz yer alır (Sharma ve Santhoshkumar, 2009). Kristalinlerin şeker türevleri tarafından translasyon sonrası modifikasyonu, yaşlanan lenste ve katarakta görülür ve lens şeffaflığında kayba neden olur (Ortwerth ve Olesen, 1988).

ARC'ler, nükleer, kortikal ve posterior subkapsüler katarakt mekanizmasının öncüsü olarak görülebilir (Michael ve Bron, 2011). Bu katarakt formlarının her biri, çoklu çevresel ve genetik risk faktörlerinin katkılarını içeren kendi multifaktöriyel epidemiyolojisine sahiptir ve kalıtsal konjenital kataraktın aksine, nispeten az sayıda gen veya lokusla ilişkilendirilmiştir. Bir dizi gende veya yakınında dizi değişiklikleri ARC ile ilişkilendirilmiştir. Bunlardan ilki, galaktokinaz-1 (GALK1) geninin "Osaka" varyantıdır (Okano ve ark., 2001). GALK1, galaktozun glukoza metabolizmasının ilk adımı olan galaktozun fosforilasyonunu katalize eder (Shiels ve ark., 2010). Heterozigotlarda bu protein varyasyonu, varyant enzimin stabilitesinin azalmasına ve normal seviyelerin yaklaşık % 20'sine eşdeğer hafif galaktokinaz eksikliğine yol açar; bu, birey yaşlandıkça katarakt oluşumu için yeterli olabilir (Shiels ve Hejtmancik, 2017). Monokarboksilat (kreatin) taşıyıcı SLC16A12'deki değişiklikler juvenil kortikal, nükleer katarakt ve ARC ile ilişkilendirilmiştir (Abplanalp ve ark., 2013). Ayrıca DNA onarım genleri WRN, XPD ve XRCC1'in yanı sıra HSF4 ve kinesin hafif zincir 1 geni KCL1'in ARC ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Progresif katarakta yer alan mutasyonlar arasında,

CRYGS'deki p.Gly18Val mutasyonu bulunur. Konjenital katarakta neden olan p.Val42Met mutanti γ S-kristalin proteininin aksine, p.Gly18Val mutanti normal fizyolojik koşullar altında normal bir protein kıvrımına ve genel yapıya sahiptir. Sadece kimyasal veya termal stres altında protein, protein kıvrımının bozulmasını gösterir. p.Val42Met mutant γ S-kristalin proteini, daha düşük sıcaklıklarda ve daha düşük konsantrasyonlarda kimyasal çözücülerde kararsız hale gelir. Tam olarak benzer bir şekilde, protein normal olarak lenste işlev görür ancak zamanın ve çevresel etkenlere maruziyetin devam eden etkisi altında denatüre olur. γ S-kristalindeki bu iki yüzeysel benzer mutasyonun, proteinin yapısı ve stabilitesi üzerindeki farklı etkilerine bağlı olarak doğuştan veya ARC ile sonuçlandığı görülmektedir (Shiels ve Hejtmancik, 2017). α -kristalinler, göz merceğinde kataraktı önlemede ve çeşitli hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynar (Haslbeck ve ark., 2016). Moleküler bir şaperon görevi gören α -kristalinin, kısmen denatüre proteinleri bağladığı ve onları in vitro çözünür bir durumda tuttuğu, denatüre ve çökelmiş proteinin istenmeyen etkilerine karşı bir tür 'tampon' görevinde olduğu bilinmektedir (Horwitz 2003). Bağlanmamış α -kristallin fraksiyonu, bireyler yaşlandıkça şeffaf lenslerde yaklaşık 6 kat azalır. Ayrıca, kataraktlı lenslerdeki bağlanmamış α -kristallin fraksiyonu, kataraktın derecesi ve yaşa göre yaklaşık 10 kat azalmaktadır (Benedek, 1971).

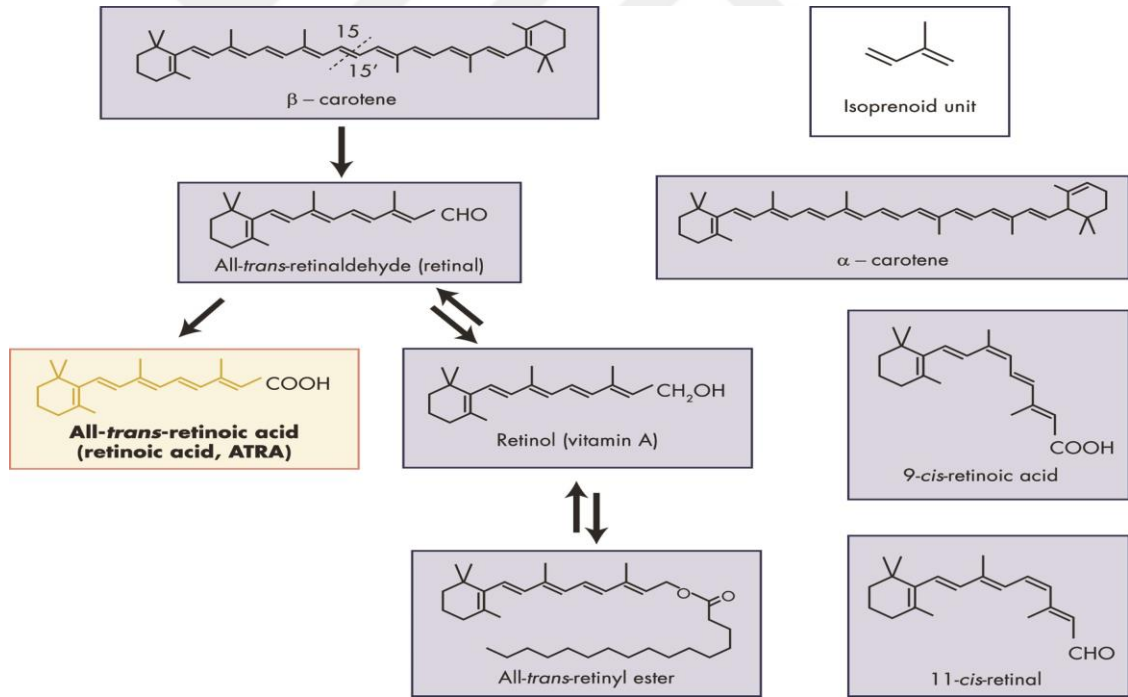
Yüksek GSH ve askorbik asit seviyelerinin yanı sıra düşük oksijen içeriği sayesinde insan merceği şeffaflığını uzun yıllar koruyabilir. Yaşlanma, insan merceğinde azalan GSH konsantrasyonu, artan reaktif oksijen türleri oluşumu, bozulmuş antioksidatif savunma kapasitesi ve glukoz ve askorbik asit yıkımını ve protein glikasyonunu indükleyen artmış redoks-aktif metal iyonları dahil olmak üzere önemli değişikliklere neden olur. Glikasyona uğramış lens kristalleri ya ultraviyole A (UV A) aracılı serbest radikal üretimine yatkındır ya da ekstra protein oksidasyonu ve modifikasyonunu tetikleyebilecek metal iyonu bağlanmasına neden olurlar (Fan ve Monnier, 2021).

Günümüzde yaygın olarak ARC için cerrahinin tek etkili tedavi olduğu düşünülür (Yan ve Wang, 2016). Ancak popülasyonların yaşlanmaya devam etmesiyle kataraktın sosyoekonomik yükünün artacağı tahmin edilmektedir ve bu durum, katarakt oluşumunu tersine çevirmek, geciktirmek veya önlemek için cerrahi olmayan yöntemler arayışına yol açmaktadır (Shiels ve Hejtmancik, 2017). Lenste hem ROS hem de proteinlerin glikasyonu, toksik biyokimyasal reaksiyonları başlatarak kapsamlı hasara yol açabilir. E

ve C vitamini gibi antioksidan vitaminler ve SOD, katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx) içeren antioksidan enzimler, ROS'un zararlı etkilerini nötralize etmekten sorumludur (Katta, 2013).

2.3. A Vitamini

A vitamini, doymamış izoprenoid zincir yapısıyla karakterize edilen hem hayvansal hem de bitkisel kaynaklı, yağda çözünen, yaşam için gerekli bir bileşik grubudur. A vitamini, önceden oluşturulmuş A vitamini [retinil esterler (RE)] veya provitamin A (karotenoidler, esas olarak β -karoten) olarak diyetten elde edilir (Conaway ve ark., 2013). Tüm formları benzer bir yapıyı ve bir organizmada aynı fizyolojik işlevleri paylaşır. Bu bileşikler, doğal ya da sentetik kökenli dört izoprenoid birimden oluşan ortak bir yapıya sahip bileşikler de dahil olmak üzere retinoidler olarak da sınıflandırılabilir (Şekil 2.2) (Carazo ve ark., 2021).



Şekil 2. 2. RE, retinol, β -karoten, retinal ve retinoik asitin metabolik ilişkileri ve izoprenoid birim, α -karoten, 9-cis RA ve 11-cis-retinalin yapıları (Conaway ve ark., 2013).

Tüm bu bileşikler yağda çözünür ve suda çözünen vitaminlerin aksine vücutta, özellikle karaciğer ve yağ dokusunda kolayca birikirler. Bu durum A vitamininin geçici olarak alınamadığında klinik semptom göstermemesi açısından olumlu olurken diğer yandan birikim ve sonrasında toksisite ortaya çıkabilir (Carazo ve ark., 2021).

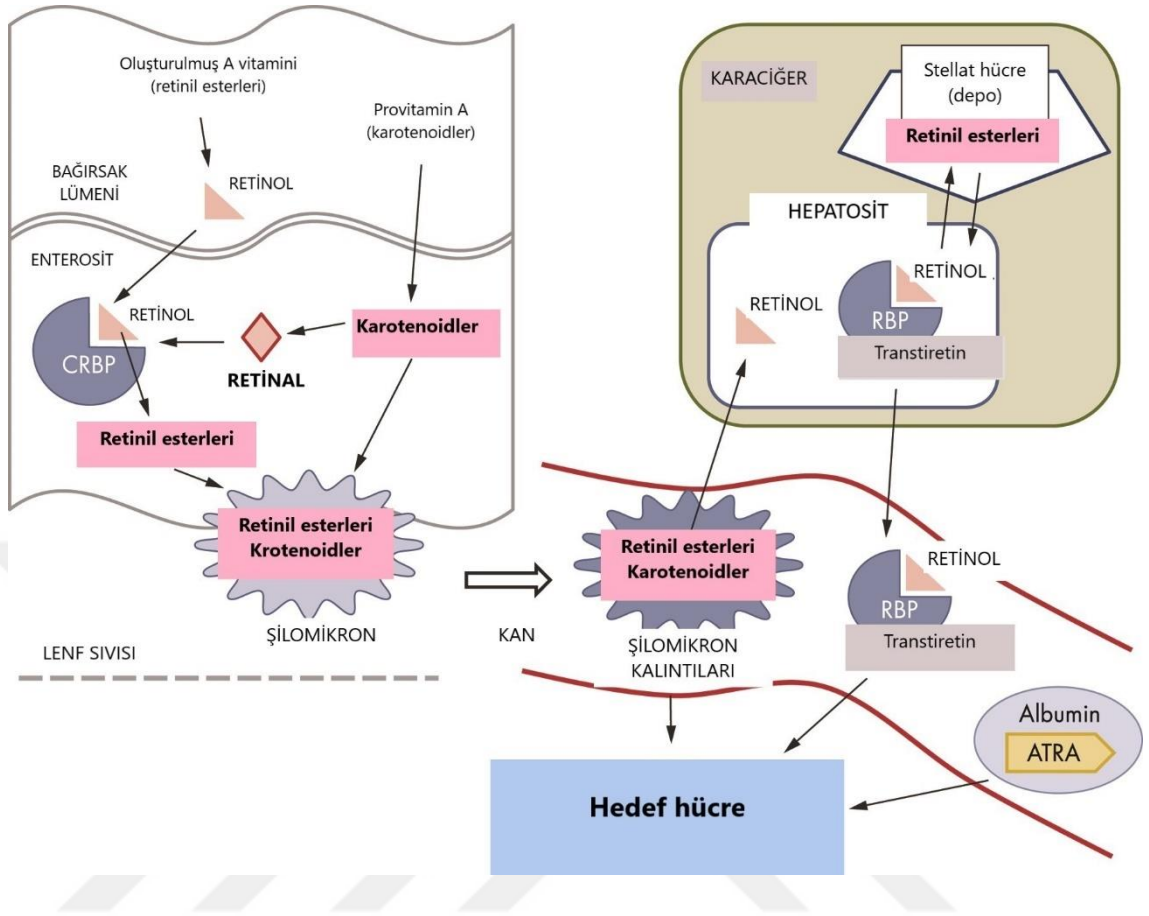
Moleküler yapıları göz önüne alındığında, retinoidler yüksek oranda yağda çözünür ve hücre zarı boyunca yayılabilir. Retinoidler, hücresel büyüme, apoptoz, bağışıklık tepkisi ve epitel büyümesinde rol oynar. Erken embriyonik gelişim sırasında, retinoidlerin ana aktif formu olan all-trans retinoik asit (ATRA), germ tabakası oluşumunu, vücut eksenini, nörogenezi, kardiyogenezi ve pankreas, akciğer ve gözün gelişimini düzenler, aynı zamanda görsel fonksiyon için kritik bir unsurdur. Retinoidler dört kuşakta sınıflandırılabilir. Birinci kuşak retinoidler doğada bulunan formlardır: retinol, retinal, ATRA (tretinoin), 9-cis-retinoik asit (alitretinoin) ve 13-cis-retinoik asit (izotretinoin). İkinci kuşak retinoidler birinci kuşaktan geliştirilmiştir ve bu grubun üyeleri etretinat ve asitretindir (Chiricozzi ve ark., 2017). Üçüncü kuşak retinoidler arasında adapalen, tazaroten ve beksaroten bulunmaktadır. Trifaroten, şimdiye kadar dördüncü retinoid neslinin tek üyesidir ve yalnızca ABD'de onaylanmıştır (Carazo ve ark., 2021). A vitamini terimi çoğunlukla retinol ile ilişkilendirilmesine ve retinol aslında insan vücudundaki retinoidlerin baskın formu olmasına rağmen, biyolojik olarak aktif ana moleküller oksitlenmiş türevler 11-cis-retinal ve all-trans-retinoid asittir (D'Ambrosio ve ark., 2011; Kam ve ark., 2012).

A vitamini vücut için gerekli olan izoprenik türevi mikro besin ögesidir ve görsel sistemin düzgün çalışması, epitel bütünlüğünün korunması, alyuvar üretimi ve bağışıklık fonksiyonu ile ilişkilidir ve homeostazda önemli rol oynar (McLaren ve Kraemer, 2012; Soares ve ark., 2019). Yine A vitamini türü olan ATRA büyüme, gelişme ve aynı zamanda üreme fonksiyonu ile ilişkilidir (Clagett-Dame ve Knutson, 2011). Diğer bir A vitamini türevi olan retinal ise gen ekspresyonunun düzenlenmesinde görevlidir.

İnsan vücudu A vitamini üretemez ve bu nedenle önceden oluşturulmuş A vitamini veya provitamin A karotenoidleri şeklinde diyetle alması gerekir. 50'den fazla provitamin A karotenoid vardır ancak tükettiğimiz gıdalarda yalnızca β -karoten, α -karoten ve β -kriptoksantin önemli miktarlarda bulunur. Karotenoidler, çeşitli meyve ve sebzelerde bulunan sarıdan turuncuya renkli organik pigmentlerdir. A vitamini ile olan ilişkilerine ek olarak, antioksidan aktiviteleri ile bilinirler. En iyi bilinen karotenoidlerden bazıları β -karoten, α -karoten, lutein, likopen ve kriptoksantindir. Karotenoidler, hayvan kökenli diterpenoid retinoidlerin aksine tetraterpenoidlerdir, ancak sonunda retinole metabolize edilebilirler. Bununla birlikte, tüm karotenoidler insan vücudunda A vitaminine

dönüştürülemez. Yalnızca en az bir ikame edilmemiş β -iyonon halkası içeren moleküller, provitamin A'nın doğasına sahiptir (Kelly ve ark., 2018).

A vitamini, gıdalarda provitamin formunda bulunur; karaciğer, yumurta, süt ürünleri ve yağlı balık gibi bazı hayvansal gıdalarda RE formunda bulunurken çoğunlukla bitkisel kaynaklarda karotenoid formunda bulunur ve bazı karotenoidler (β -karoten, α -karoten ve β -kriptoksantin) insanlarda A vitaminine dönüştürülebilir, bu da A vitamininin gereksiniminin karşılanmasına katkıda bulunabilir. Hayvansal gıdalarda bulunan RE'ler neredeyse tamamen emilirken, karotenoid emilimi önemli ölçüde daha düşüktür (Carazo ve ark., 2021). β -karoten, bağırsakta retinole veya RE'ye dönüştürülebilen retinale (A vitamini aldehiti) dönüştürülür (Şekil 2.3) (Dewett ve ark., 2021). β -karotenin A vitaminine dönüşüm oranı 12:1'dir (Zielińska ve ark., 2017). Diyet RE'leri, pankreatik ve bağırsak enzimleri tarafından hidrolize edilir ve serbest retinol, bağırsak mukozal hücreleri yani enterositler tarafından alınır (Conaway ve ark., 2013). Retinol suda çözünmez ve enterosit retinol, hücresel retinol bağlayıcı protein (RBP) II ile bağlanır (D'Ambrosio ve ark., 2011). Provitamin A karotenoidlerin yaklaşık % 50'si mukoza hücrelerinde emilir, kalanı ise retinale okside olur ve ardından retinole indirgenir (Blomstrand ve Werner, 1967). Hem RE'lerden hem de provitamin A karotenoidlerinden türetilen retinol, uzun zincirli yağ asitleri ile esterleştirilir. RE'ler, bozulmamış karotenoidlerle birlikte, diğer lipidlerle lenfatikler tarafından taşınan şilomikronlara dahil edilir (Harrison ve Hussain, 2001). Şilomikron kalıntıları, retinoidleri doğrudan hedef hücrelere iletebilir, ancak karaciğer, şilomikron kalıntılarının temizlenmesi için ana organdır. Hepatositlerin içinde, RE'ler retinole hidrolize edilir ve RBP'ye bağlanır. Retinol-RBP, transtiretin ile birleştirilir ve kan yoluyla hedef hücrelere taşınır. Eğer retinol gerekli değilse, bunun yerine karaciğer stellat hücrelerinde RE'ler şeklinde depolanır. Retinoidler hedef hücrelere esas olarak retinol-RBP olarak ulaşır (Şekil 2.3) (Conaway ve ark., 2013). Diyetle yağ bulunması, A vitamini emilimine büyük ölçüde yardımcı olur. Yağ, diyet RE'lerini hidrolize etmekten sorumlu enzimleri uyarır, bağırsak lümeninde retinol ve karotenoidlerin çözünmesi için misel oluşumunu ve şilomikron oluşumunu artırır (Harrison, 2012).



Şekil 2. 3. A vitamininin diyetle alınması ve taşınması (Conaway ve ark., 2013).

A vitamini ve karotenoidlerin antioksidan potansiyeli ilk olarak 1932’de tanımlanmış olup, lipidleri ekşimeye karşı koruyabileceği bildirilmiştir. Daha sonra, 1968’de karotenoidler tarafından singlet oksijen söndürmenin kimyası tanımlanmış, bununla birlikte 1984’teki bir çalışma ilk olarak karotenoidlerin biyolojik zarlardaki lipid radikallerini söndürebileceği mekanizmayı açıklamıştır. Bunları A vitamini ve karotenoidlerin biyolojik antioksidanlar olarak rolünü inceleyen çok sayıda çalışma izlemiştir. Var olduğu bilinen yaklaşık 600 farklı karotenoid vardır. Bunların büyük bir kısmı antioksidan aktiviteye sahiptir ve ayrıca bağışıklık tepkilerini ve kanserojen metabolize edici enzim aktivitesini arttırmak için önemli olabilirler. Bununla birlikte, sadece yaklaşık 50 karotenoid provitamin A aktivitesine sahiptir. İnsan plazmasındaki majör karotenoidler, neredeyse yalnızca lipoprotein ile ilişkili olarak bulunan α - ve β -karoten, likopen, kriptoksantin ve luteindir (Palace ve ark., 1999). A vitamini ve biyolojik retinoidler serbest radikal reaksiyonlarını inhibe edebilir, böylece potansiyel antioksidanlar olarak hareket edebilirler. Retinoidler reaktif oksijen türlerini temizlemezler. Polijenik yapıları karotenoidlerinkiyle güçlü bir benzerlik göstermesine

rağmen bu moleküllerin benzer mekanizmalarla serbest radikal temizleyici olarak hareket etmesine izin vermesine rağmen karotenoidlerin aksine önleyici antioksidanlar olarak hareket edemedikleri görülmektedir. Polimorfonükleer lökositler tarafından süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikal üretiminin retinoid inhibisyonunu araştıran bir çalışmada retinolün $O_2^{\cdot-}$ anyonunu temizlediği sonucuna varılmıştır. A vitamini peroksil radikalleri ile lipid peroksidasyonunu başlatıp hidroperoksitlerin üretimini yaymadan önce birleşir ve böylece zincir kırıcı antioksidan olarak işlev görür. Retinol etkili bir peroksil radikali süpürücüsüdür. Antioksidan olarak işlevini fosfatidilkolin lipozomlarında ve metil linolatın homojen solüsyonlarında peroksidasyonu önleyerek gösterir. Radikal türlerinin başlangıcı lipid bilayerinin içinde gerçekleştiğinde ve radikaller sulu ortamda oluşmadıklarında retinol tokoferolden daha etkili bir peroksil radikali temizleyicisidir. Bunun nedeni retinolün daha hızlı hareketini sağlayan ve hücre zarında peroksil radikali ile daha iyi ilişki kurmasını sağlayan kısa 36 polien zincirine sahip olması durumudur. Ayrıca A vitamini farklı radikaller ile reaksiyona girmekte ve okside formu olan 5,6-renoid epoksite çevrilmektedir. Böylece özellikle lipid radikallerini daha kararlı yapmaktadır. Retinoidler antioksidan aktivite etkilerine göre derecelendirilecek olursa birinci retinol, ikinci retinal, üçüncü retinil palmitat ve dördüncü ise retinoik asit şeklinde sıralanabilir (Livrea ve Tesoriere, 1998).

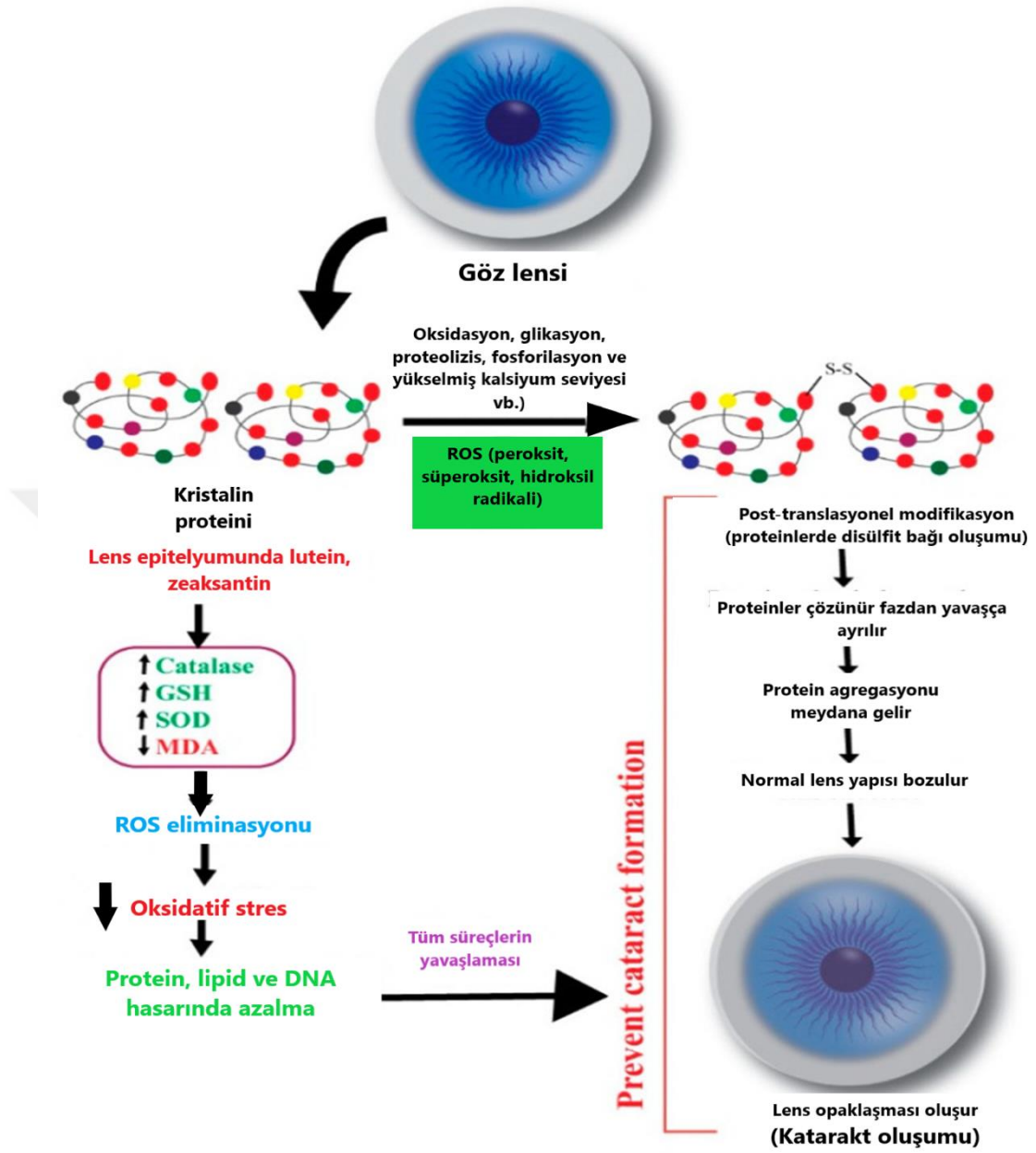
β -karoten ise antioksidan özelliğe sahip olup $O_2^{\cdot-}$ radikalının temizleyicisidir. Özellikle singlet oksijeni tutarak oksidasyon stresine karşı hücreyi muhafaza eder. Karotenoidler singlet oksijenin olmadığı koşullarda serbest radikalleri yakalayıp ve zincir kırıcı antioksidan olarak çalışarak oksidasyonu önlerler. Singlet oksijen kararlı yapıya sahip değildir ve lipidlerle reaksiyona girip serbest radikalleri oluştururlar. β -karoten varlığında singlet oksijen öncelikli olarak β -karotene enerji transfer eder ve üçlü yapıya sahip β -karoten oluşur. Enerjinin singlet oksijenden karotenoidlere transferi elektron transferi mekanizması içinde gerçekleşmektedir. Ayrıca A vitamininin GSPx aktivitelerini iyileştiren selenyumun biyoyararlanımını arttırdığı da öne sürülmüştür (Li ve ark., 2022).

A Vitamini, tüm omurgalılar için gerekli bir besin maddesidir. Eksikliği, kseroftalmi, metaplazi, epitelyal farklılaşma, anoreksiya ve hem doğal hem de kazanılmış bağışıklığın bozulmuş işlevi ile sonuçlanır. Toksisitesi ise genellikle vücuttaki A vitamininin uzun yarılanma ömrü nedeniyle $>10.000-15.000 \mu g$ RAE/gün kronik alımlarından sonra ortaya çıkar. Toksisite semptomları kuru cilt, baş ağrısı, iştahsızlık, mide bulantısı, kemik ağrısı

ve beyin ödemi içerir. Çok yüksek dozların alınmasından sonra da akut toksisite gözlenmiştir (Green ve Fascetti, 2016).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) göstergelerinin bir bileşimine dayalı olarak A vitamini alımı için değerler önermiştir. A vitamini, pro-vitamin A olan karotenoidler tarafından sağlanabildiğinden, retinol aktivite eşdeğerleri (RAE'ler) ve RE'ler, farklı kaynakları retinole eşitlemek için FAO tarafından kullanılır; burada 1 µg RAE; 1 µg retinol, 12 µg β-karoten veya 24 µg α-karoten veya β-kriptoksantine eşdeğerdir ve 1 µg RE; 1 µg retinol, 6 µg β-karoten veya 12 µg α-karoten veya β-kriptoksantine eşdeğerdir. Bu eşdeğerliklerdeki fark, güncellenmiş absorpsiyon verilerindeki farklı güven düzeylerini yansıtır. RDA (Önerilen Günlük Miktar), 1-3 yaş arası çocuklar için 300 µg/gün, yetişkin kadınlar için 750 µg/gün ve yetişkin erkekler için 900 µg/gün'dür. Benzer şekilde, DSÖ ve FAO yönergeleri, 1-3 yaş arası çocuklar için günlük 400 µg RE, yetişkin kadınlar için 500 µg RE ve yetişkin erkekler için 600 µg RE alımını önermektedir (Debelo ve ark., 2017).

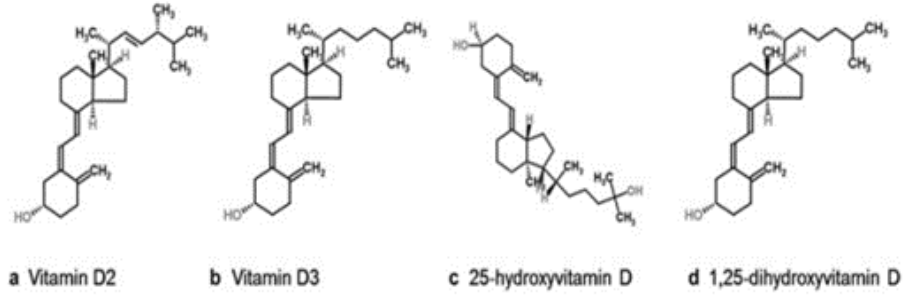
Göz merceğinin ana bileşenleri kristalin (% 90), hücre iskeleti ve membran proteinleridir. Kristalinlerin yüksek bir kırılma indisi vardır ve lens liflerinin sitoplazmasında şeffaflık sağlayan karmaşık bir protein çözeltisi oluştururlar. Yaşla birlikte bu protein yavaşça çözünür fazdan ayrılır. Daha sonra, disülfid bağı oluşumu ve enzimatik olmayan glikasyon, lens proteinleri arasındaki çekici kuvvetleri değiştirir. Kristalinler oksidasyon, glikasyon, proteoliz, transamidasyon, karbamilasyon ve fosforilasyon gibi çeşitli transasyon sonrası modifikasyonlara uğrayabilir. Bu değişiklikler proteinlerin agregasyonuna, sağlıklı lens hücresi yapısının bozulmasına ve opaklaşmaya neden olur (Johra ve ark., 2020). A vitamini ve karotenoidlerin reaktif oksijeni azaltarak UV kaynaklı oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir (Şekil 2.4). A vitamini ve karotenoidlerin bu nötralize edici etkisi nedeniyle göz bozukluklarına, özellikle katarakta karşı koruyucu olduğu düşünülür (Jiang ve ark., 2019). Yirmi iki makalenin dahil edildiği bir meta-analizde serum β-karoten seviyelerinin en yüksek ve en düşük kategorisinin katarakt için rölatif risk olduğu ve β-karoten alımı ile katarakt riski arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır. Katarakt riski ile A vitamini alımı arasında genel olarak anlamlı bir ilişki bulunmakla birlikte, serum A vitamini ile katarakt riski arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır, ancak duyarlılık analizi sonrasında serum A vitamini ile katarakt riski arasında ters bir ilişki gözlenmiştir (Wang ve ark., 2014).



Şekil 2. 4. Kataraktı önlemek için karotenoidlerin etki mekanizmalarını gösteren şematik diyagram (Johra ve ark., 2020).

2.4. D Vitamini

D vitamini dolaşımında bulunan bir steroid prohormondur. Kolekalsiferol (D_3) ve ergokalsiferol (D_2) olarak 2 formda bulunur. D_3 formunun önemli bir kısmı güneş ışınları yardımıyla cildin epidermal tabakasında öncüsü olan 7-dehidrokolesterolden sentezlenirken, D_2 formu bitkisel kaynaklı besinlerle alınır (Öktem ve Aslan, 2021). Karaciğerde ve böbreklerde biyolojik olarak aktif formları olan 25-hidroksivitamin D ($25(OH)D_3$) ve 1,25-dihidroksivitamin D'ye ($1,25(OH)_2D_3$) metabolize edilir (Şekil 2.5).



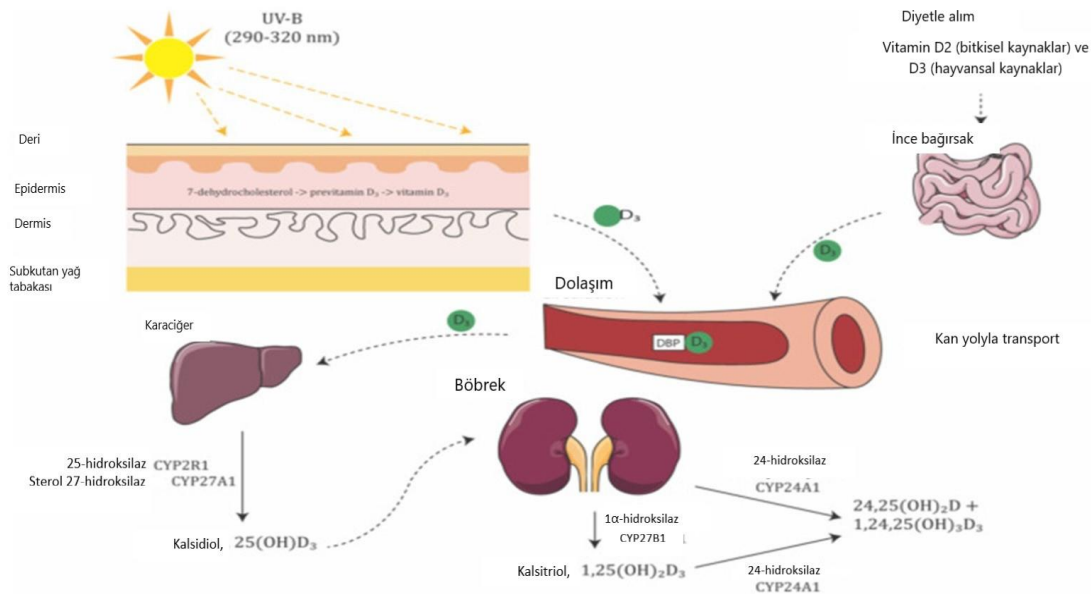
Şekil 2.5. D vitamini kimyasal yapıları (Özdoğan, 2022).

D vitamini, gen ekspresyonunun düzenlenmesi, bağışıklık sistemi, inflamasyon, hücre proliferasyonu ve farklılaşması, apoptoz ve anjiyogenez dahil olmak üzere insan sağlığının korunmasında çeşitli işlevlere sahiptir (Chan ve ark., 2022). D vitamini, metabolizmada başta kemik ve iskelet sistemi olmak üzere birçok önemli fonksiyona sahiptir. Kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) metabolizmasında rol alarak, Ca ve P'un bağırsaklardan emilimini sağlar. D vitamini aynı zamanda parathormonun salınımını önler. Yine D vitamini birçok hastalık ve kanser türüne karşı koruyucu etkilere sahiptir. Hem 25(OH)D₃ hem de aktif hormonal formu olan 1,25(OH)₂D₃, inflamasyonun ve aşırı hücre içi oksidatif stresin azaltılması da dahil olmak üzere insan fizyolojik fonksiyonları için gereklidir (Wimalawansa, 2019). D vitamini metabolizması ve fonksiyonları birçok faktör tarafından modüle edilir. Artan bilimsel kanıtlar, D vitamininin hastalık riskini azaltma ve fiziksel ve zihinsel işlevleri iyileştirme ile biyolojik ilişkilerini desteklemektedir. D vitamini-VDR etkileşimlerinin fizyolojisi ve D vitamini biyolojisi ve metabolizması ile bunların D vitamini ekseni ve gen polimorfizmleri üzerindeki etkileri hakkındaki bilgiler de dahil olmak üzere bu alandaki çalışmalar hızla ilerlemektedir (Mark ve ark., 2016).

Ciltte güneş ışığının etkisiyle 7-dehidrokolesterolden B halkası kırılarak D₃ oluşur. Hem UVB yoğunluğu hem de cilt pigmentasyon seviyesi, D₃ oluşum hızına katkıda bulunur (Bikle, 2014). Derideki D vitamini sentezinin etkinliği, melanin pigmentinin yoğunluğu, derinin durumu ve yaşı, güneş koruyucu ve UV engelleyici makyaj malzemeleri, kremler ve merhemler ile giysilerin kullanımı gibi birçok faktörden etkilenir. Bunlara ek olarak, ileri yaş veya yaralı cilt, günün veya yılın saati ve güneşe maruz kalma süresi de ciltteki D vitamini sentezini etkiler. D vitamini diyetle de alınabilir. Yağlı balık dışındaki çoğu

gıda, zenginleştirilmedikçe az miktarda D vitamini içerir. Balıktaki D vitamini D₃'tür. D₂, bitkilerde ve mantarlarda ergosterolün UVB ışınlanması ile üretilir. C22 ile C23 arasında bir çift bağa ve yan zincirde C24'te bir metil grubuna sahip olması bakımından D₃'ten farklıdır. D₂, ilk D vitamini analogu olarak kabul edilebilir. Yan zincirde D vitamini bağlayıcı protein (DBP) affinitesini düşürerek dolaşımdan daha hızlı temizlenmesini sağlar. Bu nedenle, günlük olarak D₂ takviyesi D₃ miktarları kadar yüksek bir kan seviyesi ile sonuçlanmaz. Öte yandan, 1,25(OH)₂D₂ ve 1,25(OH)₂D₃, VDR için benzer affinitelere sahiptir (Wimalawansa, 2019).

D₃, karaciğerde ve başka organlarda, CYP2R1'in en önemlisi olduğu bir dizi enzim tarafından 25OHD₃'e dönüştürülür. Böbrek ve diğer dokular 25OHD₃'yi aktif metabolit 1,25(OH)₂D₃'e veya katabolik süreçteki ilk adım olan 24,25(OH)₂D₃'e metabolize eder. Sorumlu enzimler, sırasıyla 1 α -hidroksilaz (CYP27B1) ve 24-hidroksilaz (CYP24A1), sıkı bir şekilde kontrol edilir. Düzenleme farklı dokularda farklılık gösterse de böbrekte CYP27B1 paratiroid hormon (PTH) tarafından uyarılır ve fibroblast büyüme faktörü-23 (FGF23) ile yüksek Ca ve fosfat (PO₄³⁻) tarafından inhibe edilir. CYP24A1'in düzenlenmesi ise tam tersidir. 1,25(OH)₂D₃ ayrıca kendi üretimini doğrudan ve PTH üretimini inhibe ederek, FGF23 üretimini uyararak ve CYP24A1'i indükleyerek düzenler (Şekil 2.6) (Bikle, 2014).



Şekil 2. 6. D vitamini sentezinin şematik gösterimi (Chan ve ark., 2022).

Ayrıca $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, hücre zarlarına serbest molekül olarak veya DBP- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kompleksleri halinde nüfuz edebilir. Daha sonra VDR'ye bağlanarak VDR'nin retinoik X reseptörü (RXR) ile etkileşimini kolaylaştırır (Zmijewski ve Carlberg, 2020). Bu VDR-RXR heterodimeri, hedef genlerdeki hem pozitif hem de negatif D vitamini yanıt elementlerine bağlanarak gen transkripsiyonunu etkiler (Kim ve ark., 2005). Özellikle kornea epiteli ve endoteli, lens, silyer cisim, retinal ganglion hücreleri, iç nükleer tabaka, fotoreseptörler ve retinal pigment epiteli (RPE) dahil olmak üzere gözün farklı bölgelerinde VDR tespit edilmiştir. VDR geninin genetik değişimleri, gen işlevinde, Ca metabolizmasında, hücre çoğalmasında ve bağışıklık işlevinde kusurlara yol açabilir. DBP, esas olarak D vitamini ve metabolitlerinin taşınmasından sorumludur (Chan ve ark., 2022).

D vitamininin aktif formu olan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sadece renal tübüler hücrelerde (hormon olarak endokrin işlevler) değil, aynı zamanda ekstrarenal hedef doku hücrelerinde de üretilerek otokrin ve parakrin işlevler sağlar. Bununla birlikte, hedef doku hücreleri içinde kaldığı için, elde edilen hücre içi konsantrasyonlar belirsizdir. Ayrıca, hedef dokulardaki CYP24A1'in katabolik aktivitesi, hem $25(\text{OH})\text{D}_3$ hem de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ konsantrasyonlarının ve bunların kullanılabilirliğinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Böbrek tübüllerinde ve hedef hücrelerde üretilen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ miktarları kişiden kişiye ve günden güne değişebilir ve ölçülmesi zordur. Dolaşımdaki $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ PTH ve serum iyonize Ca konsantrasyonları tarafından modüle edilse de hücre içi içerik büyük ölçüde serum $25(\text{OH})\text{D}_3$ mevcudiyeti ve spesifik bir CYP24A1 tarafından C-24 ve C-23 moleküler pozisyonlarında hidroksilasyon yoluyla kalsidiol ve kalsitriol katabolizması yoluyla düzenlenir (Jones ve ark., 2012; Kroll ve ark., 2015).

Vitamin D düzeyini değerlendirmek için yarı ömrü 2-3 hafta olan hem vitamin D alımını hem de endojen yapımı gösteren $25(\text{OH})\text{D}_3$ düzeyine bakılmalıdır. $25(\text{OH})\text{D}_3$ düzeyi 20 ng/ml'den düşük ise D vitamini eksikliği, 21 ile 29 ng/ml arasında ise D vitamini yetersizliği, 30 ng/ml'den yüksek ise yeterli düzey (tercih edilen aralık 40-60 ng/ml) ve 150 ng/ml'den yüksek ise D vitamini intoksikasyonu olarak kabul edilmektedir (Fidan ve ark., 2014).

D vitamini eksikliği, temel olarak güneş ışığına yetersiz maruz kalma nedeniyle küresel bir sağlık sorunudur. Dünya çapında toplam 1 milyar insanın D vitamini eksikliği veya

yetersizliğine sahip olduğu tahmin edilmektedir (Holick, 2007). Dünya genelinde eksikliği, her yaş ve etnik grubu etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunudur; dünyada en yaygın beslenme eksikliği olarak demir eksikliğini geride bırakmıştır. Düşük D vitamini seviyeleri, kardiyovasküler hastalıklar, hipertansiyon, diabetes mellitus ve kanserler dahil olmak üzere birçok hastalıkla ilişkilendirilmiştir. Ek olarak, hipovitaminoz D ve disfonksiyonel mitokondriyal aktivite inflamasyonu arttırdığından yeterli D vitamini konsantrasyonlarına sahip olmanın antiinflamatuvar etkileri önemlidir (Wimalawansa, 2019; Chan ve ark., 2022).

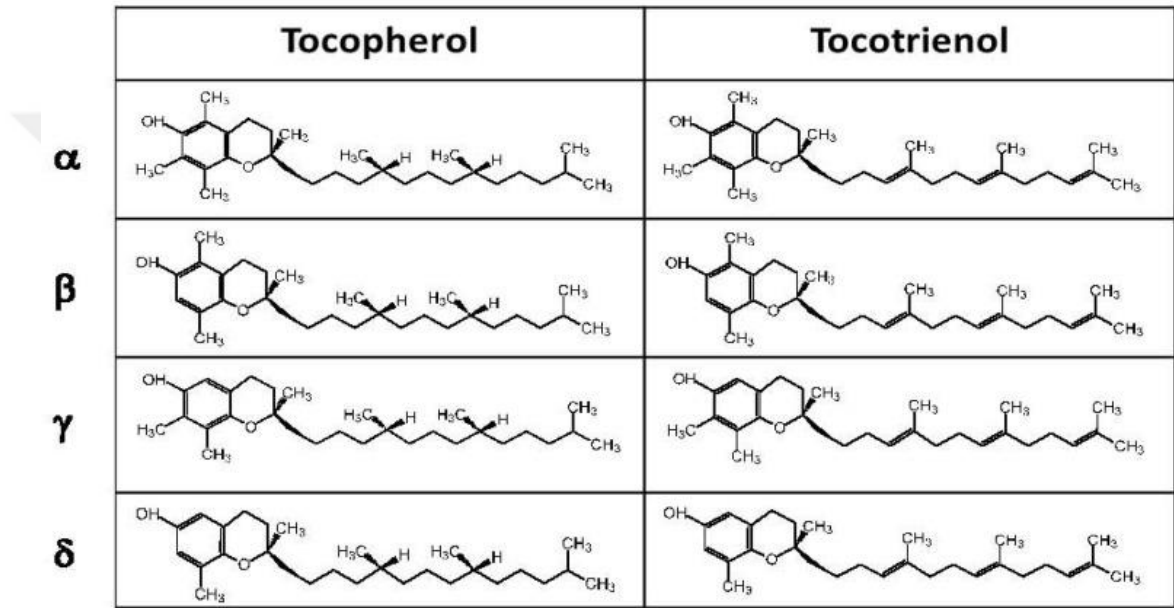
UVB ışınlarına maruz kaldıktan sonra, dermal hücreler aktif olarak D vitamini sentezler. Bir geri bildirim mekanizması olarak, üretilen fazla öncüler aynı UVB ışınları tarafından dermal hücreler içinde katabolize edilir. Cilt aynı zamanda D vitamininin 24-hidroksilasyonu ile aşırı D vitamini üretimini önleyen inaktive edici CYP24A1 enzimini de içerir (Webb ve ark., 1989). Bu homeostaz süreci UVB, PTH ve serum iyonize Ca konsantrasyonları tarafından düzenlenir (Armbrecht ve ark., 1998). Bir kişi UV ışınlarına aşırı maruz kaldığında, bahsedilen koruyucu mekanizma D vitamininin deride aşırı tutulmasını önler. Bu nedenle, güneşe maruz kalma serum 25(OH)D'yi patolojik seviyelere yükseltmez, hipervitaminoz D'ye veya hiperkalsemi gibi komplikasyonlarına neden olmaz (Miller, 2017). Derideki D vitamini oluşumunun kaynağı güneş radyasyonu olsa dahi aşırı maruz kalma, özellikle genetik olarak yatkın kişilerde cilt kanserlerine neden olabilir. Diğer yandan, optimal D vitamini durumu, çeşitli iç kanser türleri, melanom ve diğer bazı hastalıklara karşı koruma sağlar (Wimalawansa, 2019).

D vitamininin göz ve görme sağlığına katkısı da uzun süredir tartışılmaktadır. Epidemiyoloji çalışmaları, ultraviyole radyasyonun katarakt riskini artırmada önemli bir faktör olduğunu göstermektedir, D vitamininin doğal kaynağı güneş ışığına maruz kalma olduğundan dolayı da D vitamininin katarakt patofizyolojisinde yer alabileceği, ayrıca D vitamininin hücreleri koruyabildiğinden veya oksidatif stresi azaltabildiğinden katarakta karşı koruyucu olabileceği ve lens metabolizmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir (Chan ve ark., 2022).

2.5. E Vitamini

Yağda çözünen bir vitamin olan E vitamini, 1922 yılında yeşil yapraklı sebzelerde keşfedilmiştir (Miyazawa ve ark., 2009). Doğada E vitamini gibi etki gösteren kimyasal

yapıları farklı bileşikler bulunmaktadır (Şekil 2.7). Bunlar, moleküllerindeki yan zincirlerin durumuna ve doymuş ya da doymamış olmalarına göre tokoferoller ve tokotrienoller olmak üzere iki gruba ayrılır (Karaöz ve Karaöz, 1992). Tokoferolün α , β , γ , δ izoformları ve tokotrienolün α , β , γ , δ izoformları olmak üzere 8 doğal izoformdan oluşur. Tokoferoller ve tokotrienoller ortak olarak bir kromanol halkasına sahiptir. 16 karbonlu hidrofobik yan zinciri tokoferollerde tamamen doymuşken tokotrienollerdeki bağlar 3 trans çift zincire sahiptir (Meganathan ve Fu, 2016).



Şekil 2. 7. E vitamini izoformlarının kimyasal yapısı (Abdala-Valencia ve ark., 2013).

E vitamininin başlıca besin kaynakları kabuklu yemişler ve yenilebilir bitkisel yağlardır. α -tokoferol tüketilen E vitaminin % 60-70'ini, γ -tokoferol ise tüketilen E vitamininin % 20-25'ini oluşturur. Bunlar çoğunlukla mısır, soya fasulyesi ve yer fıstığı yağlarında bulunur. Tokotrienol kaynakları ise palmiye yağı, arpa ve tahıl taneleridir (Abraham ve ark., 2019).

Tokoferollerin ve tokotrienollerin emilimi ve metabolizması aynı yol üzerinden gerçekleşir. Emilim, diyet yağıyla birlikte gerçekleşir ve lenfatikler yoluyla yağ dokusu, deri, kas, kemik iliği gibi periferik dokulara ulaşır. α -tokoferol karaciğerde α -tokoferol transfer proteini (α -TTP) aracılığıyla korunmaktadır ve bu nedenle daha az metabolize olmaktadır (Manor ve Morley, 2007). E vitamininin α -tokoferol dışındaki izoformları, sitokrom P450 (CYP450) aracılı ω -hidroksilasyon veya yan zincir oksidasyonu yoluyla katabolize edilerek nihai metabolit 3'-karboksikromanol veya 2'karboksietil-6-

hidroksikromanlar elde edilir. E vitamininin bir kısmı sülfasyon yoluyla metabolize edilir. α -TTP'nin α -tokoferol için yüksek affinitesi nedeniyle ve diğer izoformların ω -hidroksilasyonu ile α -tokoferol en yüksek biyoyararlanıma sahiptir (Abraham ve ark., 2019).

E vitamininin moleküler ve hücresele etkileri; zarlara veya proteinlere zarar vermelerini önlemek için spesifik olarak reaktif oksijen türlerini ve nitrik oksiti temizlemek, antioksidan görevi yapmak veya spesifik enzimler ve transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girerek ve onları düzenleyerek, zarlar ve lipid kısımları gibi hücresele yapıları korumaktır (Altınar ve ark., 2017). E vitamini izoformları, özellikle γ -tokoferol ve az miktarda α -tokoferol, SOD, CAT, GPx gibi çeşitli antioksidan enzimlerin gen ekspresyonunu uyaran nükleer faktör 2'yi (Nrf2) indükler (Abraham ve ark., 2019). E vitamininin tüm izoformları, kromanol halkalarında fenolik hidrojen bulunması nedeniyle reaktif oksijen türlerini temizler (Jiang, 2014). Tokoferol izoformlarından γ -tokoferol ve δ -tokoferol, kromanol halkası üzerinde metillenmemiş C-5 pozisyonuna sahip oldukları için daha güçlüdür. Bu izoformlar 5 nitro- γ -tokoferol oluşturarak azot dioksit (NO₂) ve peroksinitrit (ONOO⁻) gibi reaktif azot türlerini detoksifiye edebilmektedirler (Smolarek ve Suh, 2011).

Membran akışkanlığındaki veya spesifik lipidlerdeki değişimleri α -tokoferol düzenler. E vitamini trombositlerde membran akışkanlığını azaltır. Membranlardaki araşidonik asitle E vitamini arasındaki ilişki ve membrana bağlı selenyum içeren GPx'in varlığı, hücre-hücre etkileşimlerinde E vitamininin rolünü gösterir (Tengerdy, 1990). Bununla birlikte, zincir kırıcı bir antioksidan olan α -tokoferol ile yapılan klinik çalışmalarda anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Abraham ve ark., 2019). α -tokoferol antioksidan etkisinden dolayı hücre membranındaki yağ asitlerini korumaktadır (Traber ve Atkinson, 2007). Tokoferoller oksitlenebilen lipidleri koruyarak membran özelliklerini, spesifik membran bölgelerinde yerleşen reseptörleri ve sinyal yollarını değiştirebilirler (Tengerdy, 1990).

E vitamininin lipid peroksidasyonu üzerindeki koruyucu etkisinin dışında, humoral ve hücre aracılı bağışıklığı da düzenleyici etkileri bulunmaktadır (Niu ve ark., 2009). Protein kinaz C enzimi, büyüme ve farklılaşmanın düzenlenmesinde önemli bir sinyal moleküldür. α -tokoferol'un çeşitli hücre tiplerinde protein kinaz C'yi inhibe ettiği bilinmektedir. Bu da trombosit agregasyonunun, endotel hücrelerde nitrik oksit (NO)

üretiminin ayrıca nötrofil ve makrofajlarda $O_2^{\cdot-}$ üretiminin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu durum, protein kinaz C fonksiyonlarının aktive edilmiş formunun bulunduğu membranlarda antioksidan etkidir (Traber ve Atkinson, 2007).

E vitamini büyüme, üreme, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve dokuların bütünlüğünün korunması gibi vücut fonksiyonlarının yerine getirilmesi için gereklidir. E vitamini, serbest radikallerin sebep olduğu doku hasarını ve dolayısıyla bazı dejeneratif ve yangısal hastalıkların gelişimini önleyebilen ya da geciktirebilen bir antioksidan olduğu için önemlidir (Altınar ve ark., 2017). E vitamininin en önemli rolü, hücrelerin ve hücre içi organellerin membranlarının lipid fazında zincir kıran bir antioksidan ve serbest radikal temizleyicisi olmasıdır (Niu ve ark., 2009). İnsanlarda ve deney hayvanlarında, oksidatif stres altında lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikal zincir reaksiyonları gerçekleşir. E vitamini, serbest radikal zincir reaksiyonunun kırılmasında ve lipid peroksidasyonunun önlenmesinde ve biyolojik membranın korunmasında önemli bir rol oynar (Abraham ve ark., 2019). E vitamini, sabit bir lipid hidroperoksit vermek amacıyla, membran fosfolipidlerinden veya lipoproteinlerde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinden (PUFA) üretilen peroksil radikalleri ile reaksiyona girer. Bu biyokimyasal reaksiyon sayesinde, zararlı lipid serbest radikallerini azaltır ve böylece dokuları serbest radikal saldırısından korur. E vitamininin lipid peroksidasyonunu önlemedeki bu antioksidan aktivitesi, immün yanıtı da güçlendirir (Altınar ve ark., 2017). Böylelikle de bağışıklık fonksiyonlarını güçlendirmiş olur. Düzenli olarak E vitamini kullanan hastalarda lens berraklığının daha iyi olduğunu gösteren bazı gözlemsel çalışmalar vardır (Daley ve ark., 2010). Katarakt üzerine yapılan bir çalışmada da lens E vitamini seviyeleri tüm katarakt gruplarında kontrol lenslerindekiyle kıyasla önemli ölçüde düşük bulunmuş ve bu durumu E vitamini ve C vitaminlerinin antioksidan enzim sistemiyle sinerjik olarak hareket etmesinden kaynaklanıyor olabilir; yani bir enzimin düşük seviyelerinin varlığında diğerinin yüksek seviyeleri veya düşük enzim seviyelerinin varlığında antioksidan vitaminlerden birinin yüksek seviyeleri yeterli koruma sağlayabilir veya E vitamini, özellikle α - tokoferol, in vivo olarak zincir kırıcı bir antioksidan olarak işlev görür ve aynı zamanda güçlü bir peroksil radikal temizleyicisidir. Bu nedenle serbest radikal temizleme işlemi sırasında E vitamini tükenir ve lensteki E vitamini seviyesi azalır şeklinde açıklanmıştır (Katta, 2013). E vitamini yetersizliğinin ve yaşlanmanın oksidatif stresi anlamlı ölçüde arttırdığı bilinmektedir (Fukui ve ark., 2002). Lipid

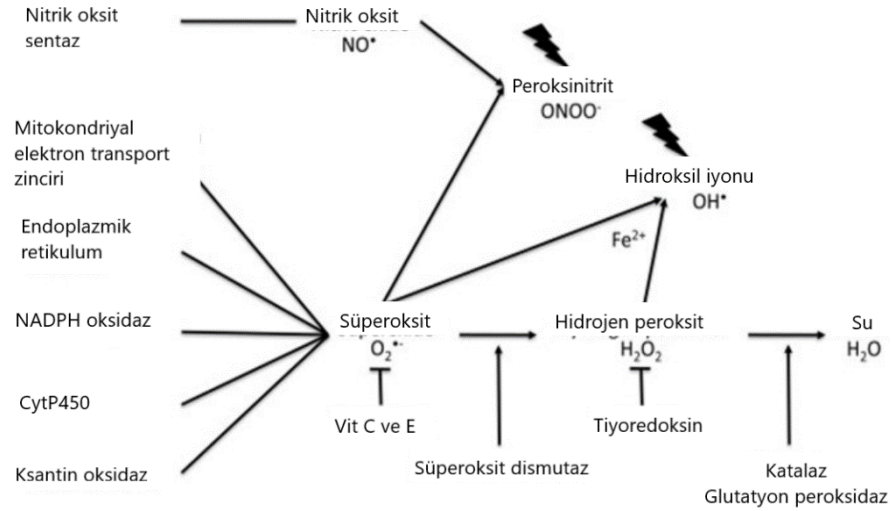
peroksidasyonunun bir indeksi olan tiyobarbitürik asit (TBARS), antioksidan koruma azalırken lipid peroksidasyonu arttığında, plazma total antioksidanlar ve α -tokoferol ile negatif korelasyonlu olmuştur (Infante, 1999).

2.6. Oksidatif Stres ve Katarakt

Oksijen, biyolojik sistemler için hem faydalı hem de potansiyel olarak zararlı olabilmektedir. Reaktivite, oksijenin yüksek enerjili elektron transferlerine katılmasına izin verir ve dolayısıyla oksidatif fosforilasyon yoluyla büyük miktarlarda ATP oluşumunu destekler. Bu, çok hücreli organizmaların değişimine izin vermek için gereklidir ancak onu bir protein, lipid veya DNA gibi herhangi bir biyolojik moleküle saldırmaya yatkın hale getirir. Bundan dolayı, vücudumuz ROS tarafından sürekli oksidatif saldırı altındadır. Vücudumuzda bu saldırıyı dengede tutan bir antioksidan savunma sistemi gelişmiştir (Burton ve Jauniaux, 2011). Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dinamik redoks dengesinin yoğun bir şekilde oksidatif potansiyellere doğru kaydığı bir süreç olarak tanımlanmaktadır (Goszcz ve ark., 2015). Oksidanlar ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine bir dengesizlik, redoks sinyalizasyonunun ve kontrolünün bozulmasına ve/veya moleküler hasara yol açar (Sies ve ark., 2017). Bahsedilen denge kavramı oksidatif strese kademeli bir yanıt verileceği anlamına gelmektedir. Dolayısıyla, dengedeki küçük bozulmaların yakın çevredeki değişikliklere yanıt olarak homeostatik adaptasyonlara yol açması muhtemelken, daha büyük bozulmalar onarılamaz hasara ve hücre ölümüne yol açabilir (Burton ve Jauniaux, 2011). Redoks süreçleri, biyoenerjetiklerden metabolizmaya ve yaşam fonksiyonlarına kadar neredeyse tüm temel süreçleri kapsar (Jones ve Sies, 2015).

"Reaktif oksijen türleri" terimi hem serbest radikallere hem de bunların radikal olmayan ara ürünleri için kullanılır. Serbest radikaller birçok elementten üretilebilir, ancak biyolojik sistemlerde en önemlileri oksijen ve nitrojeni içerenlerdir (Cadenas ve Davies, 2000). ROS, $O_2^{\cdot-}$, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), lipid hidroperoksitler ve peroksil radikalleri dahil olmak üzere serbest radikaller ve/veya oksijen türevleri olan kısmen indirgenmiş oksijen içeren moleküllerdir (Şekil 2.8) (Su ve ark., 2019). ROS, eşlenmemiş elektronlarından dolayı oldukça yüksek reaktiviteye sahip moleküller olup hücre içi ROS'un oluşumu endojen biyolojik sistemlerde nikotinamid adenin dinükleotid hidrür oksidazları (NOX'ler), ksantin oksidaz (XO) ve mitokondriyal elektron taşıma zinciri (ETS) yoluyla gerçekleşen $O_2^{\cdot-}$ radikalinden normal

metabolizmanın sonucu olarak veya iskemi, reperfüzyon, yaşlanma, radyasyon, yüksek oksijen basıncı, inflamasyon ve kimyasal ajanlara maruz kalma gibi sebeplere bağlı olarak üretilirler. Bazı büyüme faktörleri, ilaçlar ve toksinler de ROS üretiminin artmasına neden olur (Dröge, 2002).



Şekil 2. 8. Başlıca Reaktif Oksijen Türleri (Burton ve Jauniaux, 2011).

En yaygın serbest oksijen radikali $O_2^{\bullet-}$ 'dir ve ana kaynağı mitokondri olarak kabul edilir. Solunum zincirinin enzimleri boyunca elektron transferi tamamen verimli değildir ve elektronların özellikle I ve III komplekslerinden moleküler oksijene sızması $O_2^{\bullet-}$ oluşumuna yol açar ve bu oluşum hızı, zincirde bulunan elektronların sayısına bağlıdır. Paradoksal olarak, kompleks IV için son elektron alıcısı olarak hareket eden oksijenin azalan mevcudiyeti elektronların birikmesine neden olduğunda, hipoksi koşulları altında da artar. Normal koşullarda tüketilen oksijenin % 2'si mitokondride suya indirgenmek yerine $O_2^{\bullet-}$ 'e dönüştürülür. $O_2^{\bullet-}$, yükü nedeniyle zar geçirimsizdir ve mitokondriyal matris içinde kalır. Benzer şekilde, $O_2^{\bullet-}$, endoplazmik retikulum (ER) içindeki daha kısa elektron taşıma zincirinden elektronların sızması yoluyla da üretilebilir (Tu ve Weissman, 2004). $O_2^{\bullet-}$, onu H_2O_2 'e dönüştüren SOD enzimleri ile detoksifiye edebilir. H_2O_2 bir serbest radikal değildir ve bu nedenle $O_2^{\bullet-}$ 'den daha az reaktiftir. Polar olmadığı için hücre ve organel zarlarından yayılabilir ve bu nedenle sinyal iletim yollarında ikinci bir haberci olarak hareket eder. H_2O_2 sırayla CAT ve GPx enzimleri tarafından suya detoksifiye edilir. $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 konsantrasyonlarındaki bir dengesizlik çok daha tehlikeli $OH^{\bullet}$ oluşumuna neden olabileceğinden, antioksidan enzimlerin uyum içinde hareket etmesi önemlidir. Bu reaksiyon, Fenton reaksiyonundaki serbest demir

iyonları tarafından katalize edilir. OH^- yakın çevresindeki herhangi bir biyolojik molekülle difüzyonla sınırlı bir şekilde reaksiyona girer. Çok yüksek oranda reaktif olduğu için bilinen bir OH^- temizleyicisi yoktur. Aşırı $\text{O}_2^{\cdot-}$ üretimi, ONOO^- oluşturmak için NO ile etkileşime de yol açabilir. ONOO^- güçlü bir prooksidandır. 5 μm 'ye kadar difüzyon yapabildiğinden komşu hücreleri etkileyebilir (Pacher ve ark., 2007). Meydana gelen bu serbest radikaller vücudun antioksidan savunma kapasitesini geçtiği zaman, oksidatif stres oluşur (Fang ve ark., 2002).

Son zamanlarda yapılan birçok çalışma oksidatif stres ile DNA hasarı arasında yakın bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır (Tugrul ve ark., 2016). Oksidatif hasar; radyasyon, kirlilik ve sigara içimi gibi eksojen radikaller ya da inflamasyon, solunum patlaması ve ksenobiyotik gibi endojen kaynaklar nedeniyle serbest radikal üretimindeki artıştan kaynaklanabilir (Ghiselli ve ark., 2000). Son yıllarda, redoks durumunun fizyolojik anlamını ve dejeneratif hastalıklarda oksidatif stresin patolojik rolüne ilgi artmaktadır (Goszcz ve ark., 2015). Oksidatif stres, reaktif oksijen metabolitleri etkili ve güvenilir olarak ortadan kaldırılmadığı zaman hem direkt hem de indirekt olarak sağlığı etkileyebilir ve böylelikle de bağışıklığı baskılamış olur (Dimri ve ark., 2010). Başta deri ve gastrointestinal kanserler olmak üzere çeşitli kanserlerin patogeneğinde rol oynar (Jiang, 2014). Ayrıca bizim çalışmamızın konusu olan katarakt gibi yaşa bağlı oküler anormalliklerin (glokom, diyabetik retinopati ve maküler dejenerasyon) başlamasında ve ilerlemesinde oksidatif stres ve inflamasyon kritik bir rol oynar (Bungau ve ark., 2019). Işığa duyarlı ana organ olarak göz, kornea, ön kamara, lens ve vitreus cisimciğinden geçerek retinaya ulaşan güneş ışığında bulunan enerjiyi doğrudan alır. UV ışık, DNA hasarına neden olmanın yanı sıra reaktif oksidatif türlerin üretimi yoluyla foto-oksidatif strese de neden olabilir (Hsueh ve ark., 2022). Oksidatif stres teorisine göre serbest radikaller, lens proteinlerinin çapraz bağlanması ve agregasyonu, membran lipid peroksidasyonu ve epitel hücre apoptozunun aktivasyonu ile lensin bazı zararlı biyokimyasal reaksiyonları yoluyla katarakt oluşumuna yol açar (Varma ve Hegde, 2004). Lensin içerisinde bazı koruyucu bileşikler bulunsa da katarakt oluşumunu engelleyecek kadar güçlü değildirler. Antioksidanlar, özellikle A, C ve E vitaminleri, serbest radikalleri azaltarak ve temizleyerek lensteki oksidatif strese karşı potansiyel bir koruyucu etkiye sahiptir. Önceki çalışmalardan elde edilen kanıtlar, yüksek antioksidan

tüketiminin ve artan serum antioksidan düzeylerinin katarakt oluşumuna karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Manikandan ve ark., 2010).

Prooksidan ve antioksidan enzimlerin ve bileşiklerin çeşitliliği göz önüne alındığında, oksidatif stresin türlerini sınıflandırmak ve fizyolojik oksidatif stresten aşırı ve toksik oksidatif yüke kadar değişen yoğunluk ölçeklerini kavramsal olarak tanıtmak için girişimlerde bulunulmuştur. Akut, kronik ve tekrarlayan oksidatif stres incelenmiştir. Redoks homeostazı "sağlıklı yaşamın altın ortalaması" olarak ifade edilmiştir. Oksidatif stresin yoğunluğa göre bazal oksidatif stres (oksidatif stres, fizyolojik oksidatif stres, pozitif oksidatif stres) ve düşük, orta, yüksek yoğunluklu oksidatif stres olarak gruplandırılabilir. Diğer spesifik formlar ise fizyolojik oksidatif stres, beslenme, diyet kaynaklı postprandiyal oksidatif stres, gliko-oksidatif stres, ER stres, proteotoksik stres, disülfid stres, fotooksidatif stres [UV-A, UV-B, görünür ışık, kızılötesi-A], radyasyon kaynaklı oksidatif stres, nitrozatif stres, nanopartikül kaynaklı oksidatif stres ve çevresel stres (sülfür dioksit, nitrojen dioksit, ozon) şeklindedir. (Sies ve ark., 2017).

2.7. Katarakta Antioksidan Savunma

Vücut, enzimatik ve enzimatik olmayan bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Enzimatik antioksidanlar, SOD, CAT, GPx'i içerir (Su ve ark., 2019). E vitamini, C vitamini, karotenoidler, polifenoller ve GSH ise ekzojen enzimatik olmayan antioksidanlardır. (Goszcz ve ark., 2015).

Hücrelerdeki, hücre zarlarındaki ve hücre dışı sıvılardaki antioksidanlar, aşırı ve uygunsuz ROS oluşumunu nötralize etmekle görevlidir. Oksidan koşullara karşı redoks dengesini korumada kan, antioksidanları vücudun her yerine taşıdığı ve yeniden dağıttığı için merkezi bir role sahiptir (Ghiselli ve ark., 2000). Serumdaki yaygın olarak tanınan diyet kaynaklı mikro besinler ve antioksidanlar arasında retinol, α - tokoferol, likopen ve α ve β -karoten bulunur. Mikrobeseinler ve antioksidanlara ek olarak, serum aynı zamanda albümin, ürik asit ve bilirubin gibi bilinen antioksidan aktiviteye sahip diğer türleri de içerir (Yu, 1994).

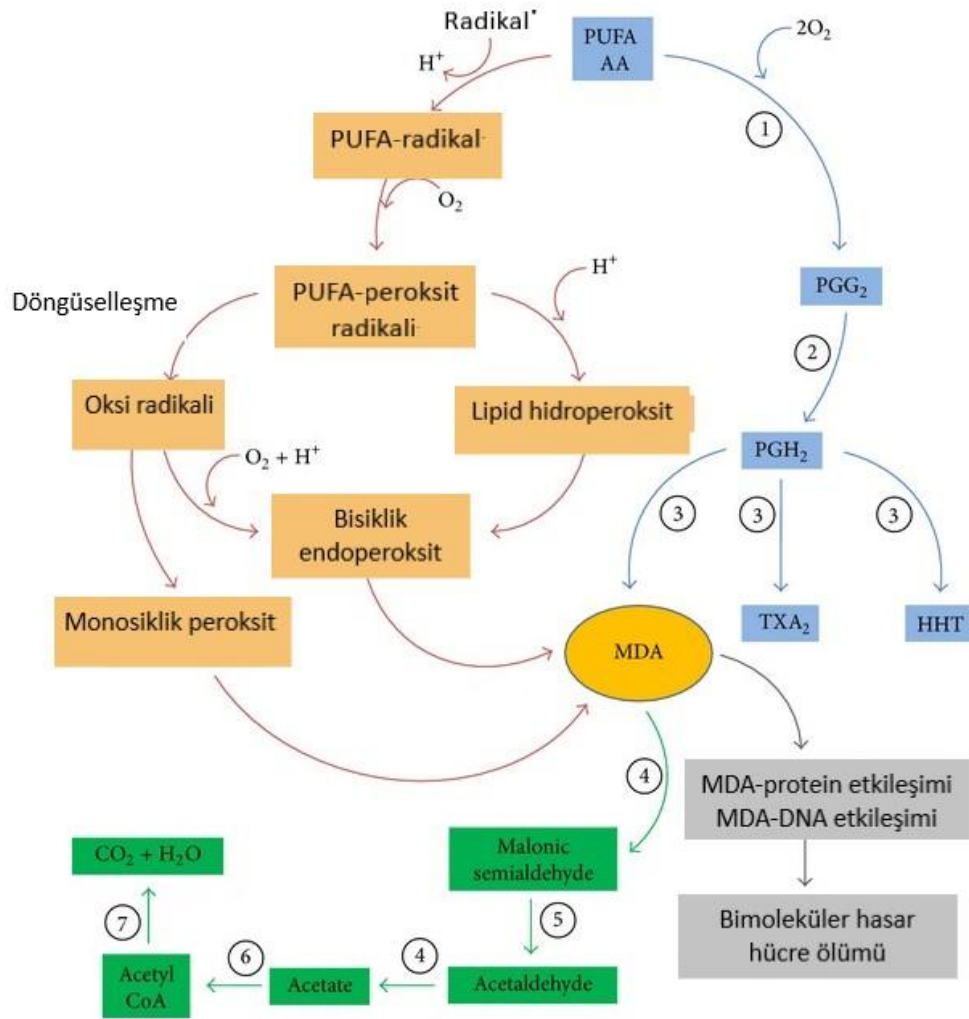
Farklı antioksidanlar arasındaki iş birliği, ROS saldırısına karşı herhangi bir bileşiğin tek başına sağlayabileceğinden daha fazla koruma sağlar. Antioksidanlar arasındaki sinerjinin tipik bir örneği GSH'nın askorbatı yenilemesi ve askorbatın α - tokoferölü

yenilemesidir (Packer ve ark., 1979; Stocker ve ark., 1986). ROS'un temizlenmesi sırasında hızla tüketilen bu bileşiklerin yenilenmesi veya diyetle alınan yeni bileşiklerle değiştirilmesi gerekir. Dolayısıyla, plazma antioksidan kapasite ya aşırı radikal yükü ya da diyetle alınan antioksidanlar tarafından düzenlenir bu nedenle de oksitleyici türler ile antioksidan bileşikler arasındaki in vivo dengeyi, seçilmiş tek bir antioksidan konsantrasyonundan daha iyi temsil ettiği düşünülebilir (Ghiselli ve ark., 2000).

2.7.1. Malondialdehit (MDA)

Oksidatif stresin birçok biyolojik hedefi arasında lipidler en çok etkilenen biyomolekül sınıfıdır. Lipid oksidasyonu bir dizi ikincil ürüne yol açar. Bu ürünler çoğunlukla oksidatif hasarı şiddetlendirme özelliğine sahip aldehytlerdir (Uchida, 2000). Bu aldehytlerden olan MDA, araşidonik asit ve daha büyük PUFA'ların enzimatik veya enzimatik olmayan işlemler yoluyla ayrışmasıyla üretilen bir son üründür (Ayala ve ark., 2014). Literatürde MDA ile ilgili olarak in vitro, hayvanlarda ve ilaçların, antioksidanların ve diyet, sigara ve fiziksel egzersiz gibi yaşam tarzının etkilerini araştıran beslenme ve klinik çalışmalarda elde edilen çok sayıda veri bulunmaktadır (Niedernhofer ve ark., 2003). MDA metabolizmasına olan ilgi, mutajenitesi ve iddia edilen karsinojenitesinden kaynaklanmaktadır. Eksojen MDA'ya maruz kalma, gıdalardaki peroksidize PUFA'ların ayrışmasının bir ürünü olarak ortaya çıkmasından kaynaklanmaktadır. Endojen MDA, hücre membranlarının fosfolipidlerindeki benzer yağ açıl peroksidlerinin ayrışması ve prostaglandin sentezindeki siklooksijenaz reaksiyonunun bir ürünü olarak üretilir. MDA'nın endojen üretimi, ozon, nitrojen oksitler, hiperoksi ve bazı ksenobiyotiklere maruz kalma gibi lipid peroksidasyonunu uyaran çevresel faktörlerin yanı sıra yüksek oranda doymamış asitlerin birikimi, E vitamini veya selenyum eksikliği ve lipid peroksidasyonunun metal katalizörlerinin salınmasına neden olan doku hasarı gibi iç ortamdaki değişikliklerle artar (Draper ve Hadley, 1990).

PUFA'lar peroksidede olarak MDA gibi reaksiyon ürünlerini oluşturur (Şekil 2.9). ROS'un lipidlerle olan reaksiyonu "lipid peroksidasyonu" olarak bilinir ve MDA, TBARS reaktif maddelerinin prototipidir, bundan dolayı da oksidatif stresin yani lipid peroksidasyonunun en sık ölçülen biyobelirteçlerindendir. Birçok hastalıkta, sağlıklı örneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek MDA konsantrasyonları ölçülmüştür (Tsikas, 2017). Aynı zamanda MDA'nın insan hücreleri için mutajenik olduğu da bildirilmiştir (Niedernhofer ve ark., 2003).



Şekil 2. 9. MDA oluşumu ve metabolizması (Ayala ve ark., 2014). MDA'nın oluşumunda ve metabolizmasında yer alan anahtar enzimler: siklooksijenazlar (1), prostasiklin hidroperoksidad (2), tromboksan sentaz (3), aldehit dehidrojenaz (4), dekarboksilaz (5), asetil CoA sentaz (6) ve trikarboksilik asit döngüsü (7).

Karbonilik fonksiyonelliği nedeniyle MDA kimyasal olarak reaktiftir. Kolayca polimerize olur ve DNA ve proteinlerdeki amino asit kısımları dahil olmak üzere çeşitli biyomoleküllerin nükleofilik merkezleriyle birçok reaksiyona girer. MDA'nın kimyasal özellikleri iki kategoriye ayrılabilir: Bunlar metilen H atomlarının CH-asitliğine göre ve iki aldehit grubunun nükleofillerle karşı reaktivitesine göre şeklinde sınıflandırılabilir (Esterbauer ve ark., 1991). Biyolojik MDA temel olarak serbest veya proteinlere, nükleik asitlere, lipoproteinlere ve bazı amino asitlere kovalent olarak bağlı/konjuge halde bulunur. Dolaşımdaki MDA ve çözünabilir amino asitlere bağlanan MDA idrarla atılır. MDA'nın üriner amino asit eklentileri arasında N-ε-(2-propenal) lizin, N-α-asetil-(epsilon)-(2-propenal) lizin, N-(2-propenal) serin ve N-(2-propenal) etanolamin bulunur

(Tsikas 2017). MDA esas olarak üç veya daha fazla çift bağa sahip yağ asitlerinin peroksidasyonundan kaynaklanır ve bu nedenle öncelikle hayvansal gıdalarda ortaya çıkar. MDA'nın bağırsaktan emildiği form, MDA'nın diyetteki toksisitesinin değerlendirilmesinde temel bir husustur. Çeşitli hayvansal gıdaların (tütsülenmiş balık, kıyma, tavuk ve sos) analizi, mevcut toplam MDA'nın yalnızca küçük bir kısmının serbest formda bulunduğunu, ana kısmının proteine bağlı olduğunu göstermiştir (Draper ve Hadley, 1990).

MDA ölçümünde analitik yöntemler analitlerin fizikokimyasal özelliklerini ön plana çıkarmaktadır. Doğal MDA, pH'ı <3 olan sulu çözeltilerde 245 nm'de veya pH'ı <7 olan çözeltilerde 267 nm'de ışığı absorbe ettiği için doğal MDA spektrofotometri ile veya yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ölçülebilir (Largillière ve Mélancon, 1988). MDA'nın karbonilik gruplarının reaktivitesi, biyolojik örneklerde MDA ölçümü için yaygın olarak kullanılmaktadır. MDA'nın pentaflorobenzil türevi, insan plazması ve idrarı dahil biyolojik örneklerde doğal, konjuge olmayan MDA'nın kantitatif gaz kromatografisi-kütle spektrometresi analizi için en uygun olanıdır (Tsikas, 2017). Asidik koşullar (örn. buzlu asetik asit veya sülfürik asit) ve uzun reaksiyon süresi (örn. 60 dakika) boyunca yüksek sıcaklıklar (örn. 95 °C) altında, bir MDA molekülü iki tert-Bütıl alkol (TBA) molekülü ile reaksiyona girerek kırmızı renkli, güçlü görünür ışık absorbe eden (I_{max} , 532 nm) bir türev veya TBA-MDA kondensasyonu oluşturur. Bu, nükleofilik merkezin TBA'nın aromatik halkası olduğu bir katılma reaksiyonudur (Yoden ve Iio, 1989).

Endojen ve eksojen MDA, karbondioksit (CO₂), asetat ile lizin ve serin gibi çeşitli amino asitlerin yanı sıra etanolamin ve guanin de dahil olmak üzere birçok metabolite yoğun bir şekilde metabolize edilir (Draper ve ark., 1986; Draper ve Hadley, 1990). Serbest MDA üretmek için yaygın olarak kullanılan bir diğer yaklaşım da proteinlerin asitlerle, örneğin perklorik asitle çökeltilmesi ve süpernatantın MDA açısından analiz edilmesidir (Pilz ve ark., 2000).

MDA seviyesinin yüksekliği oksidatif stres koşullarının varlığına işaret eder (Singh ve ark., 2016). ROS'un bir biyobelirteci olan MDA, lens bulanıklığına neden olabilir; bu nedenle daha yüksek MDA'da lipid peroksidaz üretimi artar ve bulanıklığa neden olur (Bhatia ve ark., 2006). Yapılan bir çalışmada kataraktlı denekler kontrollerle

karşılaştırıldığında lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinin kataraktlı deneklerde daha yüksek olduğu bildirmiştir (Katta, 2013).

2.7.2. Glutasyon

Glutasyon (γ -glutamil-sisteinil-glisin) biyokimya ve beslenme bilimlerinde büyük ilgi görmektedir. Bu ilgi sonucunda yapılan çalışmalar, hastalıkların serbest radikal teorisine ve çeşitli patolojik koşullar altında GSH'nin daha iyi anlaşılması beslenme tedavilerinin ilerlemesini sağlamış; sinyal iletimi, gen ekspresyonu, apoptoz, protein glutatyonilasyonu ve NO metabolizmasında GSH için yeni rollerin keşfine olanak tanımıştır (Wu ve ark., 2004). Önemli bir antioksidan olan GSH, glutasyon S-transferazlar ve GPx'ler tarafından kataliz yoluyla çeşitli elektrofilik bileşiklerin ve peroksitlerin detoksifikasyonunda rol oynar. GSH'nin önemi, bitkiler, memeliler, mantarlar ve bazı prokaryotik organizmalarda yaygın olarak kullanılmasından anlaşılmaktadır (Anderson, 1998). Detoksifikasyona ek olarak GSH, glioksalaz sistemi, ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere indirgenmesi, tiyol:disülfid değişim reaksiyonları yoluyla protein ve gen ifadesinin düzenlenmesi gibi diğer hücrel reaksiyonlarda da rol oynar (Townsend ve ark., 2003).

GSH glutamin, sistein ve glisin amino asitlerinden oluşan, suda çözünebilen bir tripeptittir (Anderson, 1998). Tripeptit, L-glutamil-L-sisteinil-glisin veya GSH, bitki ve hayvanlardaki başlıca düşük molekül kütleli tiyol bileşiğidir (Meister ve Anderson, 1983). Tiyol grubu güçlü bir indirgeyici ajandır ve GSH'yi bazı dokularda milimolar konsantrasyonlara ulaşan en bol hücre içi küçük molekül tiyol haline getirir (Anderson, 1998). Hücrel GSH'nin çoğu (% 85-90) sitozolde bulunur, geri kalanı ise organellerde (mitokondri, nükleer matris ve peroksizomlar dahil) bulunur (Lu, 2001). Hücrelerde bulunan tüm nonprotein bileşikler arasında glutasyon en fazla sülfhidril grubuna (-SH) sahiptir. Dokularda 1 ila 10 mM arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur ve indirgeyici eşdeğerleri vermesi nedeniyle toksik reaktif türlerin hem doğrudan hem de enzimatik nötralizasyonu ve hücrel redoks dengesinin korunması için gereklidir (Wu ve ark., 2004). Önemli miktarda -SH'nin serbest sistein olarak bulunduğu plazma gibi hücre dışı matrikslerde, GSH konsantrasyonu 2-20 μ M aralığındadır (Giustarini ve ark., 2013). GSH, sistein ile ilişkili toksisiteden yoksundur, bu da bu bileşiği belirli bir tiyol/disülfid redoks potansiyelini korumak için hücrel bir tiyol "redoks tamponu" olarak uygun hale getirir.

Hücrelerde, dokularda ve plazmada glutatyon birkaç farklı formda daha bulunur. GSSG, oksidasyon sonucu oluşur; bazen bu tür "oksidlenmiş glutatyon" olarak adlandırılır ancak GSH'den sülfonatlar gibi başka oksidasyon ürünleri de oluşur. Proteinler glutatyonillenebilir veya bazen ifade edildiği gibi tiyolatlanabilir (Sies, 1999). Hücrelerden GSSG akışı, hücre içi GSH'nin net kaybına neden olur. Hücresel GSH konsantrasyonları, proteinden yetersiz beslenme, oksidatif stres ve birçok patolojik duruma yanıt olarak belirgin şekilde azalır (Wu ve ark., 2004). $GSH + 2 GSSG$ konsantrasyonu genellikle hücrelerde toplam glutatyon olarak belirtilir ve önemli bir miktarı (% 15'e kadar) proteine bağlanabilir (Sies, 1999). Hücresel redoks durumunun bir göstergesi olarak sıklıkla kullanılan $[GSH]:[GSSG]$ oranı, normal fizyolojik koşullar altında 10'dan büyüktür (Griffith, 1999). GSH/GSSG, hücrelerin antioksidatif kapasitesini belirleyen ana redoks çiftidir, ancak değeri Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz/Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat (NADPH/NADP) ve tiyoredoksinred/tiyoredoksinoks dahil olmak üzere diğer redoks çiftlerinden etkilenebilir (Wu ve ark., 2004).

GSH, glisin, sistein ve glutamik asit amino asitlerinden de novo olarak sentezlenir (Meister ve Anderson, 1983). Glutamat, sistein ve glisinden GSH sentezi, iki sitozolik enzim olan γ -glutamil sistein sentetaz (γ -GCS) ve GSH sentetaz tarafından sırayla katalize edilir. Hücreye özgü bir şekilde çeşitli uyaranlara yanıt olarak γ -GCS ifadesinin indüksiyonu gösterilmiştir. Sisteinin biyoyararlanımı GSH sentezi için hız sınırlayıcıdır. Sistein ve amino asidin oksitlenmiş formu olan sistin, sırasıyla sodyuma bağımlı ve bağımsız taşıyıcılar yoluyla hücre içine taşınır. Oksidanlar (hiperoksit, H_2O_2 ve elektrofilik bileşikler dahil) sistin alımını ve γ -GCS ekspresyonunda eşzamanlı bir artışı sağlar. γ -GCS promotor bölgesi varsayılan bir AP-1 bağlanma bölgesi, bir antioksidan yanıt elemanı ve bir elektrofili duyarlı eleman içerir (Townsend ve ark., 2003). GCS reaksiyonunda, glutamatın γ -karboksil grubu sisteinin amino grubu ile reaksiyona girerek GSH'yi hücre içi peptidazlar tarafından hidrolize karşı koruyan peptidik bir bağ oluşturur. Her ne kadar γ -glutamil-sistein, γ -glutamilsiklotransferaz için bir substrat olabilse de GSH sentetazın çok daha yüksek affinitesi ve aktivitesi nedeniyle hayvan hücrelerinde GSH sentezi tercih edilir (Griffith, 1999). Bu yol hemen hemen tüm hücre tiplerinde meydana gelir ancak karaciğer GSH'nin başlıca üreticisi ve dağıtıcısıdır. GSH, taşıyıcıya bağlı kolaylaştırılmış bir mekanizma aracılığıyla hücre dışına taşınabilir (Townsend ve

ark., 2003). Bu durum, sentezin ana kaynağı olan karaciğerden diğer dokuların beslenmesi için kan dolaşımına GSH aktarımının yanı sıra biliyer atılım için kanaliküler membran boyunca taşınmayı içeren GSSG salınımı için de geçerlidir (Bartoli ve Sies, 1978; Kaplowitz ve ark., 1996). Plazma GSH esasen karaciğerden kaynaklanır ancak diyet ve bağırsak yoluyla elde edilen GSH'nin bir kısmı portal venöz plazmaya girebilmektedir. Plazma membranı boyunca aşırı konsantrasyon gradyanı, hücre dışı GSH veya GSSG'nin hücrelere taşınmasını termodinamik olarak elverişsiz hale getirir. Böbrek, akciğer ve bağırsak, karaciğer kaynaklı GSH'nin başlıca tüketicileridir. GSH'nin organlar arası metabolizması, sisteinin dokular arasında toksik olmayan bir formda taşınması işlevini görür ve aynı zamanda korunmasına yardımcı olur (Lu, 2001).

Hücrede optimum GSH:GSSG oranlarının korunması hayatta kalmak için kritik öneme sahiptir, dolayısıyla sistemin sıkı bir şekilde düzenlenmesi zorunludur. GSH eksikliği hücreyi oksidatif hasar riski altına sokar (Townsend ve ark., 2003). GSH, serbest radikalleri ve OH⁻, lipid peroksil radikali, ONOO⁻ ve H₂O₂ gibi reaktif oksijen türlerini doğrudan ve enzimatik reaksiyonlar yoluyla dolaylı olarak etkili bir şekilde temizler (Fang ve ark., 2002). Bu reaksiyonlarda GSH, GSSG'yi oluşturmak üzere oksitlenir ve bu daha sonra NADPH'ye bağımlı glutatyon redüktaz tarafından GSH'ye indirgenir (Lei 2002). Lenfositler ve bağırsak epitel hücreleri dahil olmak üzere hücrelerin çoğalması için yeterli GSH konsantrasyonları gereklidir (Aw, 2003). Ayrıca GSH, T lenfositlerin ve polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonunun yanı sıra sitokin üretimi için ve dolayısıyla başarılı immün yanıtlar oluşturmak için gereklidir (Townsend ve ark., 2003). Dolayısıyla GSH'nin oksidatif stres, kanser, inflamasyon, kwashiorkor (ağırlıklı olarak protein eksikliği), Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, orak hücreli anemi, karaciğer hastalığı, kistik fibroz, enfeksiyon, kalp krizi, felç ve diyabet dahil olmak üzere birçok hastalığın patogeneğinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Wu ve ark., 2004). Lens epiteli tarafından sentezlenen GSH, lensin oksidatif hasardan korunmasında da son derece önemli bir rol oynar. Hücre içi GSH seviyesi, GSH sentaz, GSH peroksidaz ve GSH redüktazdan oluşan bir enzim kompleksi bileşiği tarafından düzenlenir. Ayrıca, GSH sentezindeki ana fonksiyonel enzimler olan NADPH ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, oksidan etkiyi süpürerek senil katarakt oluşumunu yavaşlatır. Birçok çalışma GSH seviyelerinin kataraktlı lenslerde yüksek, normal lenslerde ise düşük olduğunu göstermiştir (Turgut ve ark., 2017).

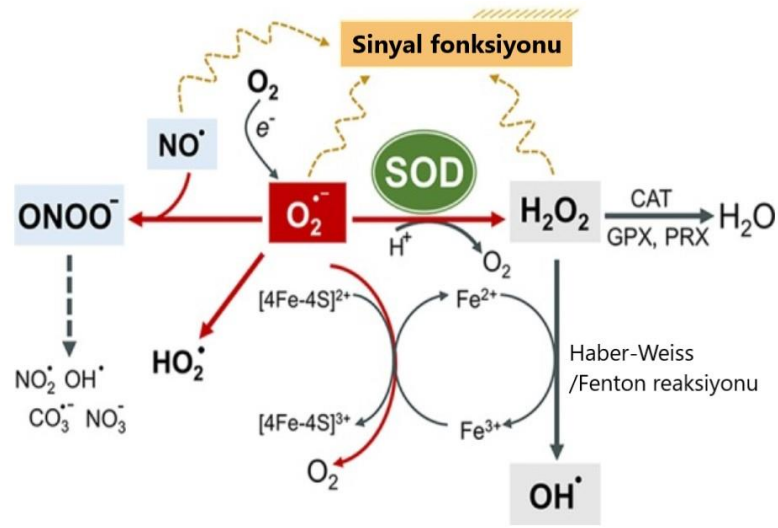
Glukokortikoidlerin lensin oksidatif stresten korunmasında rol oynayan mekanizmaların faaliyetlerini etkileyebileceği bilinmektedir. Lens, GSH, GPx ve serbest radikal temizleme sistemleri dahil olmak üzere çeşitli koruyucu mekanizmalara sahiptir (Duman ve Vurmaz, 2018). Glutasyon lensteki başlıca antioksidandır ve indirgenmiş glutasyon genç lenste yüksek konsantrasyonlarda (~4-6 mM) bulunur ve oksidatif saldırılara dayanmasını sağlar. İlerleyen yaşla birlikte, GSH seviyeleri özellikle lens merkezinde azalır ve sonuçta protein agregasyonu, ışık saçılması ve yaşa bağlı nükleer katarakt ile sonuçlanan bir biyokimyasal olaylar zincirini başlatır (Lim ve ark., 2020). Protein sülfhidril gruplarının kaybı ve metiyonin kalıntılarının oksidasyonu ilerleyicidir ve katarakt kötüleştikçe sisteminin >% 90'ı ve metiyonin kalıntılarının yarısı en ileri biçimde oksitlenene kadar artar (Truscott, 2005).

2.7.3. Süperoksit Dismutaz

$O_2^{\cdot-}$, oksijene tek bir elektron bağışı yoluyla oluşan negatif yüklü bir serbest radikaldir (Hayyan ve ark., 2016). Dioksijenin bir anyon radikali olan $O_2^{\cdot-}$, biyolojik sistemlerde paramanyetik reaktif serbest radikallerin (hidroksil radikalleri) ve reaktif diamanyetik moleküllerin (H_2O_2 ve $ONOO^-$) öncüsüdür. Aynı zamanda, $O_2^{\cdot-}$ kendi başına reaktif bir serbest radikal olmasa da çok reaktif bir nükleofilik ajandır. $O_2^{\cdot-}$ 'in keşfinden sonra hidroperoksil radikalinin ($HO_2^{\cdot-}$), reaktif hidroksil radikallerini oluşturmak için hidrojen peroksidin ayrışmasına katılabileceği öne sürülmüş ve $O_2^{\cdot-}$ 'in oluşum döngüsü Haber-Weiss döngüsü olarak adlandırılmıştır. Ancak kısa süre sonra bu reaksiyonların termodinamik olarak imkânsız olduğu anlaşılmış ve Haber-Weiss döngüsünün demir iyonları tarafından katalize edilebileceği ifade edilmiştir. Buna uygun olarak, bu süreç "süperoksit bağımlı Fenton reaksiyonu" olarak adlandırılmıştır (Şekil 2.10) (Afanas'ev, 2015).

Kimyasal olarak, SOD'ların dismutaz aktivitesi $O_2^{\cdot-}$ 'in kendisiyle reaksiyona girerek H_2O_2 ve oksijen oluşturmasıyla (2 $O_2^{\cdot-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$) (Fridovich, 1975). CAT, GPx'ler ve peroksi redoksinler H_2O_2 'yi suya dönüştürür. H_2O_2 , Fenton/Haber-Weiss reaksiyonu yoluyla $OH^{\cdot-}$ oluşturmak için redoks aktif metallerle reaksiyona girebilir. $O_2^{\cdot-}$ ve NO arasındaki reaksiyon $ONOO^-$ üretir, bunun ayrışması da NO_2 , $OH^{\cdot-}$ ve karbonat dahil olmak üzere bazı yüksek oksitleyici ara ürünlerin yanı sıra kararlı nitrik asit oluşumuna neden olur. Bu nedenle, yüksek $O_2^{\cdot-}$ seviyeleri NO biyoyararlanımını azaltabilir ve $ONOO^-$ toksisitesi oluşturabilir. $O_2^{\cdot-}$ tek başına proteinlerin demir-sülfür

merkezlerindeki Fe^{3+} demiri Fe^{2+} 'e indirgeyerek enzim inaktivasyonuna ve enzimlerden Fe^{2+} kaybına yol açabilir, bu da Fenton kimyasını destekler. $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'nin protonlanması daha reaktif $\text{HO}_2^{\cdot}$ oluşturabilir. Tek başına sadece orta derecede reaktiftir, ancak çeşitli reaktif oksijen türleri ve H_2O_2 ve ONOO^- gibi reaktif nitrojen türleri veren çeşitli reaksiyonlara katılır ve bunlardan birçok ek ikincil radikal türü üretilebilir. SOD'lar $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'yi kontrol ederek bu türlerin konsantrasyonlarını da kontrol eder. ROS'un çoğu $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'ten türetilir, bu nedenle SOD, oksijen ve H_2O_2 oluşturmak üzere $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'in bozunmasını katalize etmek için kritik öneme sahiptir (Wang ve ark., 2018).



Şekil 2.10. $\text{O}_2^{\cdot-}$ reaksiyonları ve dönüşümleri (Wang ve ark., 2018).

Solunum yapan organizmalarda, birçok spontan ve enzimatik olarak katalize edilen reaksiyon $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'ye yol açabilir. Bunlar arasında mitokondriyal ETS, plazma membranı ile ilişkili NADPH kompleksi, sitozolik XO ve esas olarak ER'de bulunan CYP450 monooksijenazlar yer alır. Potansiyel toksisitelerine rağmen, $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve bazı türevleri, özellikle H_2O_2 , aynı zamanda hücre çoğalması, farklılaşması ve göçü gibi çeşitli biyolojik tepkilere aracılık eden sinyal molekülleridir (Holmström ve Finkel, 2014). $\text{O}_2^{\cdot-}$ hücre membranlarından kolayca geçemez ve nispeten kısa ömürlüdür; bu nedenle muhtemelen üretildiği yerde etki eder. Buna karşılık, H_2O_2 yüksüzdür, daha kararlıdır ve membranları serbestçe geçebilir, bu da onu daha çok yönlü bir sinyal molekülü yapar (Wang ve ark., 2018). $\text{O}_2^{\cdot-}$ 'in, kanser ve yaşlanma dahil olmak üzere hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda DNA metilasyonu (metiltransferazlar tarafından katalize edilir), histon metilasyonu (lizin metiltransferazlar tarafından katalize edilir) ve histon asetilasyonu (histon asetiltransferazlar tarafından katalize edilir) gibi epigenetik süreçlerde önemli bir

rol oynaması mümkün görülmektedir. DNA ve histon modifikasyonlarının iki ana mekanizma ile gerçekleştirildiği öne sürülmüştür: metil ve asetil gruplarının nükleofilik eklenmesi reaksiyonları ve serbest radikal soyutlaması ile demetilasyon reaksiyonları. Süperoksit sinyalinin fizyolojik koşullar altında epigenetik süreçlerin önemli bir özelliği olduğu gösterilmiştir ancak aşırı ROS üretimi ile karakterize edilen birçok patolojik bozukluk için daha önemli ve anlamlıdır (Afanas'ev, 2015; Chen ve ark., 2009). SOD'ların incelenmesi, $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'nin sinyal rollerinin açıklığa kavuşturulmasına yardımcı olacaktır (Juarez ve ark., 2008).

SOD, $O_2^{\bullet-}$ 'leri H_2O_2 'ye dönüştürerek savunma sağlayan enzimdir. Bu, hücre zarını ROS'un neden olduğu hasardan korur. Ancak SOD seviyelerinin azalması lipid peroksidasyonunun artmasına yol açarak hücre yapısında bozulmaya neden olabilir (Kaur ve ark., 2012). SOD, vücuttaki aktif oksidan stres faktörlerinin temizlenmesinden sorumlu anahtar enzimlerden biridir ve oksidanlar tarafından daha fazla tüketilmesinden dolayı katarakt vakalarında lens SOD seviyesinin daha düşük olması beklenmektedir (Bhatia ve ark., 2006).

2.7.4. Tümör Nekroz Faktörü Alfa

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), hücre içi N terminaline sahip bir transmembran proteindir. Hem membrana entegre bir protein olarak hem de proteolitik bölünmeden sonra salınan çözünür bir sitokin olarak sinyal verme potansiyeline sahiptir ve çok hücreli yapıların oluşturulmasında rol oynayan hücreler arası iletişim molekülüdür (Balkwill, 2006; Locksley ve ark., 2001). Esas önemli olan ise TNF- α 'nın doğuştan gelen bağışıklık sisteminin inflamatuvar reaksiyonlarını başlatmadaki merkezi rolüdür. Bakteriyel patojenler ve diğer birçok zararlı uyaran, NF- κ B (Nuclear Factor kappa B) sinyalizasyonu yoluyla TNF- α 'yı indükler ve ayrıca translasyonel etkinliğini artırır (Akira ve Takeda, 2004). TNF- α vücutta immünostimülasyon, enfeksiyon ajanlarına karşı direnç, tümörlere karşı direnç, uyku düzenlemesi ve embriyonik gelişim gibi çeşitli terapötik roller oynar (Idriss ve Naismith, 2000).

TNF- α 'nın üretimi, hasar ve enfeksiyon bölgelerinde nötrofilleri, makrofajları ve lenfositleri toplayan ve aktive eden kemokinler, sitokinler ve endotelial adezyonları içeren oldukça karmaşık bir biyolojik kaskadın başlatılmasında öne çıkmaktadır (Locksley ve ark., 2001). TNF- α 'nın ekspresyonu, transkripsiyon faktörleri, çekirdek

düzenleyiciler ve kromatin modifikasyonlarından oluşan bir ağ tarafından düzenlenir (Akira ve Takeda, 2004). TNF- α geninin promotörü, üçüncü intron ve genden hemen sonra yer alan çoklu transkripsiyon faktörü bağlanma bölgeleri içerir. Bu bağlanma bölgeleri, aktif T hücrelerinin nükleer faktörü, NF-kB, interferon düzenleyici faktör gibi transkripsiyon faktör ailelerinin üyeleri ile bağlanarak transkripsiyonu düzenler (Moelants ve ark., 2013). Enfeksiyon durumunda inflamasyonun zararlı etkilerinden korunmak için zamanında çözülmesi gereklidir ve inflamatuvar genler ve yollarda negatif olarak düzenlenir. Negatif geri bildirim mekanizmaları hem TNF- α 'nın gen ifadesini hem de TNF- α 'nın hücre içi sinyal iletim yollarını kontrol eder. kB inhibitörü ailesinin üyeleri, TNF- α dahil olmak üzere farklı genlerin transkripsiyonunu gene özgü bir şekilde inhibe eden negatif inflamasyon düzenleyicilerine örnektir (Bates ve Miyamoto, 2004).

Sonuç olarak TNF- α , farklı fizyolojik ve immünolojik süreçlerde rol oynayan proinflamatuvar bir sitokindir. Dokudaki inflamasyonu, mitokondri aracılı apoptozu aktive edebilir, bunun aksine nöroprotektif rolü olabilir (Vulovic ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada katarakt insidansı ile TNF- α seviyesi arasında zayıf bir korelasyon bulunmuştur (Umran ve ark., 2020). Ancak katarakt gelişimi üzerindeki etkisi net olarak bilinmemektedir.

2.7.5. İnterlökin-6

İnterlökin-6 (IL-6) 184 amino asitten oluşan dört sarmallı bir sitokindir. Bu protein fibroblastlar, monositler, makrofajlar, T-hücreleri ve endotel hücreleri gibi doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından sentezlenir. IL-6 sentezi ve salgılanması, lipopolisakkarit tarafından toll like reseptör-4'ün (TLR) uyarılması veya hücrelerin interlökin-1 veya TNF- α ile uyarılması gibi inflamatuvar koşullar sırasında indüklenir. (Kishimoto, 2010).

IL-6, inflamasyonun ilk aşamasında lokal bir lezyonda sentezlendikten sonra, kan dolaşımı yoluyla karaciğere hareket eder (Heinrich ve ark., 1990). IL-6 karaciğerde C-reaktif protein, kompleman C3, fibrinojen, trombopoietin, serum amiloid A ve hepsidin gibi akut faz proteinlerinin sentezini indüklerken albümin, fibronektin ve transferrin üretimini inhibe eder (Gillmore ve ark., 2001; Tanaka ve ark., 2018). IL-6 ayrıca, antikör üretimini uyararak edinilmiş bağışıklık tepkilerinde önemli bir rol oynar. T hücreleri efektör T hücrelerine dönüşür. Ek olarak IL-6, birkaç bağışıklık dışı hücrenin

farklılaşmasını veya çoğalmasını teşvik edebilir. Pleiotropik aktivitesi nedeniyle, düzensiz kalıcı veya aşırı IL-6 üretimi, çeşitli hastalıkların başlamasına veya gelişmesine yol açar. IL-6'nın aşırı üretimi, Castleman hastalığının şişmiş lenf düğümlerinde patolojik olarak yer alırken, sinovyal sıvıdaki aşırı IL-6, fibroblast benzeri sinoviyositleri vasküler endotelial büyüme faktörü ve nükleer faktör κ B'nin reseptör aktivatörü üretmek üzere uyarır (Tanaka ve ark., 2018).

IL-6, hücreler interlekin-1 α ile uyarıldığında RPE hücreleri gibi birçok oküler doku tarafından da üretilir ve diğer dokulardaki gibi oküler dokularda da inflamasyon olmadığı durumlarda yoktur veya çok düşüktür (Lewis, 2013). Gözde IL-6, normal hümlerinin T-hücre apoptozunu indükleyebildiği ve genellikle uzak veya lokal enfeksiyöz uyarılara karşı oküler reaksiyonları önleyerek körlüğü önlediği oküler immün ayrıcalık olarak adlandırılan durumun kaybında önemli bir rol oynar (Ohta ve ark., 2000).

IL-6 çok yönlü bir sitokindir ve çoklu sinyal yolları aracılığıyla etki eder dolayısıyla birçok dokuyu etkileyebilir ve birçok hastalık sürecine katılabilir (Naugler ve Karin, 2008). IL-6, klasik sinyal yolu (mIL-6R) veya trans sinyal yolu (sIL-6R) aracılığıyla sinyal iletir. IL-6'nın etkisini gösterebilmesi için öncelikle ya membrana bağlı bir reseptöre (IL-6R) ya da çözünür (serbest yüzen) bir reseptöre (sIL-6R) bağlanması gerekir. Bu ligand/reseptör komplekslerinden herhangi biri daha sonra gp130'un dimerizasyonunu ve ardından mitojenle aktive olan protein kinaz, fosfotidil-inositol-3 kinaz ve janus kinaz/sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü yollarını içeren çeşitli hücre sinyal yollarından bir veya daha fazlasının aktivasyonunu tetikleyen gp130'un membrana bağlı formuyla etkileşime girmelidir (Lewis, 2013). Her iki durumda da (klasik sinyal yolu ve trans sinyal yolu) IL-6 önce reseptöre ve ardından gp130'a bağlanır ve reseptör formuna bağlı olarak farklı biyolojik etkiler ortaya çıkarır. Klasik sinyalleşme temelde hem mIL-6R α hem de gp130 ifade eden lökositler ve karaciğer hücrelerinde ortaya çıkar ve antiinflamatuvar yanıtları destekler; trans-sinyalizasyon ise tüm hücrelerde ortaya çıkabilir (Kaur ve ark., 2020).

2.8. Cıvciv Embriyo Modelinde Steroid Kaynaklı Katarakt Oluşumu

Katarakt oluşum mekanizmalarını aydınlatmak için literatürde çeşitli deney hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar mevcuttur. Bunların arasında fare, rat, tavşan, köpek, zebra balığı, buzağı, cıvciv yer almaktadır. Steroid kaynaklı kataraktın araştırılmasında

civciv embriyo modeli ise kullanılan en köklü hayvan modellerinden biridir (Nishigori ve ark., 1983; Albaş-Kurt, 2022).

Bu kapsamda yapılan bir araştırmada katarakt oluşturmak için civciv yumurtalarına 0.25 μ M HC enjekte etmişlerdir. HC enjeksiyonundan 48 saat sonra lensleri diseke etmişler ve derecelendirmeye tabi tutmuşlar. HC uygulanan lenslerde evre V (nükleer opaklık) derecesinde katarakt oluşumunu gözlemlemişlerdir (Velpandian ve ark., 2013).

Literatürdeki başka bir çalışmada da civciv embriyolarına 100 μ g/yumurta HC uygulandığında, 40 saat içinde lenslerde kortikal bölge ile çekirdek arasında veya çekirdekte opaklık gelişimi gözlemlemişlerdir (Nishigori ve ark., 1983).

Başka bir çalışmada ise 15 günlük fertil yumurtalara 0.25 mmol HC uygulaması yapılmış ve 48 saat sonra embriyoların hemen hemen tüm lensleri IV-V evrelerinde katarakt geliştirdiği bildirilmiştir (Nishigori ve ark., 1995).

Civciv embriyolarında 0.25 ve 0.50 μ mol olarak farklı iki doz ve HC korioallantoik zar ve hava kesesi olmak üzere iki farklı bölgeye HC uygulayarak katarakt oluşumu incelenen bir çalışmada HC enjeksiyonu civciv embriyolarının gelişiminin 15. gününde, embriyoların gözlerinin diseke edilip katarakt derecelendirmesi ise 17. günde yapılmıştır. Çalışma sonucunda kontrol gruplarında yer alan lenslerde opaklık gelişmediği, HC uygulanan gruplarda ise farklı derecelerde lens opaklığı sağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca steroid ile indüklenen civciv embriyo katarakt modelinde, katarakt oluşumu için HC'nin 0.25 μ mol/yumurta ve 0.50 μ mol/yumurta dozlarının ikisinin de katarakt oluşumunu sağladığı bildirilmiştir (Duman ve ark., 2018).

2.9. A, D, E Vitaminlerinin Hayvan Deney Modellerinde Uygulanan Dozları

2.9.1. A Vitamini

Bir araştırmada 20 IU/g retinol içeren normal yem karışımı ve diğer guruba 200 IU/g retinil palmitat içeren modifiye aşırı A vitamini yemiyle 12 ay boyunca beslenen farelerde 200 IU/g A vitamini grubunda aort kapak darlığı ve osteojenik genlerin artmış ekspresyonu ve kıkırdak belirteçlerinin azalmış ekspresyonu ile ilişkili kapakçık kalsifikasyonu geliştiğini bildirmişlerdir (Huk ve ark., 2013).

Toplam 512 adet bir günlük erkek ördekler rastgele 8 gruba ayrılmış ve A vitamininin büyümedeki etkisi ve doku retinol üzerindeki etkilerini incelemek için 8 farklı doz A vitamini uygulanmıştır (0, 500, 1.000, 1.500, 2.500, 3.500, 7.000 ve 14.000 IU/kg). 21 günün sonunda plazma ve karaciğerde büyüme performansı ve retinol konsantrasyonu ölçülmüş. Tüm ördekler arasında, ek A vitamini içermeyen temel diyetle beslenen ördekler, en düşük kilo alımına, yem yeme potansiyeline ve plazma ve karaciğer retinole sahip bulunmuş ($p < 0,05$). Verilen A vitamini dozu arttıkça, kilo alımı ve yem yeme durumu da artmış ($p < 0.05$) ve plazma ve karaciğer retinol doğrusal veya karesel olarak arttığını bildirmişlerdir ($P < 0.05$). Ayrıca kilo alımı ve plazma retinol için minimum A vitamini gereksinimlerini sırasıyla 2606 ve 4371 IU/kg olarak belirlemişlerdir (Feng ve ark., 2019).

Sıçan kemik iliğinde metotreksata bağlı mikronüklei üretiminin önlenmesi için A vitamini ve lökovorinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise A vitamini grubuna 4 gün boyunca 5000 IU/gün A vitamini uygulanmış ve çalışmanın sonucunda A vitamini için koruyucu etki gösterdiği sonucuna varıldığı bildirilmiştir (Madhyastha ve ark., 2008).

2.9.2. D Vitamini

Diyetteki değişen D vitamini düzeylerinin hindi tavuğu yumurta üretimi, embriyo gelişimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 200 hayvan 1 günlükten 37 haftalık olana kadar D3 vitamini takviyesi (300, 900 veya 2700 IU/kg yem) bakımından değişen diyetlerle beslenmiştir. Çalışma sonucunda 300 IU D3 vitamini/kg yem alan tavukların, daha yüksek D3 vitamini seviyeleri alan tavuklara göre daha az sayıda, daha hafif ve daha ince kabuklu yumurta ürettiği ayrıca düşük D3 vitamini ile beslenen tavukların normal embriyonik gelişim için yeterli miktarda vitamini yumurtaya taşıyamadığı bildirilmiştir (Stevens ve ark., 1984).

Sağlıklı sedanter sıçanlarda D vitamini takviyesi ve kısıtlamasının eklem kıkırdığı gelişimi üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için yapılan çalışmada 12 adet dokuz haftalık sağlıklı erkek sıçanlar Vitamin D bazlı deneysel diyetlere tabi tutulmuştur. Bu kapsamda 4000 IU/kg D vitamini uygulamasının sıçanların sağlığını olumlu etkilediği bildirilmiştir (Szychlinska ve ark., 2019).

Dişi sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada 30 sıçanı randomize olarak üç gruba ayırmışlar ve D vitamini grubunda bulunan 10 sıçana 4 hafta boyunca 42 µg/kg/gün D

vitamini uygulamışlardır. Çalışma sonucunda da D vitamini grubunda IL-6 seviyeleri önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir ve uygulanan dozun hayvanlarda toksik etkisi olmamıştır (Akyol ve ark., 2006).

Farklı formlarda (mikrokapsüllü, miselize ve yağ bazlı) D vitamini takviyelerinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise takviyeler her sıçana günde 2000 IU/kg D₃ vitamini alacak şekilde hazırlanmıştır. Yağ bazlı takviye zeytinyağında, miselize D₃ vitamini musluk suyunda seyreltilmiş ve mikrokapsüllenmiş form seyreltilmeden orijinal olarak verildiği gibi verilmiş. Sıçan kan serumundaki en yüksek D₃ vitamini konsantrasyonu, 7. günde yağ bazlı D₃ vitamini grubunda kaydedilmiş ayrıca uygulanan doz D vitamininin tüm formları, sıçanların kan serumundaki D vitamini konsantrasyonunu önemli ölçüde artırmasına ve D vitamini eksikliğini tedavi etmek veya önlemek için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Simoliunas ve ark., 2019).

2.9.3. E Vitamini

E vitamininin sıçan karaciğerinde kadmiyum kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu rolünün araştırıldığı çalışmada 300mg/kg/gün E vitamini MDA seviyelerini azaltmış, SOD ve CAT seviyelerini artırarak antioksidatif etki göstermiştir (Bahri ve ark., 2019).

Sıçanlarda kantitatif karaciğer fitat alımı ve karaciğer görüntüleme ile metotreksat kaynaklı hepatotoksisiteye karşı vitamin E'nin koruyucu etkisi araştırılan bir çalışmada E vitamini grubu sıçanlara 4 gün 100mg/kg Vit E, uygulanmıştır ve çalışmanın sonucunda metotreksat ile indüklenen hepatotoksisiteye karşı vitamin E'nin koruyucu bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Amirfakhrian ve ark., 2018).

Hiperoksalürik sıçanlarda vitamin E ve vitamin C'nin koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçlayan 21 günlük bir çalışmada belirlenen bir gruba sadece E vitamini, Bir gruba sadece C vitamini ve bir gruba da hem E hem C vitamini uygulanmıştır. E vitamini 1, 6, 11 ve 16. günlerde intraperitoneal 200 mg/kg şeklinde, C vitamini ise 1. ve 11. günlerde 500 mg damardan enjekte edilmiştir ve çalışmanın sonucunda E vitamini ve C vitamini kombinasyonunun verilmesi hiperoksalüri kaynaklı oksalat nefropatisine karşı koruyucu bir rol oynadığını bildirmişlerdir (Jaturakan ve ark., 2017).

Sıçan testisinde metotreksatın ile indüklenen hasara karşı vitamin E ve L-karnitin koruyucu etkileri araştırılan bir çalışmada ise 17 gün boyunca hayvanlara 250 mg/kg/gün

E vitamini verilmiştir. Sonuç olarak da E vitamininin MDA düzeylerindeki artışı ve SOD düzeylerindeki düşüşü baskıladığı bildirilmiştir (Yüncü ve ark., 2015).

Civciv embriyosunda steroid kaynaklı katarakt oluşturulan bir çalışmada 70 adet SPF yumurta çalışılmış ve kuluçkanın 15. gününde HC uygulamasından 3 saat sonra 15, 25 ve 50 mg/kg dozlarında vitamin E uygulanarak katarakt gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın 17. gününde embriyo lenslerinde katarakt oluşumu değerlendirilmiş ve 50mg/kg E vitamini uygulanan grupta katarakt derecesi 1 olarak bulunurken 15mg/kg E vitamini uygulanan grupta katarakt derecesi 5 olan lenslerin mevcut olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yine 50mg/kg E vitamini uygulanan grupta daha düşük TOS ve MDA seviyeleri, daha yüksek GPx seviyeleri olduğunu bildirmişlerdir (Vurmaz ve ark., 2021).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 49533702/65 onay alınarak başlandı. Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim dalında çalışmanın deneysel aşaması, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim dalında çalışmanın analiz aşaması yürütüldü. Çalışmamız Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi (AFSÜ) Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 22.LİS.001 numaralı proje ile desteklendi. Çalışmanın her aşamasında yapılan tüm işlemler etik kurul yönergesinde belirtilen kurallara uygun olarak gerçekleştirildi.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada ortalama ağırlıkları 57 gr olan 88 adet döllenmiş SPF (Specific Patogen Free) yumurta kullanıldı. SPF yumurtalar İzmir/Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü'nden temin edildi. Yumurtalar sivri uçları aşağıya gelecek şekilde inkübatöre yerleştirildi. Kuluçkaya koyuldukları gün 0. gün olarak kabul edildi.

3.2. Laboratuvar Koşulları

Döllenmiş tavuk yumurtaları, her grupta 8 adet olmak üzere 11 grup şeklinde, 37,5 derecede ve % 80 nem oranındaki AFSÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Anatomi Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan inkübatöre yerleştirildi. Malzemeler İnkübatör (37°C, % 70 bağıl nem), 0 günlük White Leghorn cinsi (fertil, 60±5 gr ağırlığında), SPF yumurta, büyük cam, penset, forceps, Hamilton mikroenjektörü, flaster, makas, eppendorf tüpleri, Stemi 1000/2000/2000-C marka Stereo Mikroskop ve Olympus CX21 marka ışık mikroskobu şeklindedir. Çalışmanın analiz aşaması ise AFSÜ Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Analiz aşamasında kullanılan malzemeler; Ultra Turrax (IKA Works, USA) marka homojenizatör, Dr Hielscher (Germany) marka sonikatör, Nüve marka (Ankara, Türkiye) santrifüj cihazı, 0,1 M pH:7,4 fosfat tamponu.

3.3. Grupların Oluşturulması ve Deney Aşaması

Yumurtaların inkübatöre yerleştirildiği ilk gün 0. gün olarak kabul edildi. İnkübatöre konulduktan sonraki 15. günde öncelikle, yumurta kabuğu üzerine batikon ve ardından %70 etanol dökülerek sterilizasyon sağlanıp, ışık altında yumurtanın hava kesesi bulundu ve kalem ile bölge işaretlendi. Yumurtanın hafif yan yüzeyinden kabuğu kırılarak 3-5 mm yarıçaplı açıklık oluşturuldu, buradan insülin enjektörü ile daha önce hazırlanmış steroid ve vitaminler allontoik membrana enjekte edildi (Şekil 3.1).



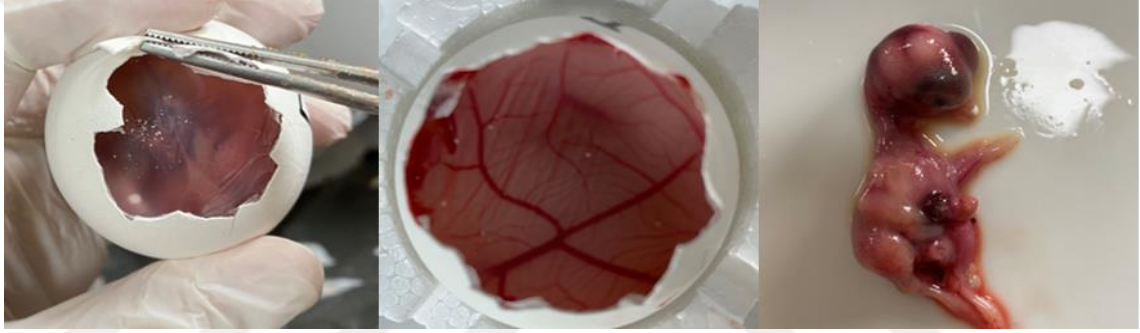
Şekil 3. 1. Çalışma aşamasına ait görseller. a) Yumurtaların inkübatöre yerleştirilmesi, b) Enjeksiyon aşaması.

Rastgele seçilen 8 yumurtadan kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubu dışında kalan tüm yumurtalara katarakt oluşabilmesi için kesilen açıklıktan insülin enjektörü ile HC (100 µl içinde 0.5 µmol hidrokortizon hemisüksinat sodyum) enjekte edildi. HC uygulanan yumurtalar arasından rastgele seçim yapılarak her grupta 8 yumurta olmak şartıyla 10 adet deney grubu oluşturuldu (HC, A1, A2, A3, D1, D2, D3, E1, E2, E3). HC uygulamasından hemen sonra tüm yumurtaların kesilen kısımlarının üzerine steril drape yapıştırılarak tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi.

HC uygulaması sonrası 3. saatte Kontrol ve HC grubuna 50 µl mısır yağı, A1 grup yumurtalarına, 50 µl mısır yağı içinde 2500 IU/kg Vitamin A (düşük doz), A2 grup yumurtalarına 50 µl mısır yağı içinde 5000 IU/kg Vitamin A (orta doz), A3 grup yumurtalarına 50 µl mısıryağı içinde 10.000 IU/kg Vitamin A (yüksek doz), D1 grup yumurtalarına 50 µl mısıryağı içinde 2500 IU/kg Vitamin D (düşük doz), D2 grup yumurtalarına 50 µl mısıryağı içinde 5000 IU/kg Vitamin D (orta doz), D3 grup yumurtalarına 50 µl mısıryağı içinde 10.000 IU/kg Vitamin D (yüksek doz),

E1 grup yumurtalarına 50 µl mısır yağı içinde 250 IU/kg Vitamin E (düşük doz), E2 grup yumurtalarına 50 µl mısır yağı içinde 500 IU/kg Vitamin E (orta doz), E3 grup yumurtalarına 50 µl mısıryağı içinde 1000 IU/kg Vitamin E (yüksek doz) enjekte edildi.

Enjeksiyon sonrası yumurtalarda açılan delikler steril drape ile hava almayacak şekilde kapatıldı ve yumurtalar 11 grup şeklinde 48 saat daha kalmak üzere tekrar kuluçka makinesine yerleştirildi. Çalışmanın 17. gününde (enjeksiyondan 48 saat sonra) tüm yumurtalar gruplar şeklinde cihazdan alınıp kabukları kırıldı ve embriyolar yumurtadan çıkarıldı (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. Yumurta kabuğunun kırılarak embriyonun çıkarılması aşaması ve yumurtadan 17. günde çıkarılmış embriyo görüntüsü.

Daha sonra embriyolardan çıkarılan lensler disseke edilerek numaralandırılmış ependorflara alındı (Şekil 3.3). Disseksiyon aşamasında kontrol grubundan 2 embriyo, HC grubundan 2 embriyo, A1 grubundan 1 embriyo, A2 grubundan 1 embriyo, E1 grubundan 1 embriyo ve E3 grubundan 2 embriyo gelişim geriliği gösterdiği için çalışma dışı bırakıldı.



Şekil 3. 3. Civeiv embriyo ve lens görüntüsü. a) Bulbus oculileri çıkarılmış embriyo, b) civeiv embriyosu lensi.

3.4. Katarakt Derecelendirmesi Aşaması

HC enjeksiyonundan 48 saat sonra (17. gün) tüm civciv embriyoları gruplar halinde yumurtadan çıkarıldı. Daha sonra embriyo lensleri, diseksiyon mikroskobu altında corneal limbus kesisi ile bulbus oculi'den disseke edildi. Her bir embriyonun lenslerin ışık mikroskobu altında katarakt derecelendirilmesi yapıldı. Derecelendirme literatür ile uyumlu bir şekilde 5 dereceli bir puanlama sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Kısaca, evre 1 lens berrak ve kontrolden ayırt edilememesi; evre 2 kortikal bölge ile nükleer bölge arasında silik bir opak halkaya sahip; evre 3 lens her iki bölge arasında belirgin bir opak halkaya sahip; evre 4 lens çekirdeğinin opaklığı, çekirdeğin merkezine yayılmıyor; evre 5 çekirdeğin merkezine yayılan lens çekirdeğinin opaklığı olarak ifade edilebilir (Nishigori ve ark., 1995).

3.5. Biyokimyasal Analiz Aşaması

AFSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında çalışılmak üzere alınan lens örnekleri 0.1 M pH: 7.4 fosfat tamponundan 0,4 ml ilave edilerek Ultra Turrax (IKA Works, USA) marka homojenizatörle buz içerisinde 24,000 devir/dk da 1 dk homojenize edildi. Homojenatlara daha sonra Dr Hielscher (Germany) marka sonikatörle 20,000 cycle/sec olacak şekilde 1 dk ultrasonikasyon gerçekleştirildi. Ardından homojenatlar 10.000 g'de 15 dk santrifüj edilerek supernatant ayrıldı ve çalışılncaya kadar -80 °C'de saklandı.

Daha sonra lens örneklerinden BT-LAB marka Chicken Elisa Kitleri kullanılarak (BT Lab Bioassay Technology Laboratory, Zhejiang, China) GSH, SOD ve MDA düzeyleri ve inflamatuvar markerlar olan TNF- α ve IL-6 seviyeleri belirlendi. Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar IL-6 ve TNF- α için ng/g protein olarak, GSH ve MDA için μ mol/g protein şeklinde ve SOD için U/mg protein olarak verilmiştir.

3.5.1. Protein Ölçümü

BSA standart solüsyonu (4000 μ g/ml) deiyonize su ile seyreltilerek çeşitli konsantrasyonlarda (2000 μ g/ml, 1000 μ g/ml, 500 μ g/ml, 250 μ g/ml, 125 μ g/ml, 62,5 μ g/ml, 31 μ g/ml, 15 μ g/ml) standartlar hazırlandı. Her bir standarttan ve her bir numuneden 6 μ l kuyucuklara eklendi. Daha

sonra her kuyucuğa 300 µl Commassie Brilliant Blue (CBB) solüsyonu eklendi. CBB solüsyonunu ekledikten sonra 1 dakika oda sıcaklığında bekletildi ve 570 nm'ye ayarlanmış ChemWell 2910 marka mikrolaka okuyucu (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA) kullanarak her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD değeri) belirlendi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS (Statistical Package for Social Science) 22.0 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) şeklinde ifade edildi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

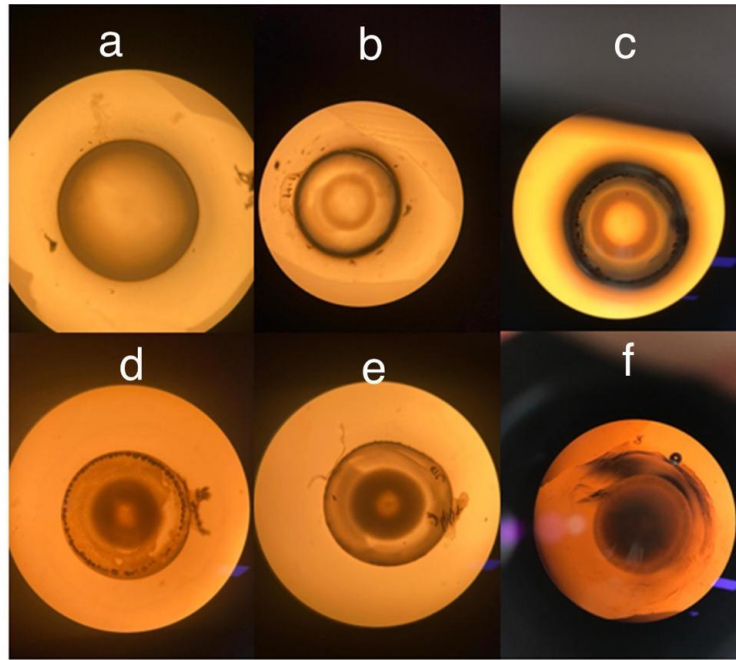
4. BULGULAR

Çalışmamızda 88 SPF yumurta kullanıldı. Her grupta 8'er adet yumurta olacak şekilde 1'i kontrol, 1 tanesi HC, 3 tane farklı dozlar olmak üzere A vitamini, 3 tane farklı dozlar olmak üzere vitamini, 3 tane farklı dozlar olmak üzere E vitamininden oluşan çalışma grupları belirlendi. Gruplarda yer alan embriyolara ait bulbus oculi'lerden lens örnekleri diseke edilerek stereomikroskop altında incelendi, fotoğrafları çekildi ve katarakt dereceleri belirlendi. Daha sonra lensler biyokimyasal analiz yapılmak üzere gruplandırılarak ependorflara alındı. Disseksiyon aşamasında kontrol grubundan 2, HC grubundan 2, A1 grubundan 1, A2 grubundan 1, E1 grubundan 1 ve E3 grubundan 2 embriyo gelişim geriliği gösterdiği için çalışma dışı bırakıldı.

4.1. Katarakt Derecelerine Ait Bulgular

Çalışmamızda embriyolara ait lens örnekleri bulbus oculilerden diseke edilerek çıkarıldı ve her bir lens çifti katarakt derecelendirmesi için ayrıldı. Derecelendirme literatürde daha önce kullanılan sınıflandırma referans alınarak yapıldı. 5 kademeli katarakt derecelendirme ölçeği kullanıldı.

Çalışmamızın sonucunda şekil 4.1'de gösterildiği gibi katarakt dereceleri belirlendi.



Şekil 4. 1. Katarakt derecelerine ait görseller. a) 1. derece katarakt, b) 2. derece katarakt, c) 3. derece katarakt, d) 4. derece katarakt e) 4 ve 5. dereceler arasında katarakt, f) 5. derece katarakt.

Kontrol grubunda yer alan embriyolara ait lenslerin hepsinin katarakt derecesini 1 olarak belirledik. İncelenen lenslerde opaklığa rastlamadık. Yalnızca HC uyguladığımız grupta ortalama katarakt derecesini 4,5 olarak belirledik, bu grupta iki lenste 4. dereceyi geçmiş 5. derece olmamış örneklerden birini 4 diğerini 5. derece kabul ettik ve bu gruptaki lenslerde belirgin opaklık mevcuttu. HC uygulaması sonrası A vitamini uyguladığımız tüm gruplarda ise katarakt derecesi ortalama 1 olarak belirledik. HC uygulaması sonrası 2500 IU/kg D vitamini uyguladığımız grupta ortalama 2,5 katarakt derecesi saptarken 5000 IU/kg ve 10000 IU/kg D vitamini gruplarında ise ortalama 2 katarakt derecesi saptadık. HC sonrası tüm dozlarda E vitamini uygulamaları sonucunda ortalama 2 katarakt derecesi saptadık.

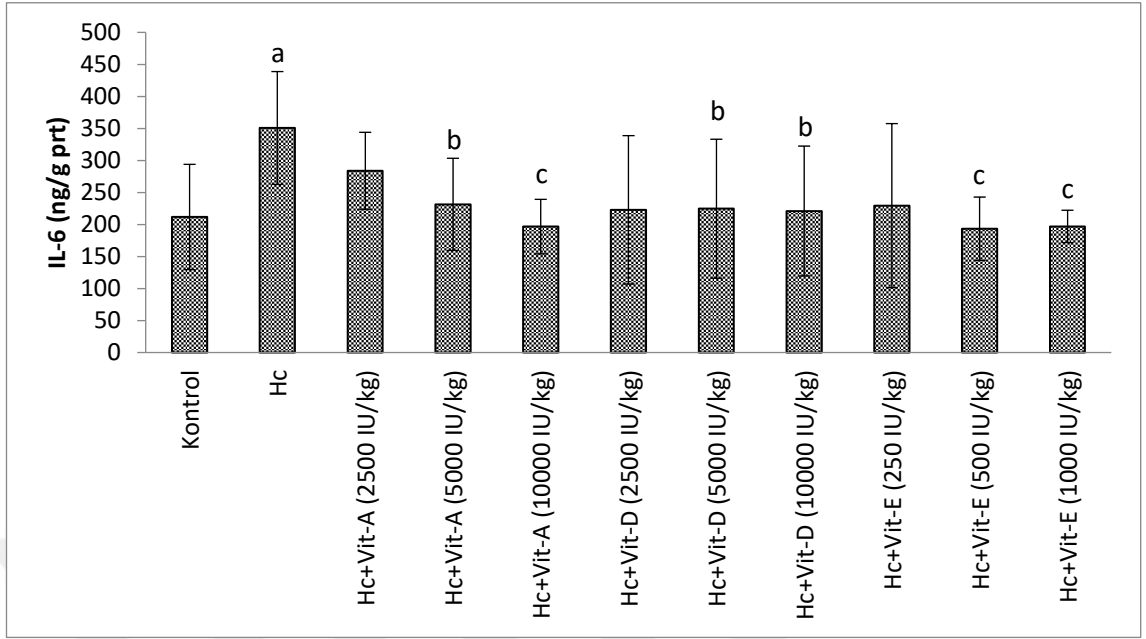
4.2. Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

4.2.1. Lens IL-6 Düzeyleri

Lens IL-6 düzeyleri Tablo 4.1. ve Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Bu bulgulara göre IL-6 düzeyleri HC uygulanan katarakt grubunda kontrol grubuna ($p<0,05$) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ayrıca tüm vitamin grupları HC grubuna göre IL-6 düzeyinin düşmesini sağlamıştır.

Tablo 4. 1. Deney gruplarının lens IL-6 Düzeyleri (a: $p<0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p<0,05$ Hc grubuna göre, c: $p<0,01$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir)

Deney Grupları	IL-6 Düzeyleri (ng/g prt)
Kontrol	212 ± 82
HC	351 ± 88 ^a
Hc+Vit-A (2500 IU/kg)	284 ± 60
Hc+Vit-A (5000 IU/kg)	231 ± 72 ^b
Hc+Vit-A (10000 IU/kg)	197 ± 43 ^c
Hc+Vit-D (2500 IU/kg)	223 ± 116
Hc+Vit-D (5000 IU/kg)	225 ± 109 ^b
Hc+Vit-D (10000 IU/kg)	221 ± 101 ^b
Hc+Vit-E (250 IU/kg)	229 ± 128
Hc+Vit-E (500 IU/kg)	193 ± 49 ^c
Hc+Vit-E (1000 IU/kg)	197 ± 25 ^c



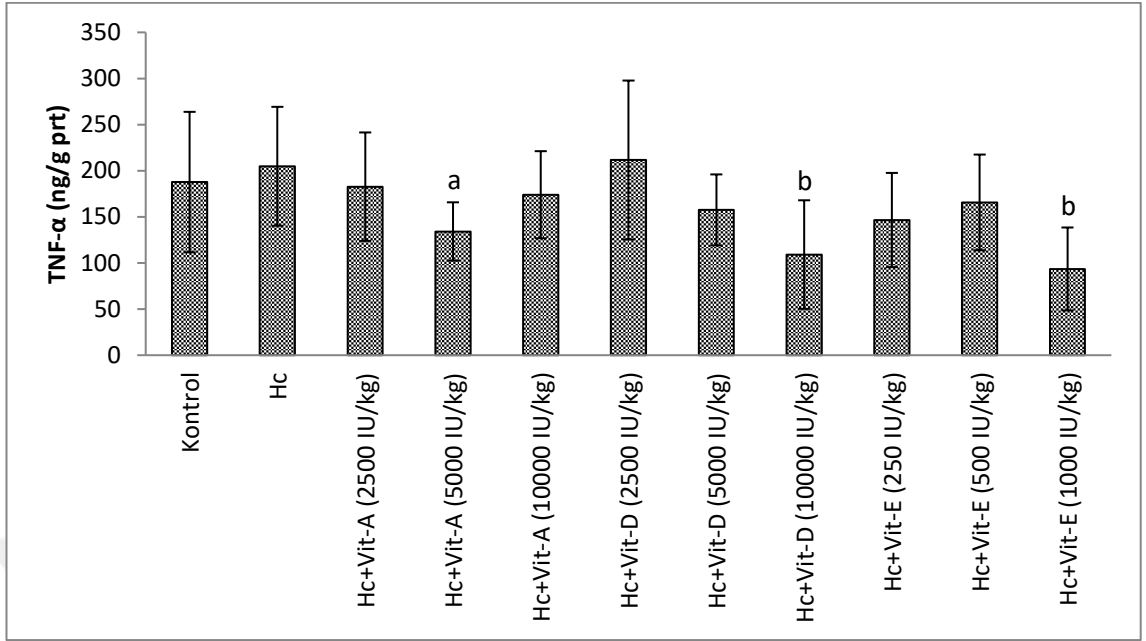
Şekil 4. 2. Deney gruplarının lens IL-6 Düzeylerinin Karşılaştırılması. a: $p < 0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p < 0,05$ Hc grubuna göre, c: $p < 0,01$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir.

4.2.2. Lens TNF- α Düzeyleri

Lens TNF- α düzeyleri Tablo 4.2. ve Şekil 4.3.'te gösterilmiştir. Bu bulgulara göre kontrol ve HC grubu TNF- α düzeyleri arasında anlamlı farklılık olmamıştır. 5000 IU/kg A vitamini, 10000 IU/kg D vitamini ve 1000 IU/kg E vitamini gruplarında ise HC grubuna ($p < 0,05$) göre anlamlı azalma gözlenmiştir.

Tablo 4. 2. Deney gruplarının lens TNF- α Düzeyleri (a: $p < 0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p < 0,05$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir)

Deney Grupları	TNF- α Düzeyleri (ng/g prt)
Kontrol	188 $\pm$ 76
HC	205 $\pm$ 64
Hc+Vit-A (2500 IU/kg)	183 $\pm$ 59
Hc+Vit-A (5000 IU/kg)	134 $\pm$ 32 ^a
Hc+Vit-A (10000 IU/kg)	174 $\pm$ 47
Hc+Vit-D (2500 IU/kg)	212 $\pm$ 86
Hc+Vit-D (5000 IU/kg)	157 $\pm$ 39
Hc+Vit-D (10000 IU/kg)	109 $\pm$ 59 ^b
Hc+Vit-E (250 IU/kg)	147 $\pm$ 51
Hc+Vit-E (500 IU/kg)	166 $\pm$ 52
Hc+Vit-E (1000 IU/kg)	94 $\pm$ 45 ^b



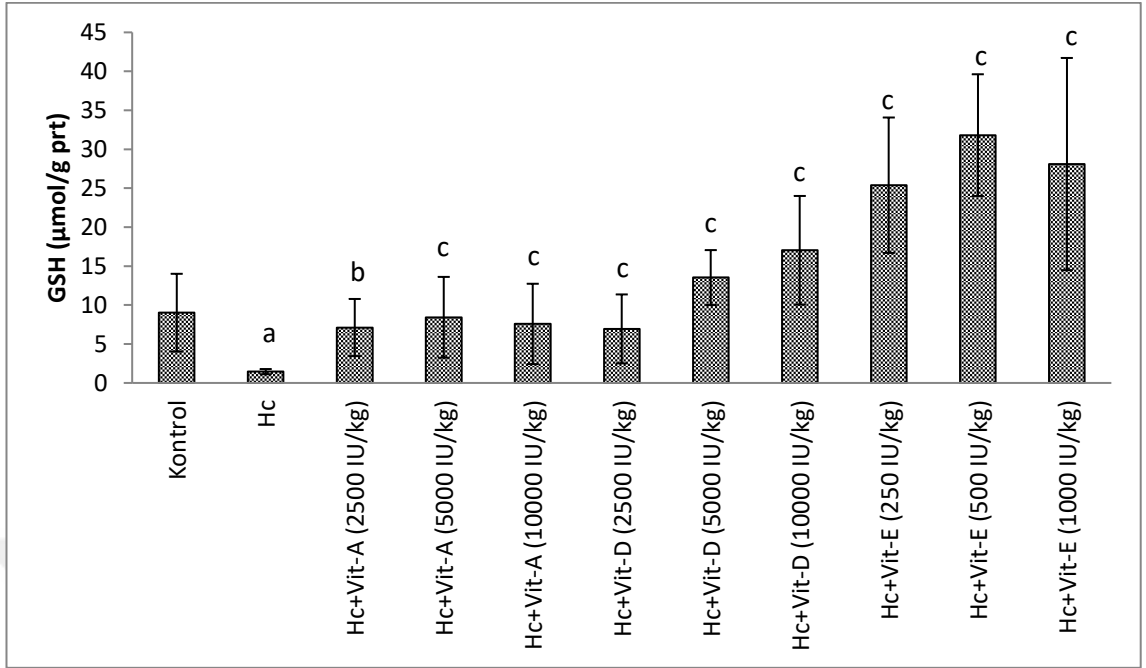
Şekil 4. 3. Deney gruplarının lens TNF-α Düzeylerinin Karşılaştırılması. a: $p<0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p<0,05$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir.

4.2.3. Lens GSH Düzeyleri

Lens GSH düzeyleri Tablo 4.3. ve Şekil 4.4. de gösterilmiştir. Bu bulgulara göre lens GSH düzeylerinde HC grubunda kontrol grubuna ($p<0,01$) göre anlamlı azalmaya neden olurken vitamin uygulanan tüm gruplarda ise HC grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Tablo 4. 3. Deney gruplarının lens GSH Düzeyleri (a: $p<0,01$ kontrol grubuna göre, b: $p<0,05$ Hc grubuna göre, c: $p<0,01$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir)

Deney Grupları	GSH Düzeyleri $\mu\text{mol/g prt}$
Kontrol	$9,02 \pm 4,98$
HC	$1,45 \pm 0,33^a$
Hc+Vit-A (2500 IU/kg)	$7,11 \pm 3,66^b$
Hc+Vit-A (5000 IU/kg)	$8,42 \pm 5,18^c$
Hc+Vit-A (10000 IU/kg)	$7,57 \pm 5,15^c$
Hc+Vit-D (2500 IU/kg)	$6,93 \pm 4,42^c$
Hc+Vit-D (5000 IU/kg)	$13,52 \pm 3,52^c$
Hc+Vit-D (10000 IU/kg)	$17,02 \pm 6,97^c$
Hc+Vit-E (250 IU/kg)	$25,38 \pm 8,69^c$
Hc+Vit-E (500 IU/kg)	$31,81 \pm 7,81^c$
Hc+Vit-E (1000 IU/kg)	$28,09 \pm 13,62^c$



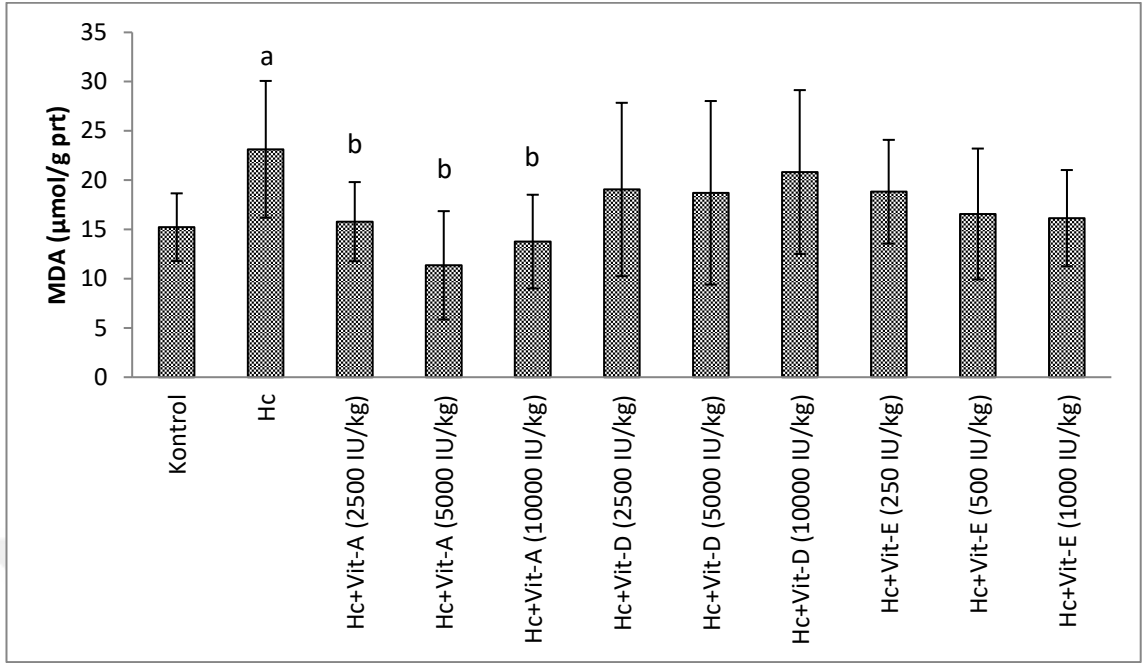
Şekil 4. 4. Deney gruplarının lens GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması. a: $p<0,01$ kontrol grubuna göre, b: $p<0,05$ Hc grubuna göre, c: $p<0,01$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir.

4.2.4. Lens MDA Düzeyleri

Lens MDA düzeyleri Tablo 4.4. ve Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Bu bulgulara göre lens MDA düzeyleri HC uygulanan katarakt grubunda kontrol grubuna ($p<0,05$) göre anlamlı yüksektir. A vitamini uygulanan tüm gruplarda ise HC grubuna ($p<0,05$) göre anlamlı düşük bulunmuştur.

Tablo 4. 4. Deney gruplarının lens MDA Düzeyleri (a: $p<0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p<0,05$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir)

Deney Grupları	MDA Düzeyleri (μmol/g prt)
Kontrol	15,22 ± 3,43
HC	23,12 ± 6,94 ^a
Hc+Vit-A (2500 IU/kg)	15,78 ± 4,01 ^b
Hc+Vit-A (5000 IU/kg)	11,35 ± 5,50 ^b
Hc+Vit-A (10000 IU/kg)	13,76 ± 4,75 ^b
Hc+Vit-D (2500 IU/kg)	19,05 ± 8,79
Hc+Vit-D (5000 IU/kg)	18,71 ± 9,31
Hc+Vit-D (10000 IU/kg)	20,82 ± 8,31
Hc+Vit-E (250 IU/kg)	18,82 ± 5,26
Hc+Vit-E (500 IU/kg)	16,56 ± 6,64
Hc+Vit-E (1000 IU/kg)	16,14 ± 4,88



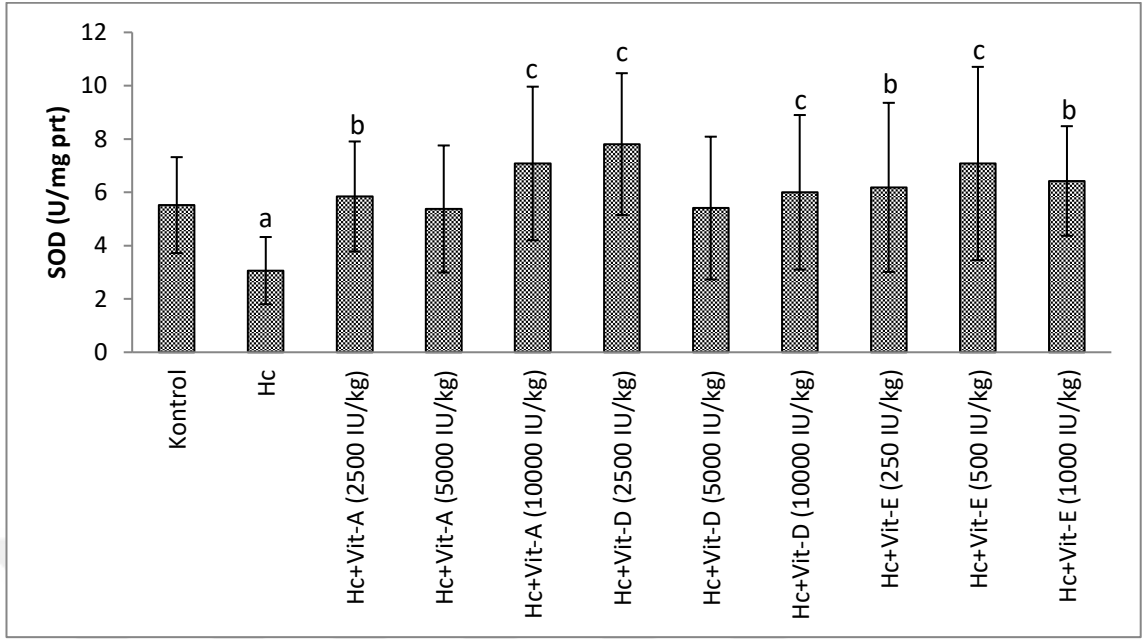
Şekil 4. 5. Deney gruplarının lens MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması. a: $p < 0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p < 0,05$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir.

4.2.5. Lens SOD Düzeyleri

Lens SOD düzeyleri Tablo 4.5. ve Şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Bu bulgulara göre lens SOD düzeyleri HC uygulanan katarakt grubunda kontrol grubuna ($p < 0,05$) göre anlamlı düşük bulunmuştur. Vitamin uygulanan diğer gruplarda ise lens SOD düzeylerinde HC grubuna göre artış olmuştur.

Tablo 4. 5. Deney gruplarının lens SOD Düzeyleri (a: $p < 0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p < 0,05$ Hc grubuna göre, c: $p < 0,01$ Hc grubuna göre istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir)

Deney Grupları	MDA Düzeyleri (U/mg prt)
Kontrol	$5,52 \pm 1,79$
HC	$3,06 \pm 1,25^a$
Hc+Vit-A (2500 IU/kg)	$5,84 \pm 2,06^b$
Hc+Vit-A (5000 IU/kg)	$5,37 \pm 2,38$
Hc+Vit-A (10000 IU/kg)	$7,08 \pm 2,88^c$
Hc+Vit-D (2500 IU/kg)	$7,80 \pm 2,66^c$
Hc+Vit-D (5000 IU/kg)	$5,40 \pm 2,67$
Hc+Vit-D (10000 IU/kg)	$6,00 \pm 2,89^c$
Hc+Vit-E (250 IU/kg)	$6,18 \pm 3,17^b$
Hc+Vit-E (500 IU/kg)	$7,08 \pm 3,62^c$
Hc+Vit-E (1000 IU/kg)	$6,42 \pm 2,05^b$



Şekil 4. 6. Deney gruplarının lens SOD Düzeylerinin Karşılaştırılması. a: $p<0,05$ kontrol grubuna göre, b: $p<0,05$ Hc grubuna göre, c: $p<0,01$ HC grubuna göre, istatistiksel olarak farklılık gösteren verileri ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA

Katarakt nedeniyle körlük dünya çapında milyonlarca insanı etkilemekte ve katarakt küresel olarak körlüğün başlıca nedeni olmaya devam etmektedir (Khairallah ve ark., 2015). Buna bağlı olarak katarakt ameliyatı oranları da küresel olarak çoğu bölgede artmakta ve ülkelerin sağlık maliyetinde artışa neden olmaktadır (Lee ve Afshari, 2017). Bundan dolayı risk faktörlerinin bilinmesi ve ortadan kaldırılması, katarakt gelişimini önleyici ve tedavi edici ajanların tespit edilmesi önemli katkı sağlayacaktır.

Katarakt oluşumu multifaktöriyel bir süreçtir. Çoğu hastada katarakt gelişimi yaşa bağlı olsa da tanımlanan risk ve koruyucu faktörler kataraktın ilerlemesi ve önlenmesi hakkında bilgi sağlamaktadır (Liu ve ark., 2017). Uzun süreli kortikosteroid kullanımı da katarakt oluşumuna yol açan sebeplerden biridir ve sıçan, fare, tavşan ve civciv embriyo modelleri gibi çeşitli hayvan modelleri ile steroid kaynaklı katarakt (SIC) üzerinde birçok deneysel çalışma yapılmıştır (Duman ve ark., 2019). Nagata ve ark. (1994), çalışmaları sonucunda gelişmekte olan civciv embriyolarında hidrokortizon uygulamasının lens glutatyon içeriğinde bir azalmayı, lens, kan ve karaciğerde lipid peroksit içeriğinde bir artışı takiben katarakt oluşumunu indüklediğini bildirmiştir.

Deneysel civciv embriyo katarakt modeli oluşturmak için farklı dozlarda HC'nin kullanıldığını ve HC'nin embriyoların gelişiminin çeşitli dönemlerinde uygulandığı önceki çalışmalardan bilinmektedir. Nishigori ve ark. (1995), 15 günlük tavuk yumurtalarına 0.25 μmol HC uygulandığında, uygulamadan 48 saat sonra embriyoların neredeyse tüm lensleri stage IV-V aşamalarında (>% 90) kataraktlı hale geldiğini belirtmişlerdir. Kosano ve Nishigori (2002), 15 günlük civciv embriyolarını farklı steroid türleri ile 48 saat inkübe etmiş ve deney sonucunda embriyolara ait lensleri incelemiştir. Çalışmalarındaki tüm steroidler, biyolojik aktivitelerinden bağımsız olarak katarakt oluşumunu sağlamıştır. Çalışmalarında uygulanan hidrokortizon dozunu 0.25 μmol olarak belirlemişler ve hidrokortizon uygulaması sonrası 48 saat içinde lenslerinin çoğunun opak hale geldiğini bildirmişlerdir. Duman ve Vurmaz (2018), civciv embriyolarında katarakt oluşturmak için 0.25 ve 0.50 μmol olmak üzere iki farklı dozda HC uygulaması yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda, HC uygulanan gruplarda farklı derecelerde lens opaklığı gözlemlemişlerdir.

Bu çalışmalar sonucunda biz de çalışmamızda SIC modeli oluşturmak için 0.50 μ mol HC uygulamasını embriyoların gelişiminin 15. gününde, lenslerdeki katarakt derecelendirmesini ise HC uygulamasından 48 saat sonra (17. günde) gerçekleştirdik. Çalışmamız sonucunda kontrol grubumuzda opaklık gelişimini gözlememekle beraber HC uygulanan grupta tüm embriyolarda ileri düzeyde katarakt gelişimi gözlemledik ve sonuçlarımız daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu idi.

Vurmaz ve ark. (2019), civciv embriyolarında SIC modelinde antioksidan etkisi olan piperin'ni inceledikleri çalışmalarında; steroidin lens dokularında GSH ve total antioksidan seviye (TAS) düzeylerinde azalmaya, total oksidan seviye (TOS) ve MDA düzeylerinde artmaya neden olarak oksidatif stresi arttırdığını, piperin'in ise antioksidan sistemi düzenleyerek kataraktı tedavi ettiğini bildirmişlerdir. Duman ve Vurmaz (2018), çalışmalarındaki SIC'li lensleri kataraktlı olmayan lenslere kıyasla daha düşük IL-6 seviyelerine sahip bulmuşlardır. Ayrıca HC kaynaklı kataraktı olan grupta daha düşük GSH, IL-6 ve TAS seviyeleri ve daha yüksek TOS seviyeleri bulmuşlardır. Bu sonuçların da SIC oluşumunda oksidatif stresin rolünü desteklediğini bildirmişlerdir. Bu bulguları da IL-6'daki düşüşün sadece steroidlerin antiinflamatuvar etkilerine bağlı olabileceğine ve SIC oluşumuna yol açan oksidatif olaylarla ilişkili olmayabileceğine ve SIC oluşumunda sadece oksidatif olayların rol oynayıp veya IL-6'daki düşüşün oksidatif stresin artmasına katkıda bulunabileceği şeklinde açıklamışlardır. Kaur ve ark. (2012), antioksidan tedavinin yaşa bağlı kataraktın başlangıcını ve ilerlemesini geciktirmede rol oynayabilir düşüncesi ile lipid peroksidasyon ürünlerini ve kandaki antioksidan enzim seviyelerini ölçerek oksidatif stresi değerlendirmeyi amaçlamışlar. Araştırmalarını 50 kataraktlı ve 50 kontrol grubu üzerinden yürütmüşler ve sonucunda katarakt hastalarında kontrol grubuna göre serum MDA düzeylerinin anlamlı daha yüksek (katarakt $5,43 \pm 1,69$ nmol/ml; kontrol $2,42 \pm 0,46$ nmol/ml) ve enzimatik antioksidanlardan SOD (katarakt 2.75 ± 0.40 ünite/ml; kontrol 4.25 ± 1.20 ünite/ml) ve GPX'in (katarakt $26,23 \pm 11,90$, kontrol 70.29 ± 10.53) düzeylerinin daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çeşitli göz hastalıklarının patofizyolojisi oksidatif stresi içerir ve bu nedenle fitokimyasalların antioksidan aktivitesi özel bir öneme sahiptir (Bungau ve ark., 2019). Katarakt etiyojisine ilişkin hipotezlerde de protein metabolizmasının oksidatif bozulmaları ve lens proteinlerinin glikasyonu ön plana çıkmaktadır. Epidemiyolojik veriler, bazı besinlerin (örneğin karatenoidler, askorbat, tokeferol ve taurin), belirli

katarakt türlerinin insidansında azalma ile ilişkili olduğunu bildirmektedir. Biyokimyasal sonuçlar, bu bileşiklerin her birinin lens proteinlerinde fotooksidatif hasarı önleyebileceğini düşündürmüştür (Taylor, 1989). Biz de katarakt oluşumunda oksidatif stres ve inflamasyonun önemli faktörler olduğundan hareketle civciv embriyolarında hidrokortizon ile katarakt oluşum aşamasında çeşitli dozlarda A, D ve E vitaminleri uygulayarak katarakt gelişimi üzerindeki etkilerini incelemeyi hedefledik.

Ishikawa ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada lens glutatyon seviyelerini HC'nin tek başına kullanıldığı grupta diğer antioksidan olan astaksantin uyguladıkları gruplara göre anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Bu çalışmada, steroid ile indüklenen kataraktın civciv embriyo modeline astaksantin uygulanması, HC ile indüklenen lens opasitesinin önemli ölçüde baskılanmasıyla sonuçlanmıştır. Ayrıca, astaksantin lens GSH seviyesindeki azalmayı da önemli ölçüde baskılamıştır, bu çalışma sonucunda astaksantin'in lens opasitesini baskıladığını ve oksidatif stresi azalttığını göstermişlerdir.

Dubey ve ark. (2015), antidiyabetik ve antioksidan olan *Cucurbitaceae* familyasına ait *Luffa cylindrica* (Sünger kabak) Roem meyve özünün keçi lensleri üzerinde H₂O₂ kaynaklı katarakttaki rolünü araştırdıkları çalışmalarında SOD, GSH ve toplam protein içeriği düzeylerinin *Luffa cylindrica* konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığını ancak MDA düzeylerinin *Luffa cylindrica* konsantrasyonu ile ters orantılı olduğu bulmuşlardır. Toksik grup normal bir grupta karşılaştırıldığında lens homojenatında önemli ölçüde daha düşük toplam protein konsantrasyonlarına sahip olarak bildirilmiştir. Çalışmalarının sonucunda oksidatif stresin kataraktın ana belirteci olduğu ve patogenezinin sorumlu olduğu; göz lenslerinde reaktif oksijen türleri, DNA, protein ve fosfolipidler dahil olmak üzere biyolojik moleküllere saldırarak lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzimler SOD ve GSH'nin tükenmesine yol açarak oksidatif stresin daha da artmasına neden olacağı sonucuna varmışlardır.

Miric ve ark. (2014), senil kataraktlı 30 hastada kataraktın cerrahi olarak çıkarılmasını takiben kataraktı derecelendirmiş ve hastaları yaşlarına göre gruplandırmıştır. İmmatür katarakt grubunun (n:15) 5 nükleer, 2 PSC, 1 kortikal ve 7 miks tipten oluşurken; geri kalan olguların (n:15) matür katarakt içermekte olduğunu bildirmişlerdir. İmmatür (n:15) veya matür (n:15) senil kataraktlı 30 hastadan (ortalama yaş 75.3±5.6) 30 aköz hümör

örneği elde edilmiştir. Yaşın, incelenen değişkenler üzerindeki etkisini incelemek için üç grup oluşturulmuştur: Grup I (<70 yıl; n: 7), Grup II (71-80 yıl; n: 16) ve Grup III (>80 yıl; n: 7). Araştırmalarında matür kataraktın yaşlı gruplarda daha sık görüldüğünü ve daha genç grupla karşılaştırıldığında, SOD ve CAT seviyelerinin yaşlı gruplarda daha düşük olduğunu saptamışlardır.

Kisic ve ark. (2012), araştırmalarında ARC'nin farklı türleri ve farklı olgunlukları ile kortikonükleer lens bloklarının enzim olmayan antioksidan gücünü test etmeyi amaçlamışlar ve bu doğrultuda ARC'si olan 101 hastada klinik ve biyokimyasal araştırmalar yapmışlardır (katarakt olgunluk derecesine göre hastalar iki gruba ayrılmış ARC nedeniyle ekstrakapsüler ekstraksiyon uygulanan hastalardan lens kortikonükleer blok örnekleri alınmıştır). Yeni başlayan kataraktı olan kortikonükleer lens bloklarında önemli ölçüde daha yüksek GSH konsantrasyonları ve toplam -SH grupları ve ayrıca önemli ölçüde daha yüksek ferrik indirgeme yeteneği *bulunduğunu, ayrıca* katarakt başlangıcı olan lenslerde önemli ölçüde daha yüksek toplam C vitamini konsantrasyonu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Atalay ve ark. (2020), düşük A vitamini, C vitamini ve E vitamini seviyelerinin katarakt oluşumuna zemin hazırladığını, hipokalsemik durumların da katarakt oluşumunu indükleyebileceği ve bazı retrospektif raporlarda, düşük D vitamini seviyelerinin ARC oluşumu ile ilişkili olabileceği bildirilmişlerdir.

Rautiainen ve ark. (2016), araştırmalarında kataraktın çocuklar arasında yetersiz beslenmeye bağlı göz rahatsızlıkları (örneğin, A vitamini eksikliği) arasında olduğunu vurgulamışlar; oksidatif stresin katarakt patofizyolojisinde yer aldığını ve RDA seviyelerinde temel vitamin ve mineralleri içeren multivitaminlerin kullanımını araştıran çalışmaların katarakt ilerlemesinde belirgin bir yavaşlamayı sağladığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak antioksidan vitamin ve minerallerle takviyenin hastalığın ilerlemesini yavaşlatacağı belirtmişlerdir.

Gao ve ark. (2011), hücre kültüründe insan lens epitel hücrelerini 48 saat boyunca bir grubu lutein, zeaksantin ve α -tokoferol ile diğer grubu ise kontrol grubu olarak inkübe etmiş, daha sonra iki grubu da 1 saat H_2O_2 'ye maruz bırakarak hücrelerdeki MDA, GSH, GSSG seviyelerini ölçmüşlerdir. Sonuçlarında 48 saat boyunca lutein, zeaksantin veya α -tokoferol takviyesi, hücrelerdeki bazal MDA seviyelerini değiştirmedeğini, ancak H_2O_2

kaynaklı artışı önlediğini bildirmişlerdir. Kontrol grubunda ise H₂O₂ uygulamasından sonra MDA konsantrasyonları önemli ölçüde artmıştır. H₂O₂ uygulamasından önce sadece α - tokoferol, hücre içi GSH ve GSSG seviyelerini hafifçe artırmıştır. Hücre içi redoks durumu (GSH:GSSG oranları), takviye edilen hücrelerde GSSG seviyelerindeki artışa bağlı olarak kontrollere kıyasla takviye edilen gruplarda daha düşük olduğunu, 1 saat boyunca H₂O₂'ye maruz kalmanın GSH ve GSSG seviyelerini hafifçe artırdığını bildirmişlerdir. Lutein, zeaksantin veya α - tokoferol takviyesi de H₂O₂'ye maruz kalan hücrelerde GSH seviyelerini de artırmıştır. Zeaksantin ve α - tokoferol takviyesinin etkileri bu açıdan lutein takviyesinden daha güçlü olmuştur.

Lesiewska ve ark. (2023), 60 yaş altı katarakt hastalarında sistemik antioksidan durumunun belirlenmesini amaçladıkları çalışmalarında yaş aralığı 22-60 olan (ortalama 53±9.2) katarakt ameliyatı için başvuran 28 katarakt hastası ve 37 kontrol çalışmışlardır. Eritrositlerde antioksidan enzimler olan SOD, CAT ve GPx aktivitesini belirlemişlerdir. A ve E vitamini, konjuge dienlerin seviyesi ve protein karbonillerin konsantrasyonunu da plazmada belirlemişlerdir. Eritrositlerde ve plazmada MDA konsantrasyonlarını da ölçmüşlerdir. Ölçümleri sonucunda SOD ve GPx aktivitesi ile A ve E vitamini konsantrasyonlarının katarakt hastalarında daha düşük olduğunu, plazma ve eritrosit MDA konsantrasyonlarının katarakt hastalarında daha yüksek ve protein karbonillerinin konsantrasyonunun katarakt hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu; CAT ve konjuge dienler için ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemediklerini bildirmişlerdir. 60 yaşın altındaki hastalarda katarakt insidansına, lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunun yanı sıra antioksidan savunmanın yetersiz kalması durumunun eşlik ettiğini, bu nedenle de antioksidan takviyesinin bu hasta grubunda faydalı olabileceğini vurgulamışlardır.

Yaptığımız çalışma sonucunda güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar aktivite gösterdiği belirtilen A vitamininin (Bungau ve ark., 2019) 5000 IU/kg ve 10000 IU/kg uygulandığı guruplarda inflamatuvar rolünün yanı sıra endojen bir antiinflamatuvar sistemin de bir parçası olduğu bilinen IL-6 (Fodor ve ark., 2006) seviyelerini; tüm dozlarda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA (Ateş ve ark., 2004) seviyelerini; 5000 IU/kg uygulanan grupta inflamatuvar bir sitokin olan TNF- α (Feng ve ark., 2018) seviyelerini HC grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulurken tüm dozlarda lensin başlıca antioksidanı olan GSH (Ayala ve Söderberg, 2004) seviyelerini ve 2500 IU/kg ve 10000

IU/kg uygulanan gruplarda SOD seviyelerini anlamlı derecede yüksek bulduk. Bu durum bize A vitamininin inflamasyonu azaltıp antioksidan enzimlerin artışı sağlayarak kataraktı önlemede etkili olduğunu göstermekle birlikte sonuçlarımız literatürle aynı doğrultuydu.

D vitamini, antioksidan vitaminlerdendir, oksidatif stresi azalttığı bilinir ve oksidatif stresi önleyen antioksidan genlerin ekspresyonunu düzenler. Bu nedenle diyabetik retinopati ve glokom gibi çeşitli oküler hastalıkların patogenezinde rol alır. D vitamini ayrıca antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Sitotoksik T hücrelerinin aşırı uyarılmasını önler. Proinflamatuvar sitokinlerin salınımını inhibe eder ve antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını artırır (Öktem ve Aslan, 2021). D vitamini düzeyleri ve katarakt gelişimi üzerine yapılan çalışmalardan birinde ise PSC gelişimi ile düşük serum D vitamini düzeyleri arasında negatif ilişki bildirilmiştir (Atalay ve ark., 2020). D vitamini oftalmolojide potansiyel olarak önemli bir molekül olarak ortaya çıkmıştır. Bugüne kadar, D vitamini ile ilgili tüm oftalmik veriler, öncelikle insan hastalarda gözyaşı ve serum analizi ile sınırlı kalmıştır (Rullo ve ark., 2020). D vitamini proteinlerin fotooksidasyonu üzerindeki yararlı etkisi nedeniyle katarakt oluşumunu önleyici bir etkiye sahip olabilir ancak UV ışığa maruz kalma bir risk faktörüdür (Sella ve Afshari, 2019).

Rao ve ark. (2015), 50-79 yaş arası kadınlarda serum 25(OH)D₃ düzeyleri ile nükleer katarakt arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında iki faktör arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenemediklerini ancak 70 yaşın altındaki kadınlarda bu iki faktör arasında ters ilişki olduğunu bildirmişler, 25(OH)D₃'ün koruyucu etki gösterebileceğini belirtmişlerdir.

Asemi ve ark. (2013), randomize, plasebo kontrollü çalışmasında, 18-40 yaş arası sağlıklı hamile kadınlardan oluşan bir popülasyonda 9 haftalık kolekalsiferol takviyesinin yüksek hassasiyetli C-reaktif protein ve oksidatif stres biyobelirteçleri (plazma GSH ve plazma TAS) üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada toplam 48 katılımcı iki gruba ayrılmıştır: müdahale grubunda 24 kadın (günde 400 IU (10 µg) kolekalsiferol) ve plasebo grubunda 24 kadın yer almıştır. Araştırmacılar, plasebo grubuna kıyasla D vitamini takviyesi yapılan bireylerde plazma TAS ve GSH konsantrasyonlarında anlamlı bir artış gözlemlemişlerdir.

Cavalcante ve ark. (2015), randomize, plasebo kontrollü D vitamini yetersizliği ($24,7 \pm 3,1$ ng/mL) tanısı konmuş 40 kadın (68 ± 6 yaş) ile yürüttükleri çalışmalarında, katılımcıları 200.000 IU D3 vitamini alan bir takviye grubuna ve bir plasebo grubuna ayırmışlardır. 4 haftalık bir süre boyunca 200.000 IU (5000 µg) kolekalsiferol takviyesinin (her biri 50.000 IU (1250 µg) olan dört kapsül yoluyla) TAS ve MDA seviyeleri üzerindeki etkisini değerlendirmiş ve mega doz takviyesinin plazma MDA seviyelerini etkilemediğini, ancak TAS'ı önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir.

Scholten ve ark. (2015), orta ile şiddetli yoğunlukta egzersiz eğitimi alan 40 yetişkin erkekte oluşan çalışmalarında, 8 hafta boyunca tek başına veya quercetin (1000 mg/gün) ile birlikte 4000 IU/gün D3 vitamini takviyesinin fiziksel performans ve oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkisini araştırmıştır. Katılımcılar plasebo da dahil olmak üzere farklı gruplara rastgele atanmıştır. Daha önceki sonuçların aksine, bu araştırmada TAS seviyeleri önemli bir düşüş gösterirken, SOD aktivitesi, lipid ve protein oksidasyonu, MDA seviyeleri önemli bir değişiklik göstermemiştir.

Daldal ve Salici (2021), iç hastalıkları kliniğine D vitamini düşüklüğü ile başvuran ancak tedavi görmemiş tüm hastaları çalışmalarına dahil etmiş ve hastaları D vitamini seviyeleri 10 µg/l'nin altında olan şiddetli eksiklik olanlar, 10-20 µg/l düzeyinde vitamin eksikliği olanlar ve 20-30 µg/l düzeyinde D vitamini eksikliği olanlar şeklinde 3 gruba ayırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda gruplar arasında katarakt için anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Abdellah ve ark. (2019), serum 25-hidroksi vitamin D düzeyi ile yaşa bağlı katarakt oluşumu arasındaki ilişkiyi incelemek için yaptıkları çalışmalarına 325 katarakt hastası ve her iki cinsiyetten 385 kontrol dahil ederek serum D vitamini düzeyi açısından incelemişlerdir. Katarakt hastalarında ortalama D vitamini düzeyini 7.6 ± 5.5 ng/ml, kontrol grubunda ortalama D vitamini düzeyini 18.5 ± 9.6 ng/ml bulmuşlardır. Farklı katarakt tipleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ve en düşük seviyenin nükleer katarakta olduğunu bildirmişlerdir. Öktem ve Aslan (2021), katarakt tanısı konan toplam 37 yetişkin hasta ile benzer yaş ve cinsiyette toplam 53 sağlıklı katılımcının dahil edildiği çalışmalarında plazma 25-hidroksi D vitamini düzeylerini karşılaştırmışlardır. D vitamini düzeyi PCS ve nükleer katarakt tiplerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuş; mikst tip kataraktlarda anlamlı bir fark bulunmamıştır. Brown ve Akaichi (2015), PSC gelişimi ile

serum D vitamini düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında hastaların tamamında serum D vitaminini kontrol grubuna göre daha düşük bulmuşlardır.

Bizim çalışmamızda D vitamini IL-6 seviyelerini (5000 IU/kg ve 10000IU/kg uygulanan gruplarda) ve TNF- α seviyelerini (10000 IU/kg uygulanan grupta) anlamlı olarak azaltmıştır. SOD seviyeleri ile (2500 IU/kg ve 10000 IU/kg uygulanan gruplar) GSH seviyelerini (tüm gruplar) ise anlamlı olarak artırmıştır. Bu da D vitamininin hala tartışılmakta olduğu gibi inflamasyonu önlediğini, antioksidatif etkiye sahip olduğunu göstermiştir. MDA seviyelerinde ise anlamlı bir fark oluşmamıştır. D vitamininin lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde değişime sebep olmaması D vitamininin peroksidasyon üzerinde etkisi olmadığını düşündürmüştür.

Lens liflerinde ve membranlarında yoğunlaşan lipidde çözünen bir antioksidan olan E vitamininin, lens lipidlerinin fotoperoksidasyonunu azaltarak ve lens hücre membranlarını stabilize ederek ARC oluşumunu engellediği varsayılmakta ve hala tartışılmakla birlikte katarakt için koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2015).

Costagliola ve ark. (1986), çalışmalarında insanlara (bilateral 'idiyopatik' senil kataraktı olan ve hastanede yatan en az bir gözde ameliyat gerektirecek katarakt olan 40 olgu kullanılmış, 10 gün süreyle 1000 IU (iki doz 500 IU)), tavşanlara (10 hayvandan oluşan 2 grup oluşturulmuş, birinci grup 30mg/kg) ve sıçanlara (her biri beş hayvandan oluşan iki gruba ayrılmış, birinci gruba 10 gün boyunca 30 mg kg/gün) yüksek dozlarda oral olarak E vitamini verilmiştir. Kontrol gruplarına ise plasebo verilmiştir. Tedavi süresinin sonunda, tedavi edilen deneklerin ve hayvanların eritrositlerinde (insanlar ve tavşanlar), aköz hümör (insanlar ve tavşanlar) ve lenslerinde (tavşanlar ve sıçanlar) artmış GSH seviyeleri bulunmuştur.

Chylack ve ark. (2002), ABD ve İngiltere'deki kliniklere başvuran 445 ARC'li hastayı çalışmaya dahil etmiş, çalışma 5 yıl boyunca sürmüş ve randomizasyon gerçekleştirilmiştir. Randomizasyon sonrası görüşmeler yaklaşık her dört ayda bir yapılmıştır. Tedavi grubunda 200 mg E vitamini (all-rac α -tokoferol asetat), 250 mg askorbik asit ve 6 mg β -karoten günde üç kapsül yemeklerle birlikte alınmıştır. Başlangıçta gruplar arasında fark yokken 2 yıl sonra ABD'li hastalarda, 3 yıl sonra ise hem ABD hem İngiltere'deki hastalarda vitamin uygulanan grupta diğer gruba göre

olumlu etki gözlemlediklerini, düşük seviyede olsa da ARC'de yavaşlama gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Varma ve ark. (1984), süperoksitin intraoküler fotokimyasal üretimi ve singlet oksijen, OH^- ve H_2O_2 gibi diğer oksidanlara türevlendirilmesi yoluyla lenste oksidatif hasar mekanizmasını incelemişlerdir. Oksidatif hasara bağlı kataraktogeneze MDA seviyelerini kontrol grubuna göre daha yüksek bulurken, deneklerin diyetine 30 mg E vitamini/kg eklenmesi ve haftalık intraperitoneal 10 mg E vitamini uygulamasının kontrollere kıyasla opasite oluşumunu önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.

Yaşa bağlı göz hastalığı çalışması araştırma grubu, çalışmalarında 55-80 yaş arası 4757 (4629'unda en az 1 doğal lens mevcut olan) katılımcıyı ortalama 6.3 yıl takip etmişlerdir. Katılımcıları antioksidanlar (C vitamini, 500 mg; E vitamini, 400 IU; ve beta karoten: 15 mg) içeren veya plasebo olarak günlük oral tabletler almak üzere rastgele ayırmış ve 2. yıldan itibaren lens fotoğraflarını çekerek katarakt derecelendirme ölçeği ile lens opasitelerinin şiddetini belirlemişlerdir. Antioksidan verilen grup ile diğer grup arasında ARC gelişimi veya ilerlemesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmediğini ve katarakt ameliyatı için ilerleme riskini azaltmada istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir (Clemons ve ark., 2001).

McNeil ve ark. (2004), günlük 500 IU E vitamini uygulamasının ARC insidansını veya ilerleme hızını azaltıp azaltmadığını belirlemek için 55 ila 80 yaşları arasındaki 1193 kişi (595 E vitamini grubu, 598 plasebo grubu; % 87'si 4 yıllık takibi tamamlamıştır) ile yaptıkları çalışmalarında tüm katarakt tipleri için E vitamininin katarakt insidansını veya ilerlemesini azaltmadığını ve katarakt ameliyatı için iki grup arasında anlamlı bir farklılık gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Bu bulgular sonucunda ARC gelişimini önlemek veya ilerlemesini yavaşlatmak için E vitamini kullanımını desteklemedikleri yorumunu yapmışlardır.

Ayala ve Söderberg (2004), E vitaminin albino sıçanlardaki UV kaynaklı katarakta tedavi ediciliğini araştırdıkları çalışmalarında tokoferol ile tedavi edilen sıçanların lenslerinde GSH seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçtan yola çıkarak oksidatif stresin katarakt gelişiminde önemli bir rol oynadığını; tokoferolün, sıçan lensini UVB'ye in vivo maruziyetten kaynaklanan katarakta karşı koruduğunu; tokoferolün bir antioksidan olarak lensi doğrudan ve/veya dolaylı olarak GSH konsantrasyonunu

artırarak koruduğunu belirtmişlerdir. Vurmaz ve ark. (2021), çalışmalarında civciv embriyosunda glukokortikoid kaynaklı katarakt modeli üzerinde E vitamininin antioksidan etkisini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda TAS'da sadece HC uygulanan grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma, TOS'da ise artma tespit etmişlerdir. Uygulanan E vitamini dozlarına bağlı olarak, azalan TAS düzeylerinin arttığını, TOS düzeylerinin ise azaldığını bildirmişlerdir. Böylelikle E vitamininin HC'nin neden olduğu katarakta karşı etkili bir antioksidan madde olduğu sonucuna varmışlardır. Mathew ve ark. (2003), sıçanlarda katarakt oluşumunu önlemede E vitamininin rolünü inceledikleri çalışmalarında sodyum selenitin deri altından uygulanmasıyla selenit katarakt oluşturmuşlardır. Daha sonra deri altından E vitamini (α - tokoferol asetat) uygulamışlardır. Çalışmanın sonucunda tek başına selenit enjekte edilen sıçan yavrularının doğumdan sonraki 16. günde nükleer katarakt ürettiğini, selenit + E vitamini enjekte edilen grupta son E vitamini dozundan sonra % 8.33 (12'de 1) katarakt insidansı gösterdiğini, ayrıca selenite + E vitamini uygulanmış lenslerin GSH seviyelerinin normale yakın bir değer gösterirken, lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak MDA düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Bizim sonuçlarımızda da IL-6 seviyelerini 500 IU/kg ve 1000 IU/kg E vitamini uygulanan gruplarda HC grubuna göre anlamlı olarak düşük; TNF- α düzeylerini 1000 IU/kg E vitamini uygulanan grupta anlamlı olarak düşük; GSH ve SOD düzeylerini tüm E vitamini verilen gruplarda HC verilen gruba göre anlamlı olarak yüksek bulduk. Sonuçlarımız literatürle aynı doğrultuda olup ve E vitamininin güçlü bir antioksidan ve antiinflamatuvar olduğunu göstermektedir. Sonuçlarımızda MDA seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızın sonucunda 0.50 µmol/yumurta HC dozu uygulaması, civciv embriyolarında yüksek düzeyde lens opaklığına neden olmuştur. Ayrıca biyokimyasal parametrelerimizin (IL-6, GSH, SOD, TNF-α, MDA) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmesine sebep olmuş ve kataraktı indüklemiştir.

İnflamasyon durumunda salgılanan IL-6'nın tüm vitamin guruplarının orta ve yüksek dozlarında HC grubuna göre anlamlı düşük olması yine inflamatuvar yanıtı başlatan TNF-α'nın A vitaminin orta; D ve E vitaminin yüksek doz uygulamalarında HC grubuna göre anlamlı olarak düşmesi, lenste antioksidan görevi gören GSH'ın tüm vitamin guruplarında; SOD'un A ve D vitaminlerinin düşük ve yüksek; E vitamininin ise tüm dozlarında HC grubuna göre anlamlı olarak yükselmesi uyguladığımız tüm vitaminlerin antioksidan etki göstererek ROS'u azalttığını, toksisiteye karşı koruyucu etkileri olduğunu ve antikatarakt etki gösterdiklerini düşündürmektedir. MDA'nın ise sadece A vitaminin tüm dozlarında HC grubuna göre anlamlı düşük olması A vitamininin lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini, D ve E vitaminlerinin böyle bir etkilerinin olmadığını göstermektedir.

Tüm bunların ışığında optimum dozlarında A, D ve E vitaminleri için katarakt önleyici, tedavi edici etkileri vardır diyebilmekteyiz. Literatürde de bu vitaminlerin antiinflamatuvar, antidiyabetik, antialerjik, antikanserojenik ve antioksidan gibi özelliklerinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak araştırdığımız kadarıyla üçünün birlikte ele alınıp civciv embriyolarında oluşturulan deneysel katarakt modeli üzerinde antioksidan etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Bu da çalışmamızın literatüre önemli ölçüde katkıda bulunmuş olduğunu düşündürmektedir.

Son olarak civciv embriyo modelinde yapılan bu çalışmanın tedavide ve önleyici tedavide yerini alabilmesi için daha kapsamlı araştırmaların yapılmasının gerekliliğinin farkındayız.

7. KAYNAKLAR

- Abdala-Valencia, H.A., Berdnikovs, S., Cook-Mills, J.M. (2013) 'Vitamin E Isoforms as Modulators of Lung Inflammation'. *Nutrients*, 5(11), pp.4347-4363.
- Abdellah, M.M., Mohamed Mostafa, E., Salama, E.H. & Roshdy Mohamed, E. (2019) 'Association of Serum 25-Hydroxyl Vitamin D Deficiency and Age-Related Cataract: A Case-Control Study'. *Journal of Ophthalmology*, 15;2019:9312929, pp.1-5.
- Abplanalp, J., Laczko, E., Philp, N.J., Neidhardt, J., Zuercher, J., Braun, P. et al. (2013) 'The Cataract and Glucosuria Associated Monocarboxylate Transporter MCT12 is A New Creatine Transporter'. *Human Molecular Genetics*, 22(16), pp.3218-3226.
- Abraham, A., Kattoor, A.J., Saldeen, T., Mehta, J.L. (2019) 'Vitamin E and its Anticancer Effects'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(17), pp.2831-2838.
- Afanas'ev, I. (2015) 'Mechanisms of Superoxide Signaling in Epigenetic Processes: Relation to Aging and Cancer'. *Aging and disease*, 1;6(3), pp216-217.
- Akira, S., Takeda, K. (2004) 'Toll-like Receptor Signalling'. *Nature Reviews Immunology*, 4(7), pp.499-511.
- Akyol, A., Şimşek, M., İlhan, R., Can, B., Başpınar, M., Akyol, H., ve ark., (2016) 'Efficacies of vitamin D and omega-3 polyunsaturated fatty acids on experimental endometriosis'. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 55(6), pp.835-839.
- Albaş-Kurt, G. (2022). 'Civciv Embriyolarında Oluşturulan Deneysel Katarakt Modelinde Chrysin'in Antioksidan Etkisinin Araştırılması'. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Altınar, A., Atalay, H., Bilal, T. (2017) 'Bir Antioksidan Olarak E Vitamini'. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(3), pp.149-157.
- American Academy of Ophthalmology (2017) Basic Clinical and Science Course, Section 11(2), pp. 9-13.
- Amirfakhrian, H., Abedi, S.M., Sadeghi, H., Azizi, S., Hosseinimehr, S.J. (2018) 'The use of 99mTc-phytate for assessment the protective effect of vitamin E against hepatotoxicity induced by methotrexat in rat'. *Nuclear Medicine Review*, 22(1), pp.8-13.
- Anderson, M.E. (1998) 'Glutathione: an Overview of Biosynthesis and Modulation'. *Chemico-Biological Interactions*, 24;(111–112), pp.1-14.
- Armbrecht, H.J., Hodam, T.L., Boltz, M.A., Partridge, N.C., Brown, A.J., Kumar, V.B. (1998) 'Induction of the vitamin D 24-hydroxylase (CYP24) by 1,25-dihydroxyvitamin D3 is Regulated by Parathyroid Hormone in UMR106 Osteoblastic Cells'. *Endocrinology*, 139(8), pp.3375-3381.
- Asemi, Z., Samimi, M., Tabassi, Z., Shakeri, H., Esmailzadeh, A. (2013) 'Retracted: Vitamin D Supplementation Affects Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein, Insulin Resistance, and Biomarkers of Oxidative Stress in Pregnant Women'. *The Journal of Nutrition*, 143(9), pp.1432-1438.
- Atalay, E., (2021). *Katarakt Etiyopatogenezinde Oksidatif Hasarın Rolü*. Uzmanlık Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kırıkkale.

- Atalay, K., Savur, F.G., Kirgiz, A., Kaldirim, H.E., Zengi, O. (2020) 'Serum Vitamin D Levels in Different Morphologic Forms of Age Related Cataract'. *Acta Endocrinologica*, 16(2), pp.178-182.
- Ateş, N.A., Yildirim, Ö., Tamer, L., Ünlü, A., Ercan, B., Muşlu, N. et al. (2004) 'Plasma Catalase Activity and Malondialdehyde Level in Patients with Cataract'. *Eye*, 18(8), pp.785-788.
- Aw, T.Y. (2003) 'Cellular Redox: A Modulator of Intestinal Epithelial Cell Proliferation'. *Physiology*, 18(5), pp.201-204.
- Ayala, A., Muñoz, M.F., Argüelles, S. (2014) 'Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal'. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014;2014:360438.
- Ayala, M.N., Söderberg, P.G. (2004) 'Vitamin E Can Protect against Ultraviolet Radiation-Induced Cataract in Albino Rats'. *Ophthalmic Research*, 36(5), pp.264-269.
- Bahri, S., Kaddur, H., Karoui, D., Bouraoui, S., Amri, M., Mokni, M. (2019) 'Protective role of vitamin E against cadmium induced oxidative stress into the rat liver'. *La Tunisie Medicale*, 97(1), pp.100-105.
- Balkwill, F. (2006) 'TNF- α in Promotion and Progression of Cancer'. *Cancer and Metastasis Reviews*, 25(3), pp.409-416.
- Bartoli, G.M., Sies, H. (1978) 'Reduced and Oxidized Glutathione Efflux from Liver'. *FEBS Letters*, 86(1), pp.89-91.
- Bates, P.W., Miyamoto, S. (2004) 'Expanded Nuclear Roles for IkappaBs'. *Science's STKE*, 12;(254):pe48.
- Benedek, G.B. (1971) 'Theory of Transparency of the Eye'. *Applied Optics*, 10(3), pp.459-473.
- Bhatia, R.P., Rai, R., Rao, G.R.K. (2006) 'Role of Malondialdehyde and Superoxide Dismutase in Cataractogenesis'. *Annals of Ophthalmology*, 38(2), pp.103-106.
- Bikle, D.D. (2014) 'Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications'. *Chemistry & Biology*, 21(3), pp.319-329.
- Bloemendal, H., De Jong, W., Jaenicke, R., Lubsen, N. H., Slingsby, C. Tardieu, A. (2004) 'Ageing and vision: Structure, stability and function of lens crystallins'. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 86(3), pp.407-485.
- Blomstrand, R., Werner, B. (1967) 'Studies on the Intestinal Absorption of Radioactive β -Carotene and Vitamin A in Man: Conversion of β -carotene into vitamin A. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 19(4), pp.339-345.
- Blumental, M., Assia, E. Neuman, D. (1991) 'Lens anatomical principles and their technical implication in cataract surgery, Part II: The lens nucleus'. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 17, pp.211-217.
- Brown, C., Akaichi, F. (2015) 'Vitamin D deficiency and posterior subcapsular cataract'. *Clinical Ophthalmology*, 16(9), pp.1093-1098.
- Bungau, S., Abdel-Daim, M.M., Tit, D.M., Ghanem, E., Sato, S., Maruyama-Inoue, M. et al. (2019) 'Health Benefits of Polyphenols and Carotenoids in Age-Related Eye Diseases'. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 12;2019:9783429.

Burton, G.J., Jauniaux, E. (2011) 'Oxidative stress'. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 25(3), pp.287-299.

Cadenas, E., Davies, K.J.A. (2000) 'Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging' This article is dedicated to the memory of our dear friend, colleague, and mentor Lars Ernster (1920–1998), in gratitude for all he gave to us'. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(3–4), pp.222-230.

Carazo, A., Macáková, K., Matoušová, K., Krčmová, L.K., Protti, M., Mladěnka, P. (2021) 'Vitamin a update: Forms, sources, kinetics, detection, function, deficiency, therapeutic use and toxicity'. *Nutrients*, 13(5), pp.2-36.

Cavalcante, I.G. de M., Silva, A.S., Costa, M.J.C., Persuhn, D.C., Issa, C.I., Freire, T.L. de L. et al. (2015) 'Effect of vitamin D3 supplementation and influence of Bsm1 polymorphism of the VDR gene of the inflammatory profile and oxidative stress in elderly women with vitamin D insufficiency'. *Experimental Gerontology*, 66, pp.10-16.

Chan, H.N., Zhang, X.J., Ling, X.T., Bui, C.H.T., Wang, Y.M., Ip, P. et al. (2022) 'Vitamin D and Ocular Diseases: A Systematic Review'. *International Journal of Molecular Sciences*, 11;23(8):4226.

Chen, Y., Azad, M.B., Gibson, S.B. (2009) 'Superoxide is the Major Reactive Oxygen Species Regulating Autophagy'. *Cell Death & Differentiation*, 16(7), pp.1040-1052.

Chiricozzi, A., Panduri, S., Dini, V., Tonini, A., Gualtieri, B., Romanelli, M. (2017) 'Optimizing acitretin use in patients with plaque psoriasis'. *Dermatologic Therapy*, 30(2), pp.1-6.

Choi, J.H., Lee, E. Heo, Y.R. (2020) 'The Association between Dietary Vitamin A and C Intakes and Cataract: Data from Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2012'. *Clinical Nutrition Research*, 24;9(3), pp.163-170.

Chylack, L.T., Brown, N.P., Bron, A., Hurst, M., Köpcke, W., Thien, U. et al. (2002) 'The Roche European American Cataract Trial (REACT): A Randomized Clinical Trial To Investigate The Efficacy Of An Oral Antioxidant Micronutrient Mixture To Slow Progression Of Age-Related Cataract'. *Ophthalmic Epidemiology*, 9(1), pp.49-80.

Clagett-Dame, M., Knutson, D. (2011) 'Vitamin A In Reproduction and Development'. *Nutrients*, 3(4), pp. 385-428.

Clemons, T., Chew, E., Bressler, S., Bee, W. (2001) 'A Randomized, Placebo-Controlled, Clinical Trial of High-Dose Supplementation With Vitamins C and E and Beta Carotene for Age-Related Cataract and Vision Loss'. *Archives of Ophthalmology*, 119(10), pp.1439-1452.

Conaway, H.H., Henning, P., Lerner, U.H. (2013) 'Vitamin A Metabolism, Action, and Role in Skeletal Homeostasis'. *Endocrine Reviews*, 34(6), pp.766-797.

Costagliola, C., Iuliano, G., Menzione, M., Rinaldi, E., Vito, P., Auricchio, G. (1986) 'Effect Of Vitamin E On Glutathione Content In Red Blood Cells, Aqueous Humor and Lens Of Humans and Other Species'. *Experimental Eye Research*, 43(6), pp.905-914.

D'Ambrosio, D.N., Clugston, R.D., Blaner, W.S. (2011) 'Vitamin A metabolism: An update'. *Nutrients*, 6;3(1), pp.63-103.

Daldal, H., Gokmen Salici, A. (2021) 'Ocular Findings Among Patients With Vitamin D Deficiency'. *Cureus*, 21;13(5):e15159.

- Daley, C.A., Abbott, A., Doyle, P.S., Nader, G.A., Larson, S. (2010) 'A Review Of Fatty Acid Profiles and Antioxidant Content In Grass-fed and Grain-fed Beef'. *Nutrition Journal*, 10;9:10.
- Dawes, L.J., Shelley, E.J., McAvoy, J.W. Lovicu, F.J. (2018) 'A role for Hippo/YAP-signaling in FGF-induced lens epithelial cell proliferation and fibre differentiation'. *Experimental Eye Research*, 169, pp.122-133.
- Debelo, H., Novotny, J.A., Ferruzzi, M. G. (2017) 'Vitamin A'. *Advances in Nutrition*, 15;8(6), pp.992-994.
- Dewett, D., Lam-Kamath, K., Poupault, C., Khurana, H., Rister, J. (2021) 'Mechanisms of vitamin A metabolism and deficiency in the mammalian and fly visual system'. *Developmental Biology*, 476, pp.68-78.
- Dimri, U., Sharma, M.C., Yamdagni, A., Ranjan, R., Zama, M.M.S. (2010) 'Psoroptic mange infestation increases oxidative stress and decreases antioxidant status in sheep'. *Veterinary Parasitology*, 168(3–4), pp.318-322.
- Draper, H.H., Hadley, M. (1990) 'A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde'. *Xenobiotica*, 20(9), pp.901-907.
- Draper, H.H., McGirr, L.G., Hadley, M. (1986) 'The metabolism of malondialdehyde'. *Lipids*, 21(4), pp.305-307.
- Dröge, W. (2002) 'Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function'. *Physiological Reviews*, 82(1), pp.47-95.
- Dubey, S., Saha, S., Kaithwas, G., Saraf, S. (2015) 'Effect of standardized fruit extract of *Luffa cylindrica* on oxidative stress markers in hydrogen peroxide induced cataract'. *Indian Journal of Pharmacology*, 47(6), 644-648.
- Duman, R., Vurmaz, A. (2018) 'Role of innate immunity and oxidative stress in steroid-induced cataracts in developing chick embryos'. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 37(3), pp.281-285.
- Duman, R., Ertekin, T., Duman, R., Vurmaz, A., Çetinkaya, E., Güzel, H. (2019) 'Anticataractogenic effect of betaine in chick embryo hydrocortisone-induced cataract model'. *Indian Journal of Medical Research*, 150(4), pp.407-411.
- Duncan, G., Wormstone, I.M., Davies P.D. (1997) 'The aging human lens: structure, growth, and physiological behaviour'. *British Journal ophthalmology*, 81, pp.818-823.
- Esterbauer, H., Schaur, R.J., Zollner, H. (1991) 'Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes'. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), pp.81-128.
- Fan, X., Monnier, V.M. (2021) 'Protein posttranslational modification (PTM) by glycation: Role in lens aging and age-related cataractogenesis'. *Experimental Eye Research*, 210:108705.
- Fang, Y.Z., Yang, S., Wu, G. (2002) 'Free radicals, antioxidants, and nutrition'. *Nutrition*, 18(10), pp.872-879.
- Feng, S., Yu, H., Yu, Y., Geng, Y., Li, D., Yang, C. et al. (2018) 'Levels of Inflammatory Cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, and TNF- α in Aqueous Humour of Patients with Diabetic Retinopathy'. *Journal of Diabetes Research*, 4;2018:8546423.

- Feng, Y.L., Xie, M., Tang, J., Huang, W., Zhang, Q., Hou, S.S. (2019) 'Effects of vitamin A on growth performance and tissue retinol of starter White Pekin ducks'. *Poultry Science*, 1;98(5), pp.2189-2192.
- Fidan, F., Alkan, B.M., Tosun, A. (2014) 'Çağın Pandemisi: D Vitamini Eksikliği ve Yetersizliği'. *Türk Osteoporoz Dergisi*, 20(2), pp.71-74.
- Fodor, M., Facskó, A., Rajnavölgyi, É., Hársfalvi, J., Bessenyei, E., Kardos, L. et al. (2006) 'Enhanced Release of IL-6 and IL-8 into Tears in Various Anterior Segment Eye Diseases'. *Ophthalmic Research*, 38(4), pp.182-188.
- Fridovich, I. (1975) 'Superoxide Dismutases'. *Annual Review of Biochemistry*, 44, pp.147-159.
- Fukui, K., Omoi, N.O., Hayasaka, T., Shinnkai, T., Suzuki, S., Abe, K. et al. (2002) 'Cognitive Impairment of Rats Caused by Oxidative Stress and Aging, and Its Prevention by Vitamin E'. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 959(1), pp.275-284.
- Gao, J., Minogue, P.J., Beyer, E.C., Mathias, R.T. Berthoud, V.M. (2018) 'Pathogenic Roles of Ion Channels and Transporters: Disruption of the lens circulation causes calcium accumulation and precipitates in connexin mutant mice'. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1;314(4), pp.492-503.
- Gao, S., Qin, T., Liu, Z., Caceres, M.A., Ronchi, C.F., Chen, C.Y.O. et al. (2011) 'Lutein and Zeaxanthin Supplementation Reduces H₂O₂-Induced Oxidative Damage In Human Lens Epithelial Cells'. *Molecular Vision*, 17, pp.3180-3190.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., Scaccini, C. (2000) 'Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data'. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(11), pp.1106-1114.
- Gillmore, J.D., Lovat, L.B., Persey, M.R., Pepys, M.B., Hawkins, P.N. (2001) 'Amyloid load and clinical outcome in AA amyloidosis in relation to circulating concentration of serum amyloid A protein'. *The Lancet*, 7;358(9275), pp.24-29.
- Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Milzani, A., Fanti, P., Rossi, R. (2013) 'Analysis of GSH and GSSG after derivatization with N-ethylmaleimide'. *Nature Protocols*, 8(9), pp.1660-1669.
- Goszcz, K., Deakin, S.J., Duthie, G.G., Stewart, D., Leslie, S.J., Megson, I.L. (2015) 'Antioxidants in Cardiovascular Therapy: Panacea or False Hope?'. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 6;2:29.
- Green, A.S., Fascetti, A.J. (2016) 'Meeting the Vitamin A Requirement: The Efficacy and Importance of β -Carotene in Animal Species'. *Scientific World Journal*, 2016:7393620.
- Griffith, O.W. (1999) 'Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis'. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9-10), pp.922-935.
- Gupta, V., Rajagopala, M. Ravishankar, B. (2014) 'Etiopathogenesis of cataract: An appraisal'. *Indian J Ophthalmol*, 62(2), pp.103-10.
- Harding, J.J. (1970) 'Free and Protein-Bound Glutathione in Normal and Cataractous Human Lenses'. *Biochem. J*, 117, pp.957-960.

- Harrison, E.H. (2012) 'Mechanisms involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids'. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1821(1), pp.70-77.
- Harrison, E.H., Hussain, M.M. (2001) 'Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A'. *J Nutr*, 131(5), pp.1405-1408.
- Haslbeck, M., Peschek, J., Buchner, J., Weinkauff, S. (2016) 'Structure and function of α -crystallins: Traversing from in vitro to in vivo'. *Biochim Biophys Acta*, 1860(1), pp.149-166.
- Hayyan, M., Hashim, M.A., AlNashef, I.M. (2016) 'Superoxide Ion: Generation and Chemical Implications'. *Chemical Reviews*, 9;116(5), pp.3029-3085.
- Heinrich, P.C., Castell, J.V., Andus, T. (1990) 'Interleukin-6 and the acute phase response'. *Biochemical Journal*, 265(3), pp.621-636.
- Hiller, R., Sperduto, R.D., Ederer, F. (1983) 'Epidemiologic associations with cataract in the 1971-1972 National Health and Nutrition Examination Survey'. *Am J Epidemiol*, 118(2), pp.239-249.
- Holick, M.F. (2007) 'Vitamin D Deficiency'. *New England Journal of Medicine*, 357(3), pp.266-281.
- Holmström, K.M., Finkel, T. (2014) 'Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling'. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(6), pp.411-421.
- Horwitz, J. (2003) 'Alpha-crystallin'. *Experimental Eye Research*, 76(2), pp.145-153.
- Hsueh, Y.J., Chen, Y.N., Tsao, Y.T., Cheng, C.M., Wu, W.C., Chen, H.C. (2022) 'The Pathomechanism, Antioxidant Biomarkers, and Treatment of Oxidative Stress-Related Eye Diseases'. *International Journal of Molecular Sciences*, 23;23(3):1255.
- Huk, D.J., Hammond, H.L., Kegechika, H., Lincoln, J. 'Increased Dietary Intake of Vitamin A Promotes Aortic Valve Calcification In Vivo'. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 33(2), pp.285-293.
- Idriss, H.T., Naismith, J.H. (2000) 'TNF α and the TNF Receptor Superfamily: Structure-Function Relationship(s)'. *Microscopy Research and Technique*, 50(3), pp.184-195.
- Infante, J.P. (1999) 'A function for the vitamin E metabolite α -tocopherol quinone as an essential enzyme cofactor for the mitochondrial fatty acid desaturases'. *FEBS Letters*, 5;446(1), pp.1-5.
- Ishida, H., Shibata, T., Shibata, S., Tanaka, Y., Sasaki, H. Kubo, E. (2020) 'Lutein plus Water Chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) Extract Inhibits the Development of Cataracts and Induces Antioxidant Gene Expression in Lens Epithelial Cells'. *BioMed Research International*, 19;2020:9204620.
- Ishikawa, S., Hashizume, K., Nishigori, H., Tezuka, Y., Sanbe, A., Kurosaka, D. (2015) 'Effect of Astaxanthin on Cataract Formation Induced by Glucocorticoids in the Chick Embryo'. *Current Eye Research*, 40(5), pp.535-540.
- Ivanova, N. (2020) 'Biomimetic optics: liquid-based optical elements imitating the eye functionality'. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, 20;378(2167), 20190442.

- Jaturakan, O., Disaayabutra, T., Chaibabutr, N., Kijawornrat, A., Tosukhowong P., Rungsripipat, A., et al. (2017) 'Combination of vitamin E and vitamin C alleviates renal function in hyperoxaluric rats via antioxidant activity' *J. Vet. Med. Sci.*, 79(5), pp.896-903.
- Javitt, J.C., Wang, F., West, S.K. (1996) 'Blindness due to cataract: epidemiology and prevention'. *Annu Rev Public Health*, 17, pp.159-177.
- Jiang, H., Yin, Y., Wu, C.R., Liu, Y., Guo, F., Li, M. et al. (2019) 'Dietary vitamin and carotenoid intake and risk of age-related cataract'. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 109(1), pp.43-54.
- Jiang, Q. (2014) 'Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy'. *Free Radical Biology and Medicine*, 72, pp.76-90.
- Johra, F.T., Bepari, A.K., Bristy, A.T., Reza, H.M. (2020) 'A Mechanistic Review of β -Carotene, Lutein, and Zeaxanthin in Eye Health and Disease'. *Antioxidants*, 26;9(11);1046.
- Jones, D.P., Sies, H. (2015) 'The Redox Code'. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20;23(9), pp.734-746.
- Jones, G., Prosser, D.E., Kaufmann, M. (2012) '25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): Its important role in the degradation of vitamin D'. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1;523(1), pp.9-18.
- Juarez, J.C., Manuia, M., Burnett, M.E., Betancourt, O., Boivin, B., Shaw, D.E. et al. (2008) 'Superoxide dismutase 1 (SOD1) is essential for H₂O₂-mediated oxidation and inactivation of phosphatases in growth factor signaling'. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 20;105(20), pp.7147-7152.
- Kam, R.K.T., Deng, Y., Chen, Y., Zhao, H. (2012) 'Retinoic acid synthesis and functions in early embryonic development'. *Cell and Bioscience*, 22;2(1):11.
- Kantorow, M., Hawse, J.R., Cowell, T.L., Benhamed, S., Pizarro, G.O., Reddy, V.N. et al. (2004) 'Methionine sulfoxide reductase A is important for lens cell viability and resistance to oxidative stress'. *Proc Natl Acad Sci USA*, 29;101(26), pp.9654-9659.
- Kaplowitz, N., Fernández-Checa, J.C., Kannan, R., Garcia-Ruiz, C., Ookhtens, M., Yi, J.R. (1996) 'GSH Transporters: Molecular Characterization and Role in GSH Homeostasis'. *Biological Chemistry Hoppe-Seyler*, 377(5), pp.267-273.
- Karaöz, E., Karaöz, S. (1992) 'E Vitamininin Biyolojik Sistemlerdeki Rolü'. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 21(1), pp.101-116.
- Karel, F. (2001) 'Lens ve hastalıkları', Bölüm 9, 1.baskı, Prof Aydın P, Prof Akova A, eds, *Temel Göz Hastalıkları*, Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, pp.191-93.
- Katta, A.V. (2013) 'Lipid Peroxidation and the Total Antioxidant Status in the Pathogenesis of Age Related and Diabetic Cataracts: A Study on the Lens and Blood'. *J Clin Diagn Res*, 7(6), pp. 978-981.
- Kaur, J., Kukreja, S., Kaur, A., Malhotra, N., Kaur, R. (2012) 'The Oxidative Stress in Cataract Patients'. *Journal Of Clinical and Diagnostic Research*, 6(10), pp.1629-1632.

- Kaur, S., Bansal, Y., Kumar, R., Bansal, G. (2020) 'A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors'. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 1;28(5):115327.
- Kelly, M.E., Ramkumar, S., Sun, W., Colon Ortiz, C., Kiser, P.D., Golczak, M. et al. (2018) 'The Biochemical Basis of Vitamin A Production from the Asymmetric Carotenoid β -Cryptoxanthin'. *ACS chemical biology*, 13(8), pp. 2121-2129.
- Khairallah, M., Kahloun, R., Bourne, R., Limburg, H., Flaxman, S.R., Jonas, J.B. et al. (2015) 'Number of People Blind or Visually Impaired by Cataract Worldwide and in World Regions, 1990 to 2010'. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56(11), pp.6762-6769.
- Khanna, R., Pujari, S. Sangwan, V. (2011) 'Cataract surgery in developing countries'. *Current Opinion in Ophthalmology*, 22(1), pp.10-14.
- Kim, S., Shevde, N.K., Pike, J.W. (2005) '1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates cyclic vitamin D receptor/retinoid X receptor DNA-binding, co-activator recruitment, and histone acetylation in intact osteoblasts'. *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(2), pp.305-317.
- Kishimoto, T. (2010) 'IL-6: from its discovery to clinical applications'. *International Immunology*, 22(5), pp.347-352.
- Kisic, B., Miric, D., Zoric, L., Ilic, A., Dragojevic, I. (2012) 'Antioxidant capacity of lenses with age-related cataract'. *Oxid Med Cell Longev*, 2012:467130.
- Kosano, H., Nishigori, H. (2002) 'Steroid-Induced Cataract: Other than in the Whole Animal System, in the Lens Culture System, Androgens, Estrogens and Progestins as well as Glucocorticoids Produce a Loss of Transparency of the Lens'. *Progress in Lens and Cataract Research*, 35, pp.161-168.
- Kroll, M.H., Bi, C., Garber, C.C., Kaufman, H.W., Liu, D., Caston-Balderrama, A. et al. (2015) 'Temporal Relationship between Vitamin D Status and Parathyroid Hormone in the United States'. *PLOS ONE*, 4;10(3):e0118108.
- Largillière, C., Mélançon, S.B. (1988) 'Free malondialdehyde determination in human plasma by high-performance liquid chromatography'. *Analytical Biochemistry*, 170(1), pp.123-126.
- Lee, C.M., Afshari, N.A. (2017) 'The global state of cataract blindness'. *Current Opinion in Ophthalmology*, 28(1), pp.98-103.
- Lei, X.G. (2002) 'In Vivo Antioxidant Role of Glutathione Peroxidase: Evidence from Knockout Mice'. *Methods In Enzymology*, 347, pp.213-225.
- Lesiewska, H., Woźniak, A., Reisner, P., Czosnyka, K., Stachura, J., Malukiewicz, G. (2023) 'Is Cataract in Patients under 60 Years Associated with Oxidative Stress?'. *Biomedicines*, 27;11(5):1286.
- Lewis, A.C. (2013) 'Interleukin-6 in the pathogenesis of posterior capsule opacification and the potential role for interleukin-6 inhibition in the future of cataract surgery'. *Medical Hypotheses*, 80(4), pp.466-474.
- Li, P., Liu, C., Niu, J., Zhang, Y., Li, C., Zhang, Z. et al. (2022) 'Effects of Dietary Supplementation with Vitamin A on Antioxidant and Intestinal Barrier Function of Broilers Co-Infected with *Coccidia* and *Clostridium perfringens*'. *Animals*, 12(23):3431.

- Lim, J.C., Grey, A.C., Zahraei, A., Donaldson, P.J. (2020) 'Age-dependent changes in glutathione metabolism pathways in the lens: New insights into therapeutic strategies to prevent cataract formation—A review'. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 48(8), pp.1031-1042.
- Linetsky, M., Shipova, E., Cheng, R. Ortwerth, B.J. (2008) 'Glycation by Ascorbic Acid Oxidation Products Leads to the Aggregation of Lens Proteins'. *Biochim Biophys Acta*, 1782(1), pp.22-34.
- Liu, Y.C., Wilkins, M., Kim, T., Malyugin, B., Mehta, J.S. (2017) 'Cataracts'. *The Lancet*, 5;390(10094), pp.600-612.
- Livrea, M. A., Tesoriere, L. (1998) 'Antioxidant Activity of Vitamin A within Lipid Environments'. *Sub-cellular Biochemistry*, 30, pp. 113-143.
- Locksley, R.M., Killeen, N., Lenardo, M.J. (2001) 'The TNF and TNF Receptor Superfamilies'. *Cell*, 23;104(4), pp.487-501.
- Lu, S.C. (2001) 'Regulation of glutathione synthesis'. *Current Topics In Cellular Regulation*, 2000;36:95-116.
- Madhyastha, S., Prabhu, L.V., Saralaya, V., Rai, R. (2008) 'A comparison of vitamin A and leucovorin for the prevention of methotrexate-induced micronuclei production in rat bone marrow'. *Clinics*, 63(6), pp.821-826.
- Manikandan, R., Thiagarajan, R., Beulaja, S., Sudhandiran, G., Arumugam, M. (2010) 'Effect of Curcumin on Selenite-Induced Cataractogenesis in Wistar Rat Pups'. *Current Eye Research*, 35(2), pp.122-129.
- Manor, D., Morley, S. (2007) 'The α -Tocopherol Transfer Protein'. *Vitamins and Hormones*, 76, pp. 45-65.
- Mark, K.A., Dumas, K.J., Bhaumik, D., Schilling, B., Davis, S., Oron, T.R. et al. (2016) 'Vitamin D Promotes Protein Homeostasis and Longevity via the Stress Response Pathway Genes skn-1, ire-1, and xbp-1'. *Cell Reports*, 25;17(5), pp.1227-1237.
- Mathew, J.P., Thomas, V.C., Thomas, I. (2003) 'Selenite cataract and its attenuation by vitamin E in Wistar rats'. *Indian journal of ophthalmology*, 51(2), pp.161-70.
- McLaren, D.S., Kraener, K. (2012) 'Vitamin A In Nature'. *World Review Nutrition and Dietetics*, 103, pp.7-17.
- McNeil, J.J., Robman, L., Tikellis, G., Sinclair, M.I., McCarty, C.A., Taylor, H.R. (2004) 'Vitamin E supplementation and cataract'. *Ophthalmology*, 111(1), pp.75-84.
- Meganathan, P., Fu, J.Y. (2016) 'Biological Properties of Tocotrienols: Evidence in Human Studies'. *International Journal of Molecular Sciences*, 26;17(11):1682.
- Meister, A., Anderson, M.E. (1983) 'Glutathione'. *Annual Review of Biochemistry*, 52(1), pp.711-760.
- Michael, R., Bron, A.J. (2011) 'The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing'. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 27;366(1568), pp.1278-1292.
- Miller, W.L. (2017) 'Genetic disorders of Vitamin D biosynthesis and degradation'. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 165(Pt A), pp.101-108.

- Miric, D.J., Kisic, B.M., Zoric, L.D., Miric, B.M., Mirkovic, M., Mitic, R. (2014) 'Influence of cataract maturity on aqueous humor lipid peroxidation markers and antioxidant enzymes'. *Eye*, 28(1), pp.72-77.
- Miyazawa, T., Shibata, A., Sookwong, P., Kawakami, Y., Eitsuka, T., Asai, A. et al. (2009) 'Antiangiogenic and anticancer potential of unsaturated vitamin E (tocotrienol)'. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 20(2), pp.79-86.
- Moelants, E.A., Mortier, A., Van Damme, J., Proost, P. (2013) 'Regulation of TNF- α with a focus on rheumatoid arthritis'. *Immunology & Cell Biology*, 91(6), pp.393-401.
- Nagata, M., Hikida, M., Mibu, H., Muto, N., Yamamoto, I. (1994) 'Effect of Ascorbic Acid 2-O- α -Glucoside on Hydrocortisone-Induced Cataract Formation in Developing Chick Embryos: II. Influence on Glutathione and Lipid Peroxide Contents in the Lens'. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 10(3), pp.537-542.
- Naugler, W.E., Karin, M. (2008) 'The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer'. *Trends in Molecular Medicine*, 14(3), pp.109-119.
- Niedernhofer, L.J., Daniels, J.S., Rouzer, C.A., Greene, R.E., Marnett, L.J. (2003) 'Malondialdehyde, a Product of Lipid Peroxidation, Is Mutagenic in Human Cells'. *Journal of Biological Chemistry*, 278(33), pp.31426-31433.
- Nishigori, H., Lee, J.W., Iwatsuru, M. (1983) 'An animal model for cataract research: cataract formation in developing chick embryo by glucocorticoid'. *Experimental Eye Research*, 36(4), pp.617-621.
- Nishigori, H., Lee, J.W., Iwatsuru, M. (1995) 'Glucocorticoid-Induced Cataract of the Developing Chick Embryo – Prevention by Propylene Glycol'. *Ophthalmic Research*, 27(6), pp.350-355.
- Nishigori, H., Lee, J.W., Yamauchi, Y., Maruyama, K., Iwatsuru, M. (1987) 'Analysis of glucose levels during glucocorticoid-induced cataract formation in chick embryos'. *Investigative ophthalmology & visual science*, 28(1), pp.168-174.
- Niu, Z.Y., Liu, F.Z., Yan, Q.L., Li, W.C. (2009) 'Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress'. *Poultry Science*, 88(10), pp.2101-2107.
- Ohta, K., Yamagami, S., Taylor, A.W., Streilein, J.W. (2000) 'IL-6 antagonizes TGF- β and abolishes immune privilege in eyes with endotoxin-induced uveitis'. *Investigative ophthalmology & visual science*, 41(9), pp.2591-259.
- Okano, Y., Asada, M., Fujimoto, A., Ohtake, A., Murayama, K., Hsiao, K. J. et al. (2001) 'A Genetic Factor for Age-Related Cataract: Identification and Characterization of a Novel Galactokinase Variant, "Osaka," in Asians'. *American Journal of Human Genetics*, 68(4), pp.1036-1042.
- Ortwerth, B.J., Olesen, P.R. (1988) 'Ascorbic acid-induced crosslinking of lens proteins: evidence supporting a Maillard reaction'. *Biochimica et Biophysica Acta*, 956, pp.10-22.
- Öktem, C., Aslan, F. (2021) 'Vitamin D Levels in Young Adult Cataract Patients: A Case-Control Study'. *Ophthalmic Research*, 64(1), pp.116-120.
- Özdoğan, D. (2022) 'ANALYZING THE EXPRESSION PATTERNS OF VITAMIN D METABOLIZING CYP27B1 AND CYP24A1 IN BRAIN TISSUE OF VITAMIN D

TREATED MICE WITH MULTIPLE SCLEROSIS (MS)'. Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Doğa ve Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Ankara.

Pacher, P., Beckman, J.S., Liaudet, L. (2007) 'Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease'. *Physiological Reviews*, 87(1), pp.315-424.

Packer, J.E., Slater, T.F., Willson, R.L. (1979) 'Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C'. *Nature*, 19;278(5706), pp.737-738.

Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q., Singal, P.K. (1999) 'Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease'. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(5-6), pp.746-761.

Pilz, J., Meineke, I., Gleiter, C.H. (2000) 'Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative'. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 9;742(2), pp.315-325.

Prokofyeva, E., Wegener, A. Zrenner, E. (2013) 'Cataract prevalence and prevention in Europe: a literature review'. *Acta Ophthalmologica*, 91(5), pp.395-405.

Rao, P., Millen, A.E., Meyers, K.J., Liu, Z., Volland, R., Sondel, S. et al. (2015) 'The Relationship Between Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels and Nuclear Cataract in the Carotenoid Age-Related Eye Study (CAREDS), an Ancillary Study of the Women's Health Initiative'. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 56(8), pp.4221-4230.

Rautiainen, S., Manson, J.E., Lichtenstein, A.H., Sesso, H.D. (2016) 'Dietary supplements and disease prevention - a global overview'. *Nature Reviews Endocrinology*, 12(7), pp.407-420.

Rizvi, S., Raza, S.T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S. Mahdi, F. (2014) 'The role of vitamin e in human health and some diseases'. *Sultan Qaboos University medical journal*, 14(2), pp.157-165.

Rullo, J., Pennimpede, T., Mehraban Far, P., Strube, Y.N., Irrcher, I., Urton, T. et al. (2020) 'Intraocular calcidiol: Uncovering a role for vitamin D in the eye'. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 197:105536.

Scholten, S., Sergeev, I., Birger, C., Song, Q. (2015) 'Effects of vitamin D and quercetin, alone and in combination, on cardiorespiratory fitness and muscle function in physically active male adults'. *Open Access Journal of Sports Medicine*, 24(6), pp.229-239.

Selcen, D., Engel, A.G. (2003) 'Myofibrillar Myopathy Caused by Novel Dominant Negative B-Crystallin Mutations'. *Ann Neurol*, 54(6), pp804-810.

Sella, R., Afshari, N.A. (2019) 'Nutritional effect on age-related cataract formation and progression'. *Current Opinion in Ophthalmology*, 30(1), pp.63-69.

Sharma, K.K., Santhoshkumar, P. (2009) 'Lens aging: effects of crystallins'. *Biochim Biophys Acta*, 1790(10), pp.1095-1108.

Shiels, A. Hejtmancik, J.F. (2017) 'Mutations and mechanisms in congenital and age-related cataracts'. *Exp Eye Res*, 156, pp.95-102.

Shiels, A., Bennett, T. M., Fielding Hejtmancik, J. (2010) 'Cat-Map: putting cataract on the map'. *Mol Vis*, 8(16), pp.2007-2015.

- Shiels, A., Hejtmancik, J.F. (2019) 'Biology of Inherited Cataracts and Opportunities for Treatment'. *Annual Review of Vision Science*, 5(1), pp.123-149.
- Sies, H. (1999) 'Glutathione and its role in cellular functions'. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(9–10), pp.916-921.
- Sies, H., Berndt, C., Jones, D.P. (2017) 'Oxidative Stress'. *Annual Review of Biochemistry*, 86(1), pp.715-748.
- Singh, S.P., Kaur, S., Gujral, U. (2016) 'Role of Malondialdehyde (MDA) in senile cataract'. *The Journal of Medical Research*, 2(2), pp.44-46.
- Smolarek, A.K., Suh, N. (2011) 'Chemopreventive Activity of Vitamin E in Breast Cancer: A Focus on γ - and δ -Tocopherol'. *Nutrients*, 3(11), pp.962-986.
- Simoliunas, E., Rinkunaite, L., Bukelskien, Z., Bukelskiene, V. (2019) 'Bioavailability of Different Vitamin D Oral Supplements in Laboratory Animal Model'. *Medicina*, 10;55(6):265.
- Soares, M.M., Silva, M.A., Garcia, P.P.C., da Silva, L.S., da Costaz, G.D., Araújo, R.M.A. et al. (2019) 'Effect of vitamin A supplementation: A systematic review'. *Ciencia e Saude Coletiva*, 24(3), pp.827-838.
- Stevens, V.I., Blair, R., Salmon, R.E., Stevens, J.P. (1983) 'Effect of Varying Levels of Dietary Vitamin D3 on Turkey Hen Egg Production, Fertility and Hatchability, Embryo Mortality and Incidence of Embryo Beak Malformations'. *Poultry Science*, 63(4), pp.760-764.
- Stocker, R., Weidemann, M.J., Hunt, N.H. (1986) 'Possible mechanisms responsible for the increased ascorbic acid content of Plasmodium vinckei-infected mouse erythrocytes'. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 2;881(3), pp.391-397.
- Su, L.J., Zhang, J.H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D. et al. (2019) 'Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis'. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 13;2019:5080843.
- Szychlińska, M.A., Imbesi, R., Castrogiovanni, P., Guglielmino, C., Ravalli, S., Rosa, M.D., et al. (2019) 'Assessment of Vitamin D Supplementation on Articular Cartilage Morphology in a Young Healthy Sedentary Rat Model'. *Nutrients*, 3;11(6):1260.
- Tanaka, T., Narazaki, M., Kishimoto, T. (2018) 'Interleukin (IL-6) Immunotherapy'. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1;10(8):a028456.
- Taylor, A. (1989) 'Associations between Nutrition and Cataract'. *Nutrition Reviews*, 47(8):225-34.
- Tengerdy, R.P. (1990) 'The Role of Vitamin E in Immune Response and Disease Resistance'. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 587, pp.24-33.
- Townsend, D.M., Tew, K.D., Tapiero, H. (2003) 'The importance of glutathione in human disease'. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 57(3–4), pp.145-155.
- Traber, M.G., Atkinson, J. (2007) 'Vitamin E, antioxidant and nothing more'. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1), pp.4-15.
- Truscott, R.J.W. (2005) 'Age-related nuclear cataract-oxidation is the key'. *Experimental Eye Research*, 80(5), pp.709-725.

- Tsikas, D. (2017) 'Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges'. *Analytical Biochemistry*, 1;524, pp.13-30.
- Tu, B.P., Weissman, J.S. (2004) 'Oxidative protein folding in eukaryotes'. *Journal of Cell Biology*, 2;164(3), pp.341-346.
- Tugrul, S., Koçyiğit, A., Doğan, R., Eren, S. B., Senturk, E., Ozturan, O. et al. (2016) 'Total antioxidant status and oxidative stress in recurrent aphthous stomatitis'. *International Journal of Dermatology*, 55(3):e, pp.130-135.
- Turgut, B., Ergen, İ., İlhan, N. (2017) 'The Protective Effect of Sesamol in the Selenite-induced Experimental Cataract Model'. *Türk Oftalmoloji Dergisi*, 47(6), pp.309-314.
- Uchida, K. (2000) 'Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases'. *Free Radical Biology and Medicine*, 15;28(12), pp.1685-1696.
- Umran, N.S.S., Mohamed, S., Lau, S.F., Mohd Ishak, N.I. (2020) 'Citrus hystrix leaf extract attenuated diabetic-cataract in STZ-rats'. *Journal of Food Biochemistry*, 44(8):e13258.
- Varma, S.D., Chand, D., Sharma, Y.R., Kuck, J.F., Richards, R.D. (1984) Oxidative Stress on Lens and Cataract Formation: Role of Light and Oxygen. *Current Eye Research*, 3(1), pp.35-57.
- Varma, S.D., Hegde, K.R. (2004) 'Effect of α -ketoglutarate against selenite cataract formation'. *Experimental Eye Research*, 79(6), pp.913-918.
- Velpandian, T., Gupta, P., Ravi, A.K., Sharma, H.P., Biswas, N.R. (2013) 'Evaluation of pharmacological activities and assessment of intraocular penetration of an ayurvedic polyherbal eye drop (Itone™) in experimental models'. *BMC Complement Altern Medicine*, 2;13:1.
- Vulovic, T.S.S., Pavlovic, S.M., Jakovljevic, V.L., Janicijevic, K.B., Zdravkovic, N.S.. (2016) 'Nitric oxide and tumour necrosis factor alpha in the process of pseudoexfoliation glaucoma'. *International Journal of Ophthalmology*, 9, pp.1138-1142.
- Vurmaz, A., Duman, R., Sabaner, M.C., Ertekin, T., Bilir, A. (2019) 'Antioxidant effects of piperine in in-vivo chick embryo cataract model induced by steroids'. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 38(2), pp.182-189.
- Vurmaz, A., Ertekin, A., Sabaner, M.C., Atay, E., Bozkurt, E., Bilir, A. (2021) 'Effects of vitamin E in a glucocorticoid induced cataract model in chicken embryos'. *Biotechnic & Histochemistry*, 96(6), pp.431-438.
- Wang, A., Han, J., Jiang, Y., Zhang, D. (2014) 'Association of vitamin A and β -carotene with risk for age-related cataract: A meta-analysis'. *Nutrition*, 30(10), pp.1113-1121.
- Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., Hekimi, S. (2018) 'Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling'. *Journal of Cell Biology*, 4;217(6), pp.1915-1928.
- Webb, A.R., DeCosta, B.R., Holick, M.F. (1989) 'Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D3 by causing its photodegradation'. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 68(5), pp.882-887.

- Weeber, H.A., Eckert, G., Pechhold, W., van der Heijde, R.G.L. (2007) 'Stiffness gradient in the crystalline lens'. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 245(9), pp.1357-1366.
- Wimalawansa, S.J. (2019) 'Vitamin D deficiency: Effects on oxidative stress, epigenetics, gene regulation, and aging'. *Biology*, 11;8(2):30.
- Winkler B.S., Riley M.V. (1991) 'Relative contributions of epithelial cells and fibers to rabbit lens ATP content and glycolysis'. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 32(9), pp.2593-2598.
- Wu, G., Fang, Y.Z., Yang, S., Lupton, J.R., Turner, N.D. (2004) 'Glutathione Metabolism and Its Implications for Health'. *The Journal of Nutrition*, 134(3), pp.489-492.
- Yan, S.S., Wang, W. (2016) 'The effect of lens aging and cataract surgery on circadian rhythm'. *International Journal of Ophthalmology*, 9(7), pp1066-1074.
- Yoden, K., Iio, T. (1989) 'Determination of thiobarbituric acid-reactive substances in oxidized lipids by high-performance liquid chromatography with a postcolumn reaction system'. *Anal Biochem*, 182(1), pp.116-20.
- Yu, B.P. (1994) 'Cellular defenses against damage from reactive oxygen species'. *Physiological Reviews*, 74(1), pp.139-162.
- Yüncü, M., Bükücü, N., Bayat, N., Sencar, L., Tarakçıoğlu, M. (2015) 'The effect of vitamin E and L-carnitine against methotrexate-induced injury in rat testis'. *Türk Tıp Bilimleri Dergisi*, 45(3), pp.517-525.
- Zhang, S., Zhang, K., He, W., Lu, Y. Zhu, X. (2021) 'Quantitative Phosphoproteomic Comparison of Lens Proteins in Highly Myopic Cataract and Age-Related Cataract'. *BioMed Research International*, 10;2021:6668845.
- Zhang, Y., Jiang, W., Xie, Z., Wu, W., Zhang, D. (2015) 'Vitamin E and risk of age-related cataract: a meta-analysis'. *Public Health Nutrition*, 18(15), pp.2804-2814.
- Zhu, H. Zhang, Z. (2021) 'Emerging Trends and Research Foci in Cataract Genes: A Bibliometric and Visualized Study'. *Front Genet*, 9;(12):610728.
- Zielińska, M.A., Wesołowska, A., Pawlus, B., Hamulka, J. (2017) 'Health effects of carotenoids during pregnancy and lactation'. *Nutrients*, 4;9(8):838.
- Zmijewski, M.A., Carlberg, C. (2020) 'Vitamin D receptor(s): In the nucleus but also at membranes?'. *Experimental Dermatology*, 29(9), pp.876-884.