



T.C. BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
BAŞKENT TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DEĞİŞİK KATARAKT TİPLERİNDE NANO İNDENTASYON İLE ÖN
LENS KAPSÜLÜNÜN ELASTİK MODÜLÜS ÖZELLİKLERİ VE
KAPSÜL MORFOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. HÜSEYİN CEM ŞİMŞEK

ANKARA-2014



T.C. BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
BAŞKENT TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**DEĞİŞİK KATARAKT TİPLERİNDE NANO İNDENTASYON İLE ÖN
LENS KAPSÜLÜNÜN ELASTİK MODÜLÜS ÖZELLİKLERİ VE
KAPSÜL MORFOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HÜSEYİN CEM ŞİMŞEK

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. SİBEL OTO

ANKARA-2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik deneyimlerini benimle paylaşan, uzmanlık tezimi hazırlamamda bana yardımcı olan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Sibel Oto'ya,

Uzmanlık tezine başlarken fikir aşamasında sağladığı katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Emine Demirel Yılmaz'a,

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, huzurlu bir klinikte çalışma fırsatı sağlayan, saygıdeğer hocam Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Gürsel Yılmaz'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bana rehberlik eden, iyi ve donanımlı bir hekim olarak yetişmem için elinden gelen tüm çabayı gösteren, klinik ve cerrahi tecrübelerimin gelişmesinde büyük katkısı olan, iyi bir doktor ve iyi bir insan olma hususunda kılavuz olan, değerli hocam Prof. Dr. Dilek Dursun Altınörs'e,

Asistanlık eğitimim süresince teorik ve pratik deneyimlerini benimle paylaşan kliniğimizin değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Ahmet Akman, Doç Dr. Aylin Karalezli, Doç. Dr. İmren Akkoyun, Uz. Dr. Ali Kal ve Uz. Dr. Sirel Gür Güngör'e,

ODTU merkez laboratuvarındaki ölçümlerdeki katkılarından dolayı Zafer Artvin'e, histolojik ve morfolojik değerlendirme aşamasındaki katkılarında dolayı Histoloji-Embriyoloji ABD Bşk. Prof.Dr. Atilla Dağdeviren'e, araştırma aşamasındaki yardımlarından dolayı Dr. Onur Gökmen'e,

Yaşamım boyunca sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen, iyi ve kötü günümde her zaman yanımda olan anne, baba ve kardeşlerime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Hüseyin Cem Şimşek

Temmuz 2014, Ankara

ÖZET

Bu çalışmada nano indentasyon cihazı kullanılarak, katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan, psödoeksfoliasyon sendromu olan ve ön kameraya tripan mavisini verilen olgularda lens ön kapsülünün elastik modülüs ve sertlik gibi mekanik özelliklerinin değerlendirilmesi aynı zamanda bu değerlerin yaşla korelasyonunun ölçülmesi amaçlanmıştır. Ayrıca tarayıcı elektron mikroskop ile bu 3 grupta kapsül kalınlığının ölçülerek karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Ocak 2014 ve Haziran 2014 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Bölümü'nde normal senil katarakt tanısıyla opere edilen (grup1) psödoeksfoliasyonu olan hastalar (grup2) ve ön kamarada kapsül boyası olarak tripan mavisini(TM) (0,06% Blue Rhexis) verilen (grup3) 3 grup oluşturulmuştur. Her grupta 24 olgu olmak üzere toplam 72 olgu yer almaktadır. Hastaların katarakt operasyonu sırasında çıkarılan ön lens kapsülleri çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınan hastalarda gözde katarakt dışında ek patoloji, göze herhangi bir ilaç uygulaması ve sistemik herhangi bir hastalık bulunmamaktadır. CSM instrument nanoindentasyon tester cihazı kullanılarak Oliver & Pharr metodu ile esneklik, Martens Hardness metodu ile sertlik değerlendirilmiştir. Buna ek olarak FEI Quanta 400F Tarayıcı elektron mikroskop (SEM) kullanılarak kapsül kalınlıkları ölçülmüştür.

Yaş ve cinsiyet bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p= 0,997$). FEI Quanta 400F Tarayıcı elektron mikroskop (SEM) kullanılarak kapsül kalınlığı açısından değerlendirildiğinde katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunun kapsül kalınlığı ortalaması $18.19 \pm 2.18 \mu\text{m}$, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda $18.41 \pm 2.64 \mu\text{m}$, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grupta ise 18.36 ± 1.95 olarak ölçüldü. Kapsül kalınlığı açısından bakıldığında üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,975$).

Nano indentasyon tester cihazı ile Oliver & Pharr metodu kullanılarak yapılan Young's modülüs ölçümlerde grup 1 de ön kapsül esneklik ortalaması $7.53 \pm 1.07 \text{ GPa}$, grup 2de ortalama $6.007 \pm 1.25 \text{ GPa}$, grup 3 te ise ortalama $8.12 \pm 0.98 \text{ GPa}$ olarak ölçüldü. Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu diğer iki grupta anlamlı derecede esnekliği fazla olarak ölçüldü ($p=0.000$). TM kullanılan grupta kapsül esnekliği normal gruptan daha az bulundu ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,942$).

Nano indenter ile ön kapsül sertliği ölçümlerinde grup 1 de kapsül sertliği ortalama $326.41 \pm 98.40 \text{ MPa}$, grup 2 de $210,5 \pm 52.32 \text{ MPa}$, grup 3 de ise ortalama $315.54 \pm 163.15 \text{ MPa}$ olarak ölçüldü. Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda kapsül sertliği diğer iki gruptan anlamlı derecede az olarak saptandı ($p<0.01$).

TEM kullanılarak ölçülen ön lens kapsül kalınlık değerlerine bakıldığında 3 grup arasında kapsül kalınlığı açısından anlamlı fark görülmezken yaşla olan korelasyonunda yaş artışıyla birlikte kapsül kalınlığında da artış saptanmıştır. Nano indenter kullanılarak ön lens kapsülü sertlik ve esneklik değerlerine bakıldığında ise psödoeksfoliasyonlu kapsülü olan hastalar grubunun normal hasta grubuna ve TM kullanılan hasta grubuna göre esnekliğinin daha fazla sertliğinin ise daha az olduğu bulunmuştur. TM kapsül sertliğini arttıran ve esnekliği azaltan bir faktör olarak bulunmadı.

Anahtar Kelimeler: Nanoindentasyon, AFM, elastik modülüs, sertlik, lens ön kapsülü, katarakt

ABSTRACT

Evaluation Of The Human Anterior Lens Capsule Elastic Modulus And Morphology In Different Types Of Cataracts By Using Nanoindentation.

To evaluate and compare the elastic modulus, hardness and mechanical properties of the human anterior lens capsule in different types of cataract patients by using nanoindentation device and also to investigate the correlation of these measurements with patient age. Also capsule thickness was measured by using scanning electron microscope (SEM) to investigate the influence of age, pseudoexfoliation and trypan blue on capsule thickness.

The study evaluated 72 patients having cataract surgery between January 2014 and June 2014 at Baskent University Department of Ophthalmology. Patients were investigated in 3 groups. Group 1 consisted of 24 patients with normal senile cataract, group 2 patients (n=24) had pseudoexfoliation syndrome and group 3 patients (n=24) had dye-enhanced cataract surgery (0.06% Blue Rhexis). The anterior lens capsules were removed by curvilinear capsulorhexis during routine cataract surgery. Capsules were analyzed by using CSM instrument nanoindentation tester device. Young's Modulus elasticity was measured by Oliver & Pharr method and capsule hardness by Martens Hardness method. In addition the thickness of the anterior lens capsule was measured with FEI Quanta 400F Scanning Electron Microscopy (SEM).

There was no significant difference in 3 groups regarding age ($p=0.997$). The average capsule thickness measured by SEM was $18.19 \pm 2.18 \mu\text{m}$ in Group 1, $18.41 \pm 2.64 \mu\text{m}$ in Group 2 and $18.36 \pm 1.95 \mu\text{m}$ in Group 3. In terms of capsule thickness, the difference between the 3 groups was not significant ($p=0.975$).

Young's modulus measured by nano indentation test device with Oliver & Pharr method $7.53 \pm 1.07 \text{ GPa}$ in Group 1, $6.007 \pm 1.25 \text{ GPa}$ in Group 2 and $8.12 \pm 0.98 \text{ GPa}$ in Group 3. Capsules obtained from patients with pseudoexfoliation syndrome were significantly more elastic than the other two groups ($p=0.000$). Patients with intracameral trypan blue (TB) application (group 3) revealed lower elasticity comparing to the normal group (group 1) but the difference was not statistically significant ($p = 0.942$).

Mean capsule stiffness values by Nano indentation device according to Martens Hardness method were $326.41 \pm 98.40 \text{ Mpa}$ for Group 1, $210.5 \pm 52.32 \text{ Mpa}$ for Group 2 and $315.54 \pm 163.15 \text{ Mpa}$ for Group 3. Capsule samples from pseudoexfoliation syndrome group displayed less stiffness comparing to the other two groups ($p < 0.01$).

There was no significant difference in mean capsule thickness in 3 groups measured by SEM. Capsule thickness displayed an increase correlated with increasing age in all groups. The anterior lens capsules of patients with pseudoexfoliation syndrome had more elasticity and less stiffness comparing to the other two groups. Intracameral TB application had no effect on capsule elasticity and stiffness.

Key words: Nano-indentation, AFM, elastic modulus, hardness, anterior lens capsule, cataract

İÇİDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİDEKİLER.....	v
KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ.....	x
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Lensin Embriyolojisi.....	2
2.2. Lensin Histolojisi	2
2.2.1. Kapsül	2
2.2.2. Lens Epiteli	3
2.2.3. Lens Fibrilleri.....	3
2.3. Lensin Anatomisi	4
2.4. Lensin Fizyolojisi ve Biyokimyası	5
2.5. Katarakt ve Katarakt Cerrahisinde Güncel Yaklaşımlar.....	7
2.6. Katarakt Cerrahisi	8
2.6.1 Fakoemülsifikasyon	8
2.6.2. Fakoemülsifikasyonda Kapsülün Rolü ve Kapsüloreksis	8
2.6.3. Katarakt Cerrahisinde Adjuvan Olarak Vital Boyaların Kullanımı	9
2.7. Psödoeksfoliasyon Sendromu	9
2.7.1 Tanım	9
2.7.2 Tarihçe.....	10
2.7.3. Terminoloji.....	10
2.7.4. İnsidans	10
2.7.5. Genetik özellikler	11
2.7.6. Bilateralite	11
2.7.7. Eksfoliatif materyalin kaynağı	12
2.7.8 Psödoeksfoliasyonda Tanı ve Sınıflandırma	14
2.7.9. PES’ te Katarakt Cerrahisinde Karşılaşılan Kapsül Komplikasyonları	15

2.8. Nano ve Mikro Mekanik Test Cihazı.....	16
2.8.1. Nano İndentör Cihazı ve Çalışma Prensipleri	16
2.8.2. Mikro Çizik (Scratch) Test Cihazı	17
2.8.3. Atomik Force Mikroskop (AFM).....	18
2.8.4. Optik Mikroskop	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1. Örnek Hazırlanması ve Değerlendirilmesi.....	20
3.2. İndentasyon Tekniği	21
3.2.1. İndentasyon Tekniği Verileri	23
3.3. Elastisite Modül ve Sertlik Değerlerinin Ölçümü.....	24
3.4. Tarayıcı Elektron Mikroskop ile Kapsül Kalınlığının Değerlendirilmesi	27
3.5. İstatistiksel Yöntem	27
4. BULGULAR	28
4.1. Demografik Özellikleri	28
4.2. TEM ile Ön Kapsül Kalınlıkları Ölçümü	28
4.3. Young's Modülüs Elastisitesinin Nano İndenter ile Ölçümü	31
4.4. Kapsül Sertliği	33
5. TARTIŞMA.....	35
SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	42

KISALTMALAR

PES	- Psödoeksfoliatif Sendrom
WHO	- Dünya Sağlık Örgütünün
CCC	- Kontinü Kurvilineer Kapsuloreksis
TM	- Tripan mavisi
LOH	- Loss of heterozygosity
HLA	- Human lökosit antigen
HSV	- Herpes Simpleks Virus
GİL	- Göziçi Lens
AFM	- Atomik Force Mikroskop
SEM	- Tarayıcı Elektron Mikroskop
TEM	- Transmisyon Elektron Mikroskop
FEM	- Alan-elektron Emisyonu Mikroskobu
EIT	- The Elastic Internal Traction
HIT	- The Hardness Internal Traction
LOXL1	- Lizil oksidaz 1 benzeri enzim

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Labratuarında bulunan “CSM instrument nanoindentation tester” cihazı.	17
Şekil 2.2.	Mikro çizik test cihazının nasıl ölçüm yaptığını gösteren çizim.	18
Şekil 2.3.	Nano indenter test cihazının meydana getirdiği izin AFM kullanılarak elde edilen 3 boyurlu görüntüsü.	18
Şekil 3.4.	a) Tarayıcı elektron mikroskop altında Nano indenterin kapsül üzerinde meydana getirdiği izler görünmektedir. b) 20x büyütmede optik mikroskop altında ölçüm alınmış psödoeksfoliasyonlu kapsülden alınan görüntü.	20
Şekil 3.5.	a) Optik mikroskopta 50x büyütmede ölçüm alınacak alanın tespit edilmesi. b) Optik mikroskopta 100x büyütmede ölçüm sonrası nano indenterin kapsül üzerinde meydana getirdiği izler.	21
Şekil 3.6.	İndentasyon yük-derinlik ($P-h$) eğrilerinin şematik grafiği.	22
Şekil 3.7.	a-) indentasyon kesiti b-) yükleme-yer değiştirme eğrisinde Oliver ve Pharr metodu kullanılarak değerlerin ifade edilmesi.	23
Şekil 3.8.	Yükleme ve boşaltma $P - h$ eğrisi üzerindeki önemli noktalar.	24
Şekil 3.9.	Ölçüm yapılmış kapsülün indentasyon tester cihazının atomik force mikroskobu kullanılarak yüzey görüntüsü.	26
Şekil 3.10.	Ölçüm yapılmış kapsülün indentasyon tester cihazının atomik force mikroskobu kullanılarak alınmış 3 boyutlu görüntüsü.	27
Şekil 4.11.	Katarakt cerrahisi sırasında kullanılan kapsül boyasının tarayıcı elektron mikroskop altındaki görüntüsü.	29
Şekil 4.12.	Üç farklı gruptaki kapsüllerin kalınlıklarının tarayıcı elektron mikroskop (SEM) altındaki ölçümleri. a) Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastanın kapsül ölçüm görüntüsü, b) psödoeksfoliasyon sendromlu hastanın kapsül görüntüsü, c) katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup kapsül ölçüm görüntüsü.	30
Şekil 4.13.	Lens ön kapsülünün tarayıcı elektron mikroskobu altındaki farklı büyütmelerdeki görüntüsü.	30

- Şekil 4.14.** Psödoeksfoliasyon materyalinin ve ön lens kapsülünün tarayıcı elektron mikroskop kullanılarak farklı büyütme oranlarında elde edilen görüntüleri..... 32
- Şekil 4.15.** Oliver & Pharr Metodu kullanılarak aynı kapsül üzerinden alınan farklı esneklik ölçümlerinin bilgisayar ortamına aktarıldığında aynı kapsül üzerindeki farklı 6 farklı ölçümün oluşturduğu eğriler. X koordinatı yük Y koordinatı derinliği göstermektedir..... 32
- Şekil 4.16.** Martens Hardness metodu kullanılarak nano indenter ile ölçülen ön kapsül sertlik (hardness) ölçümünün bilgisayar ortamında grafiğe aktarılması..... 34

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1.	Elastik iş ile plastik iş arasındaki ilişkiyi gösteren formül.	22
Tablo 4.2.	Kapsül esnekliği ve sertliği bakılan hastaların demografi tablosu.	28
Tablo 4.3.	Kapsül kalınlığı bakılan hastaların demografi tablosu.	31
Tablo 4.4.	Oliver & Pharr Metodu kullanılarak aynı kapsül üzerinden alınan farklı esneklik ölçüm değerleri. Aynı kapsül üzerinde yapılan 6 farklı ölçümün değerleri. EIT (The Elastic Internal Traction).....	33
Tablo 4.5.	Martens Hardness metodu kullanılarak nano indenter ile ölçülen ön kapsül sertlik (hardness) ölçümün değerleri. HIT (The Hardness Internal Traction).....	34

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Lens kapsülü göz merceğini tamamen çevreleyen esas olarak kollejenden oluşan fibrilin, laminin ve heparin sülfat içeren viskoelastik bir zar yapısındadır.¹ Kapsül lensin yapısını korur ve akomodasyonda önemli bir rol oynar. Akomodasyon sırasında şekil değiştiren lense belirli bir kalıp içinde tutarak bu işlevi gerçekleştirir.² Presbiyopi oluşmasındaki lens ve kapsül tabanlı teoriye göre yaşla birlikte lens ve kapsüldeki elastisite azalması presbiyopi oluşumuna sebep olmaktadır.³ Kapsülde meydana gelen elastisite kaybı lensin akomodasyon için gereken şekil değişikliklerine uyum sağlayamamasına sebep olmaktadır. Kapsülün mekanik özelliklerinin tam anlamıyla belirlenmesi akomodasyona etkisinin öğrenilmesini tam olarak sağlayabilir.⁴

Psödoeksfoliatif sendrom (PES), tanısı klinik olarak konan, lens ön kapsülü ve/veya pupil kenarında gri beyaz fibrogranüler psödoeksfoliasyon materyali adı verilen maddenin ön segment muayenesinde görülmesi ile karakterize bir patolojidir.^{5,6} Psödoeksfoliasyon materyali, lens ön kapsülü ve iris dışında trabeküler yapı, zonüler bölge, siliyer cisim prosesleri, vitreus ön yüzeyi gibi pek çok göz dokusunda da saptanmıştır. Psödoeksfoliasyonlu gözlerde lens zonülleri, siliyer cisim ve lense yapışma yerlerinden mekanik gevşeme ve enzimatik zonüloliz sonucu ayrılır. Bu da klinik olarak iridofakodonezis, spontan lens sublüksasyonu veya dislokasyonu ile sonuçlanmaktadır.^{7,8,9}

Fakoemülsifikasyon yöntemi ile katarakt cerrahisi sırasında kapsüloreksis adı verilen yöntem ile lens ön kapsülü yuvarlak şekilde açılarak ultrasonografi dalgaları ile lens emülsifiye edilmektedir. Olmuş senil katarakt cerrahisinde kırmızı retina refleksi yeterli olmadığı zaman ön kapsülün görünübilirliğini kolaylaştırmak amacı ile ön kameraya tripan mavisi boya olarak verilmektedir.

Nano indenstasyon yöntemi bir doku yada malzemenin uygulanan yüke karşı oluşturduğu tepkiye bağlı olarak elastisite ve sertlik gibi mekanik özelliklerinin tespitini sağlar. Bu teknik indeterin yükleme ve boşalma siklusu sırasında uyguladığı yük ve penetre olduğu derinliğin ölçümünün bilgisayar ortamında hesaplanması temeline dayanır.¹⁰

Bu çalışmada nano indentasyon cihazı kullanılarak, katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular ve ön kameraya tripan mavisi verilen olgularda lens ön kapsülünün elastik modülü ve sertlik gibi mekanik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca tarayıcı elektron mikroskop ile bu 3 grupta kapsül kalınlığının ölçülerek karşılaştırılması hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Lensin Embriyolojisi

Lens, ektoderm üzerindeki optik kabarcığın invajinasyonu ile oluşur. Gebeliğin 6. haftasında embriyonik nükleus gelişir. Embriyonik nükleusun etrafını fetal nükleus sarar. Doğuma kadar embriyonik ve fetal nükleus lensin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Lensin Y sütürleri fetal nükleusun sınırlarını göstermektedir. Y sütürlerinin periferindeki lens materyali kortektir. Y sütürünü içine alan lens materyali ise nükleustan kaynaklıdır. Biyomikroskop ile bakıldığında ön Y sütürlerinin yukarı, arka Y sütürlerinin ise aşağı doğru olduğu görülür. Lens dış tarafı bazal membran ile çevrili, şeffaf, sinir innervasyonu ve kan damarlarıyla beslenmesi olmayan vücuttaki yegâne yapıdır. Embriyonik hayatın ilk birkaç haftası boyunca optik çukurluğu çevreleyen yüzey ektodermi bazal membranı çevreleyen hücrelerin yüzeyinden invajine olur. Yüzey ektodermi daha sonra göz kapağı derisini, konjonktiva epitelini ve kornea epitelini oluşturur. Lens kabartısının öndeki hücreleri basık küboidal hücre tabakası halini alırken arkadaki hücreleri uzar, çekirdeklerini kaybeder ve lens iplikçikleri haline dönüşür. Lens iplikçikleri hücrelerin ince ve uzun olmasından dolayı bu ismi almışlardır.¹¹ Lens epiteli ektodermal orjinli olup lens ekvatorunda hayat boyu replikasyonunu devam ettirir. Ömrünü tamamlayan hücreler derideki gibi dökülememesinden lensin hayat boyu ön - arka çapı artmaktadır.¹²

Anterior vasküler kapsül gestasyonun 9. haftasında tamamen gelişmiş haldedir ve doğumdan hemen önce kaybolur. Bazen normal yetişkin gözlerde posterior vasküler kapsülün kalıntısı lensin arka yüzeyinde küçük bir opasite halinde kalır. Buna Mittendorf noktası denilir.¹¹

2.2. Lensin Histolojisi

Lens histolojik olarak kapsül, lens epiteli ve lens fibrilleri olarak 3 yapıdan oluşur.

2.2.1. Kapsül

Lensin yapısal elemanları olan epitel hücrelerini ve fibrilleri dışarıdan sararak koruyan elastik, şeffaf bazal bir membrandır. İnsan vücudundaki diğer bazal membranlardan farklı olarak yaş ilerledikçe kalınlaşmaktadır. Bu özelliğinden dolayı insan vücudundaki en kalın bazal membrandır. Ön kapsül, lensin epitel hücrelerinden, arka kapsül ise bu hücrelerin uzantılarından oluşur. Ön kapsül, doğumda 8 mikron (μ) iken

giderek 14 μ 'a kadar kalınlaşır. Arka kapsül ise 4 μ kalınlığındadır ve değişikliğe uğramaz. İnsan lens ön kapsülü periferde ve ekvator da farklı kalınlıklardadır ve yaşla kalınlığı artmaktadır. Ön kapsülün ortalama kalınlığı yaklaşık olarak 15-22 μ m arasında değişmektedir. Kapsül, fibrillerden oluşan lameller yapıdadır. Kırk kadar lamelden oluşur. Dış fibriller içtekilere göre daha sıkı yapıdadır. Kapsül fibrillerinin çoğu tip IV, daha az kısmı ise tip I ve Tip III kollajenden oluşur. Kapsül geçirgendir. Yetmiş kDa (kilodalton) büyüklüğüne kadar olan molekülleri geçirir¹²⁻¹⁵

2.2.2. Lens Epiteli

Ön kapsül altında tek sıralı dizilmiş hegzagonal hücreler tabakasıdır. Hücrelerin şekli kübik olup 10 x 15 μ ölçülerindedir. İki tipi vardır; merkezde olanları sabittir, ekvator da olanları ise hayat boyunca epitel hücresi üretirler. İntrauterin hayatta çoğalmaya başlayan lens epitel hücreleri yüzeysel ektoderm kökenli olduğu için apikal kısmı içe, tabanı dışa dönük şekilde dizilmişlerdir. Yassı ve iri nükleuslu olup cm^2 de 5000 hücre bulunur. Organellidir ve hücre iskelet proteinleri içerir.¹⁶

Kendine has olan bu proteinler poligonal uzantılı mikroflamanlardır. Yan duvara tutunurlar ve uyum sırasında yapının düzenini sağlarlar. Sadece alfa kristalin içerirler. Hücre yan duvarları girintili çıkıntılıdır. Aralarında çapraz bağ ve tıkaç yoktur. Dezmozomlarla tutunurlar. Bu özelliği ile küçük molekülü metabolit ve iyon alışverişini sağlarlar.¹⁷

2.2.3. Lens Fibrilleri

Lensin ana yapı elemanlarıdır. Ekvator çevresinde bulunan ve mitotik özelliğe sahip lens epitel hücreleri tarafından üretilirler. Bu hücreler 80 yaşına kadar 200 milyon lens fibrili üretir. Hücreler bölünerek uzarlar ve 280° 'U' şeklinde döner. Nükleusları ekvatora yakın olduğu için, uzanan kısımlarında organellerin olmaması sebebiyle lens şeffaflığı sağlanır. İntrauterin hayatın ilk 3 ayında lens vezikülünden gelişen birincil lens fibrillerinin etrafını saran ikincil lens fibrilleri doğuma kadar fetal nükleusu oluşturular. Fibriller yerleştikleri yerde bu dönemde önde Y, arkada ters Y şeklinde birleşir ve sütür denilen yapılar oluşur. Sekizinci aya kadar küre şeklinde olan lens zamanla yassılaşır. 4 yaşına kadar devam eden kabuklaşma olayı sonucu infantil nükleus oluşur. Bu oluşumda yeni ve genç olan hücreler en üstte ve kapsüle yakın paketler halindedir. Hücreler arası alan lensin sadece % 1.3'üdür. İnce uzun olan bu liflerlerin ön kısmı kalın, arka kısmı

inedir. Uzunluğu 10 mm, genişliği 2 μ ve kalınlığı 10 μ 'dur. Embriyonik nükleusta sütür yoktur. Fötal döneme kadar 3 dallı olan sütür yapısı orta yaşta 20 dallıdır. Her dallanma yeni bir lens fibril katmanını ifade eder. Kapsül elastikiyeti fazla olmadığı için oluşan fibril katmanlarının basıncıyla en içteki nükleuslarda sıkışma ve su kaybı sonucu skleroza bağlı olarak sertleşme olur. Lens merkezinde kolesterol / fosfolipid oranı % 65 iken periferde % 35 oranında olması bunu gösterir. Lensin iç yapısında oluşan bu olaylar sonucu gençlerde hızlı bir büyüme olmasına karşın bu hızlı büyüme ilerleyen yaşla beraber azalır. Başlangıçta 80 mm² olan lens yüzeyi yaşla birlikte 180 mm²'ye çıkar. Epitel hücre ve fibrin yapısı ilk 20 yaşta % 45 – 50 oranında artar. Bunların sonucunda doğumda 65 mg olan lens, 1 yaşında 125 mg'a, 20 yaşında 152 mg'a ve 90 yaşında 260 mg'a ulaşır. Doğumdaki ön arka kalınlığı 3.5 mm'den erişkinlerde 5.5 mm'ye, çapı ise doğumda 5 mm'den 20 yaşında 10 mm'ye çıkar.^{18,19}

Zamanla sertleşen embriyonik ve fötal nükleusa klinik pratiğinde nükleus; etrafındaki daha yumuşak olan yetişkin nükleusa ise epinükleus denilir. Bir insanın 65 yaşındaki lensinin % 65'i nükleus ve % 35'i korteks haline dönüşür. Böylece lens topografik olarak kapsül, korteks ve nükleustan oluşur.²⁰

2.3. Lensin Anatomisi

Lens, irisin arkasında, vitrenin önünde ince kenarlı (bikonveks), saydam bir mercektir. Işığı kırmak ve akomodasyonu sağlamakla görevlidir. Yeni doğanlarda ve çocuklarda yumuşaktır. Yetişkinlerde giderek sertleşir. Ön ve arka yüzlerin eğrilikleri küresel değildir, paraboliktir. Arka yüzün eğriligi, ön yüze göre daha fazladır. Yenidoğanlar da, lensin çapı 6,5 mm, ön arka kutuplar arası kalınlığı 3.5mm'dir. Yetişkinlerde; çap 9 mm, kalınlık 5 mm olur.²¹

Kanlanması ve innervasyonu yoktur. Lens ön yüzü, iris pigment epiteliyle temas halindedir. Arka yüz 25 yaşına kadar Wieger ligamentiyle, vitrenin ön hiyaloid zarına yapışıktır. Daha sonra yapışıklık yerini basit bir yaslanmaya bırakır. Ön ve arka yüzlerin birleştiği ekvator, silyer proseslerden 0,5-1 mm uzaklıktadır. Lens, Zinn lifleriyle asılı olarak durmaktadır. Zinn lifleri, korpus silyarenin pars plicatası ve pars planasının pigmentsiz epiteli ile lens kapsülü arasındadır.²²

Lensin kırıcılık indeksi merkezde 1,4 periferde ise 1.36'dır. İstirahat durumunda insan gözünün yaklaşık 60 D'lik konverjan kırıcılığının 19,7 D'si lense aittir. Histolojik

olarak lens kapsül, epitel ve lensin içini dolduran lens liflerinden (nükleus ve korteks) oluşur.²³

2.4. Lensin Fizyolojisi ve Biyokimyası

Lensin damar yapısı ve sinir uyarısı yoktur. Ana görevi uyum işlevini yapmaktır. Embriyonik hayatın başında kesifken, beslenme sonucu zamanla şeffaflaşır. Şeffaf olmasının başlıca nedenleri, lensin ana yapı elemanları olan fibrillerin hegzogonal yapıları ve hücreler arası boşluğun çok az olmasıdır. Kırıcılık indeksi 1.41'dir. Lensten geçen ışık spektrumu tüm renklerine ayrılır. Sarı ışık 570 – 595 nm ile retinada, mavi ışık 440 – 570 nm ile retina önünde, kırmızı ışık 620–770 nm ile retina arkasında odaklaşır. Bu kromatik sapma, lensin uyum yapması sonucu retinada odaklanır. Bebeklerde lensten görünen ışığın % 90'ı retinaya geçer. Yaşla lenste meydana gelen değişiklikler sonucu bu oranda azalma meydana gelir. On yaşındaki bir çocuğun lensi % 70 oranında geçirgen iken bu oran 25 yaşında % 20'ye düşer. Lens epitelinde DNA, RNA, protein ve lipid sentezi yapılır, lensin metabolik aktivitesi için ATP üretilir.¹²

Normal lensin % 65'ini su % 35'ini protein oluşturur. Proteinler suda eriyen sitoplazmik, suda eriyemeyen hücre iskeleti ve plazma membranı tipindedirler. Suda eriyebilen proteinler alfa kristalin olup tüm lens proteinlerinin % 90'ını oluştururlar. Bu protein lense özeldir ve diğer proteinler için antijeniktir. Yaş ilerledikçe polipeptidlerde bozulma, erime ve sülfidril gruplarında azalma görülür. Bunun sonucunda lensin şeffaflığı bozulur. Lensin şeffaflığı hem hücresel hem de moleküler seviyede korunur. Lens, oksidatif harabiyete karşı vitamin E gibi lens membranlarında bulunan antioksidatif maddelerle korunur. Azalan glutathion sentez edilerek yüksek seviyede tutulur. Bu da lens proteinlerinden tiol ve askorbatları düşük seviyede tutar. Intrauterin hayatta lensi besleyen tunika vasküloza lentisin doğumla birlikte yok olması sonucu lens metabolik gereksinimlerini hümör aköz ve vitreustan sağlar. Bu olay Gibbs-Donan dengesi çerçevesinde, lens kapsülünün su, iyon ve albümin gibi ufak moleküllü maddelerin geçirilmesiyle gerçekleşir. Buna karşın epitel hücreleri ve fibriller arasında karmaşık bir taşıma sistemi mevcuttur. Örneğin lensin arka tarafında sodyum miktarı yüksekken, potasyum ön bölgede daha fazladır. Lense potasyum girerken sodyum çıkar. Burada Na ATPase, K ATPase ve K pompası rol alır. Enerji gereksinimini glukozid metabolizmasından sağlar. Glukozid metabolizması anaerobik glikoz, Krebs siklusu ve

direkt oksidasyon ile hegzomonofosfat yoluyla. Lens damarsız olduğu için oksijen gereksinimini ancak bu yolla sağlar.^{20,24}

Tüm yaşam boyunca hem lensin kitlesi hem de yapısı büyür. İlk 10 yılda görülen hızlı büyüme lens epitel hücre proliferasyonu ve fibrillerin artması nedeniyledir. Yaşlanmayla beraber epitel hücrelerinde, fibril ve lens kapsülünde değişimler olur. Epitel hücreleri düzleşir. Vaküolleşme ortaya çıkar, yüzeyel projeksiyonları artar. Hücresel düzleşme sonucu taban yüzeyleri artarak yeni gelişen hücrelere yer açılır. Yaşlanan lensin fibril membranları zamanla bozularak kısmen veya tamamen kaybolur. Seksen yaşında epitel hücrelerindeki iskelet proteinleri azalmıştır. Hücre plazmasında kolesterol/fosfolipit oranının artması sonucu fibrillerdeki sıvı miktarı azalır, yapısal elemanları artar. Yirmi yaşından sonra ortaya çıkan bu olaylar sonucunda nükleus sertleşir, 40 yaş civarında ekvator bölgesindeki kortikal liflerin plazma membranlarında parçalanma oluşur. Onarılmazsa kesifleşme gelişir, onarılsa kesafet sınırlandırılmış olur. Bu parçalanmanın ana nedeni plazma membranında artan kolesteroldür.^{20,24}

Lensin sferik aberasyonları 10 yaşında negatifken, 86 yaşında pozitifte doğru değişiklikler gösterir. Kırk yaşına kadar sferik aberasyonlar sıfıra yakındır. Sferik aberasyonlardaki sistematik değişiklikler görmeyi etkiler. Lensin sferik aberasyonlarındaki değişiklikler, lensin fiziksel veya optik özelliklerindeki değişikliklerden kaynaklanır.¹³

Manyetik rezonans görüntüleme ile in vivo olarak lensin boyutları ölçüldüğünde, akomodasyon yok iken lensin boyutunda yaşa bağlı değişim olmadığı, akomodasyon olduğunda yaşla birlikte lensin çapının arttığı saptanmıştır.²⁵

Lens yaşlanırken soluk sarı veya renksiz olan görünümü, yetişkinlerde koyu sarıya, yaşlılarda ise kahverengi ve siyaha döner. Renkteki bu değişiklikler sadece nükleusla sınırlıdır. Üç hidroksi kinürein glikozidaz'ın ultraviyole ile parçalanması sonucunda pigment üretimi olur. Yeşil pigment floresansı verdiğinden emilen dalga boyu 500 nm'ye ulaşır. Mavi ışık emilimi artar. Oksijene bağlı fotolizle renk maviye dönüşür. Böylece lensin emilen ışığındaki artışa bağlı olarak ve fazla olan suyun aşırı salınımıyla şeffaflığı azalır. Tüm bu değişimler yaşın ilerlemesiyle hızlanır. İleri glikolizasyon sonucu enzimatik olmayan glikolizasyon proteinleri lensteki sararmayı artırır. Glikoza bağlı olarak başlayan bu reaksiyonlar valin ve lizin aminoasitlerini oluştururlar. Gençlerde % 1.3 olan lizin oranı yaşlılarda % 4.2'ye çıkar. Bunun yanı sıra, lensteki askorbik asit varlığı, pigment oluşumuna katkıda bulunur.^{20,24,25}

Lenste yukarıda anlattığımız olaylara bağlı olarak gerçekleşen sertleşmeyi ve akomodasyon gücünün 10 yaşında 10 D, 40 yaşında 4-8 D olan uyumun 60 yaş sonrasında

1-2 D'ye düşmesini açıklayan birkaç teori vardır.^{9,20,24,25} Doğumda 700 N / cm² (Newton / santimetrekaare) olan lens kapsülü elastikiyeti 80 yaşında 150 N / cm²'ye düşer. Zamanla lensteki artan maddelerle lenste şekil değişikliği oluşur. Yaşla beraber ön kapsül eğrilik çapı ve lensin ön yüzeyi ile korneanın arka yüzeyi arasındaki mesafe azalır. Yılda çapı 2 µ büyüyen lens ile siliyer sulkus arasındaki mesafe kısalır. Bunun sonucunda ekvatoryel zonüla fibrilleri gevşer ve presbiyopi ortaya çıkar.^{9,20,24,25}

2.5. Katarakt ve Katarakt Cerrahisinde Güncel Yaklaşımlar

Görmeyi bozan lens opasitesi olarak tanımlanan katarakt dünya genelinde körlüğün önde gelen sebeplerinden biridir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) rakamlarına göre 1990'lı yıllarda 45 milyon kör insanın %43'ünde körlük nedeni olarak katarakt saptanmıştır.^{15,16}

Teknolojik gelişmeler, cerrahi tekniklerin artışı, cerrahi insizyonun küçülmesi, refraktif ve görsel iyileşmiş sonuçları, azalmış intraoperatif ve postoperatif komplikasyonları da beraberinde getirmiştir.²⁶

Son yıllarda katarakt cerrahisinde kullanılan teknolojik gelişmeler ile cerrahi insizyonun boyutlarının küçültülebilmesi mümkün olmuştur. İnsizyon boyutlarının küçülmesi katarakt cerrahisinin gelişimindeki ilk yıllarda intrakapsüler cerrahiden, ekstrakapsüler cerrahiye geçişte de gerçekleşmiştir. Daha büyük bir adım fakoemülsifikasyonun ve katlanabilir GİL'lerinin kullanıma girmesiyle atılmış, insizyon boyu 1,8 mm'ye kadar düşmüştür. İnsizyon boyutlarının küçülmesi, postoperatif intraoküler inflamasyonda, yara yerine bağlı komplikasyonlarda, cerrahinin süresinde, doku travmasında ve postoperatif rehabilitasyonun süresinde azalma ile ilgilidir. Katarakt cerrahisi yıllardır, dünyanın her tarafında milyonlarca insana standart işlem olarak uygulanmaktadır. Katarakt cerrahisi ve cerrahi sonrası rehabilitasyonun ciddi sosyoekonomik etkisi vardır.^{27,28}

Ultrason teknolojisinin, konvansiyonel fakoemülsifikasyondan bir adım daha ilerde olan mikroinsizyonel modern kullanımı bir çok yazar tarafından tartışılmış ve "fakonit", "bimanuel fakoemülsifikasyon", "soğuk fako", "mikrofako" gibi bir çok farklı isimlerle gündeme gelmiştir. MİCS, irrigasyon ve aspirasyonun bimanüel teknik ile ayrılmasını gerektiren, 2 mm'den daha küçük insizyon ile ve uygulanmış katarakt cerrahisidir.^{27,28}

2.6. Katarakt Cerrahisi

2.6.1 Fakoemülsifikasyon

Fakoemülsifikasyon yöntemi ilk kez 1967’de Charles Kelman tarafından uygulanmıştır.²⁹ Leaming’in ASCRS üyeleri arasında yapmış olduğu yıllık ankete göre fakoemülsifikasyon uygulama yüzdesi 1985 yılında %12 iken 2000 yılında %97’den fazla bulunmuştur.²⁹ Özellikle 1992 yılından sonra fakoemülsifikasyon uygulamasına hızlı bir geçiş olmuştur. Bu geçişe neden olan en önemli faktörler yüksek kaliteye sahip katlanabilir göz içi lenslerinin gelişimi ve daha güvenli fakoemülsifikasyon için kapsüloreksis ve hidrodiseksiyon tekniklerinin gelişimi olmuştur.

Katarakt cerrahisinde kesinin tipi, büyüklüğü ve yara kapatma tekniği postoperatif semptom ve bulguları önemli derecede etkiler. Buradan yola çıkarak ameliyat sonrası yara iyileşmesi, vizüel rehabilitasyonun en erken dönemde sağlanması, astigmatizma ve subjektif şikayetlerin en aza indirilmesi amacıyla sütürsüz katarakt cerrahisi geliştirilmiştir. Fakoemülsifikasyon yöntemi küçük kesili katarakt cerrahisi için en etkili cerrahi yöntem halini almıştır ve kataraktlı lensin küçük bir kesiden emülsifikasyonuna imkan sağlamaktadır. Fakoemülsifikasyon, ekstrakapsüler katarakt cerrahisinde 11-12 mm çaplı kesilerle gerçekleştirilen lens materyali uzaklaştırılması ve GİL implantasyonu işlemlerini 1.8mm (mikrokresi) kadar küçük çaplı kesilerden mümkün kılmıştır. Bu, geniş kesilerde görülen yara iyileşmesine bağlı birçok komplikasyonun ortaya çıkma ihtimalini azaltmaktadır.²⁹

2.6.2. Fakoemülsifikasyonda Kapsülün Rolü ve Kapsülöreksis

Modern katarakt cerrahisinde ön kapsülotomi için Kontinü Kurvilineer Kapsülöreksis (CCC); kapsül içinde güvenli manipülasyon sağlanması ve İOL’in kapsül boşluğu içinde santralizasyonu için gerekli olan bir yöntemdir. Yuvarlak düzgün sınırlı kapsülöreksis ön kapsül açıklığında bir bölgeye uygulanan stres konsantrasyonunu azaltır. Kapsülöreksis uygulaması sırasında sınırlarının görülebilmesi için kırmızı fundus reflexinin görülmesi gereklidir. Fundus reflexinin alınamadığı olgun veya entümesan kataraktlarda ön kapsül iyi seçilememekte, yırtığın izlenmesi güçleşmektedir; bu da ekvatora veya arka kapsüle uzanabilen radial yırtıklara ve dolayısıyla komplikasyonlara zemin oluşturur.³⁰

2.6.3. Katarakt Cerrahisinde Adjuvan Olarak Vital Boyaların Kullanımı

Kontinü Kurvilineer Kapsuloreksis (CCC) fakoemülsifikasyon işlemi sırasında kritik bir basamaktır. Yeterli kırmızı refleksinin olması ön kapsülün operasyon sırasında görülebilmesi açısından oldukça önemlidir. Beyaz katarakt, travmatik katarakt, kornea opasitesi veya arka segment patolojilerinde kırmızı refleksde azalma meydana gelebilir ve kontinü kurvilineer kapsuloreksis (CCC) sıkıntılı olabilir. Ön kapsülün görüntülenmesi için; slit aydınlatma, subkapsüler floresein enjeksiyonu, diatermi, otolog kan ile hemokolorasyon gibi yöntemler efektif olmaması nedeniyle artık kullanılmamaktadır. Tripan mavisi kornea transplantasyonları için donör kornea endotel değerlendirmesi için kullanılan vital boyadır.³¹ Ön kapsül boyaları 1993 yılında beri CCC aşamasında fakoemülsifikasyonda kullanılmaktadır.³²⁻³⁵

Tripan mavisi (TM) CCC aşamasında kullanılmak üzere ilk kez 1999 yılında önerilmiştir.^{31,36} Katarakt cerrahisi sırasında tripan mavisi enjeksiyonu çeşitli avantajlar sağlar hale geldi. Cerrahisi sırasında tripan mavisi enjeksiyonu kırmızı reflesi azalmış hastalarda fakoemülsifikasyon sırasında kapsuloreksis aşamasında yüksek başarı elde edilmesini sağladı.³⁷ Beyaz kataraktı olan hastalarda tripan mavisi kullanımı sonrasında tamamlanmamış CCC sonucunda ekstra kapsüller katarakt operasyonu yöntemine dönüşüm oranı 3.85% iken herhangi bir boya kullanılmayan hastalarda bu oran 28.3% olarak tespit edilmiştir.^{38,39} Buna ek olarak tripan mavisi 5 yaşından küçük hastalarda ön kapsül ile birlikte arka kapsülde boyayarak CCC'in efektif bir biçimde tamamlanmasını sağlar.^{40,41} Tripan mavisi kullanımının bir başka avantajı ise stajyer cerrahlar ve asistanların CCC öğrenim sürecindeki performansını arttırmasıdır. Genç cerrahların boya kullanılarak tamaladıkları CCC başarı oranı herhangi bir boya kullanılmayarak yapılanlara göre daha bariz bir şekilde yüksek olduğu görülmüştür.^{42,43} Korneal opasitesi olan 11 serilik hasta grubunda tripan mavisi kullanılarak yapılan CCC lerin hepsi düzgün bir biçimde tamamlanmıştır.⁴⁴

2.7. Psödoeksfoliasyon Sendromu

2.7.1 Tanım

Psödoeksfoliatif sendrom (PES), tanısı klinik olarak konan, lens ön kapsülü ve/veya pupil kenarında gri beyaz fibrogranüler psödoeksfoliasyon materyali adı verilen maddenin ön segment muayenesinde görülmesi ile karakterize bir patolojidir.^{28,29}

Psödoeksfoliasyon materyali, lens ön kapsülü ve iris dışında trabeküler yapı, zonüler bölge, siliyer cisim prosesleri, vitreus ön yüzeyi, konjonktiva, kornea, hümor aköz, arka siliyer arter, vorteks venleri, santral retinal arter, optik sinir kılıfları, orbita bağ doku septaları ve kapak derisinde de saptanmıştır.⁴⁵⁻⁴⁹

Işık ve elektronmikroskopik incelemeler, immunohistokimyasal ve biokimyasal yöntemler psödoeksfoliatif materyal varlığını deri, ekstraoküler kaslar, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve meninkslerde de saptamıştır.^{45,46,49}

2.7.2 Tarihçe

Fin'li oftalmolog Lindberg 1917 yılında glokomlu hastaların % 50'sinde pupil kenarında gri bir materyal bulunduğunu ortaya koymuş ve “grayish flakes” olarak bunu ilk tanımlayan olmuştur.^{50,51} 1923' te Vogt bu materyalin lens kapsülünden kaynaklandığını öne sürerek “glokoma kapsulare”, “senil ekfoliasyon” terimlerini kullanılmıştır.^{50,52} Tarkkanen siliyer proseslerde, Ringuold konjonktiva dokusunda psödoeksfolyatif materyal varlığını, Sampaolesi ise kan aköz bariyerindeki değişiklikleri ve melanin dispersiyonunu gösterdi.⁵⁰ Schlötzer-Schrehardt ve ark.⁴⁵ 1992 yılında ilk olarak sistemik tutulumu göstermesini takiben çok kısa sürede Streeten ve ark.⁴⁶ sistemik tutulumla ilgili çalışmalarını yayınladılar.

2.7.3. Terminoloji

Cam üfleyicilerinin “gerçek lens ekfoliasyon hastalığı” nda lens kapsülünün sıcaklık etkisiyle gerçek bir ekfoliasyonu (dökülmesi) mevcut iken, PES'nda ekstraselüler matriks materyalinin birikimi söz konusudur.^{50,53} Bu görünüm üretimde artma, materyal rezorpsiyonunda azalma veya herikisinden kaynaklanabilir. Ne olursa olsun, Dvorak Theobald'ın önerdiği “psödoeksfoliasyon” terimi cam üfleyicilerinin “gerçek lens ekfoliasyon hastalığı” ndann ayrımı açısından daha mantıklıdır.^{50,52}

2.7.4. İnsidans

Değişik etnik gruplara ve ırklara göre insidansda farklılıklar mevcuttur. En yüksek oranlar %25 ile Finlandiya İzlanda gibi İskandinav ülkelerinde olup Amerika Birleşik Devletleri ve Batı Avrupada bu oran en fazla % 5'e çıkmaktadır, ancak yapılan tüm çalışmalar yaşla birlikte görülme sıklığının arttığı yönündedir.⁵⁴⁻⁵⁷ İnsidanstaki bu farklılık, ırk, cins, yaş, çevresel(güneş ışığı) ve beslenme gibi faktörlere bağlanmıştır.^{55,58,59}

Girit Adası'nda yapılan epidemiyolojik bir çalışmada PES prevalansı %16.1 olarak saptanmış olup bu oranın Yunanistan'ın ana adalarında yapılan çalışmaların sonuçlarından daha düşük olduğu bildirilmiştir.⁵⁵ McCarty ve ark.⁵⁶ yaptıkları çalışmada 40 yaş ve üzeri Avustralya yerleşimli Victorians popülasyonunda PES insidansını % 0.98, Mitchell ve ark.⁶⁰ çoğu Kuzey Avrupa orijinli beyazlardan oluşan geniş bir seride PES insidansını % 2.3 olarak saptamışlardır. Ülkemizde Yalaz ve ark.⁵⁷ nın Çukurova Yöresi'nde yaptıkları çalışmada 60 yaş üzerinde PES sıklığı % 11.2 olarak saptanmıştır.

PES' in glokomla birlikteliği bir çok çalışmada gösterilmiştir.⁵⁵⁻⁵⁸ Yalaz ve ark.⁵⁷ PES olan hastalarda glokom oranını % 34.3, glokom hastalarında PES sıklığını % 46.9 olarak saptamışlardır.

Cinsiyet dağılımı ile ilgili pek çok tartışma mevcuttur. Bazı çalışmalar da cins farkı olmadığı bildirilirken,⁵⁷ bazılarında erkeklerde,^{55,56} bazılarında ise kadınlarda⁶⁰ yüksek prevalans bildirilmiştir.

2.7.5. Genetik özellikler

PES ile ilgili bir çok ailesel ve genetik çalışmalar yapılmıştır.^{58,61-64} PES tanısı geç konulduğundan dolayı yaşayan ebeveynlerini bulup araştırma yapmak gerçekten güçtür.⁵⁸ Ancak psödoeksfoliasyon içeren ön kapsül ve iris gibi etkilenmiş dokularda LOH (Loss of heterozygosity) genetik markırların gösterilmesi bu durumun patogenezinde olası genetik rolü işaret etmektedir.⁶² Farklı popülasyonlarda, farklı kalıtsal geçiş paternleri ve farklı HLA (Human leucocyte antigen) antijenleriyle birlikteliği öne sürülmüştür.^{65,66} Elde edilen bulgulara dayanarak, genetik yapıyla ilgili özelliklerin çok farklı olduğu sonucuna varılmıştır.^{61,63,64} Ancak unutulmamalıdır ki bu durum multifaktöryeldir. Genetik yatkınlığı olan bireylerde dış etkenlerin tetiklemesiyle patolojik sürecin başladığı düşünülmektedir.^{63,64}

2.7.6. Bilateralite

Klinik olarak unilateral tutulum bilateral tutulum için sıklıkla öncüdür ve tanıdan 5-10 yıl sonra hastaların %50'ye yakınında bilateralizasyon bildirilmiştir, genelde diğer gözde 5 yıl içinde PES görülme sıklığı % 6.8, 10 yıl içinde ise % 16.8'dir.⁶⁷ Bilateral tutulumu olan hastalar unilateral tutulumu olanlara göre daha yaşlı olmaya ve daha yüksek glokom prevalansına sahip olmaya eğilimlidirler.^{60,67} Klinik olarak tüm tutulan ve

tutulmayan kontralateral gözlerin neredeyse hepsinde konjonktiva ve diğer peribulber dokularında, elektronmikroskopi ile tipik PES birikimi saptanmıştır.^{65,68-70} Başka bir ışık mikroskopik immünohistokimyasal çalışmada klinik olarak etkilenmemiş gözlerin periferik iris damarlarında klasik psödoeksfoliyasyona benzeyen anormal depozitler saptanmıştır.^{47,71} Bu bulgular, tek taraflı PES olduğu düşünülen tablonun, gerçekte tek taraflı olmaktan daha ziyade hastalığın klinik asimetrik tutulumu olduğunu göstermektedir.⁶⁸ Bu asimetriyi saptayan neden günümüzde hala açıklanamamıştır.⁶⁸

2.7.7. Eksfoliatif materyalin kaynağı

PES'in anormal yapıdaki ekstraselüler materyalin aşırı üretimi ve birikimi ile karakterize, ekstraselüler matriksin generalize hastalığı olduğu bulunmuştur.^{49,72} Posterior iris pigment epitel hücreleri, siliyer nonpigmente epitel hücreleri, preekvatoryal lens epitel hücreleri, endotel ve trabeküler ağ hücrelerinin psödoeksfoliyasyon fibrillerinin lokal üretim yeri olduğu ultrastrüktürel çalışmalarla kanıtlanmıştır.^{48,68,72,73} Ancak kapsamlı araştırmalara rağmen, eksfoliyasyon materyalinin tam olarak biyokimyasal kompozisyonu bilinmemektedir. Biyokimyasal analizler, elde edilebilir materyalin yetersiz miktarları, materyalin insolubilitesi ve hastalığın uygun deneysel modellerinin olmaması nedeniyle yetersizdir.⁷²

Histokimyasal ve immünohistokimyasal çalışmalar, glukokonjugatlar tarafından çevrelenmiş protein kordan oluşan kompleks glikoprotein/proteoglikan (glikozaminoglikan) yapıyı düşündürmektedir.^{48,51,72-77} Bu nedenle çoğu enzim ile degradasyona rezistans olup, bugüne kadar uygulanan aminoasit analizi sonucunda amiloid, nonkollajen bazal membran komponentleri ve elastik mikrofibriller ile uyumlu iken kollajen mikrofibriller ile uyumlu değildir.⁷² Esas olarak elastik mikrofibriller komponentleri olan elastin, vitronektin, amiloid P, fibrillin-1, MAGP-1, emilin, LTBP-1, LTBP-2 gibi elastik fiber epitoplalarının yaygın varlığı, özellikle elastik mikrofibrilleri etkileyen bir elastoz tipi olduğu şeklindeki güncel teoriye yol açmıştır.^{48,49,72,77,78}

Eksfoliyasyon materyalin elementer kompozisyonu “energy-filtering transmission electron microscopy” ile analiz edildiğinde psödoeksfoliatif fibrillerde nitrojen, sülfür, klor ve çinko, fibril periferinde kalsiyum açığa çıkarılmıştır.⁷⁰

PES' in altında yatan mekanizma bilinmediği halde, aberant ekstraselüler matriks sentezini kapsayan bir bozukluk olduğu hakkında güçlü deliller vardır.⁷⁸ Son çalışmalarda, PES' li hastaların aköz hümörlerinde, belirgin olarak artmış growth faktör aktivitesi

saptanmıştır. Bu growth faktör aktivitesini işaret eden TGF-b1 ve TGF-b2' nin belirgin olarak yükselmiş seviyeleri saptanmıştır. PES' de güncel patogenetik konsepte göre TGF-b1' in, elastik mikrofibrillerin aşırı üretimini, onların enzimatik çapraz bağlanımını ve posttranslasyonel glikolizasyonunu sağlayarak, dokular içinde degrade olmayan, zamanla birikim gösteren tipik eksfoliatif fibrillerin oluşumunu stimüle ettiğini düşündürmektedir.^{72,78-80} Sonuç olarak growth faktörler, PES' lu gözlerde aköz tarafından yıkanan dokular ve hücrelerin biyolojik aktiviteleri üzerinde belirgin etkilere sahip olabilirler.⁷⁸

Schlötzer-Schrehardt ve ark.⁸¹ PES' li hastaların aköz hümlerinde, matriks metalloproteazların ve onların inhibitörlerinin konsantrasyonlarında artış saptamış, ortalama askorbik asit seviyesinde belirgin olarak düşüklük dökümanete etmişlerdir. Askorbik asid, serbest radikallere karşı bir major koruyucu faktör olduğundan, PES etyopatolojisinde serbest radikallerin rolü tartışılır olmuştur.⁸¹ PES' in artmış oksidatif stress ile ilişkisi olup olmadığını saptamak için, hastaların aköz hümlerinde in vivo oksidatif stresin bir markırı olarak 8-isoprostaglandin F2a 'nın konsantrasyonunu dökümanete eden başka bir çalışmada, ilave kanıt sağlamıştır.^{81,82} PES' lu hastaların aköz hümlerinde 8- isoprostaglandin F2a' nın ortalama konsantrasyonunun, yaş karşılaştırmalı kontrol grubundan 5 kat yüksek olduğu bulunmuştur. Dikkate değer olarak, 8-isoprostaglandin F2a ile askorbik asid konsantrasyonları arasında ters bir korelasyon vardır. PES' lu hastaların aköz hümlerinde 8-isoprostaglandin F2 a' nın anlamlı artışı ve askorbik asid konsantrasyonunun karşılık olarak azalması, patogeneğinde serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarın rolü için ilave kanıt sağlamıştır.⁸¹⁻⁸⁵

Elektronmikroskopik histokimyasal çalışmalarda, eksfoliatif materyalde lizozomal enzim markırı olan asid fosfataz aktivitesinin artmış olduğunu gösteren sonuçlar açığa çıkmıştır. Asid fosfataz için yapılan biyokimyasal analizlerde, PES' li gözlerin aköz hümlerinde PES bulunmayan kataraktlı gözlerdekinden anlamlı olarak daha yüksek değerler saptanmıştır.^{73,86} Bunun dışında Katepsin B gibi diğer lizozomal proteinazlarda da artış anlamlı olarak bulunmuştur.⁷³

Ayrıca PES' da, aköz hümlerde α 1-lipoprotein, seruloplasmin, transferrin, fibronektin, albumin ve IgG seviyelerinde olduğu gibi, aköz protein konsantrasyonlarındada değişiklikler bildirilmiş ve bu değişikliklerin hastalığın patogeneziyle ilişkili olabileceği vurgulanmıştır.^{78,82-85} Histolojik ve ultrastrüktürel düzeyde yapılan çalışmalar, PES' da kan-aköz bariyerindeki defektin aközdeki protein, dolayısıyla aköz flare artışından sorumlu olabileceğini desteklemiştir.^{82,85-89} Bu defektin

iris vasküler yatak kaynaklı olduğu iris flöresein anjiografisindeki kaçaklar, flörofotometri ve Lazer flare-cell meter (LFCM-FC 100,Kowa Co,Ltd,Tokyo,Japan) gibi yöntemler kullanılarak kanıtlanmıştır.^{78,82,85,86}

Psödoeksfoliatif materyal ile amiloidozun ilişkisi daima tartışma nedeni olarak kalmıştır. Berlau ve ark.⁸⁵ çalışmalarında Congo kırmızısı ile boyama yaparak kontrol gözlerde saptanmayan fakat PES' lu gözlerde saptanan amiloid proteinlerinin varlığı için kesin kanıtlar bulmuşlardır. Bu tarz birkaç çalışmada psödoeksfoliatif materyal amiloidin bir tipi olarak ileri sürülmüşse de, çoğu çalışmada Congo kırmızısı boyama ve spesifik antikorlar ile immunhistokimyasal olarak materyalin incelenmesinde, amiloid için negatif reaksiyonlar alınmıştır.^{85,90,91} Böylece, amiloid teorisi kesin kanıtlardan yoksun kalmıştır. PES patogenezinde amiloid teorisini destekleyen aköz hüümördeki amiloidin kesin tipi ve ön segment dokularında amiloidin saptanması yönünde çalışmalar halen sürmektedir.^{85,90,91}

Akraba evliliği olan çiftlerde PES prevalansının beklenenden belirgin olarak yüksek olarak saptanması ve daha yaşlı donörden yapılan penetran keratoplasti sonrasında PES gelişen daha genç hastaların varlığı, infant ve çocuklukta travma veya intraoküler cerrahiden yıllar sonra PES gelişmesi çevresel faktörlerin de etyolojide önemli olabileceğini ortaya koymaktadır.^{64,92,93}

PES'lu olgularda gastrik mukoza biyopsisinde *Helicobacter pylori* pozitifliği anlamlı derecede yüksek saptanmıştır.⁹⁴ *Helicobacter pylori* antikorlarının siliyer cisim epitelyal antijenleri ile çapraz reaksiyon verdiği bilinmektedir. Gastrik mukozada apoptozisi indükleyen *Helicobacter pylori* aynı zamanda trabeküler ağda da aynı patogenetik etkiyle glokoma predispozan olabileceği bildirilmiştir.⁹⁵ PES' de viral veya prion hastalığı olma olasılığını düşündüren çarpıcı morfolojik benzerlikler saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada,⁹⁶ çalışma grubunda kontrol grubuna kıyasla herpes simpleks virusun (HSV) anlamlı olarak daha yüksek insidansıda bulunması, HSV ile PES arasında olası bir korelasyonu göstermektedir. Aynı çalışmada varicella zoster virusu için böyle bir korelasyon saptanmamıştır.⁹⁶ Sonuç olarak HSV veya *Helicobacter pylori* infeksiyonunun PES gelişimi için bir risk faktörü olduğu düşünülebilir.⁹⁴⁻⁹⁶

2.7.8 Psödoeksfoliasyonda Tanı ve Sınıflandırma

PES tanısı biomikroskopik muayenede ön segment yapılarında psödoeksfoliatif materyalin görülmesi ile konur. Ancak intraoküler belirtiler erken ve preklinik dönem PES

tanısını koymada yetersizdir. Kesin tanı için, özellikle lens ön kapsülündeki elektronmikroskopik değişikliklerin saptanması hala altın standarttır.⁶⁸⁻⁷⁰

PES tanısında kullanılan klinik bulgular ön kamara yüzeyinde materyal depozitler, midriyazis ile melanin dispersiyonu, iriste transilümasyon defektleri stromal atrofi ve zayıf midriyazis, kan-aköz bariyer defekti(psödoüveit), zonüler instabilite, fakodenezis, anterior lens subluksasyonu, posterior luksasyon, iris-lens planının öne gelmesi, ön kamaranın sıkışması, göz içi basınç artışı ve/veya glokom, korneal endotelyal dekompanseasyon bunlardan bazılarıdır. Laboratuvar metodları ise altın standart olarak elektron mikroskopi, immunohistokimya ve histokimyadır.^{69,70}

Biyomikroskopik muayenede sfinkter bölgesinde transiluminasyon defektleri yaratan irisin peripupiller pigment epitelindeki melanin kaybı, pupiller dilatasyondan sonra ön kamaraya aşırı melanin dispersiyonu, ön segment yapılarında melanin depozisyonu, yetersiz midriyazis, başka bir neden olmadan segmenter veya sirküler posterior sineşi varlığı, zonül zafiyeti bulguları (iridofakodonezis ve lens-iris diaframının öne gelmesi), bu bulguları açıklayacak başka nedenler yoksa ve özellikle asimetrik tutulum olan olgularda şüpheliyi arttırmalı ve hekimi uyarıcı olmalıdır.^{50,67,68,97,98}

Lens ön kapsülündeki psödoeksfoliatif materyalinin klinik ve ultrastrüktürel durumuna göre şüpheli ve kesin PES olarak iki grupta incelenmektedir. Şüpheli lezyonlar elektron mikroskop ile prekapsüler tabakada görülen erken psödoeksfoliasiyon ve başka neden olmaksızın posterior sineşi varlığı kesin tanı ise prekapsüler tabakada nazal posterior fokal defekt ve klasik psödoeksfoliasiyondur.^{50,52,67,97}

2.7.9. PES' te Katarakt Cerrahisinde Karşılaşılan Kapsül Komplikasyonları

PES ve katarakt birlikteliğine sık rastlanmaktadır. Lens ön kapsülünde PEM birikimi PES olgularının en bilinen özelliğidir. Preekvatoryal lens epiteli tarafından PEM'in aktif olarak üretildiği ultrastrüktürel çalışmalarla gösterilmiştir.^{99,100,101} Yapılan çalışmalarda, PES'de artmış lens opasifikasyonu gösterilmiş olup, baskın katarakt tipi nükleer sklerozdur.¹⁰²

Zonüller desteğin zayıflaması, fakodonezis ve spontan lens dislokasyonu için predispozisyon yaratır.¹⁰³ Geç dönemde hem artan zonüler instabilite, hem de kataraktın yaşla birlikte sertleşmesinden dolayı, cerrahi öncesi olası komplikasyonlardan kaçınılması için katarakt cerrahisi daha erken planlanabilir.¹⁰⁴ Çok sert nükleus haricinde, kontrollü

fakoemülsifikasyon genel olarak tercih edilen cerrahi tipidir.¹⁰⁴ Ancak hastanın durumuna göre ekstrakapsüler veya intrakapsüler katarakt cerrahisinde uygulanabilir.

Psödoeksfoliasyon sendromu varlığında katarakt cerrahisinin bazı güçlükler gösterdiği bilinmektedir. Bu vakalarda glokom insidansının yüksekliği ile birlikte gözlenen yetersiz pupilla dilatasyonu, artmış kapsül ve zonül fragilitesi; zonül dializi, vitreus kaybı ve göziçi lensi (GİL) desantralizasyonu gibi komplikasyonların sıklığında artışa yol açmaktadır.¹⁰⁵ Psödoeksfoliasyon sendromunda lizozomal proteinazların salınımı ile birlikte korpus siliarenin nonpigmente epiteli ve lens ön kapsülünde bazal membran yapısının bozulması ve anormal bazal membran materyeli salınımı ortaya çıkar. Bazal membran yapısının bozulmasıyla birlikte zonüllerin hem korpus siliarenin nonpigmente epiteli ve hem de lens ön kapsülü ile olan bağlantısı zayıflamaktadır. Katarakt cerrahisi esnasında zonüllere uygulanan kuvvetler normale göre zayıflamış olan bu zonüllerde ayrılmaya ve vitreus kaybına neden olabilir.¹⁰⁶

2.8. Nano ve Mikro Mekanik Test Cihazı

Nano ve Mikro sertlik cihazı değişik malzemelerin (yumuşak, sert, kırılkan ve esnek) ve bu malzemelerden oluşturulan ince filmlerin mekanik özelliklerini (Sertlik, Elastik Modülüs) belirlemekte kullanılır. Nano indentasyon testi uygulanan yüklemeye karşı bir malzemenin verdiği tepkinin mekanik özelliklerini belirlemede kullanılmaktadır. Bu teknik uygulanan kuvvet ve indenterin penetrasyonun derinliğine bağlı tüm yükleme ve geri yükleme boyunca yapılan sürekli kayıt prensibine dayanmaktadır. Ölçüm yapılacak materyal üstünde yer değişikliği yapılması ve farklı farklı işaretlenen alanlardan ölçüm alınması mümkündür. Nano indentasyon methodu 1992 yılından itibaren küçük ölçekteki materyallerin sertlik esneklik gibi mekanik davranışlarının ölçümünde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.¹⁰⁷

2.8.1. Nano İndentör Cihazı ve Çalışma Prensipleri

Nano İndentasyon ölçümünde konik bir indenter numuneye bastırıldığında hem elastik hem de plastik deformasyonlar bir arada meydana gelir. Oluşan iz tamamen indenterin şeklini almıştır. Fakat ilk boşaltma boyunca elastik toparlanma, temas şeklinin değişmesine neden olur. Tekrar yüklemede ise tamamen elastik deformasyonla iz, yeniden indenterin şeklini alır. Bu çevrimde boşaltmada meydana gelen olay, tekrar yüklemede meydana gelenin tam tersidir.¹⁰⁸ Nano indentasyon cihazı ile 0.1 mN'a kadar düşük

büyükliklerde yük uygulanabilmektedir bu şekilde ince filmlerin mekanik özellikleri ölçülebilmektedir. Bir ölçüm içerisinde birden çok yükleme geri yükleme yapılarak derinliğe bağlı mekanik özelliklerin değişimi ölçülebilmektedir. Kullanıcılar kendi belirledikleri yükleme profilleri oluşturabilmektedir.

Nano indenter cihazı dört bölümden oluşmaktadır. Bunlar nano ve mikro indentasyon ataçmanı, mikro çizik test cihazı, atomik force mikroskop ve optik mikroskoptur.



Şekil 2.1. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Labratuarında bulunan “CSM instrument nanoindentation tester” cihazı.

Mikro indentasyon test cihazı 0,03-20 N aralığında 180 μm maksimum derinlikte Vickers tipi indenter kullanarak ölçüm yapmaktadır. Nano indenter ise 0.1 mN-400 mN yük aralığında maksimum 100 μm derinlikte Berkovich tipi indenter kullanarak ölçüm yapmaktadır.

Uygun bir indenter kullanılarak örnek yüzeyine dik olacak şekilde belirlenen bir maksimum değere kadar yük uygulanır ve bu maximum yük değerine ulaştıktan sonra tekrar dereceli olarak geri yükleme yapılır. Yükleme ve geri yükleme sonucunda elde edilen Yük (N) - Derinlik (nm) eğrileri analiz edilerek örneğin mekanik özellikleri belirlenir.

2.8.2. Mikro Çizik (Scratch) Test Cihazı

Scratch test cihazı ince film ve kaplamaların yüzeylerinin kırılma, deformasyon ve yapışma gibi mekanik özelliklerini belirlemek için kullanılır. Aynı zamanda altlık ve film sisteminin sürtünme ve yapışma kuvvetini karakterize etmede kullanılır.

Bu teknik keskin bir uç ile malzemede kontrollü bir çizik oluşturmaya dayanır. Kritik yük değerinde kaplamada kırılmalar başlar. Kritik yükleme değeri yükleme koluna eklenmiş olan ses duyuracağı ve optik mikroskop ile saptanır.

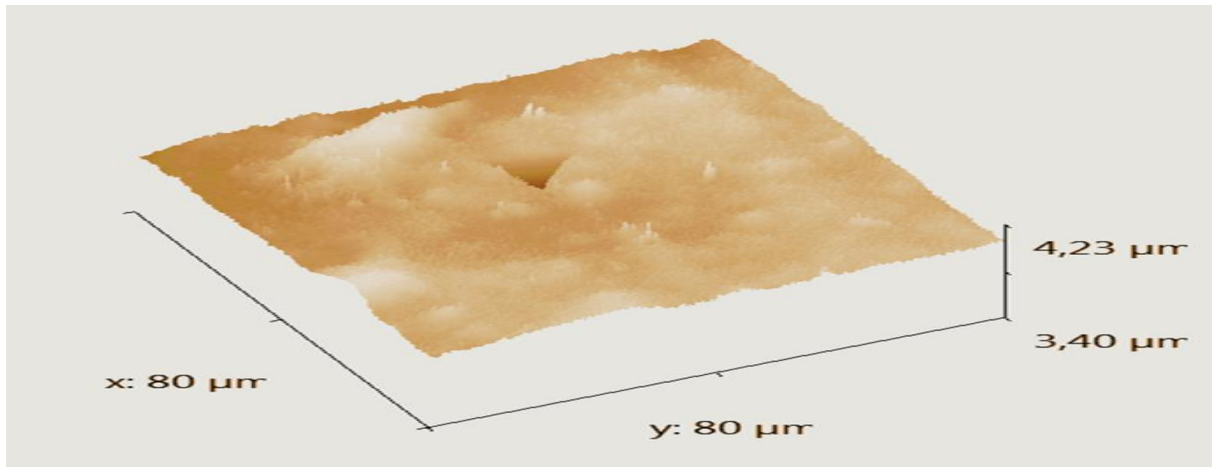


Şekil 2.2. Mikro çizik test cihazının nasıl ölçüm yaptığını gösteren çizim.

Mikro çizik cihazı ile yüzeyde oluşturulan çizikin optik görüntüsü üzerinde derinlik, akustik ve sürtünme kuvveti ölçümleri analizi yapılabilmektedir. Mikro çizik test cihazı 30 mN- 25 N yükleme aralığında, 0.4 den 500 mm/min çizik hızına ulaşabilen, 1mm derinlikte maksimum 25 N maksimum sürtünme kuvvetinde 12 mm maksimum çizik uzunluğu meydana getirerek ölçüm alır.

2.8.3. Atomik Force Mikroskop (AFM)

Mekanik test cihazında bulunan AFM cihazı ile yüzey üzerinde yapılmış olan indentasyon izleri 3 boyutlu olarak görüntülenebilmektedir. Hassas yer belirleme özelliğiyle optik mikroskopta belirlenen noktalardan ölçüm alınabilmektedir.



Şekil 2.3. Nano indenter test cihazının meydana getirdiği izin AFM kullanılarak elde edilen 3 boyutlu görüntüsü

2.8.4. Optik Mikroskop

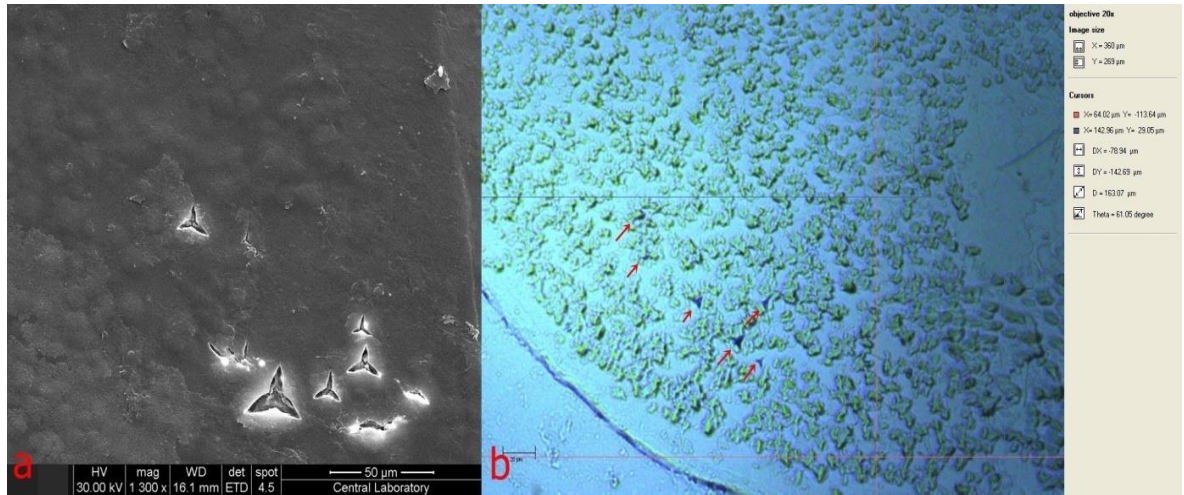
Optik mikroskop, temelde iki mercek sisteminden oluşur. Bir tek sistemin (*objektif*) verdiği görüntü, ikinci bir sistemle (*oküler*) daha da büyütülür. Böylece, bir büyüteçle elde edilebilenden çok daha yüksek bir büyütme gücü sağlanır

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Ocak 2014 ve Haziran 2014 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Bölümünde katarakt tanısıyla opere edilen 3 grup hastanın lens ön kapsülünün morfolojik, fizyolojik ve mekanik düzeyde incelenmesi planlanmıştır. Bu amaçla: Grup 1. Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grup 2. Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grup 3. Katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası olarak tripan mavisi (0,06% Blue Rhexis) kullanılan hastaların cerrahi sırasında ön kapsuloreksis aşamasında yaklaşık 5-6mm boyutunda çıkarılan ön kapsül bölümü değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmaya alınan hastalarda gözde katarakt dışında ek patoloji, göze herhangi bir ilaç uygulaması ve sistemik herhangi bir hastalığı yoktur.

3.1. Örnek Hazırlanması ve Değerlendirilmesi

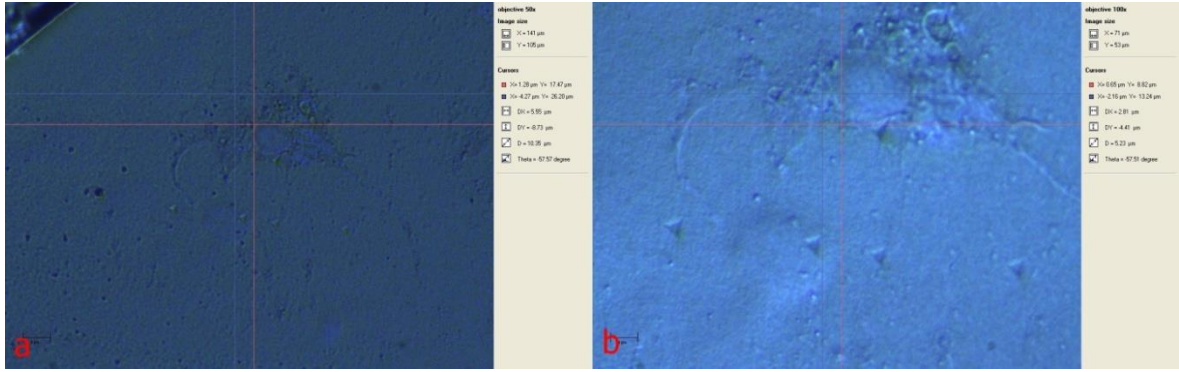
Alınan ön kapsül 1cmx1cm boyutunda özel olarak kesilmiş ve sterilize edilmiş camların üzerine yayılarak kurumaması ve hidrasyonunu kaybetmemesi için patoloji örnekleri için kullanılan standart plastik kaplar içinde BSS göz içi irrigasyon solüsyonu ile korunmuştur. Alınan örnekler aynı gün içerisinde Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Labraturunda “CSM instrument nanoindentation tester” aleti ile kapsül örneğinin 6 farklı noktasından ölçüm alınarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.4. a) Tarayıcı elektron mikroskop altında Nano indenterin kapsül üzerinde meydana getirdiği izler görünmektedir. b) 20x büyütmede optik mikroskop altında ölçüm alınmış psödoeksfoliasyonlu kapsülden alınan görüntü.

Kapsül yüzeyinin elastic modülü, sertlik ve morfolojik özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca tarayıcı elektron mikroskop ile kapsül kalınlığı ölçümü örnek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Normal katarakt, psödoeksfolyasyon sendromlu hastalar ve kapsül boyası kullanılan hastaların ön kapsül özellikleri arasındaki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Her 3 grup için 24 adet lens ön kapsülü incelemeye alınmıştır.

Sertliği ölçülecek numune hareketli tabla üzerine oturtulur. Bu tabla, X ve Y koordinatlarında kaydırılarak optik mikroskobide önce 10x ve 50x büyütmelerinde gözlem yapılarak net bir görüntü elde edinceye kadar indenterin uygulama yerleri belirlenir.

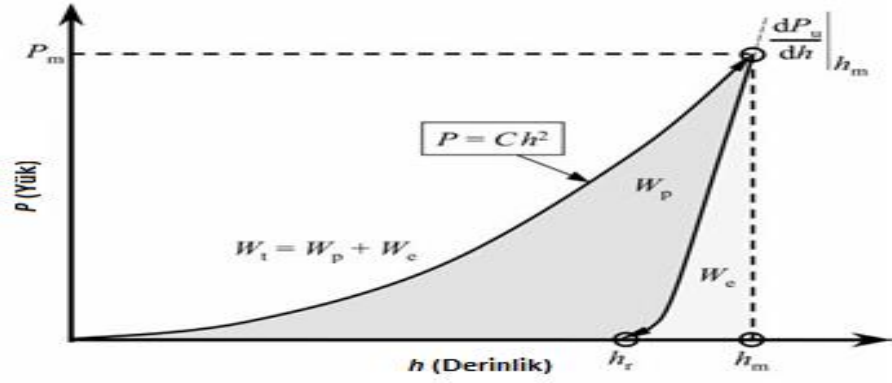


Şekil 3.5. a) Optik mikroskopta 50x büyütmede ölçüm alınacak alanın tespit edilmesi. b) Optik mikroskopta 100x büyütmede ölçüm sonrası nano indenterin kapsül üzerinde meydana getirdiği izler.

Kapsül merkezi ve çevrede 5 ayrı noktadan toplamda 6 adet ölçüm alınmıştır. PES olan olgularda mümkün olduğunda merkeze yakın psödoeksfolyatif materyalin yoğun olduğu bölgeden ölçüm alınmaya çalışılmıştır. Daha sonra tabla, elle indenterin altına getirilir. Bu cihaza bağlı bir bilgisayarda ilgili program açılır.

3.2. İndentasyon Tekniği

Loading-unloading (yükleme-boşaltma) modunda, artan yüklerle bir maksimum yük değeri ayarlanır. Bu maksimum indentasyon yükü, sabit bir deplasman hızıyla kapsül örneği malzeme içerisine uygulanır (yükleme safhası). Bu maksimum indentasyon yüküne ulaşıldıktan sonra belli bir zaman bekleme yaptırılır (hold time). Daha sonra yüklem kaldırılır ve indenter malzeme dışına geri çekilir (yük boşaltma safhası). Kuvvetler ve derinlikler (deplasman) ölçülerek veri toplama/depolama işlemi yapan bilgisayar yazılımı tarafından bir “P – h” grafiğine aktarılır.



Şekil 3.6. İndentasyon yük-derinlik ($P-h$) eğrilerinin şematik grafiği

İndentasyon deneyi bir enerji yaklaşımı açısından ele alınacak olursa, toplam iş elastik ve plastik işlerin toplamı olarak ifade edilmektedir. Maksimum derinlik ile artık derinlik (h_r) arasında kalan bölge elastik iş değerini vermektedir (W_e). Başlangıç noktası ile artık derinlik arasında kalan bölge ise plastik işin (W_p) yapıldığını göstermektedir.

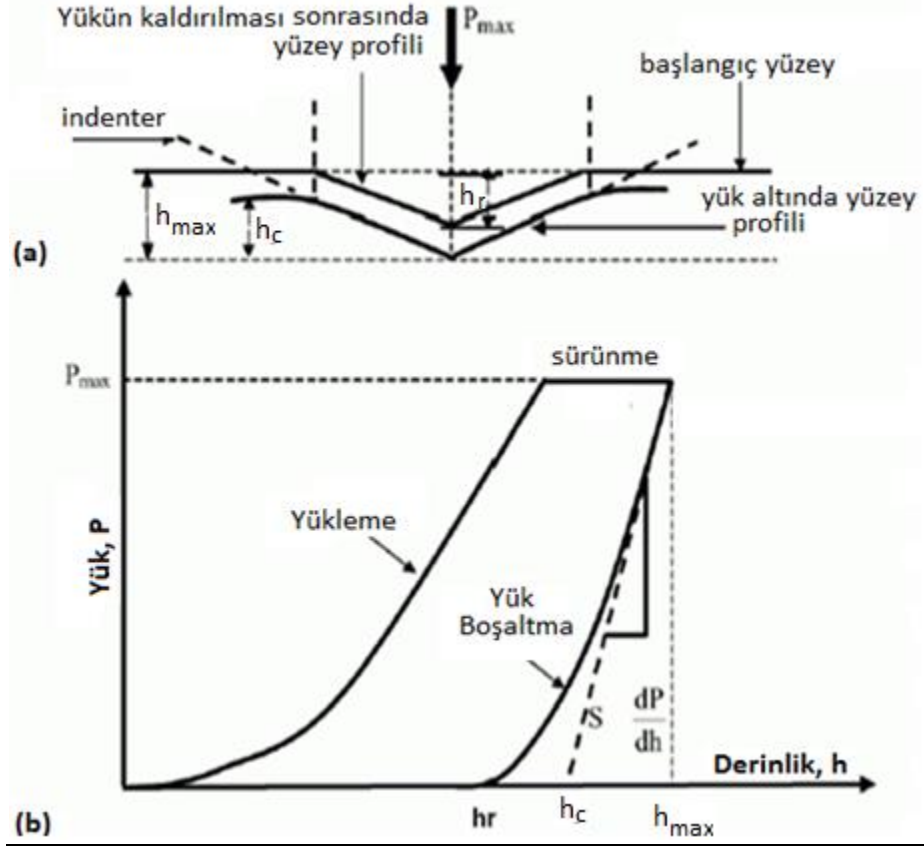
Malzeme maksimum derinlikteki deformasyona ulaştığı zaman, yük kaldırılması esnasında, elastik olarak bir toparlanma meydana getirmektedir. Bu noktada artık derinlik oluşmaktadır. Maksimum derinlik ile artık derinlik (h_r) arasındaki bu bölgede gerçekleşen elastik toparlanma, aynı zamanda elastik iş bölgesidir. Toplam işte ki payı ise artık derinliğin maksimum derinliğe oranıdır.¹⁰⁸ Buradaki ilişki tablo 3.1 deki formül ile gösterilmiştir

Tablo 3.1. Elastik iş ile plastik iş arasındaki ilişkiyi gösteren formül.

$$\frac{W_e}{W_t} = 1 - \frac{W_p}{W_t} = 1 - \frac{h_r}{h_{max}}$$

Yükleme safhasında malzemede meydana gelen deformasyon hem elastik hem de plastik karakterdedir (Şekil 6). Yük boşaltma safhasında ise yükleme safhasındaki elastik deformasyon geri döner. Yükleme ve yük boşaltma safhasının deformasyon karakteristiklerinin farkından ötürü, indentasyon deneyi sonunda malzeme yüzeyinde belirli bir derinliği olan iz oluşur. Boşaltma safhasının başlangıç kısmında meydana gelen elastik toparlanma ve indentasyon sürecinde maksimum indentasyon yükü altında oluşan iz'in izdüşüm temas alanı kullanılarak, malzemenin elasto-plastik özellikleri elde edilebilmektedir (Oliver ve Pharr, 1992).¹⁰⁸

İndentasyon metodu, mekanik özellikleri bilinen; genellikle elmas benzeri çok sert malzemeden yapılmış rijit keskin bir batma ucunun (indenter), P batma yükünde ve yüzeyden itibaren h batma derinliğinde, homojen bir katı malzeme içerisine nüfuz etmesi sonucu, bir yükleme-boşaltma çevrimi (Şekil 3.7) boyunca $P-h$ değerlerinin sürekli olarak bilgisayar ortamına kaydedilmesi ile karakterize edilmiştir.



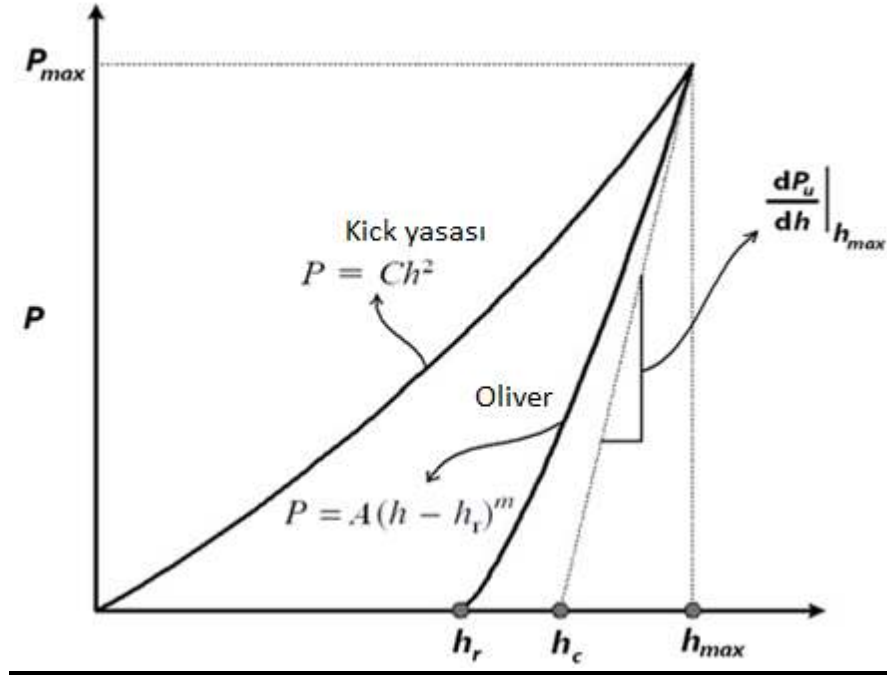
Şekil 3.7. a-) indentasyon kesiti b-) yükleme-yer değiştirme eğrisinde Oliver ve Pharr metodu kullanılarak değerlerin ifade edilmesi.

İndentasyon tekniği, mikro veya nano skalada çalışılırken, mikro veya nano sertlik, young modülü ve deformasyon karakteristiklerini Reibold ve ark. ortaya koyduğu doğrudan belirleyebilen bir yöntemdir. Bu yöntemde elde edilen yükleme ve boşaltma (load-unload) eğrileri ile elastik-plastik dönüşümünün niteliği analiz edilebilmektedir.¹⁰⁸

3.2.1. İndentasyon Tekniği Verileri

Bir malzemenin indentasyon deneyi sonrasında elde edilen tipik bir $P - h$ eğrisi ve bu eğri üzerindeki önemli veri noktaları Şekil 3.8’ de şematik olarak verilmiştir. Grafikte P

ekseni indentasyon yükünü, h eksenini ise indenter batma derinliğini göstermektedir. P_{max} maksimum indentasyon yükü, h_{max} ise maksimum indenter batma derinliği değerine karşılık gelen veri noktalarıdır.



Şekil 3.8. Yükleme ve boşaltma $P - h$ eğrisi üzerindeki önemli noktalar

Yükleme-boşaltma eğrilerinden yararlanılması amaçlanan ve bu amaç doğrultusunda çok kullanılan bir bağıntı, Oliver ve Pharr bağıntısıdır. Oliver ve Pharr yük boşaltma eğrilerinin, deneysel bir kuvvet kuralı (Eşitlik 3.1) ile tutarlı bir ilişkisi vardır.

$$P = A(h - h_r)^m \quad (3.1)$$

Burada P ; indentasyon yükü, h ; penetrasyon (batma) derinliği, h_r ; yük boşaltma sonrasındaki son derinlik, A ve m deneysel yollarla elde edilen parametrelerdir.

Maksimum penetrasyon (batma) derinliği ($h=h_{max}$) ve yük boşaltma eğrisinin başlangıç kısmı eşitlik (3.1)'de yazılarak hem rijitlik hem de temas derinliği belirlenmektedir.⁸²

3.3. Elastisite Modül ve Sertlik Değerlerinin Ölçümü

Elastisite modül E ve mikrosertlik H değerleri, yükleme ve penetrasyon derinliği verileri ile açıklanabilmektedir.¹⁰⁹ Sertliği ve modülleri belirlemek için üç anahtar

parametreye ihtiyaç vardır. Bunlar maksimum yük (P_{max}), indenter temas alanı maksimum derinlikte (A_c) ve yükü boşaltma başlangıç temas rijitliğidir ($S=dP/dh$). Geleneksel mikrosertlik testlerinde olduğu gibi, dinamik mikro-indentasyon sertliği de, indentasyon maksimum yükün (P_{max}), iz alanına (A_c) bölünmesiyle bulunmaktadır (Uzun ve diğer. 2005).¹⁰⁹ Böylece sertlik ifadesi eşitlik (3.2) 'de ki gibi yazılır.

$$H = \frac{P_{max}}{A_c} \quad (3,2)$$

Burada A_c temas alanı, yük kaldırıldığı andaki indenter'in, malzeme ile arasındaki derinlik mesafesi (hc)'nin bir fonksiyonu olarak alındığında, $A_c = F(hc)$ şeklinde ifade edilebilmektedir.

İndenter geometrisi, eksen-simetrik ve tepe yarı-açısı θ olan bir koni şeklinde kabul edilirse, indenter geometrisi kullanılarak temas alanı eşitliği ile hesaplanabilir.

$$A_c = \pi(\tan^2\theta)h_c^2 \quad (3,3)$$

Berkovich indenter için temas alanı, eşitlik (3.4) şekiline dönüşür.

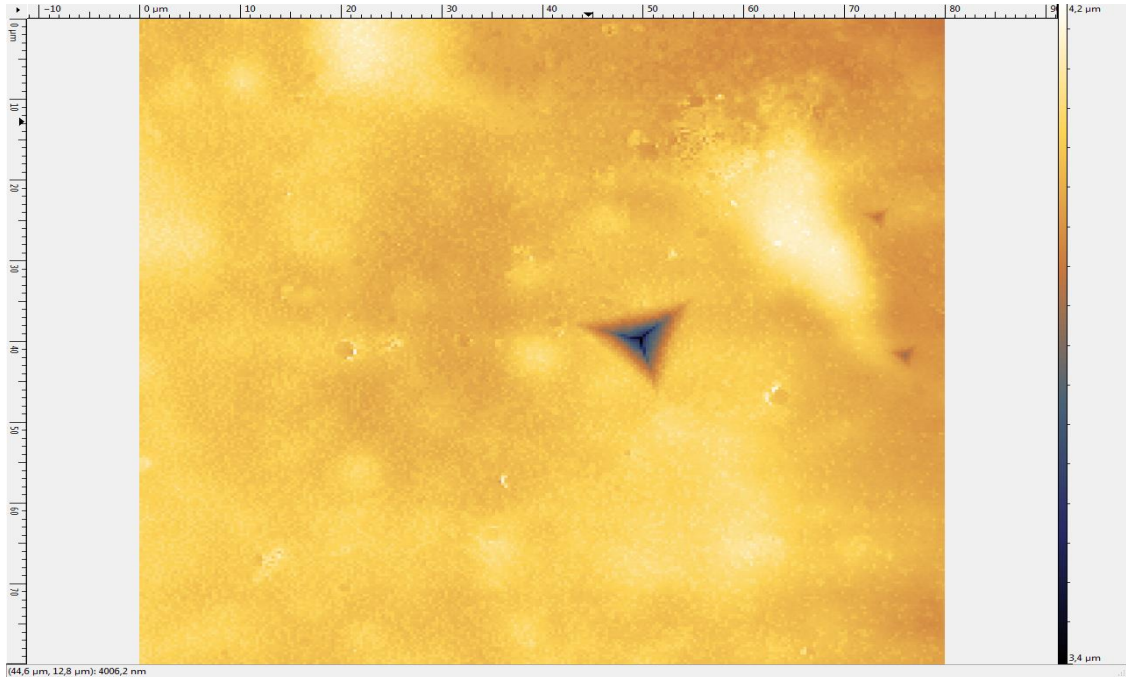
$$A_c = 26.43h_c^2 \quad (3,4)$$

Malzemelerin mikrosertliği, uygulanan indentasyon test yüküne bağlıdır. İndentasyon boyut etkisi olarak bilinen bu olgu genellikle artan uygulama test yükleri (artan indentasyon boyutu) ile görünür mikrosertlikte bir azalma gösterir. Bu olgu, indentasyon süresince yük başlangıç plastik deformasyonu, indentasyon elastik toparlanma, malzemenin elastik/plastik deformasyonu, indentasyon boyunca dislokasyon boyutunun oluşum döngüsü ..gibi birçok nedenden dolayıdır. İndentasyon deneylerinden elde edilebilecek bir diğer malzeme özelliği de Young modülüdür. Young modülü, $P - h$ eğrisinin boşaltma safhasının (Şekil 3.4) başlangıç kısmı eğimi (dP/dh) ve maksimum yük altındaki temas alanı (A_{max}) değeri kullanılarak eşitlik (3.5)'den hesaplanabilmektedir.

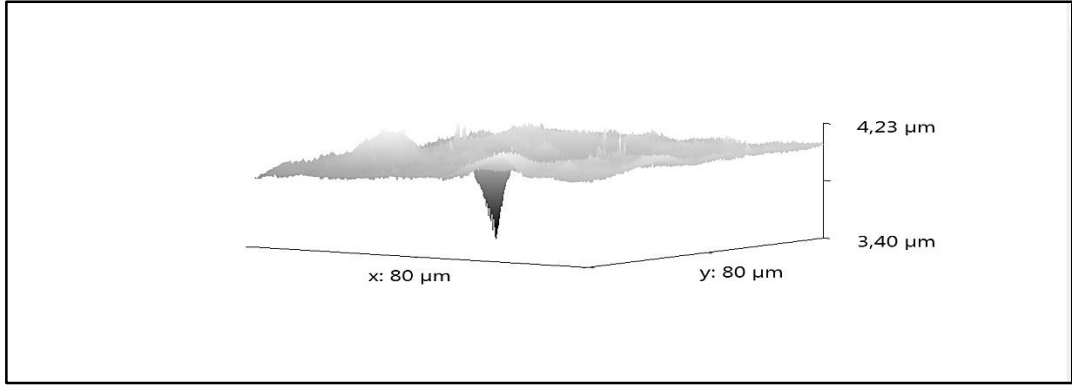
$$E^* = \left[\frac{1 - \nu^2}{E} + \frac{1 - \nu_{in}^2}{E_{in}} \right]^{-1} = \frac{1}{c^* \sqrt{A_{max}}} \left(\frac{dP}{dh} \right) \quad (3.5)$$

Bu bağıntıdaki E^* değeri, indenter-numune sisteminin, indirgenmiş elastisite modülü olarak tanımlanmıştır. Bu etkin modül tanımlanarak, ideal rijitlikte olmayan indenterin, yük – derinlik davranışına etkisi hesaba katılabilmektedir.¹⁰⁸ Burada $c^*=1.167$ (berkovich); ν Poisson oranı; E young modülüdür. “in” indisi indentera ait özellikleri belirtmektedir.⁸²

Elastik modül ve sertlik değerlerinin ölçümü bittikten sonra indentasyon tester cihazının atomik force mikroskobu kullanılarak yüzey görüntüsü alındı. Görüntüler 3 boyutlu olarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Görüntülerde ön kapsülün yüzeyi ve indenterin kapsül üzerinde ölçüm sırasında meydana getirdiği değişiklik gözlemlendi.



Şekil 3.9. Ölçüm yapılmış kapsülün indentasyon tester cihazının atomik force mikroskobu kullanılarak yüzey görüntüsü.



Şekil 3.10. Ölçüm yapılmış kapsülün indentasyon tester cihazının atomik force mikroskobu kullanılarak alınmış 3 boyutlu görüntüsü.

3.4. Tarayıcı Elektron Mikroskop ile Kapsül Kalınlığının Değerlendirilmesi

Tarayıcı Elektron Mikroskop (Scanning Elektron Mikroskop-SEM) FEI Quanta 400F (Kanada) kullanarak her grubun kapsül kalınlık değerleri ayrı ayrı olarak değerlendirildi.

Tarayıcı Elektron Mikroskopunda (SEM) görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilmektedir. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir.

3.5. İstatistiksel Yöntem

Değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro Wilk testi ile grup varyanslarının homojenliği ise Levene Testi ile incelenmiştir. Parametrik testlerin varsayımları sağlandığından grup ortalamaları Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD testi ile karşılaştırılmıştır. Değişkenler arası ilişkiler ise Pearson korelasyon katsayısı ile değerlendirilmiştir. Tanıtıcı istatistikler ortalama±std.sapma olarak belirtilmiştir. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0,05$ olarak gösterilmiştir. Veriler (SPSS, Chicago IL, Version 17) paket programında değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Özellikleri

Çalışmaya her grupta 24 olmak üzere toplamda 72 hasta dahil edildi. Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda 13 erkek 11 kadın hastanın yaş ortalaması 69.25 ± 5.07 en düşük yaş değeri 60 en yüksek 80, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubundaki 12 erkek 12 kadın hastanın yaş ortalaması 69.33 ± 5.63 en düşük yaş değeri 60 en yüksek 81, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan 11 erkek 13 kadın hastanın yaş ortalaması ise 69.37 ± 5.19 iken en düşük yaş 61 en yüksek hasta 83 olarak tespit edildi. Yaş ve cinsiyet bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p= 0,997$).

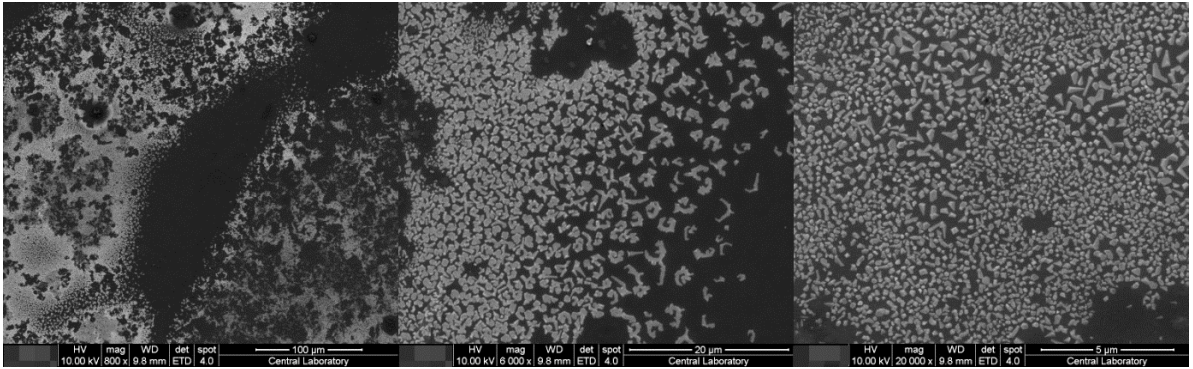
Tablo 4.2. Kapsül esnekliği ve sertliği bakılan hastaların demografi tablosu.

Grup	Kadın	Erkek	Ortalama	En düşük yaş	En yüksek yaş
Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar	11	13	69.25 ± 5.07	60	80
Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu	12	12	69.33 ± 5.63	60	81
Katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan	13	11	69.37 ± 5.19	61	83

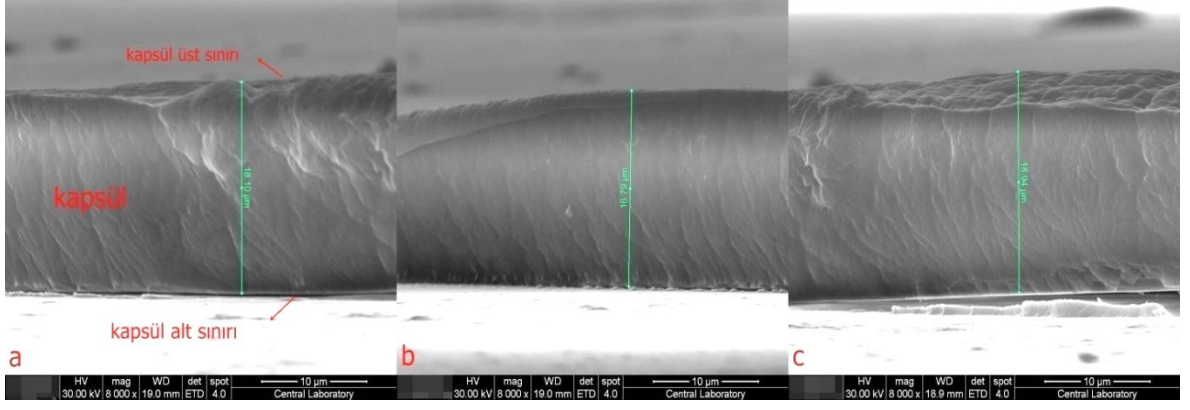
4.2. TEM ile Ön Kapsül Kalınlıkları Ölçümü

Çalışmaya her grupta 10 olmak üzere toplamda 30 hasta randomize bir şekilde dahil edildi. Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda 5 erkek 5 kadın hastanın yaş ortalaması 68.30 ± 5.12 , psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubundaki 5 erkek 5 kadın hastanın yaş ortalaması 69.2 ± 6.30 , katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan 4 erkek 6 kadın hastanın yaş ortalaması ise 68.7 ± 5.81 iken en düşük olarak tespit edildi. Hastaların yaşlarının en küçük en büyük değerleri tablo 3 de görülmektedir. Yaş ve cinsiyet bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p= 0,941$). Her gruptaki hastanın alınan 10 adet kapsül kalınlıkları ayrı ayrı değerlendirildi. FEI Quanta 400F tarayıcı elektron mikroskop (SEM) kullanılarak kapsül kalınlığı açısından değerlendirildiğinde katarakt dışında herhangi bir

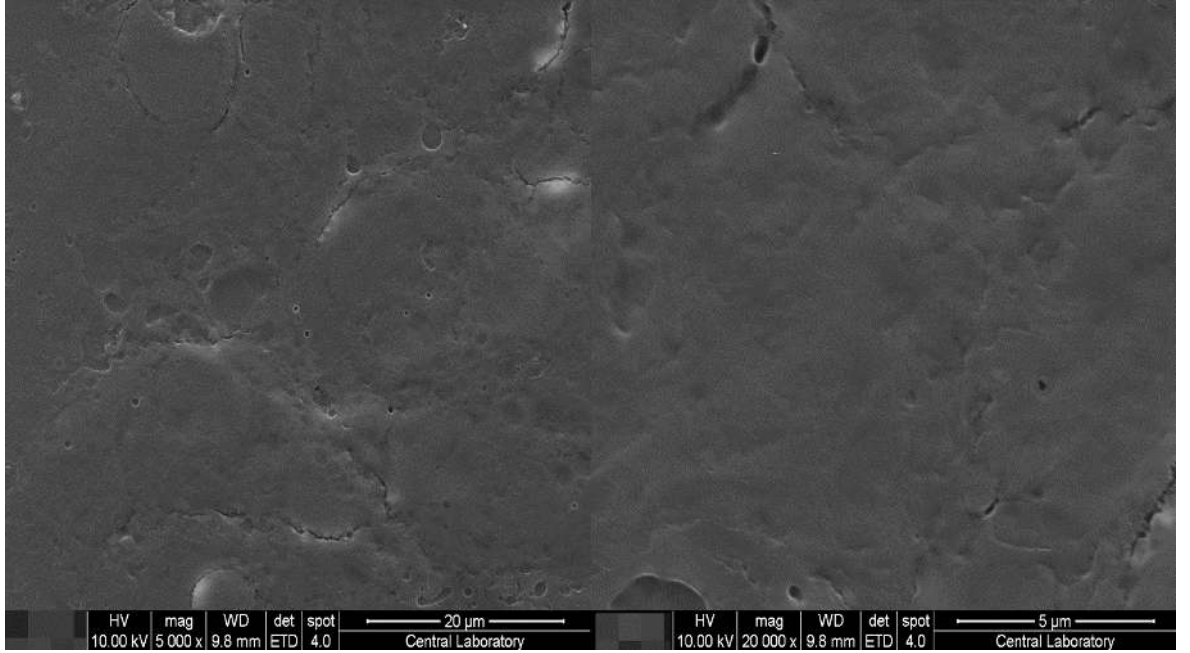
oküler patolojisi olmayan hastalar grubunun kapsül kalınlığı ortalaması $18.19 \pm 2.18 \mu\text{m}$, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda $18.41 \pm 2.64 \mu\text{m}$, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grupta ise 18.36 ± 1.95 olarak ölçüldü. Kapsül kalınlığı açısından bakıldığında bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,975$). Grup ayrımı yapılarak ve yapılmadan kapsül kalınlığı ile yaş arasındaki korelasyon ayrı ayrı değerlendirildi. Grup ayrımı yapılmadan kapsül kalınlığı ile yaş arasında biri artarken diğeri de artan %90,1'lik bir ilişki vardır. Gruplar ayrı ayrı incelendiğinde ise katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda kapsül kalınlığı ile yaş arasında biri artarken diğeri de artan %92,1'lik, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda kapsül kalınlığı ve yaş arasında biri artarken diğeri de artan %89,5'lik, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan hastalar grubunda kapsül kalınlığı ve yaş arasında biri artarken diğeri de artan %90,6'lık bir ilişki tespit edildi.



Şekil 4.11. Katarakt cerrahisi sırasında kullanılan kapsül boyasının tarayıcı elektron mikroskop altındaki görüntüsü



Şekil 4.12. Üç farklı gruptaki kapsüllerin kalınlıklarının tarayıcı elektron mikroskop (SEM) altındaki ölçümleri. a) Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastanın kapsül ölçüm görüntüsü, b) psödoeksfolyasyon sendromlu hastanın kapsül görüntüsü, c) katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup kapsül ölçüm görüntüsü.



Şekil 4.13. Lens ön kapsülünün tarayıcı elektron mikroskobu altındaki farklı büyütmelelerdeki görüntüsü.

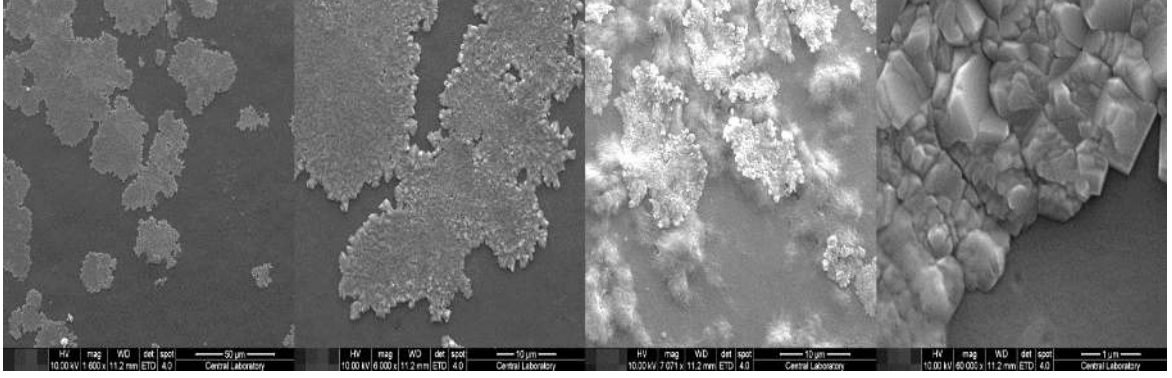
Tablo 4.3. Kapsül kalınlığı bakılan hastaların demografi tablosu.

Grup	Kadın	Erkek	Ortalama	En düşük yaş	En yüksek yaş
Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar	5	5	68.30±5.12	60	80
Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu	5	5	69.2±6.30	60	77
Katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan	6	4	68.7±5.81	61	81

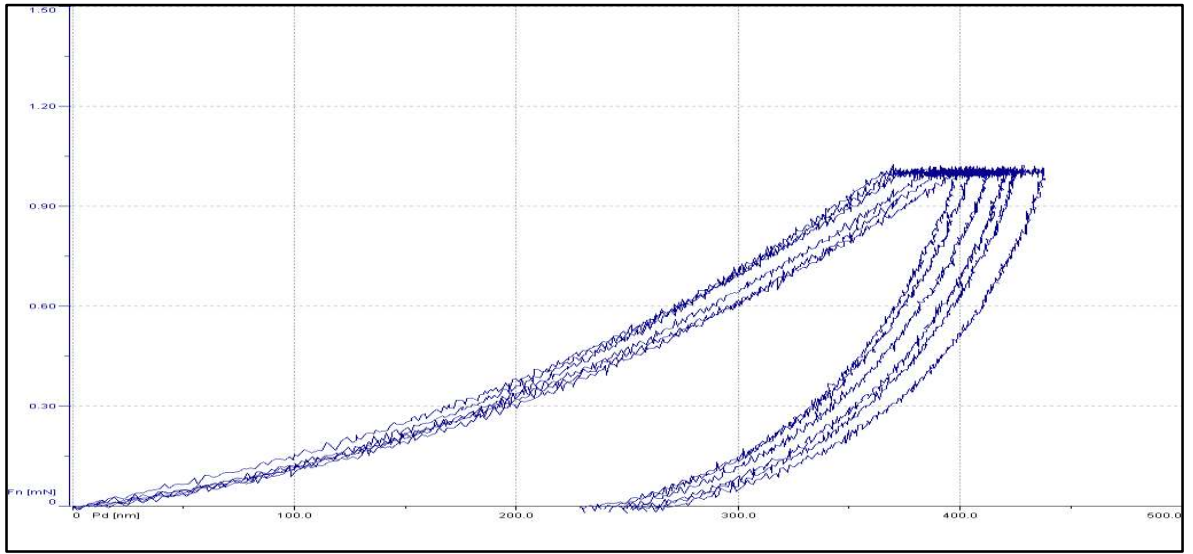
4.3. Young's Modülüs Elastisitesinin Nano İndenter ile Ölçümü

Nano indenter tester cihazı ile Oliver & Pharr metodu kullanılarak yapılan yapılan Young's modülüs ölçümlerde katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda ön kapsül esneklik en küçük değer 5.42 GPa, en büyük değer 10.05 GPa, ortalaması 7.53 ± 1.07 GPa, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda en küçük değer 3.72 GPa en büyük değer 8.91 GPa, ortalama 6.007 ± 1.25 GPa, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grupta ise en küçük değer 6.66 GPa, en büyük değer 11.06 GPa, ortalama 8.12 ± 0.98 GPa olarak ölçüldü. Yapılan istatistiksel analizde katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubu ile psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu arasında ($p=0.000$) ve katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup ile psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu arasında ($p=0.000$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu diğer iki gruptanda anlamlı derecede esnekliği fazla olarak ölçüldü ($p=0.000$). Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubu ile katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.170$). Grup ayrımı yapılarak ve yapılmadan kapsül esnekliği ile yaş arasındaki korelasyon ayrı ayrı değerlendirildi. Grup ayrımı yapılmadan esneklik katsayısı ile ön kapsülü alınan hastaların yaşı değerlendirildiğinde biri artarken diğeride artan %66'lık istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır ($p<0.01$). Gruplar ayrı ayrı incelendiğinde ise katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda kapsül esneklik katsayısı ile yaş arasında biri artarken diğeride artan %89,1'lik ($p<0.01$), psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda kapsül esneklik katsayısı ve yaş arasında biri artarken diğeride artan %85.8'lik ($p<0.01$), katarakt operasyonu sırasında

kapsül boyası kullanılan hastalar grubunda kapsül esneklik katsayısı ve yaş arasında biri artarken diğeri de artan %83.7'lik ($p<0.01$) bir ilişki tespit edildi. Esneklik katsayısı artıkcâ bir maddenin esnekliğı azalmaktadır.



Şekil 4.14. Psödoeksfoliasyon materyalinin ve ön kapsülünün tarayıcı elektron mikroskop kullanılarak farklı büyütmelede elde edilen görüntüleri.



Şekil 4.15. Oliver & Pharr Metodu kullanılarak aynı kapsül üzerinden alınan farklı esneklik ölçümlerinin bilgisayar ortamına aktarıldığında aynı kapsül üzerindeki farklı 6 farklı ölçümün oluşturduğu eğriler. X koordinatı yük Y koordinatı derinliğı göstermektedir.

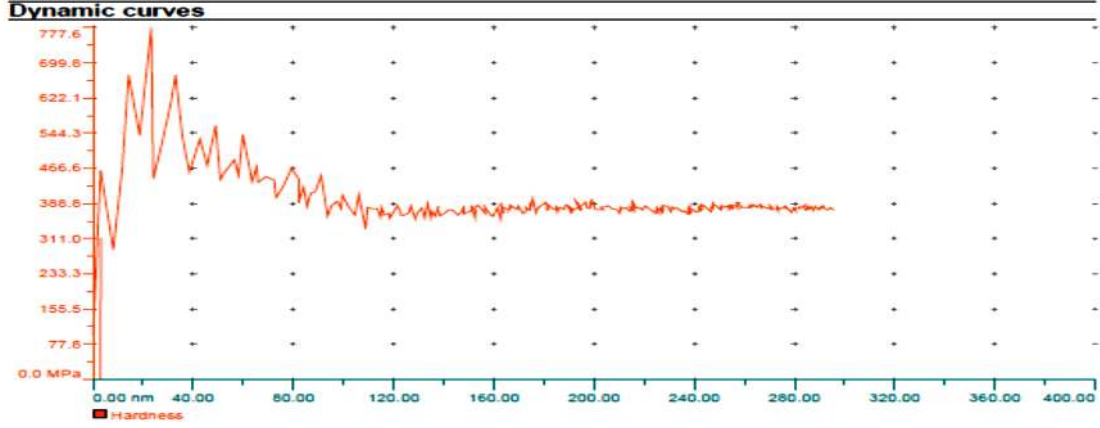
Tablo 4.4. Oliver & Pharr Metodu kullanılarak aynı kapsül üzerinden alınan farklı esneklik ölçüm değerleri. Aynı kapsül üzerinde yapılan 6 farklı ölçümün değerleri. EIT (The Elastic Internal Traction)

EIT (Oliver & Pharr)	Data : 1	6.499
[GPa]Gigapascal	Data : 2	6.701
	Data: 3	7.341
	Data : 4	6.708
	Data : 5	6.677
	Data : 6	6.278
	Mean	6.701
	Std Dev	0.355

4.4. Kapsül Sertliği

Nano indenter ile Martens Hardness metodu kullanılarak bakılan ön kapsül sertlikleri ölçümlerinde katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda kapsül sertliği en düşük 206GPa, en büyük 547Gpa ve ortalama 326.41 ± 98.40 MPa, psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda en düşük 106MPa, en yüksek 288MPa ortalama 210.5 ± 52.32 MPa, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grupta ise en düşük 212 MPa en büyük 430 MPa ve ortalama 315.54 ± 163.15 MPa olarak ölçüldü. Yapılan istatistiksel analizde katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubu ile psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu arasında kapsül sertlik bakımından ($p=0.002$) ve katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup ile psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu arasında ($p=0.006$) istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. Psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubu diğer iki grupta anlamlı derecede farklıdır ($p<0.01$). Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubu ile katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.942$). Grup ayrımı yapılmadan sertlik ile ön kapsülü alınan hastaların hastaların yaşı değerlendirildiğinde biri artarken diğeri artan %36.5'lik istatistiksel olarak anlamlı ilişki vardır ($p<0.01$). Gruplar ayrı ayrı incelendiğinde ise katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan hastalar grubunda kapsül sertlik katsayısı ile yaş arasında biri artarken

diğeride artan %47,1'lik ($p<0.01$), psödoeksfoliasyon sendromu olan olgular grubunda kapsül sertlik ve yaş arasında biri artarken diğeride artan %57.7'lik ($p<0.01$), katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan hastalar grubunda kapsül sertlik ve yaş arasında biri artarken diğeride artan %53.9'luk ($p<0.01$) bir ilişki tespit edildi.



Şekil 4.16. Martens Hardness metodu kullanılarak nano indenter ile ölçülen ön kapsül sertlik (hardness) ölçümünün bilgisayar ortamında grafiğe aktarılması.

Tablo 4.5. Martens Hardness metodu kullanılarak nano indenter ile ölçülen ön kapsül sertlik (hardness) ölçümün değerleri. HIT (The Hardness Internal Traction)

HIT	Data : 1	274.197
[MPa]Megapaskal	Data : 2	256.368
	Data: 3	292.855
	Data : 4	259.488
	Data : 5	284.411
	Data : 6	240.678
	Mean	267.999
	Std Dev	19.389

Grup farkı olmadan tüm veriler kendi aralarında kapsül esneklik katsayısı ve kapsül sertlik açısından değerlendirildiğinde %49.3'lük biri artarken diğeride artan istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır ($p<0.01$).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda FEI Quanta 400F tarayıcı elektron mikroskop (SEM) kullanılarak katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan grup, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup ve psödoeksfoliasyon sendromu olan hastaların lens ön kapsülleri kalınlık açısından ve yaş ile kalınlık arasındaki korelasyon açısından değerlendirilmiştir. Kapsül kalınlıkları açısından bu 3 grup arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmedi. Yaş ile kapsül kalınlığının birlikte olan değerlendirilmesinde ise yaş artıkça kapsül kalınlığında tüm gruplarda istatistiksel anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Portes ve arkadaşları transmisyon elektron mikroskop (TEM) kullanarak tripan mavisi ile boyanan ön kapsüller ile kontrol grubu arasındaki lens ön kapsül kalınlıklarını karşılaştırmışlar ve kapsül kalınlığı açısından iki grup arasında herhangi bir fark tespit etmemişlerdir.¹⁴⁹

Geleneksel nano indenter kullanılarak ön kapsül Young's modülü esneklik ve sertlik ölçümünü yapan klinik bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda 72 hastanın ön kapsülleri 3 farklı gruba ayrılarak incelendi. Yaptığımız ölçümlerde katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan grup, katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup ve psödoeksfoliasyon sendromu olan hastalar grubu kendi aralarında Young's modül elastisite ve Martens Hardness sertlik açısından ayrı ayrı karşılaştırıldı. Psödoeksfoliasyon sendromu olan hastalar grubunun ön kapsülleri diğer hasta gruplarının ön kapsülleri ile karşılaştırıldığında Young's Modül esneklik ve Martens Hardness sertlik değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde daha düşük olduğunu tespit edilmiştir. Düşük esneklik değeri psödoeksfoliasyon sendromlu grubun esnekliğinin diğer iki gruba göre daha fazla olduğu anlamına, düşük sertlik değeride psödoeksfoliasyon sendromlu grubun sertliğinin diğer iki gruba göre daha düşük olduğu anlamına gelmektedir. Katarakt dışında herhangi bir oküler patolojisi olmayan grup ile katarakt operasyonu sırasında kapsül boyası kullanılan grup arasında ise Young's Modül esneklik ve Martens Hardness sertlik değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Aynı zamanda bu 3 grubun Young's modül elastisite ve Martens Hardness sertlik değerlerinin yaş ile ilgili olan korelasyonu karşılaştırıldı. Çalışmamızda bütün gruplarda yaş ile birlikte Young's modül elastisite değerindeki artışa bağlı esneklikte azalma ve Martens Hardness sertlik değerindeki artışa bağlı sertliklerinde yaşla doğru orantılı bir şekilde artış tespit edildi.

Geleneksel nano indentasyon tekniği oftalmolojide çok fazla kullanılan bir teknik olmamakla birlikte alternatif olarak atomik force mikroskopisi (AFM) indentasyon yöntemi oftalmolojide biyomalzemelerin mekanik özelliklerini ölçmek için daha yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. AFM ölçümünün geleneksel indentasyon metoduna bir avantajı kontak alanını ve derinliğini aynı ucu(tip) kullanarak kuvvet-yer değiştirme eğrisi üzerinden ölçebilmesidir.¹¹⁰⁻¹¹¹ Ah-Young Jee ve arkadaşları AFM nano indentasyon kullanarak çeşitli polimerlerin mekanik özelliklerini ölçmüşler ve sonuçlar Oliver & Pharr methodu ve görüntü analizi ile değerlendirildiğinde her iki ölçümde de elde edilen sertlik ve Young's modül sonuçların birbiriyle uyumlu olduğunu gözlemlemişlerdir. Yazarlar geleneksel nano indentasyon sonuçları ile AFM nano indentasyon sonuçlarının benzer mekanik özellik değerlerini verdiği bildirmişlerdir.¹¹²

Biyolojik materyallerin indentasyon ölçümü yapmak metallerle karşılaştırıldığında çok daha zordur. Genel olarak biyolojik malzemelerin küçük elastik modülü vardır ve zamana bağlı mekanik davranışı değişir, hidrasyon durumunda bu davranışı etkileyen önemli bir etkidir.¹¹³ Biyolojik materyalin küçük elastik modülü indentasyon yaparken örnekteki test yapılacak lokasyona tipi kurmakta önemli zorluklara yol açabilir.¹¹⁴ Nano indentasyon farklı biyolojik materyallerin mekanik davranışlarını ölçmek için kullanılmıştır. Dişin mine tabakası¹¹⁵⁻¹¹⁷ kan damarları¹¹⁸ ve kemikler^{119,120} bunlardan bazılarıdır.

Guidoni ve arkadaşları alınan diş numunesinin saklama koşullarının ve hidrasyon durumunun mekanik özellikleri üzerine önemli etkisi olduğunu tespit ettiler. Nemli ortamda saklanan diş örneği kuru ortamda saklanan dişe göre 1/3 sertlik oranına ve 1/2 oranında indasyon modül değerlerine sabit olarak tespit ettiler. Kuru ortamda hazırlanan diş için farklı indasyon modülleri ile yaptıkları ölçümlerde değerleri 55 ile 60 GPa arasında buldular. Ancak ıslak diş örneği üzerinde yaptıkları ölçümlerde daha düşük sonuçlar elde ettiler.¹²¹

Akhtar ve arkadaşları nano indentasyon ile birlikte floresan mikroskobu kullanarak aorta ve vena cava kan damarlarını incelediler. Floresan mikroskobunu kan damarındaki fiber dokuların dağılımı tanımlamak için nano indentasyon ölçümünde indasyon modüllerini tespit etmek için kullandılar.¹²² Kesitler arasında yapılan modül ölçümlerinde değerler iç duvarda 7 GPa dış duvarda ise 35 GPa arasında değişiyordu. Vena kava için yapılan ölçümlerde ise modül değer i duvarda en ince noktada yaklaşık olarak 20 GPa, dış duvarda en kalın noktada ise 35 GPa olarak tespit ettiler.¹²²

Bouzakis ve arkadaşları nano indentasyonu alan-elektron emisyonu mikroskobu (FEM) ile kombine ederek lumber vertebra gerilme deformasyon eğrisi ile elastik modülüs ölçümü yaptılar. Bu ölçümlerde yaklaşık 13 GPA esneklik katsayısı 60 ile 94 arasında da gerilme katsayısı buldular.¹²⁰

Shyam S. Chaurasia ve arkadaşları tarafında yapılan bir çalışmada AFM nano indentasyon kullanılarak desme membranının elastisitesine ve sertliğine bakılmıştır. Biyolojik bir doku yapıştırıcısı olan fibrin glue oftalmolojide yapısal doku maddesi olarak yada korneal perforasyon, konjonktival greft cerrahisi sütürsüz lamaller keratoplasti, glokom cerrahisi sırasında sızıntıyı önlemek gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Fibrin glue uygulanmış desme membranının elastisite ve sertliğinde meydana gelen değişikliğe bakıldığında doku yapıştırıcısı uygulanan desme membranının hem elastisitesinde hem de sertliğinde artmış meydana gelmiştir. Buna ek olarak sertliğinde artma meydana gelen desme mebranında eğilme ve bükülme dayanıklılığında artış gözlenmiştir.¹²³

Dias ve Ziebarth¹²⁴ ön ve arka korneal stroma elastisitesini AFM nanoindentasyon yöntemi kullanarak karşılaştırmışlardır. Ön korneal stromanın efektif Young's modülüs değerini arka korneal stromadan belirgin bir şekilde yüksek bulmuşlardır. Ön ve arka korneal stromal değerler arasında tespit ettikleri lineer ilişkiye göre arka stroma 39.3% oranında daha serttir yazarlar bu elastisite gradient farkının korneanın tanı ve tedavi yöntemlerinde gözönüne alınması gerekliliğini vurgulamışlardır.¹²⁴

Grant ve arkadaşları AFM nano indentasyon kullanılarak skleranın stroma bölgesinin ve episkleranın elastik modülüs değerlerine bakıldığında episkleranın stromadan belirgin bir biçimde daha yumuşak olduğu tespit edilmiş.¹²⁵

Jardeleza ve ark.¹²⁶ diyabetik ve diyabetik olmayan hastaların ön lens kapsüllerine TM uygulayarak ve uygulamadan nano indentasyon ölçüm yapmışlardır. Bu iki grup arasında yaptıkları karşılaştırmada TM uygulanan diyabetik ve diyabetik olmayan hastalarda kapsül esnekliğinde belirgin bir azalma tespit etmişlerdir. Bu durumu TM birikiminin tip IV kollejenden oluşan ön lens kapsülü bazal membranında foto-oksidatif etkilere maruz kaldığı zaman kollajenle maksimum düzeyde çapraz bağlar yaparak kapsülde sertlik meydana getirdiği şeklinde yorumlamışlardır.¹³⁶

Lens kapsülünün elastisitesi ve sertliğinin yaşla olan ilişkisi farklı yöntemler kullanılarak daha önce bir çok kez ölçülmüştür.¹²⁷⁻¹²⁹ Bu çalışmalarda Young's modülüs elastisite değerinin yaklaşık olarak 10 farklı etkene bağlı yaşla birlikte arttığı tespit edilmiştir ancak lens kapsülündeki yaşla birlikte olan sertleşmenin sebebi halen tam olarak bilinmemektedir. Krag ve Andreassen ön lens kapsülünün yaşla birlikte kalınlığının

arttığını ve bu kalınlık artışının lens kapsülünde meydana gelen esneklik azalmasına ve sertlik artışına sebep olabileceğini bildirmiştir.¹³⁰ Bununla birlikte mercek kapsülünün mikro-mekanik özelliklerindeki değişikliklerde sertlikteki artışta bir faktör olabilir. Dokuların mekanik özellikleri yaşa bağlı olarak mikro düzeyde o dokunun içerdiği komponentlere ve bu komponentlerin makro düzeydeki organizasyonuna göre değişmektedir.¹³¹

Ziebarth ve ark.¹³² AFM kullanarak insan ve bazı maymun türlerinin lens ön kapsülü üzerinde yaptıkları çalışmalarda insan lenslerinde yaşla birlikte Young's modülü değerinde belirgin bir artış tespit etmişler maymunların yaşları karşılaştırmalı analiz için yeterli olmamıştır. Onsekiz donör gözden kapsüloreksis ile elde ettikleri kapsül örneğinde Young's modülü elastisite değeri 20.1-131kPa olarak bulunmuştur.¹³³

Farklı konsantrasyonlarda TM'nin etkinliği değişik çalışmalarda araştırılmıştır.¹³⁸ TM'nin 0.0125% den 0.5% e kadar olan değişik konsantrasyonları ön kapsülü boyamak için kullanılmaktadır.^{139,140} Yetik ve arkadaşları 0.1% lik TM solüsyonunu tuzlu suyla seyrelterek 0.05%, 0.025%, 0.0125%, 0.00625% olmak üzere 4 farklı konsantrasyon elde ettiler. Bu çözeltiler 35 hastanın 45 gözüne uygulanmıştır. Araştırmacılar 0.1 ml boyayı hava-baloncuğu tekniğiyle veya viskoelastik tekniği ile gözün için enjekte etmişlerdir. Araştırmaya katılan cerrahların değerlendirmelerinde 0.0125% lik TM enjeksiyonu ön kapsülün boyanması için tatmin edici olduğu kanısına vardılar.¹⁴¹ Birçok klinik çalışmada 0.1% tripan mavisini ön kapsül boyaması için tercih edilse de 0.06% lik düşük konsantrasyonlarda tatmin edici kapsül boyanması sağlanabilir.¹⁴²

Wollensak ve arkadaşları¹³⁴ yaptıkları bir çalışmada domuz gözlerine 0.1% lik tripan mavisini 30 saniye, 1 dakika ve 30 dakika boyunca uygulayarak değerlendirdiler. Tripan mavisinin pozitif etkisini açıklayan bir hipoteze göre tripan mavisini ile lens kapsülünün boyanması kapsülün biyomekanik yapısını modifiye etmektedir. TM ile kapsül boyanması sonucu 1 ve 30 dakika boyada bekletilen ön kapsüllerin sertliklerinde belirgin bir artış, nihai uzayabilirliğinde ise belirgin bir azalma gözlemlenildi. Bu etkinin muhtemelen tripan mavisinin ışığa duyarlılığı sonucu kollejen fibrilleri arasında serbest oksijen radikalleri ile çapraz bağlar yapması sonucu kapsülün elastik davranışında meydana getirdiği davranıştaki değişikliğe bağlı olduğunu düşünmüşlerdir.¹³⁴

Singh ve arkadaşları tarafında yapılan bir çalışmada TM ile boyanan insan kapsüllerinin histolojik karakteri analiz edilmiştir.¹³⁵ TM 'nin çoğunlukla lensin epitelyal tabakası ile komşu bazal membranı, az miktarda bazal membranın yüzeyini boyamakta

olduğunu göstermişlerdir. Bu bulgular TM'nin boyanmayan korteks ile lens kapsülü arasındaki görüntü farklılığını nasıl oluşturduğunuda açıklamaktadır.¹³⁷

Bununla birlikte katarakt ameliyatında etkili boyanma boya ile temas süresinde bağlıdır. İn vitro yapılan bir çalışmada standart kapsüloreksis ile çıkartılan kapsül örneklerinde %17 renk doygunluğuna ulaşılması cerrah için iyi bir görüntü sağlayıcı sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ön kapsül 0.1% lik TM 30 saniye, 60 saniye, 5 dakika, 30 dakika, 6 saat ve 24 saat boyunca maruz bırakılmıştır. Bir dakikanın sonunda yeterli olan 17% lik boya konsantrasyonuna ulaşılmıştır.¹⁴³ Başarılı bir kapsül boyanması için rapor edilen inkübasyon süresi 5 saniyeden 2 dakikaya kadar değişen aralık tespit edilmiştir.¹⁴⁴

Haritoğlu ve ark.¹⁴⁵ 15 adet lens kapsülünü kama şeklinde 7 parçaya diseke edilmişler ve bu parçalardan 3 tanesini 0.025% lik brilliant mavisi, 0.05% lik indosiyenin yeşili ve 0.06% lik tripan mavisi bir dakika boyunca uygulamışlar, diğer 3 parçayı da standart ışık kaynağı altında aynı süre bekletmişlerdir. Yedinci parçada kontrol grubu olarak belirlenmiştir.¹⁴⁵ AFM kontakt modu kullanarak sertlik taraması yapılan bu çalışmada brilliant mavisi, indosiyenin yeşili ve tripan mavisi uygulaması sonrasında doku sertliğinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Standart ışık kaynağı altında belli bir süre bekletilen kapsülün mekanik özelliklerinde anlamlı bir artış tespit edilmemiştir. Sertlikteki artış bu 3 çeşit boya uygulanan kapsül içinde anlamlı bir şekilde artmış olarak gözlenmiştir.¹⁴⁵

Çalışmamızda TM kullanılan grup ile normal hasta grubu arasında kapsül esnekliği bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamıştır. Tripan mavisi ile kapsülü boyanan grupta kapsül esnekliğinde fark bulunmaması boyanmanın invivo koşullarda yapılması ve örneklerin BSS göz içi irrigasyon solüsyonu içinde korunmasına bağlanabilir. Çalışmamızdaki bulgularla uyumlu olarak Jaber ve arkadaşları kapsül üzerine 0.06% lik tripan mavisi uygulaması sonrası yaptıkları biyomekanik ölçümlerde kapsül sertlik ve kapsüloreksis yırtılma direncide anlamlı herhangi bir değişiklik tespit etmemişlerdir. Yazarlar bu bulguları yaptıkları ölçüm modelinin farklı olmasına ve kapsüloreksisteki esnekliğe bağlı uzama datalarına dayanan ölçümlerinin çok doğru hesaplama sağlamamasına bağlamışlardır.¹⁴⁸

Braunsmann ve ark.¹⁵⁰ AFM nanoindentasyon kullanarak psödoeksfoliasyon sendromu olan gözlerdeki lamina cribrosa ve peripapiller sklera kalınlıklarını psödoeksfoliasyon sendromu olmayan gözlerdeki ile karşılaştırdılar. Yaptıkları ölçümlerde psx olan gözlerdeki lamina cribrosa Young's Modül değeri normal gözlerdekinden anlamlı

derecede düşük buldular. Young's Modül değerindeki bu azalmayı psx sendromu olan gözdeki lamina cribrosada elastik fiber sistemdeki yapıların organizasyonun bozulmasına bağladılar.

Psödoeksfolyasyon sendromunun erken evresinden itibaren elastik metabolizmasında elastik fiber dokudaki bileşenlerde (elastin, fibrilin-1, fibrilin-4) ve lizil oksidaz 1 benzeri (LOXL1) enziminin işlevinde azalmaya bağlı olarak karışıklılar meydana gelir. LOXL1 lizil oksidaz enzim ailesinin bir üyesidir. Elastin ve kollojen dokuların çapraz bağlarının katalize edilmesinde görev alır.¹⁵¹ LOXL1 elastik fiberlerin oluşmasında ve devamlılıklarının sağlamasında çözülebilir tropoelastinin çözünmeyen tropoelastine desmozin ve izodesmozin bağlarla bağlanmasını sağlayarak görev alır.^{151,152} LOXL 1 geninin ortak tek nükleotid polimorfizmi bütün toplumlarda psx sendromu için esas genetik risk faktörü olarak tanımlanmıştır.^{153,154} Psx sendromu olan gözlerdeki dokularda LOXL 1 enziminin disregüle bir şekilde ekspresyonu olduğu daha önce yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır.^{155,156}

Çalışmamızda da psx sendromu olan gözlerdeki lens ön kapsüllerin Young's modül ve sertlik değerlerin diğer iki gruba göre daha düşük bulunmuştur. Young's modülü ve sertlik değerindeki bu düşüş LOXL 1 enzimindeki defektler sonucunda lens ön kapsülünün biyomekanik özelliklerini etkilemesine bağlı olabileceğini düşünülmüştür. Psx sendromu olan dokulardaki bu sertlik azalması gözdeki yapıların zayıflamasın ve kolayca yaralanabilir hale gelmesine neden olabilir.

SONUÇ

Çalışmamızda 3 farklı grubun lens ön kapsül kalınlıkları, sertlikleri, esneklikleri ve bu gruptaki hastaların ön lens kapsüllerinin yaşı ile olan ilgileri ayrı ayrı incelendi. Tarayıcı elektron mikroskop kullanılarak bakılan kapsül kalınlıkları gruplar arasında farklılık göstermezken yaş artışıyla birlikte kapsül kalınlıklarında doğru orantılı bir biçimde artış görülmektedir. Bu sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla birebir benzerlik göstermektedir.

Geleneksel nano indenter kullanılarak ön lens kapsülü sertlik ve esneklik değerlerine bakıldığında ise psödoeskfoliasyonlu kapsülü olan hastalar grubunun normal hasta grubuna ve TM kullanılan hasta grubuna göre esnekliğinin daha fazla sertliğinin ise daha az olduğu bulunmuştur. Literatürde TM kullanılan ön lens kapsülünde sertlikte artma esneklikte ise azalma olduğunu gösteren yayınlar vardır. Bizim ölçümlerimizde de ortalama değerlere bakıldığında TM kullanılan hastaların Young's modülü değerleri ve sertlik değerleri yüksek çıksada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmamızda TM operasyon sırasında kullanılırken diğer çalışmalarda ön lens kapsülü çıkarıldıktan sonra TM uygulandığı için boyayı daha çok tutmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bu üç grubun sertlik ve esneklik değerlerinin yaşa bağlı değişimine bakıldığında her üç grubunda yaşla birlikte esnekliğinde azalma ve sertliğinde artış tespit edilmiştir.

Nano indentasyon tekniği son yıllarda oftalmolojide canlı dokuların biyomekanik özelliklerini tespit etmede yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyolojik materyallerin indentasyon test süreci ilgi çekmeye devam etmektedir. Birçok viskoelastik materyalin ve biyolojik dokunun standart elastik değerleri halen bilinmemektedir ve araştırmaya açıktır.

Nanoindentasyon yöntemi ile elde edilen verilerin katarakt cerrahisi tekniklerinin geliştirilmesinde önemli kaynak olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Courtois, Yves. The capsule of the crystalline lens. In: Stark, Lawrence, Obrecht, Gerard (Eds.), Presbyopia: Recent Research and Reviews from the Third International Symposium. Professional Press Books/Fairchild Publications Division of Capital Cities Media, Inc.
2. Fincham EF. The accommodation reflex and its stimulus. Br J Ophthalmol 1951 Jul;35(7):381-93.
3. Werner, L.P, Werner, L, Pandey, S.K, Apple, D.J. Physiology of accommodation and presbyopia. In: Agarwal, Amar (Ed.), Presbyopia: A Surgical Textbook. Slack Incorporated, Thorofare, NJ. 2002.
4. Krag, S, Olsen, T, Andreassen, T.T. Biomechanical characteristics of the human anterior lens capsule in relation to age. Investigative Ophthalmology and Visual Science 1997; 38, 357e363.
5. Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U, Kuchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist. Intraocular and systemic manifestations. Ophthalmology. 1998 Jun; 105:951-68.
6. Kuchle M, Amberg A, Martus P, Nguyen NX, Naumann GO. Pseudoexfoliation syndrome and secondary cataract. Br J Ophthalmol 1997 Oct; 81:862-6.
7. Schlötzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H. Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder? Arch Ophthalmol 1992 Dec; 110:1752-6.
8. Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC Jr, Keshgegian AA. Pseudoexfoliative fibrilopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. Arch Ophthalmol 1992 Dec; 110:1757-62.
9. Morrison JC, Green WR. Light microscopy of the exfoliation syndrome. Acta Ophthalmol Suppl 1988; 66:5-27.
10. D.A.Lucca, K. Hermann, M.j.Klopfstein. Nanoindentation: Measuring methods and applications. CIRP Annals - Manufacturing Technology 59 (2010) 803–819.
11. Kincaid MC. Pathology of Lens. Tasman W, Jaeger EA. Ed. Duane's Ophthalmology Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2007; Vol. 3, Chapter 12, 232-51.

12. Satıcı A, Çam V. Lens kalınlığının yaş ve aksiyel uzunlukla ilişkisi. T Klin Oftalmoloji 1998;7: 165-8.
13. David G, Pedrigi, R. M, Heistand, M. R & Humphrey, J. D. Regional multiaxial mechanical properties of the porcine anterior lenscapsule. ASME Journal of Biomechanical Engineering 2007; 129(1), 97–104.
14. Fisher, R. F, & Pettet, B. E. The postnatal growth of the capsule of the human crystalline lens. Journal of Anatomy 1972; 112(2), 207–214.
15. Manns, F, Fernandez, V, Zipper, S, Sandadi, Hamaoui M, Ho. Radius of curvature and asphericity of the anterior and posterior surface of human cadaver crystalline lenses. Experimental Eye Research 2004; 78(1), 39–51.
16. Brian P. Danysh, Melinda K. Duncan, The lens capsule, Experimental Eye Research 2009; 88 (2009) 151–164.
17. O'Dwyer P.A, Oftalmolojinin Esas ve İlkeleri, Temel ve Klinik Bilimler Kursu Cilt 2, 1.basım, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara 2007-2008:74-76.
18. Weingeist TA, Liesegang TJ, Grand MG. Biochemistry, Chapter 2 In American Academy of Ophthalmology, Basic and Clinical Science Course 1999, 2000, Lens and Cataract. 11-14.
19. Mir S, Wheatley, H.M, Hussels, I.E, Whittum-Hudson, J.A, Traboulsi, E.I. A comparative histologic study of the fibrillin microfibrillar system in the lens capsule of normal subjects and subjects with Marfan syndrome. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1998; 39, 84–93.
20. Özçetin H. Cerrahi lens. Tamçelik N. Ed. Fakoemülsifikasyon. TOD Eğitim Yayınları. Bursa, 2004; 1-10.
21. Skuta LG , Parrish KR. Zonular dialysis during extracapsular cataract extraction in pseudoexfoliation syndrome. Arch Ophthalmol 1987; 105: 1318.
22. Bengisu Ü, Göz Hastalıkları 4. Basım, Ankara, 1998, sayfa 124-126.
23. Özçetin H, Lens ve Hastalıkları, bölüm 5, Klinik Göz Hastalıkları ,Nobel Tıp Kitapevi, 2003; 104.

24. Weingeist TA, Liesegang TJ, Grand MG. Physiology, Chapter 3 In American Academy of Ophthalmology, Basic and Clinical Science Course 1999-2000, Lens and Cataract. 16-19, San Francisco, 1999.
25. Burcu A. Lenste yaşı bağılı değişimler. 29. Ulusal Oftalmoloji Kursu Özet Kitabı. 2009; 21-8.
26. Weikert MP. Update on bimanual microincision cataract surgery. Current Opinion in Ophthalmology 2006; 17: 62-67.
27. Alio J, Rodriguez-Prats JL, Galal A, Ramzy M. Outcomes of microincision cataract surgery versus coaxial phacoemulsification. American Journal of Ophthalmology 2005; 112(11):1997-2003. Epub 2005 Sep; 23.
28. Gözoğlu S. Mikroinsizyonel katarakt cerrahisi ile lens ekstraksiyonu ve arka kamara göz içi lensi yerleştirilmesi sonrası postoperatif sonuçların incelenmesi. Uzmanlık Tezi, İstanbul Haseki Eğt. Hast. Göz Hastalıkları 2006.
29. Leaming DV. Practice styles and preferences of ASCRS members – 1985 survey. J Cataract Refract Surg 1986; 12: 380-4.
30. Gimbel HV, Neuhau T. Development, advantages and methods of continuous circular capsulorhexis technique. J Cataract Refract Surg 1990; 16: 31-37.
31. Melles Gr, de Waard PW, Pameyer JH, Houdijin Beekhuis W. Trypan Blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. J Cataract Refract Surg 1999; 25: 7-9.
32. Hoffer KJ, McFarland JE. Intracameral subcapsular fluorescein staining for improved visualization during capsulorhexis in mature cataracts. J Cataract Refract Surg 1993; 19(4):566.
33. Goldman JM, Karp CL. Adjunct devices for managing challenging cases in cataract surgery: capsular staining and ophthalmic viscosurgical devices. Curr Opin Ophthalmol 2007; 18(1):52-7.
34. Kazem MA, Behbehani JH, Uboweja AK, Paramasivam RB. Traumatic cataract surgery assisted by trypan blue. Ophthalmic Surg Lasers Imaging 2007;38(2):160-3.
35. Sinha R, Sharma N, Vajpayee RB, Titiyal JS. Trypan blue assisted high-volume cataract surgery in a peri-urban eye hospital in India. Trop Doct 2006;36:63.

36. Melles GR, de Waard PW, Pameijer JH, Beekhuis WH. Staining the lens capsule with trypan blue for visualizing capsulorhexis in surgery of mature cataracts. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1999; 215(6):342-4.
37. Kothari K, Jain SS, Shah NJ. Anterior capsular staining with trypan blue for capsulorhexis in mature and hypermature cataracts. A preliminary study. *Indian J Ophthalmol* 2001; 49(3):177-80.
38. Dada T, Sethi HS, Sharma N, Dada VK. Additional uses of trypan blue staining during cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2005; 31(9):1842.
39. Jacobs S, Agarwal A, Agarwal A. Trypan blue as an adjunct for safe phacoemulsification in eyes with white cataract. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28(10):1819-25.
40. Kiel AW, Butler T, Gregson R. A novel use for trypan blue to minimize epithelial cell proliferation in pediatric cataract surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2003; 40(2):96-7.
41. Pandey SK, Werner L, Escobar-Gomez M. Dyeenhanced cataract surgery. Part 1: anterior capsule staining for capsulorhexis in advanced/white cataract. *J Cataract Refract Surg* 2000;26(7):1052-9.
42. Dada T, Ray M, Bhartiya P, Vajpayee RB. Trypan-blueassistedn capsulorhexis for trainee phacoemulsification surgeons. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28(4):575-6.
43. Tsai CC, Lin YC, Kao SC. Preoperative methylene blue injection as a surgical adjuvant in treatment of orbital dermoid cyst. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85(8):909-10.
44. Bhartiya P, Sharma N, Ray M. Trypan blue assisted phacoemulsification in corneal opacities. *Br J Ophthalmol* 2002; 86(8):857-9.
45. Schlötzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H. Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol* 1992 Dec; 110:1752-6.
46. Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC Jr, Keshgegian AA. Pseudoexfoliative fibrilopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1992; 110:1757-62.

47. Morrison JC, Green WR. Light microscopy of the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl* 1988;66:5-27.
48. Schlötzer-Schrehardt U, Von der Mark K, Sakai LY, Naumann GO. Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997 Apr;38:970-84.
49. Streeten BW, Dark AJ, Wallace RN, Li ZY, Hoepner JA. Pseudoexfoliative fibrilopathy in the skin of patients with ocular pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol* 1990 Nov 15; 110:490-9.
50. Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U, Kuchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist. Intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology* 1998; 105:951-68.
51. Garner A. Exfoliation syndrome. Editorial. *Br J Ophthalmol* 1990; 74:449.
52. Skuta L.G, Morgan K.R. Glaucoma.Exfoliation Syndrome, Pigment Dispersion Syndrome, and the Associated Glaucomas. In:Duane's Clinical Ophthalmology. Ed.Tasman W, Jaeger A.E.2002 vol.3 chapter 54B.
53. Karp LC, Fazio RJ, Culbertson WW, Gren RW. True exfoliation of the lens capsule. *Arch Ophthalmol* 1999 Aug; 117:1078-80.
54. Sandinha T, Weir C, Holding D. A delayed complication of cataract surgery in a patient with pseudoexfoliation: dislocation of the intraocular lens. *Eye* 2003Mar; 17:272-3.
55. Kozobolis VP, Papatzanaki M, Vlachonikolis IG, Pallikaris IG, Tsambarlakis IG. Epidemiology of pseudoexfoliation in the island of Crete (Greece). *Acta Ophthalmol Scand* 1997 Dec; 75:726-9.
56. Mccarty CA, Taylor HR. Pseudoexfoliation syndrome in Australian adults. *Am J Ophthalmol* 2000 May;129:629-33.
57. Yalaz M, Othman I, Nas K, Eroglu A, Homurlu D, Çıkıntaş Z, Ashouri A. The frequency of pseudoexfoliation syndrome in the eastern Mediterranean area of Turkey. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1992 Apr;70:209-13.

58. Allingham RR, Loftsdottir M, Gottfredsdottir MS, Thorgeirsson E, Jonasson F, Sverrisson T, Hodge WG, Damji KF, Stefansson E. Pseudoexfoliation syndrome in Icelandic families. *Br J Ophthalmol* 2001 Jun; 85:702-7.
59. Kozobolis VP, Detorakis ET, Tsilimbaris MK, Vlachonikolis IG, Tsambarlakis IC, Pallikaris IG. Correlation between age-related macular degeneration and pseudoexfoliation syndrome in the population of Crete (Greece). *Arch Ophthalmol* 1999 May; 117:664-9.
60. Mitchell P, Wang JJ, Hourihan F. The relationship between glaucoma and pseudoexfoliation: The Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol* 1999 Oct; 117:1319-24.
61. FitzSimon JS, Mulvihill A, Kennedy S, Finch A, Collum LM, Eustace P. Association of HLA type with pseudoexfoliation of the lens capsule. *Br J Ophthalmol* 1996 May; 80:402-4.
62. Kozobolis VP, Detorakis ET, Sourvinos G, Pallikaris IG, Spandidos DA. Loss of heterozygosity in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999 May; 40:1255-60.
63. Seshubabu G. Association of HLA type with pseudoexfoliation of the lens capsule. *Br J Ophthalmol* 1997 Jan; 81:93-4.
64. Ersoy T, Yarangümeli A, Balcı M, Köz GÖ, Kural G. Psödoeksfoliasyon sendromunda HLA doku grupları. *T Oft Gaz* 2002; 32:715-20.
65. Eustace P, Joyce PD, McAuliffe-Curtin D, Kirrane S. HLA antigens in the pseudoexfoliation syndrome. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1980; 100:510.
66. Slagsvold JE, Nordhagen R. The HLA system in primary open angle glaucoma and in patients with pseudoexfoliation of the lens capsule (exfoliation of fibrillogluthia epitheliocapsularis). *Acta Ophthalmol* 1980; 58:188-92.
67. Hammer T, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Unilateral or asymmetric pseudoexfoliation syndrome? An ultrastructural study. *Arch Ophthalmol* 2001 Jul; 119:1023-31.
68. Seland JH. The ultrasutructural changes in the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl* 1988; 184:28-34.

69. Schlötzer-Schrehardt U, Küchle M, Naumann GO. Electron-microscopic identification of pseudoexfoliation material in extrabulbar tissue. *Arch Ophthalmol* 1991 Apr;109:565-70.
70. Schlötzer-Schrehardt U, Körtje KH, Erb C. Energy-filtering transmission electron microscopy (EFTEM) in the elemental analysis of pseudoexfoliative material. *Curr Eye Res* 2001 Feb; 22:154-62.
71. Brooks AM, Gillies WE. The development of microneovascular changes in the iris in pseudoexfoliation of the lens capsule. *Ophthalmology* 1987 Sep; 94:1090-7.
72. Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation (pseudoexfoliation) syndrome: toward a new understanding. *Proceedings of the First International Think Tank. Acta Ophthalmol Scand* 2001 Apr; 79:213-7.
73. Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. A histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 1994 Dec 15; 118:730-43.
74. Winkler J, Lünsdorf H, Wirbelauer C, Reinhardt DP, Laqua H. Immunohistochemical and charge-specific localization of anionic constituents in pseudoexfoliation deposits on the central anterior lens capsule from individuals with pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001 Dec; 239:952-60.
75. Fitzsimmons TD, Fagerholm P, Wallin Ö. Hyaluronan in the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 1997 Jun; 75:257-60.
76. Kubota T, Schlötzer-Schrehardt U, Inomata H, Naumann GO. Immunoelectron microscopic localization of the HNK-1 carbohydrate epitope in the anterior segment of pseudoexfoliation and normal eyes. *Curr Eye Res* 1997 Mar; 16:231-8.
77. Amari F, Nagata S, Umihira J, Nohara M, Usuda N, Segawa K. Lectin electron microscopic histochemistry of the pseudoexfoliative material in the skin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994 Oct; 35:3962-6.
78. Schlötzer-Schrehardt U, Zenkel M, Küchle M, Sakai LY, Naumann GO. Role of transforming growth factor- β 1 and its latent form binding protein in pseudoexfoliation syndrome. *Exp Eye Res* 2001 Dec; 73:765-80.
79. Picht G, Welge-Luessen U, Grehn F, Lütjen-Drecoll E. Transforming growth factor β 2 levels in the aqueous humor in different types of glaucoma and the relation to

filtering bleb development. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001 Mar; 239:199-207.

80. Hiscott P, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Unexpected expression of thrombospondin 1 by corneal and iris fibroblasts in the pseudoexfoliation syndrome. *Hum Pathol* 1996 Dec; 27:1255-8.
81. Schlötzer-Schrehardt U, Lommatzsch J, Kuchle M, Konstas AGP, Naumann GOH. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003 Mar; 44:1117-25.
82. Kuchle M, Ho TS, Nguyen NX, Hannappel E, Naumann GO. Protein quantification and electrophoresis in aqueous humor of pseudoexfoliation eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35:748-752.
83. Recupero SM, Leucci E, Contestabile MT, De Bella F, Plateroti R, Abdolrahimzadeh S. Fering of aqueous humor in the pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1993 Oct; 71:699-702.
84. Moreno-Montanes J, Lajara Blesa J. IgG, albumin and total IgG index in the aqueous humour of eyes with pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 1995 Jun; 73:249-51.
85. Berlau J, Lorenz P, Beck R, Makovitzky J, Schlötzer-Schrehardt U, Thiesen HJ, Guthoff R. Analysis of aqueous humour proteins of eyes with and without pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001 Oct; 239:743-6.
86. Mizuno K, Hara S, Ishiguro S, Takei Y. Acid phosphatase in eyes with pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol* 1980 Apr; 89:482-9.
87. Kuchle M, Nguyen NX, Horn F, Naumann GO. Quantitative assessment of aqueous flare and aqueous 'cells' in pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1992 Apr; 70:201-8.
88. Dotsenko V, Neshkova E, Namazova I, Vavilova L, Yarovaya G. Hageman factor and kallikrein in pathogenesis of senile cataracts and the pseudoexfoliation syndrome. *Immunopharmacology* 1996 May; 32:141-5.

89. Cellini M, Possati GL, Rossi A, Moretti M, Torregiani A. Pseudoexfoliation capsulae and endothelin-1 plasma levels. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* 2000; 120:8-9.
90. Scuderi G, Nucci C, Tomei M. Pseudoexfoliation syndrome in a patient with lattice corneal dystrophy. *Int Ophthalmol* 1998-99; 22:195-6.
91. Janciauskiene S, Krakau T. Alzheimer's peptide and serine proteinase inhibitors in glaucoma and exfoliation syndrome. *Doc Ophthalmol* 2003 May; 106:215-23.
92. Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation: a clinicopathologic study. *Ophthalmology* 2000 Jun; 107:1111-24.
93. Kuchle M, Naumann GO. Occurrence of pseudoexfoliation following penetrating keratoplasty for keratoconus. *Br J Ophthalmol* 1992 Feb;76:98-100.
94. Kountouras J, Mylopoulos N, Boura P, Bessas C, Chatzopoulos D, Venizelos J, Zavos C. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and glaucoma. *Ophthalmology* 2001 Mar;108:599-604.
95. Galloway PH, Warner SJ, Morshed MG, Mikelberg FS. *Helicobacter pylori* infection and the risk for open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 2003 May;110:922-5.
96. Detorakis ET, Kozobolis VP, Pallikaris IG, Spandidos DA. Detection of herpes simplex virus in pseudoexfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2002 Dec; 80:612-6.
97. Mardin CY, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. "Masked" pseudoexfoliation syndrome in unoperated eyes with circular posterior synechiae: clinical-electron microscopic correlation. *Arch Ophthalmol* 2001 Oct; 119:1500-3.
98. Kuchle M, Amberg A, Martus P, Nguyen NX, Naumann GO. Pseudoexfoliation syndrome and secondary cataract. *Br J Ophthalmol* 1997 Oct; 81:862-6.
99. Seland JH. The ultrastructural changes in the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl* 1988 184: 28-34.
100. Schlötzer-Schrehardt U, von der Mark K, Sakai LY, Naumann GO. Increased extracellular deposition of fibrillincontaining fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 970-84.

101. Chern KC, Meisler DM, Rockwood EJ, Lowder CY. Pseudoexfoliation syndrome masquerading as uveitis. *Am J Ophthalmol* 1994; 118: 392-3.
102. Fama F, Castagna I, Salmeri G. Influence of pseudoexfoliation syndrome on human lens transparency. *Ann Ophthalmol* 1993; 25: 440-1.
103. Freissler K, Küchle M, Naumann GO. Spontaneous dislocation of the lens in pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1995; 113: 1095-6.
104. Naumann GO, Schlotzer-Schrehardt U, Küchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist. Intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology* 1998; 105: 951-68.
105. Altıntaş AK, Dabil H, Koçak I, Duman S. Psödoeksfoliasyon sendromu ve ps doeksfoliasyatif glokomlu olgularda katarakt ameliyatının başarısına etki eden faktörlerin incelenmesi. *MN Oftalmoloji* 1999; 6:208-11.
106. Schlötzer SU, Naumann OG. A histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 1994; 118:730-3.
107. Pharr, Bolshakov A. Understanding nanoindentation unloading curves. *Journal of Materials Research* 2002; 17(10), 2665-2666.
108. Oliver, W.C. ve Pharr, An improved technique for determining hardness and elastic-modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research* 7, 1564-1583.
109. Orhan Uzun, U ur K lemen, Selahattin  elebi, Modulus and hardness evaluation of polycrystalline superconductors by dynamic microindentation technique. *Journal of the European Ceramic Society*, Volume 25, Issue 6, March 2005; 969–977.
110. T. Thome, S. Fouchez, S. Delalande, Determination of silicone coating Young's modulus using atomic force microscopy. *Physica B* 404 (2009) 22.
111. W.C. Oliver, G.M. Pharr. Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: advances in understanding and refinements to methodology. *J.Mater. Res.* 19 (2004) 3.
112. Ah-Young Jee, Minyung Lee. Comparative analysis on the nanoindentation of polymers using atomic force microscopy. *Polymer Testing* 29 (2010) 95–99.

113. Oyen M, Taylor D. Special Issue on Nanoindentation of Biological Materials. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2:311.
114. Kaufman JD, Klapperich CM. Surface Detection Errors Cause Overestimation of the Modulus in Nanoindentation on Soft Materials. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2009; 2:312–317.
115. Menciák J, He LH, Swain MV. Determination of Viscoelastic–Plastic Material Parameters of Biomaterials by Instrumented Indentation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 2009; 2(4):318–325.
116. Guidoni GM, Denkmayr J, Schoberl T, Jäger I. Nanoindentation in Teeth: Influence of Experimental Conditions on Local Mechanical Properties. *Philosophical Magazine* 2006; 86(33–35):5705–5714.
117. Guidoni GM, He LH, Schoberl T, Jäger I, Dehm G, Swain MV. Influence of the Indenter Tip Geometry and Environment on the Indentation Modulus of Enamel. *Journal of Materials Research* 2009; 24(3):616–625.
118. Akhtar R, Schwarzer N, Sherratt MJ, Watson REB, Graham HK, Trafford AW, Mummery PM, Derby B. Nanoindentation of Histological Specimens: Mapping the Elastic Properties of Soft Tissues. *Journal of Materials Research* 2009; 24(3):638–646.
119. Bembey AK, Oyen ML, Bushby AJ, Boyde A. Viscoelastic Properties of Bone as a Function of Hydration State Determined by Nanoindentation. *Philosophical Magazine* 2006; 86(33–35):5691–5703.
120. Bouzakis K-D, Mitsi S, Michailidis N, Mirisidis I, Mesomeris G, Maliaris G, Korlos A, Kapetanios G, Antonarakos P, Anagnostidis K. Loading Simulation of Lumbar Spine Vertebrae During a Compression Test Using the Finite Elements Method and Trabecular Bone Strength Properties, Determined by Means of Nanoindentations. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions* 2004; 4(2):152–158.
121. Guidoni GM, Denkmayr J, Schoberl T, Jäger I. Nanoindentation in Teeth: Influence of Experimental Conditions on Local Mechanical Properties. *Philosophical Magazine* 2006; 86(33–35):5705–5714.
122. Akhtar R, Schwarzer N, Sherratt MJ, Watson REB, Graham HK, Trafford AW, Mummery PM, Derby B. Nanoindentation of Histological Specimens: Mapping the

Elastic Properties of Soft Tissues. *Journal of Materials Research* 2009; 24(3):638-646.

123. Chaurasia SS1, Champakalakshmi R, Li A, Poh R, Tan XW, Lakshminarayanan R, Lim CT, Tan DT, Mehta JS. Effect of fibrin glue on the biomechanical properties of human Descemet's membrane. *PLoS One*. 2012; 7(5):e37456. doi: 10.1371/ Epub 2012 May 25.
124. Dias JM, Ziebarth NM. Anterior and posterior corneal stroma elasticity assessed using nanoindentation. *Exp Eye Res* 2013 Oct; 115:41-6.
125. Colin A. Grant, Neil H. Thomson, Michael D. Savage. Surface characterisation and biomechanical analysis of the sclera by atomic force microscopy. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* Volume 4, Issue 4, May 2011; Pages 535–540.
126. R. Jardeleza, Mary K. Daly, Jessica D. Kaufman Effect of trypan blue staining on the elastic modulus of anterior lens capsules of diabetic and nondiabetic patients *J Cataract Refract Surg* 2009; 35:318–323.
127. Fisher RF. Elastic constants of the human lens capsule. *Journal of Physiology* 1969; 201:1–19.
128. Danielsen CC. Tensile mechanical and creep properties of Descemet's membrane and lens capsule. *Experimental Eye Research* 2004; 79(3):343–350.
129. Yang X, Zou L, Binrong M, Dong D, Dai H, Lu X. Tensile strength of lens capsules in eye-bank eyes. *Journal of Cataract and Refractive Surgery* 1998; 24(4):543–546.
130. Krag S, Andreassen TT. Effect of freezing on lens capsule mechanical behavior. *Ophthalmic Research* 1998; 30:280–285.
131. Rho JY, Kuhn-Spearing L, Zioupos P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. *Medical Engineering & Physics* 1998; 20:92–102.
132. Ziebarth NM, Arrieta E, Feuer WJ, Moy VT, Manns F, Parel JM. Primate lens capsule elasticity assessed using Atomic Force Microscopy. *Exp Eye Res* 2011 Jun; 92(6):490-4.
133. Courtois Y. The Capsule of the Crystalline Lens. In: Lawrence, Stark; Gerard, Obrecht, editors. *Presbyopia: Recent research and reviews from the third*

international symposium. Professional Press Books/Fairchild Publications Division of Capital Cities Media, Inc.; 1987.

134. Wollensak G, Spoerl E, Pham DT. Biomechanical changes in the anterior lens capsule after trypan blue staining. *J Cataract Refract Surg* 2004; 30(7):1526-30.
135. Satofuka S, Nakamura K, Negishi K, et al. Time course of lens capsule staining using trypan blue and indocyanine green: in vitro study in porcine eyes. *J Cataract Refract Surg* 2004; 30(8):1751-4.
136. Singh AJ, Sarodia UA, Brown L, et al. A histological analysis of lens capsules stained with trypan blue for capsulorrhexis in phacoemulsification cataract surgery. *Eye* 2003; 17(5):567-70.
137. Portes AL, Monteiro ML, Allodi S, Miguel NC. Effect of trypan blue on lens epithelial cells in human eyes having capsulorrhexis. *J Cataract Refract Surg* 2007; 33(6):1135-6.
138. Bisol T, Rezende RA, Guedes J, Dantas AM. Effect of blue staining of expandable hydrophilic intraocular lenses on contrast sensitivity and glare vision. *J Cataract Refract Surg* 2004; 30(8):1732-5.
139. Saini JS, Jain AK, Sukhija J, et al. Anterior and posterior capsulorrhexis in pediatric cataract surgery with or without trypan blue dye: randomized prospective clinical study. *J Cataract Refract Surg* 2003; 29(9):1733-7.
140. Wakabayashi T, Yamamoto N. Posterior capsule staining and posterior continuous curvilinear capsulorrhexis in congenital cataract. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28(11): 2042-4.
141. Yetik H, Devranoglu K, Ozkan S. Determining the lowest trypan blue concentration that satisfactorily stains the anterior capsule. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28(6): 988-91.
142. Chang YS, Tseng SY, Tseng SH. Comparison of dyes for cataract surgery. Part 2: efficacy of capsule staining in a rabbit model. *J Cataract Refract Surg* 2005; 31(4):799-804.
143. Fritz WL. Digital image analysis of trypan blue and fluorescein staining of anterior lens capsules and intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28(6):1034-8.

144. Wong VW, Lai TY, Lee GK, et al. A prospective study on trypan blue capsule staining under air vs under viscoelastic. *Eye* 2006; 20(7):820-5.
145. Haritoglou C1, Mauell S, Schumann RG. Increase in lens capsule stiffness caused by vital dyes. *J Cataract Refract Surg* 2013 Nov; 39(11):1749-52.
146. Halfter W, Dong S, Dong A, Eller AW, Nischt R. Origin and turnover of ECM proteins from the inner limiting membrane and vitreous body. *Eye* 2008; 22:1207-1213.
147. Henrich PB, Monnier CA, Halfter W, Haritoglou C, Strauss RW, Lim RY, Loparic M. Nanoscale topographic and biomechanical studies of the human internal limiting membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53:2561–2570.
148. Jaber R, Werner L, Fuller S, Kavoussi SC, McIntyre S, Burrow M, Mamalis N. Comparison of capsulorhexis resistance to tearing with and without trypan blue dye using a mechanized tensile strength model. *J Cataract Refract Surg* 2012; 38: 507–512.
149. Portes ALF, Almeida AC, Allodi S, Monteiro MLR, Miguel NCO. Trypan blue staining for capsulorhexis: ultrastructural effect on lens epithelial cells and capsules. *J Cataract Refract Surg* 2010; 36:582–587.
150. Christoph B, Christian M, Johannes R. Evaluation of Lamina Cribrosa and Peripapillary Sclera Stiffness in Pseudoexfoliation and Normal Eyes by Atomic Force Microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 May 17;53(6):2960-7.
151. Csiszar K. Lysyl oxidases: a novel multifunctional amine oxidase family. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001;70:1–32.
152. Liu X, Zhao Y, Gao J. Elastic fiber homeostasis requires lysyl oxidase-like 1 protein. *Nat Genet* 2004; 36:178–182.
153. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007;317:1397–1400.
154. Chen H, Chen LJ, Zhang M, et al. Ethnicity-based subgroup meta-analysis of the association of LOXL1 polymorphisms with glaucoma. *Mol Vis* 2010;16:167–177

155. Schlötzer-Schrehardt U, Pasutto F, Sommer P, et al. Genotypecorrelate expression of lysyl oxidase-like 1 in ocular tissues of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and normal patients. *Am J Pathol* 2008;173:1724–1735.
156. Schlötzer-Schrehardt U. Molecular pathology of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma—new insights from LOXL1 gene associations. *Exp Eye Res* 2009;88:776–785.