

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

**DENEYSEL GLOKOM MODELİNDE EBSELEN VE
GHRELİNİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Nagehan Can**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Tamer Demir**

**ELAZIĞ
2012**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tamer Demir

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Sınavı Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

İhtisasım boyunca iyi bir eğitim almamı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER, Prof. Dr. Tamer DEMİR, Doç. Dr. Orhan AYDEMİR, Doç. Dr. Burak TURGUT başta olmak üzere eğitimimde emeği geçen tüm öğretim üyelerine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Özellikle tez çalışmama katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Tamer Demir'e ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

Asistanlık sürem boyunca birlikte çalıştığım asistan doktor arkadaşlarıma ve kliniğimiz personeline teşekkür ederim.

Ayrıca eğitimim süresince bütün sıkıntılara ortak olan ve benden desteklerini esirgemeyen eşime ve aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Glokom retinal gangliyon hücre ölümüyle seyreden, optik sinir nöropatisidir. Artmış göz içi basıncı glokom için bir risk faktörüdür. Oksidatif ve nitratif stresin glokomda nöronal ölümün gelişiminde rolü olduğu açıktır.

Bu çalışmada amaç ebselen ve ghrelinin göz içi basınç artışı varlığında retina üzerindeki olası, koruyucu etkilerini biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmaktır. Çalışmamızda 35 adet Sprague Dawley rat rastgele bölünerek 5 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba cerrahi ve tıbbi müdahale yapılmamıştır. Diğer gruplardaki ratlara ise gözlerindeki limbal venlerden köken alan üç dala, unilateral oftalmik koter kullanılarak koterizasyon yapılmıştır ve bu gözlerde göz içi basınç artışı sağlanmıştır. İkinci grup salin, üçüncü grup dimetil sulfoksid, dördüncü grup ebselen, beşinci grup ise ghrelin ile tedavi edilmiştir. Deney süresinin sonunda ratların sağ gözlerine enükleasyon yapılmıştır. Deney gruplarından elde edilen gözlerden alınan ön kamara sıvısında malondialdehit, nitrit oksit, siliyer cisimde nitrit oksit sentetaz-2 düzeyleri ölçülmüştür.

Salin ve dimetil sulfoksid ile tedavi edilen gruplardan alınan hümör aközde, 1. gruba göre malondialdehit, nitrit oksit ve nitrit oksit sentetaz-2 düzeyleri anlamlı şekilde artmıştır ($p<0.05$). Ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen gruplarda ise malondialdehit, nitrit oksit ve nitrit oksit sentetaz-2 düzeyleri 1. gruba göre anlamlı artış göstermemiştir ($p>0.05$). Retinal TUNEL boyaması, salin ve dimetil sulfoksid ile tedavi edilen gruplarda, 1. gruba göre apoptozis varlığının arttığını göstermiştir. Ayrıca bu gruplarda GFAP, S-100, vimentin ekspresyonunun arttığı immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir ($p<0.05$). Ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen gruplarda apoptozis, sham gruplarına göre belirgin olarak azalmıştır ve GFAP, S-100, vimentin ekspresyonunun da azaldığı izlenmiştir ($p<0.05$).

Sonuçta; glokom patogenezinde birçok faktörün etkili olduğu görülmüştür ve ebselen ile ghrelinin glokomatöz hasarda koruyucu özellikleri olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deneyisel glokom, ebselen, ghrelin

ABSTRACT

THE EFFECT OF EBSELEN AND GHRELIN ON EXPERIMENTAL GLAUCOMA MODEL

Glaucoma is an optic nerve neuropathy involving the death of retinal ganglion cells. Elevated intraocular pressure in the eye is a risk factor for glaucoma. The initiating causes leading to glaucoma are unknown, oxidative and nitrative stress appears to play a role in the progressive neuronal death.

The aim of this study was to clarify the possible effect of ebselen and ghrelin ingestion on retina, by means of biochemical and immunohistochemical parameters. 35 Sprague Dawley rat randomly divided into 5 groups. The first group of rats had no any surgical and medical treatment. Intraocular pressure was elevated by unilaterally cauterizing three episcleral vessels at the other groups. The second group treated with serum, third group treated with dimethyl sulfoxide, fourth group treated with ebselen, fifth group treated with ghrelin. At the end of the experiment, the right eyes of the rats were enucleated. Malondialdehyde and nitrite oxide levels measured at humor aqueous and nitrite oxide synthetase-2 levels measured at ciliary body.

Malondialdehyde, nitrite oxide and nitrite oxide synthetase-2 levels showed significant increased in humor aqueous at the salin and dimethyl sulfoxide groups than the first group. Malondialdehyde, nitrite oxide and nitrite oxide synthetase-2 levels had not show significant increase the ebselen and ghrelin groups than the first group. Retinal TUNEL staining, showed significant increased of apoptosis at the salin and dimethyl sulfoxide groups than the first group. In addition, at these groups, showed increased expression of GFAP, S-100, vimentin immunohistochemically. Apoptosis showed significant decreased at the groups of treated with ebselen and ghrelin than the salin and dimethyl sulfoxide groups and expression of GFAP, S-100, vimentin showed significant decreased.

In conclusion, there are many factors at the pathogenesis of glaucoma, ebselen and ghrelin showed protective effect of glaucomatous damage.

Key Words: Experimental glaucoma, ebselen, ghrelin

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Genel Bilgiler	5
1.2.1 Glokom	5
1.2.2. Ön Kamara Anatomisi ve Histolojisi	6
1.2.2.1. Ön Kamara Sıvısı	6
1.2.2.2. Ön kamara açısı	8
1.2.3. Retina Anatomisi ve Histolojisi	9
1.2.4.Glokomun Sınıflandırılması	14
1.2.4.1.Edinsel Glokomlar	14
1.2.4.1.1.Açık Açılı Glokom	14
1.2.4.1.1.1.Trabekulum Öncesi Engel	14
1.2.4.1.1.2. Trabekulum Engeli	14
1.2.4.1.1.3.Trabekulum Sonrası Engel	15
1.2.4.1.2.Açı Kapanması Glokomu	15
1.2.4.1.2.1. İrisin Öne Çekilmesi	15
1.2.4.1.2.2. İrisin Öne İtilmesi	16
1.2.4.2.Doğumsal ve Gelişimsel Glokomlar	16
1.2.4.2.1.Açık Açılı Glokom:	16
1.2.4.2.1.1. Trabekulum Öncesi Nedenler	16
1.2.4.2.1.2 Trabeküler Nedenler	16

1.2.4.2.1.3. Trabekulum Sonrası Nedenler	17
1.2.4.2.2. Açı Kapanması Glokomu:	17
1.2.4.2.2.1. Açıda Membran Kontraktürü	17
1.2.4.2.2.2. Pupiller Bloklü	17
1.2.4.2.2.3. Pupiller Bloksuz	17
1.2.5. Glokomda Muayene Yöntemleri	17
1.2.5.1. Göz İçi Basıncı	17
1.2.5.1.1. Tonometri	17
1.2.5.1.1.1. İndentasyon tonometrileri	18
1.2.5.1.1.2. Aplanasyon tonometreleri	18
1.2.5.1.2. Tonografi	18
1.2.5.2. Ön Kamara ve Açı	19
1.2.5.2.1. Gonyoskopi	19
1.2.5.3. Optik Sinir Başı	20
1.2.5.3.1. Optik Sinir Başı Muayene Yöntemleri	21
1.2.5.3.1.1. Oftalmoskopik Muayene	21
1.2.5.3.1.2. Optik Disk Fotografisi	21
1.2.5.3.1.3. Fotogrammetri-Planimetrik Ölçümler	21
1.2.5.3.1.4. Optik Sinir Başının Bilgisayarlı Analizi	21
1.2.5.3.2. Retina Sinir Lifi Tabakası Analizi	22
1.2.5.3.3. Optik Koherans Tomografi	22
1.2.5.4. Görme Alanı	22
1.2.5.5. Psikofiziksel Testler	24
1.2.5.5.1. Kontrast Duyarlılık	24
1.2.5.5.2. Renk Görme Testi	24
1.2.5.5.3. Karanlık Adaptasyonu	25
1.2.5.5.4. Glokomda Elektrofizyolojik Yöntemler	25
1.2.5.6. Sanral Kornea Kalınlığı ve Glokom	25
1.2.6. Glokomda Tedavi	26
1.2.6.1. Tıbbi Tedavi	26

1.2.6.1.1.1. Pilocarpin	27
1.2.6.1.1.2. Karbakol	27
1.2.6.1.2. Sempatomimetik İlaçlar	27
1.2.6.1.2.1. Epinefrin	27
1.2.6.1.2.2. Dipivefrin	27
1.2.6.1.2.3. Aproklonidin	28
1.2.6.1.2.4. Brimonidin	28
1.2.6.1.3. Beta Blokörler	28
1.2.6.1.3.1. Timolol	28
1.2.6.1.3.2. Betaksolol	28
1.2.6.1.3.3. Levobunolol	29
1.2.6.1.3.4. Karteolol	29
1.2.6.1.4. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	29
1.2.6.1.6. Prostaglandin Analogları	31
1.2.6.2. Laser Tedavisi	33
1.2.6.3. Cerrahi Tedavi	34
1.2.7. Rat Görme Sistemi	34
1.2.8. Glokomda Belirteçler	35
1.2.8.1. Glokomda Oksidatif ve Nitratif Stres Belirteçleri	35
1.2.8.1.1. Lipit Peroksidasyonu ve Glokom	35
1.2.8.1.2. Protein Nitrasyonu ve Glokom	36
1.2.8.1.3. DNA-Oksidasyonu ve Glokom	37
1.2.8.1.4. Apoptozis ve Glokom	38
1.2.8.2. Glokomda İmmunohistokimyasal Belirteçler	38
1.2.8.2.1. Glial Fibriler Asidik Protein	38
1.2.8.2.2. Vimentin	39
1.2.9. Nöroprotektif İlaçlar	40
1.2.9.1. Ca ² Kanal Blokörleri	40
1.2.9.3. N-metil-D-aspartat Antagonistleri	41
1.2.9.4. Nitrik Oksit Sentaz-2 İnhibitörleri	41

1.2.9.5. Nörotrofinler	41
1.2.9.6. Glokom Tedavisinde Kullanılan Antioksidanlar	41
1.2.9.7. Ghrelin	42
1.2.9.7.1. Ghrelinin nöroprotektif etkinliği	43
1.2.9.8. Organoselenyum Bileşikleri ve Ebselen	44
1.2.9.8.1. Ebselenin Lipid Peroksidasyonuna Etkisi ve Hücre Koruyucu Özelliği	45
2. GEREÇ VE YÖNTEM	48
2.1. Anestezi Tekniği ve Glokom Oluşturulması	48
2.2. Gruplandırma	48
2.3. Göz İçi Basınç Ölçümü	49
2.6. NOx Seviyesinin Belirlenmesi	50
2.7. NOS-2 Seviyesinin Belirlenmesi	50
2.8. TUNEL ve Retinal İmmunohistokimya Boyanması	50
2.8.2. GFAP İmmunohistokimya Boyanması	51
2.8.3. S-100 İmmunohistokimyasal Boyanması	52
2.8.4. Vimentin İmmunohistokimya Boyanması:	52
2.9. İstatistiksel analiz	52
3. BULGULAR	53
3.1. Göz İçi Basınç Ölçümü Sonuçları	53
3.2. MDA Düzeyi Sonuçları	54
3.3. NOx Düzeyi Sonuçları	55
3.4. NOS-2 Düzeyi Sonuçları	56
3.5. Retinal İmmunohistokimya ve TUNEL Boyanması Sonuçları	57
3.5.1. Apoptozis Sonuçları	57
3.5.2. Retinal Hematoksilen-Eozin ile Boyanma Sonuçları	60
3.5.3. Retinal GFAP Boyanma Sonuçları	62
3.5.5. Retinal Vimentin Boyanma Sonuçları	67
4. TARTIŞMA	71
5. KAYNAKLAR	78
6. ÖZGEÇMİŞ	99

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Shaffer-Etienne sınıflamasına göre açının değerlendirilmesi	19
Tablo 2. Ghrelinin başlıca etkileri	43
Tablo 3. TUNEL boyanma yaygınlığının derecesi	51
Tablo 4. Ortalama GİB değerlerinin günlere göre değişimi	53
Tablo 5. Gruplara göre MDA düzeylerinin değişimini gösteren tablo	55
Tablo 6. Gruplara göre NOx düzeylerinin değişimini gösteren tablo	56
Tablo 7. Gruplara göre NOS-2 düzeylerinin değişimini gösteren tablo	57

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Apoptozisin başlıca sinyal bileşenleri	5
Şekil 2.	Hümör aközün yapım ve emilim yerlerinin şematik resmi	6
Şekil 3.	Ön kamara açısının şematik resmi	8
Şekil 4.	Retinanın histolojik kesiti	10
Şekil 5.	Rod, bipolar ve horizontal hücreler	12
Şekil 6.	Optik sinir başının normal görünümü	20
Şekil 7.	Ebselenin kimyasal yapısı	45
Şekil 8.	Ebselenin hücre koruyucu özelliği	46
Şekil 9.	GİB değerlerinin günlere göre değişimi grafiği	53
Şekil 10.	Gruplara göre MDA düzeylerinin değişimi grafiği	55
Şekil 11.	Gruplara göre NOx düzeylerinin değişimi grafiği	56
Şekil 12.	Gruplara göre NOS-2 düzeylerinin değişimi grafiği	57
Şekil 13.	Western Blot yöntemiyle NOS-2'nin gösterilmesi	57
Şekil 14.	TUNEL ile boyanan retinada kontrol grubu	58
Şekil 15.	TUNEL ile boyanan retinada sham 1 grubu	58
Şekil 16.	TUNEL ile boyanan retinada sham 2 grubu	59
Şekil 17.	TUNEL ile boyanan retinada ebselen grubu	59
Şekil 18.	TUNEL ile boyanan retinada Ghrelin grubu	60
Şekil 19.	Kontrol grubunun hematoksilen-eozin ile boyanması	60
Şekil 20.	Sham 1 grubunun hematoksilen eozin ile boyanması	61
Şekil 21.	Sham 2 grubunun hematoksilen eozin ile boyanması	61
Şekil 22.	Ghrelin grubunun hematoksilen-eozin boyanması	62
Şekil 23.	Ebselen grubunun hematoksilen eozin ile boyanması	62
Şekil 24.	Kontrol grubunun GFAP ile boyanması	63
Şekil 25.	Sham 1 grubunun GFAP ile boyanması	63
Şekil 26.	Sham 2 grubunun GFAP ile boyanması	64
Şekil 27.	Ebselen grubunun GFAP ile boyanması	64
Şekil 28.	Ghrelin grubunun GFAP ile boyanması	65
Şekil 29.	Kontrol grubunun S-100 ile boyanması	66
Şekil 30.	Sham 1 grubunun S-100 ile boyanması	66
Şekil 31.	Sham 2 grubunun S-100 ile boyanması	66

Şekil 32.	Ebselen grubunun S-100 ile boyanması	67
Şekil 33.	Ghrelin grubunun S-100 ile boyanması	67
Şekil 34.	Kontrol grubunun vimentin ile boyanması	68
Şekil 35.	Sham 1 grubunun vimentin ile boyanması	68
Şekil 36.	Sham 2 grubunun vimentin ile boyanması	69
Şekil 37.	Ebselen grubunun vimentin ile boyanması	69
Şekil 38.	Ghrelin grubunun vimentin ile boyanması	70

KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
BDGF	: Brain Derive Growth Faktör
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
DMSO	: Dimetil Sulfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DPT	: Dış Pleksiform Tabaka
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
GA	: Görme Alanı
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
GİB	: Göz İçi Basıncı
GON	: Glokomatöz Optik Nöropati
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HA	: Humör Aköz
4-HNE	: 4 Hidroksinanenol
HPLC	: Yüksek Performanslı Lipit Kromatografi
IV	: İntravenöz
İNT	: İç Nükleer Tabaka
İPT	: İç Pleksiform Tabaka
LGN	: Lateral Genikulat Nükleus
m RNA	: Mesajcı RNA
MDA	: Malondialdehit
MH	: Müller Hücreleri
NMDA	: N metil D aspartat
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
NOx	: Nitrik Oksit
NTG	: Normotansif Glokom
OD	: Optik Disk
PAAG	: Primer Açık Açılı Glokom

PRL	: Prolaktin
RGH	: Retinal Gangliyon Hücresi
ROS	: Reaktif Oksijen Metabolitleri
RPE	: Retina Pigment Epiteli
SLT	: Sinir Lifi Tabakası
SOD	: Süperoksid Dismutaz

1. GİRİŞ

1.1. Giriş ve Amaç

Amerika ve diğer endüstriyel ülkelerde körlüğün başlıca nedeni olan glokom ilerleyen bir optik nöropatidir. Artmış basınç gözde glokom için bir risk faktörüdür, primatlarda basınç artışının sağlandığı deneysel çalışmalar glokoma bağlı optik sinir hasarı ile sonuçlanmıştır (1). Ancak göz içi basıncı (GİB) normal seviyede olduğunda da glokoma bağlı görme kaybı meydana gelebilir (2). Glokomatöz retinada görülen karakteristik değişiklikler retinal katlarda, özellikle retina sinir lifi tabakasında (SLT) incelme, retina ganglion hücrelerinin (RGH) sayısında anlamlı azalma şeklindedir (3).

Glokomun başlatıcı sebepleri bilinmemesine rağmen oksidatif ve nitrozatif stresin; glokoma bağımlı optik sinir hasarının neden olduğu nöronal ölümün gelişiminde rolü olduğu açıktır. Glokomda proteinlerdeki nitrotirozin ve karboniller, lipid oksidasyon ürünleri (malonildialdehit- MDA) ve okside DNA bazlarını da içeren birçok oksidatif stres ürünü belirteçleri rapor edilmiştir (4). Oksidatif stres sırasında meydana gelen serbest radikaller, hücrenin yapı taşları olan lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlere zarar verip fonksiyonlarını bozmaktadır. Özellikle retinada doymamış yağ asitlerinin bol miktarda bulunması (5), retinayı serbest radikallere karşı daha duyarlı hale getirmektedir. Böylece, membran lipidlerinin oksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksidasyon ürünleri membran fonksiyonlarında önemli değişikliklere yol açmaktadır. Yapılan son deneysel çalışmalar iris-silier cisim, retina ve glokomlu optik disk de (OD) indüklenebilir nitrik oksit sentaz 2 (NOS-2)'nin varlığını rapor ederek glokomda nitrik oksit (NOx) rolünü belirtmiştir (6).

Glokoma bağlı optik nöropatiye (GON) neden olan patofizyolojik mekanizmalarda halen açıklanamamış noktalar bulunmaktadır. Nöronal hasarda gözlenen mekanik basınç ve vasküler iskeminin önemli rolü olduğu düşünülmektedir (7). Mekanik basınç teorisi artmış GİB'ını glokom için en önemli risk olarak görmektedir (8). Glokomda GİB artışının mekanizması açık açılı glokomda ön odada drenaj sisteminde meydana gelen bozukluklar ya da kapalı açılı glokomda ise hüümör aközün (HA) drenaj sistemine erişiminde meydana gelen bozukluklar sonucu HA akışının bozulmasıdır (9).

Oksidatif stresin trabeküler ağ dejenerasyonunu tetikleyerek GİB artışına ve aköz akışında değişimlere neden olduğu ileri sürülmektedir (10). Hidrojen peroksit (H_2O_2) ile muamele trabeküler ağ hücrelerinde hücre dışı matriks adezyonu bozulmuş ve hücre iskeletinin yapısında yeni düzenlenmeler oluşmuştur (11). Kontrol ile karşılaştırıldığında glokom hastalarının trabeküler ağ hücrelerinde oksidatif DNA hasarının önemli derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (12). Ayrıca insanlarda yapılan in vivo çalışmalar hem GİB artışı hem de görme alanı hasarının oksidatif DNA hasarı miktarı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (13). Benzer şekilde primer açık açılı glokomlu (PAAG) gözlerde optik sinir hasarının şiddeti trabeküler ağ değişimleri ile korelasyona sahiptir (14). Nitrik oksit, GİB'nın regülasyonunda ve oküler kan akımının modülasyonunda görev alan önemli bir mediatördür. Nitrik oksit, NOS enzimi vasıtasıyla sentezlenir (15). Nitrik oksit sentaz enziminin üç tane isoformu mevcuttur (16). Bunlar, NOS-1, NOS-2 ve NOS-3'tür, NOS-1 ve NOS-3 bulundukları dokularda daim sentez edilirken, NOS-2, immünolojik ve inflamatuvar stimülasyonlardan sonra eksprese olur (17). Nitrik oksit sentaz-1 ve NOS-3 tarafından üretilen NOx miktarı nanomolar düzeyde olup fizyolojik sınırlar içerisinde yer alırken, NOS-2 tarafından yapılan NOx miktarı mikromolar düzeyde ifade edilir ve patolojiktir (18). Son 5 yıl içerisinde, göz içi NOx sentezi incelenmiş ve her üç NOS enziminin varlığı göz içerisinde gösterilmiştir (19). Nitrik oksit sentaz-1 ve NOS-3 tarafından yapılan az miktardaki NOx, kardiovasküler ve sinir sistemi içerisinde sinyal iletiliminde görev almaktadır (20). Nitrik oksitin nörotransmisyon ve vazodilatasyon gibi etkileri guanilat siklaz enzimi vasıtasıyla yapılan cGMP yoluyla gerçekleşmektedir (21). Nitrik oksit sentaz-2 tarafından yapılan NOx'un direk reaksiyonu, oksidasyon ve nitrasyon reaksiyonları verebilen sekonder türlerin oluşumu yoluyla sitotoksik ve inflamatuvar yanıtın gelişmesinde önem teşkil eder. Nitrik oksit düşük moleküler ağırlığı ve nötral yapısı nedeniyle biyolojik sistemlerde çok rahat difüzyon gösterir. Oksidatif stres varlığında süperoksit anyon radikalleri metallerle çok rahat reaksiyona girer. Oküler hipertansiyon hayvan modellerinde artmış GİB retinal hücrelerde apoptozisi artırır, NOS-2 ekspresyonunu uyarır ve protein nitrasyonuna yol açar (22). Glokomlu rat (23) ve insanlara (15) ait OD'de yapılan çalışmalar nitro tirozin boyamaları ile glokomda OD'de NOS-2 varlığını göstermiş ve NOx'un GON'daki rolünü belirtmiştir. Oküler dejenerasyonun eşlik

ettiği klinik durumlarda nitratif stres hastalık gidişatını kötüleştirir ve glokomda NOS-2 ekspresyonunun artışı, NOx'un oküler patolojilerde rolünü ortaya koyar (24). Bu sonuç reaktif nitrojen türlerinin artmış GİB ile ilişkili RGH ölümüne katkıda bulunabileceğini işaret etmektedir (15, 23). Çalışmamızda NOS-2 enzim miktarının kalitatif tayini yapılarak GİB artışına bağlı olarak geliştirilen glokomun retina dokusunda oluşturabileceği moleküler oksidasyonun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Glokomda görme kaybının ana mekanizması, retinanın iç nükleer tabakası (İNT) ve sinir lifi tabakasının zayıflamasına ve optik sinirde aksonal kayıba neden olan RGH apoptozisidir (7). Makrofajlar (25), astrositler (26) ve nöronal hücrelerde (27) NOx'un aracı olduğu sitotoksikite ve apoptozisi uyaran NOx miktarı rapor edilmiştir. Astrositler ve mikroglialar tüm yaşam boyunca sinir sisteminin bütünlüğünü korumakla görevlidir ve normal retinada astrositlerin; RGH nin aksonlarının etrafını sarmak, Müller hücreleri (MH) gibi diğer glial hücrelerle bağlantı kurmak, potasyum tamponlamada ve nöronal sinyalizasyonda görev almak gibi işlevleri vardır (28, 29). Müller hücreleri retinanın başlıca glia hücresidir ve retinal nöronların fonksiyonel ve yapısal desteğini sağlamaktadır (30). Müller hücreleri normalde anlamlı düzeyde glial fibriler asidik protein (GFAP), vimentin ve S-100 eksprese etmez ancak glokom gibi retina sinir lifi kaybı ile giden hastalıklarda bu düzeylerde artışlar olduğu bulunmuştur (31). Bu çalışmada retina sinir lifi tabakasında GFAP, S-100 ve vimentin antikor immuno histokimya boyama dokularda gösterilmiş olacaktır.

Artmış GİB hayvan modellerinde hücresel komponentlerin oksidatif yıkımı genellikle oküler doku hasarına eşlik eder. Protein karbonil oluşumu ve lipid peroksidasyon ürünleri gibi oksidatif stres oküler hipertansiyon deneysel modellerinde rapor edilmiştir (32). Artmış GİB'na sahip ratlarda retina lipid oksidasyonu yüksek bulunmuştur (33). Çalışmamızda glokomun lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyleri kalitatif olarak tayin edilecektir.

Oküler perfüzyon basınç ortalamasındaki sirkadien dalgalanma normal tansiyonlu glokomda (NTG) hastalığın ilerleyişi için tutarlı bir risk faktörüdür (34). Normal GİB'e sahip hastalarda stabil olmayan oküler kan akışının reperfüzyon hasarına yol açtığı ve oksidatif stres ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir (35). Periferik vasküler yetmezlik, hasar riskinin olduğu organlarda proinflamatuvar

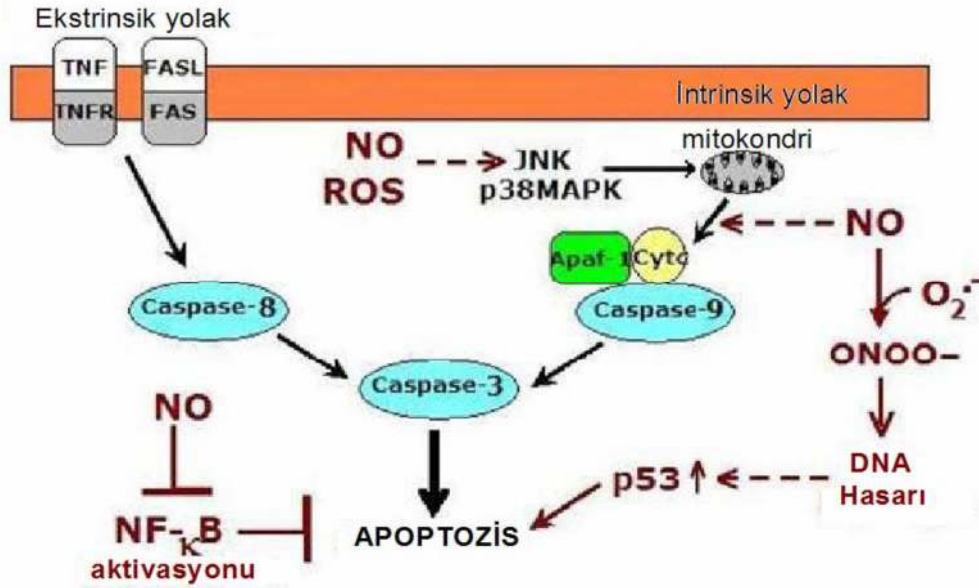
durumu uyarır (36). Glokomda oluşan GİB artışına ilave olarak reaktif oksijen metabolitlerinin (ROS) de artışı rapor edilmiştir (4). Hücre metabolizması sırasında oluşan ROS sitoplazmik makromolekülleri oksidasyona uğratabilme özelliğine sahiptir. Retinal gangliyon hücreleri, SLT, dış pleksiform tabaka (DPT) , fotoreseptörlerin iç segmenti ve retinal pigment epitelyumunda (RPE) bulunan bu reaktif türler genellikle mitokondriyal solunum zinciri bileşenlerinin otooksidasyonundan türer (37).

Mekanik basınç teorisi artmış hasar (38) ve nöroretinal hattın zayıflaması (39) gibi GON için önemli işaretlere destek vermektedir. Fakat NTG'yi açıklamamaktadır (40). Alternatif bir diğer teori ise vasküler iskemi teorisidir. Bu teori OD'de vasküler yetmezliğin azalan metabolik aktivite ve ardından artmış glutamat birikimi ile RGH ölümüne neden olduğunu ileri sürmektedir (41,42). Birçok çalışma GON ile hipertansiyon, diabet ve hiperkolesterolemi ile ilişkili vasküler bozukluklar arasında ilişkinin yüksek seviyelerde olduğunu göstermiştir (43-46). Vasküler yetmezlikten kaynaklanan artmış glutamat birikimi sinaptik olarak salındığında potansiyel toksik seviyelere ulaşabilir. Glutamat, nöron ve gliaların plazma membranında yerleşmiş olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri üzerinden hareket eden uyarıcı bir nörotransmitterdir (42). N-metil-D-aspartat reseptörlerinin aşırı uyarılması hücre içi kalsiyumu (Ca^{2+}) toksik seviyelere kadar arttırır ve aşırı NOx üretimi ile sonuçlanan NOS'u aktive eder (47).

Apoptozis indüksiyonu oksijen ve nitrojen türleri arasında hassas biyokimyasal bir etkileşim gerektirmektedir. Nitrik Oksitin başlattığı apoptotik hücre ölümünün başlıca sinyal bileşenleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Apotozis'in en tanımlayıcı özelliği DNA fragmantasyonunun olmasıdır. Çalışmamızda nöronal retina katmanlarında apoptozisin belirlenmesi amacı ile mikroskopik DNA fragmantasyon tayini yapılmıştır.

Glokomda gelişen posttranslasyonel oksidatif modifikasyonlar (22, 32) hem ROS oluşum miktarlarına hem de intraselüler ve ekstraselüler antioksidan seviyelerine bağlıdır. Glutasyon, askorbat gibi düşük moleküler ağırlığa sahip antioksidanlar ile sistein ve tirozin gibi serbest radikalleri tutma özelliğine sahip moleküller HA'da tespit edilmiştir (48). Askorbat HA içerisinde yüksek konsantrasyonda mevcuttur (1-2 mmol/l) (49). Yukarıda bildirilen antioksidan

moleküllere ilaveten, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin varlığı da aköz humorda rapor edilmiştir. (50). Aköz hümede GPx'in varlığı radioimmunoassay teknikleri kullanılarak gösterilmiştir (51). Bu antioksidan enzim H₂O₂ ve organik peroksitlerin redüksiyonunu katalizler. Glutatyon peroksidaz mRNA ekspresyonunun asıl gerçekleştiği yerin oküler silier epitelyum olduğu bulunmuştur (52).



Şekil 1. Apoptozisin başlıca sinyal bileşenleri

Sonuç olarak glokoma bağlı artış gösteren oksijen metabolitlerinin detoksifikasyonu oküler antioksidanlara oldukça bağımlıdır. Çalışmamızda oluşturulan deneysel glokom modelinde nöroprotektif ve antioksidan etkisi olan ebselen ve ghrelinin etkisi araştırılmıştır. Ebselenin ve ghrelinin glokomda oluşan oksidatif harabiyete olan etkileri henüz araştırılmamıştır ve literatürde yoktur. Bu anlamda çalışmamız literatüre ışık tutulacak niteliktedir.

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1 Glokom

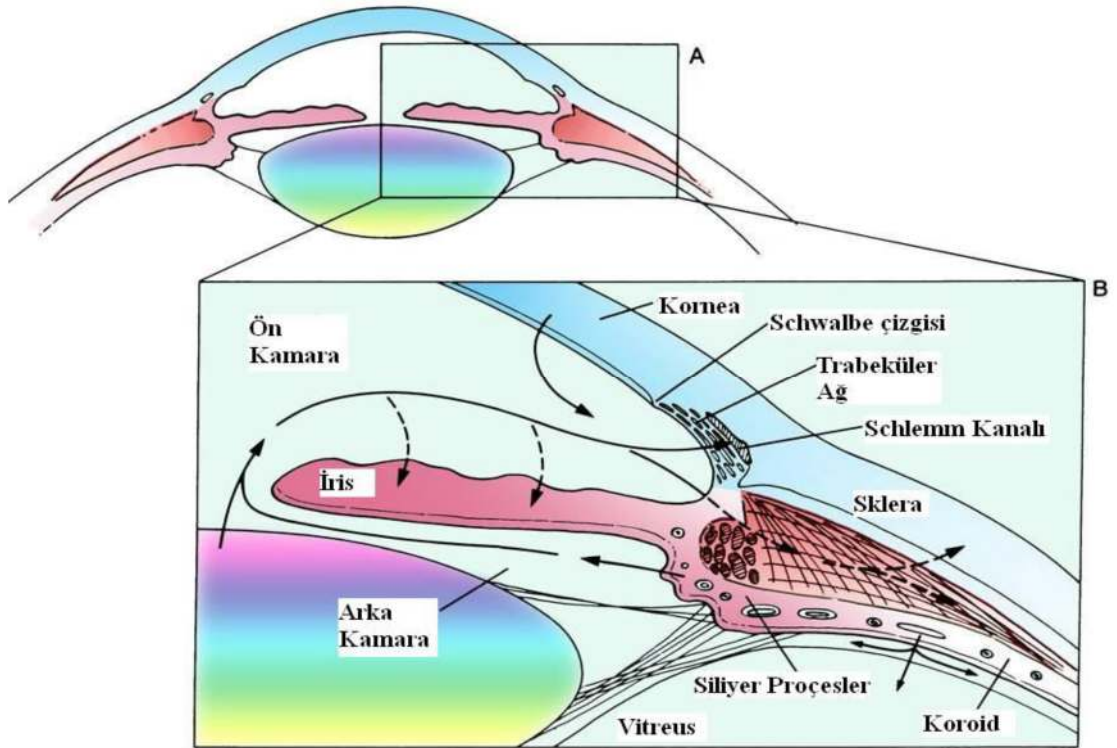
Glokom genellikle GİB artışı ile seyreden, OD'de çanaklaşma; RGH dejenerasyonu ve görme alanı (GA) kaybı oluşturan, kronik optik nöropatidir (53). Glokom dünya çapında geriye dönüşsüz ve önlenabilir körlüğün en önde gelen nedenidir (54). Glokomun görülme insidansı çeşitli yazarlara göre % 0.47 ile % 8 arasında değişmektedir. Aynı zamanda bu insidans yaşla birlikte artmaktadır (55). Glokomun tanı ve takibinde GİB ölçümünün büyük önemi vardır. Nitekim GİB halen

glokomatöz hasar gelişiminde en önemli risk faktörüdür (56). Daha çok yaşlı popülasyonda görülmesine rağmen, bütün yaş gruplarında ve toplumun her kesiminde görülen glokomun; sağlık ve ekonomiye çok ciddi etkileri vardır. Bu yüzden glokom, en önemli halk sağlığı problemlerinden biridir.

1.2.2. Ön Kamara Anatomisi ve Histolojisi

1.2.2.1. Ön Kamara Sıvısı

Hümör aköz saydam yapısı ile kusursuz görmeye katkısının yanında en önemli işlevi lens ve kornea gibi avasküler yapıların beslenmesini sağlamak, ortamdan metabolitleri ve toksik maddeleri uzaklaştırmak ve oluşturduğu basınç ile gözün doku bütünlüğünü devam ettirmek olup GİB'in oluşumunu sağlayan en önemli unsurdur. (57, 58). Hümör aköz dinamiği ile ilgili 2 önemli anatomik yapı vardır. Bunlardan ilki HA yapım yeri olan siliyer cisimdir. İkinci önemli anatomik yapı ise HA'nın en önemli dışa akım yeri olan trabeküler ağın bulunduğu limbal alandır (Şekil 2).



Şekil 2. Hümör aközün yapım ve emilim yerlerinin şematik resmi

Hümör Aköz; arka kamarada bol pencere kapillerler ve çift katlı epitelyum tabakası içeren silyer çıkıntılarda üretilir. Pupiller alandan geçerek ön kamaraya ulaşır. Ön kamara; önde kornea, arkada iris ve pupilla alanında sınırlıdır. Normal

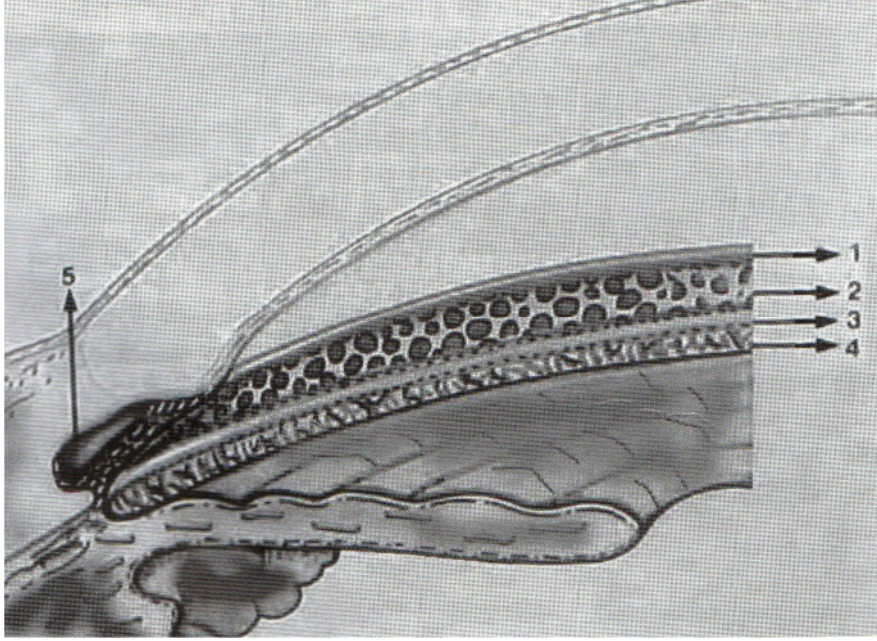
derinliği 3mm'dir. Hümör aköz, kornea ve irisin birleşme yeri olan ön kamara açısından ön kamarayı terk eder. Bu birleşme yeri eksternal olarak kornea ve skleranın birleşme yeri olup "limbus" olarak adlandırılır (58). Korneaskleral eklem bölgesi olarak da bilinen limbus 1,5-2 mm genişliğindedir. Dış yüzünde eksternal skleral sulkus adı altında hafif bir çukurluk bulunur. İç yüzdeki internal skleral sulkusta trabeküler ağ ve Schlemm kanalı yer alır. İnternal sulkusun arka dudağı sklera mahmuzunu meydana getirir. Sklera mahmuzu üçgen şeklindedir ve üçgenin tepesi içe doğru uzanır. Mahmuzun ön yüzüne trabeküler ağ, arka yüzüne ise siliyer kas yapışır. Siliyer cisim; iris ve koroid arasında yer alan bir uveal dokudur. Uzunluğu 6-7 mm ve üçgen şeklinde olup; tabanında iris, tavanında ise ora serrata ile bağlantılıdır. Pars plana ve pars plikata olmak üzere iki kısımdan oluşur. Pars plana 4 mm'lik arka kısımdır. Pars plikata 70-80 arasında siliyer çıkıntılar ve bunların arasındaki vadilerden oluşan öndeki damarsal dokudur. Siliyer cisim; epitel, silyer kas ve stromadan oluşur. İki katlı epitel, siliyer cismin arka kamaraya bakan kısmını kaplar. Pigmentli epitel, dışta stromal tarafta yer alır. Bir bazal lamina üzerine oturmuş kübik hücrelerdir. Sitoplazmasında çok sayıda melanin granülleri vardır. Pigmentsiz epitel, içte arka kamara ile pigmentli epitel arasında yer alır. Pigmentli ve pigmentsiz epitel hücrelerinin apikal yüzeyleri ile pigmentsiz epitel hücrelerinin birbiri arasındaki zonula okludens denilen sıkı bağlantılar kan-aköz bariyerini oluşturur. Hücre içinde geniş bir nükleus, çok sayıda mitokondri, endoplazmik retikülum ve Golgi kompleksi HA üretiminde önemli rol oynar. Silyer kas üç tabakadan oluşur. Longitudinal lifler en dış kısımda olup siliyer cismin skleraya tek bağlantı noktası olan skleral mahmuza yapışır. Kasıldığında intertrabeküler alan ve Schlemm kanalını açarak HA çıkışını kolaylaştırır. Radyal lifler orta tabakada yer alır. Stromada siliyer çıkıntılar arkasında sonlanır. Dairesel lifler en altta yer alır.

Stroma, başlıca kollajen fibriller, fibroblastlar ve kapiller ağdan oluşur. Siliyer cismin damarsal yapılarını ön siliyer ve arka uzun siliyer arterler oluşturur. Limbus hizasında ön siliyer arterler sklerayı delerek siliyer kasa doğru ilerlerler. Nazal ve temporalden gelen arka uzun siliyer arterler ile ön kamara açısının girintinin hemen arkasında anastomoz yaparak "irisin majör arteriyel halkasını" oluştururlar. Buradan çıkan arterioller siliyer çıkıntıları beslerler. Her bir çıkıntı, endoteli pencereci olan kapiller ağdan oluşur. İleri derecede geçirgen olmaları nedeni

ile HA oluşumunda önemli rol oynarlar. Venöz drenajın çoğunluğu vorteks venlerine doğrudur.

1.2.2.2. Ön kamara açısı

Kornea ve irisin birleşme yeri olup HA'nın başlıca drenajını sağlar. Yukarıdan aşağı doğru şu yapıları içerir (Şekil 3):



1. Schwalbe hattı 2. Trabeküler ağ 3. Skleral Mahmuz 4. Siliyer band 5. Schlemm Kanalı

Şekil 3. Ön kamara açısının şematik resmi

Schwalbe hattı: Korneadaki Descemet membranının sonlandığı 50–150 µm kalınlığındaki kabarık gri-beyaz çıkıntıdır. Kornea ve trabeküler endotel hücreleri arasında geçiş zonudur.

Trabeküler ağ: Schwalbe çizgisinin hemen altındadır. Skleral sulkusun içine yerleşmiş Schlemm kanalının hemen önünü kaplayan ince ağ şeklinde tabakalardan oluşur. Her bir ağ kollajenöz bağ dokusu iskeletini saran endotel hücrelerinden yapılmıştır. Bu endotel hücreleri fagositik özelliktedir.

Skleral Mahmuz: Trabeküler ağın hemen altında yer alan beyaz banttır. Skleranın ön kamaraya ulaşan en uç uzantısıdır. Önde korneoskleral trabeküler ağ, arkada siliyer cisme yapışır.

Siliyer cisim bandı: İrisin siliyer cisim ile birleştiği yerin hemen üstündedir. Gri veya koyu kahverengi bir bant şeklinde görülür. İrisin yerleşim seviyesine göre dar veya geniştir.

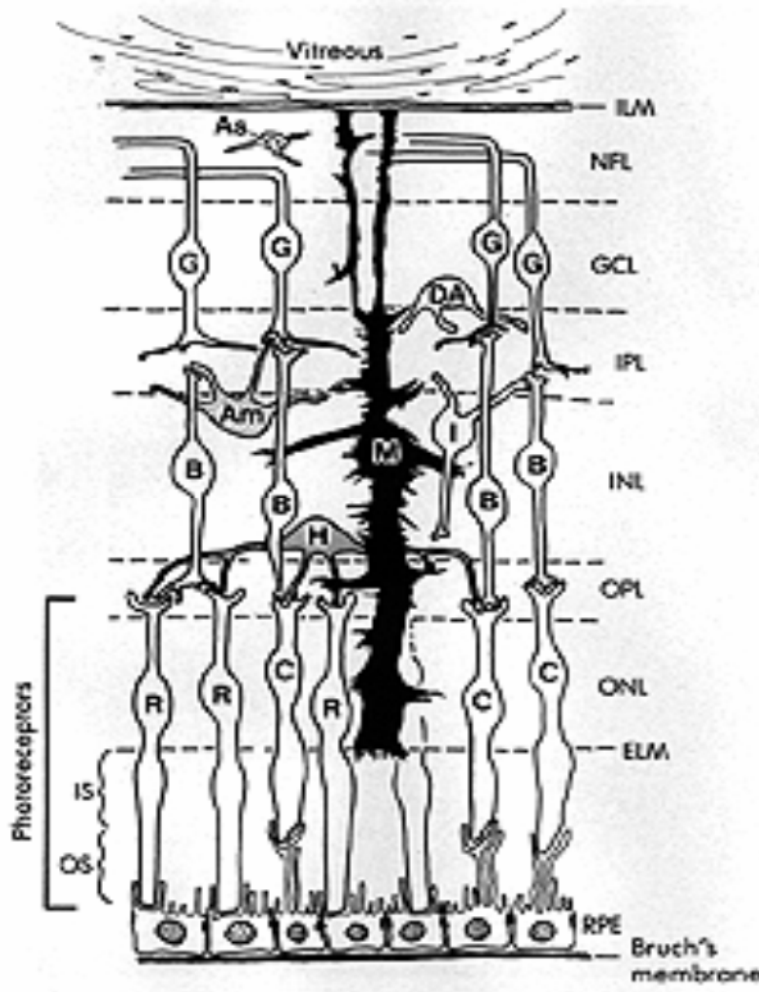
Schlemm kanalı: Trabeküler dokunun arkasında skleral sulkusa yerleşmiş lenfatik bir kanal görünümündedir. İç duvarını oluşturan endotelial hücreler arasında sıkı bağlantı olmayıp, transendotelial delikler mevcuttur. Bu endotel hücreleri dev vakuoller şeklinde kanal lümenine doğru kabarcıklar oluşturarak aközün çıkışını sağlarlar. Çapı 350 µm'dir. Toplayıcı kanallar: (İntraskleral aköz venleri) Schlemm kanalını episkleral ve konjonktiva damarlarına bağlayan damar sistemidir.

Limbus: Opak sklera ile saydam korneanın geçiş bölgesi olup önde dışta korneadaki Bowman membranının sonlandığı bölge ve içte Schwalbe çizgisinden başlayıp 1,5- 2 mm arkaya doğru gider. Öndeki 1 mm'lik kısım mavi limbus olup ortada trabeküler bölgede sonlanır. Arkadaki opak kısım ise skleral mahmuza ulaşır.

1.2.3. Retina Anatomisi ve Histolojisi

Gözün en iç tabakasında yer alan fotoreseptör özelliği ile optik enerjiyi algılayan ve beyne optik sinir yoluyla ileten retina, optik sinir başından ora serrataya dek uzanan bir yapıdır. İç tarafta vitreus korteksi ile dış tarafta da Bruch membranı aracılığıyla koryokapillaris tabakasıyla ve koroidle komşudur. Histolojik özellikler olarak retina 9 katmandan oluşmuştur (Şekil 4).

1. İnternal limitan membran (İLM)
2. Sinir lifi tabakası
3. Ganglion hücre tabakası
4. İç pleksiform tabaka
5. İç nükleer tabaka
6. Dış pleksiform tabaka
7. Dış nükleer tabaka
8. Fotoreseptör tabaka (rodler ve konlar)
9. Retina pigment epitel tabakası



Şekil 4. Retinanın histolojik kesiti

Bruch Membranı: Bruch membranı RPE ile koryokapiller dokuyu birbirinden ayırmaktadır.

Retina Pigment Epiteli: Tek katlı heksagonal hücrelerden oluşur. Hücreler arası zonula adherens ve zonula ocludens denilen sıkı bağlantılar sayesinde dış kan-retina bariyerini oluşturur. Retina yüzeyindeki mikrovilluslar sayesinde, fotoreseptör hücrelerin pigment içeren ışığa duyarlı dış segmentlerini sarar ve atılan dış segment parçalarını fagositoz yoluyla temizler. İçerdikleri melanin granülleri sayesinde ışık saçılmalarını absorbe etmek, fotoreseptör dış segmentindeki vitamin A metabolizmasına katılmak, interfotoreseptör matriks içeriğini muhafaza etmek, konların dış segmentini saran kılıflarla metabolik alışveriş ve koryokapillaristen gelecek olan maddelerin retinaya aktif transport yoluyla seçici olarak iletilmesini sağlamak diğer görevleridir.

Fotoreseptör hücreler: Rod ve konlar iç ve dış segmentlerden oluşmuştur, rod ve konların iç segmentlerinde sentez organelleri ve nukleusları bulunur. İç segmentler silium adında dar ve ince bir parçayla ışığa duyarlı pigmentler içeren dış segmentlerle bağlantılıdır.

Rod hücrelerinde 500 nm dalga boyuna duyarlı rodopsin denilen bir pigment bulunmaktadır, rodopsin aracılığıyla rodlar karanlıkta görmeden sorumludur. Konlar ise fotopigmentlerinde birbirinden farklı 3 opsin türevi içerirler ve buna göre de 3 farklı alt gruba ayrılırlar:

564 nm (kırmızı) ışığa duyarlı pigment içeren L konlar,

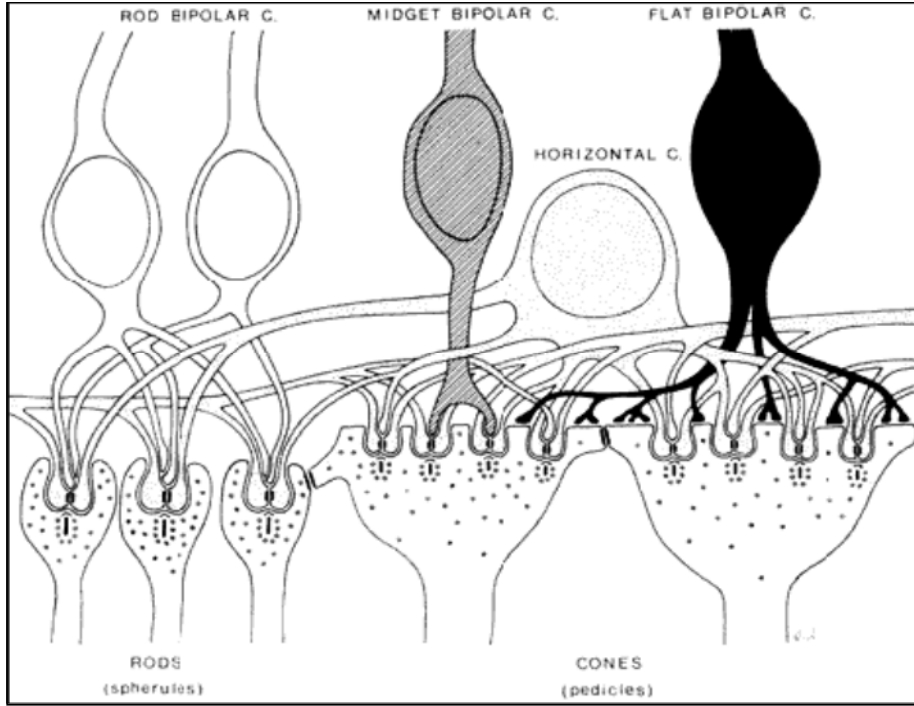
533 nm (yeşil) dalga boyuna duyarlı M konlar ve

437 nm (mavi) dalga boyuna duyarlı S konlar.

Santral foveada sadece kırmızı ve yeşil konlar bulunurken, rodlar ve mavi konlar hiç bulunmaz. Rodlar perifoveal alanda yoğunlaşırken kon yoğunluğu en fazla foveal bölgede bulunur (yaklaşık 160.000/ mm²). Retinada toplam 4.6 milyon kon mevcutken 92 milyon rod olduğu düşünülmektedir. Rodlar ve konların iç segmentleriyle MH'nin apikal yüzeyleri arasında bulunan intemedyer bağlantılardan (zonulae adherenes) oluşan eksternal limitan membran (ELM) da bu tabakadadır.

Dış Nükleer Tabaka: Bu tabakada rod ve kon hücrelerinin gövde ve nukleusları bulunmaktadır.

Dış Pleksiform Tabaka: Burada rod ve konların terminal uçları horizontal ve bipolar hücrelerin dendritleriyle sinapslar yaparlar. Fotoreseptörlerin invajinasyon yoluyla şekillenmiş sinapslarına, her sinapsta bir bipolar ve iki horizontal hücre ile bağlantı kurulduğundan 'triad' adı verilir. Rod hücrelerinin tek triadı olurken, konların birden fazla triadı bulunmaktadır.



Şekil 5. Rodların bipolar ve horizontal hücrelerle tek triadı varken konların birden fazla sinaptik triadı mevcuttur.

İç Nükleer Tabaka: Bu katmanda çeşitli hücrelerin çekirdekleri ve hücre gövdeleri bulunmaktadır. Dıştan içe sırasıyla horizontal hücreler, bipolar hücreler, interpleksiform hücreler, MH ve en içte amakrin hücreler bulunmaktadır.

Horizontal hücrelerin görevi fotoreseptör – bipolar hücre sinaptik bağlantılarında elektriksel iletiyi işlemektir.

Bipolar hücreler iki kutuplu yapılarıyla rod ve konlardan aldıkları iletiyi iç pleksiform tabakada (İPT) RGH'ye iletirler. Rodlar için özel ve tek tip bir bipolar hücre tipi mevcuttur ve her rod bipolar hücresi santral retinada 40-50; periferde ise 15-20 rod sferülü ile bağlantılıdır. Tüm bu rod bipolar hücreleri 'on (açık)' ileti hücresidir. Kon bipolar hücreleri ise 'on' ve 'off' ileti tipiyle 2 ana gruba ayrılır. 'On' ileti taşıyan kon bipolar hücreleri İPT'nin iç katmanlarında, 'off' ileti taşıyanlar ise İPT'nin dış katmanlarında gangliyon hücreleriyle sinaps yaparlar. Kon bipolar hücreleri yapısal olarak da diffüz bipolar ve midget bipolar hücreler olarak iki gruba ayrılmışlardır. Diffüz olanlar birden fazla konla ilişkili iken midget tipi bipolar hücreler yalnızca birer konla bağlantılıdır (Şekil 5). Dev MH'nin çekirdekleri de İNT'de olup yapı olarak glial kökenli hücreler olduklarından ileride nöroglia başlığı altında ele alınacaklardır.

Amakrin hücreler İNT'nin en iç bölgesinde bulunan hücre grubudur. Bu hücreler lateral bağlantılarıyla diğer amakrin hücreler, bipolar ve RGH ile iletişim halindedirler ve sinaptik bileşkelere etkileriyle horizontal hücreler gibi elektriksel iletinin modifikasyonunda rol alırlar.

İç Pleksiform Tabaka: İNT'de bulunan farklı hücre gruplarıyla RGH bu tabakada sinaptik bağlantılar yaparlar.

Gangliyon Hücre Tabakası: RGH'nin hücre gövdesinin bulunduğu bu tabakada tüm retinal yüzeyde yaklaşık 1.5 milyon hücre bulunduğu düşünülmektedir. RGH'nin İPT'ye uzanan dendritik uzantıları ve SLT'ye katılan birer aksonları bulunmaktadır.

Sinir Lifi Tabakası: Optik disk kenarında en kalın halinde 20-30 µm olan SNT periferde doğru incelenerek devam eder. Bu katman RGH'nin aksonlarının MH ve astroglial hücrelerce birbirlerinden ayrılmış şekilde demetler halinde organize olmasıyla oluşmuştur. Retina genelinden OD'ye uzanan aksonlar en kısa mesafeyi katedecek şekilde dizilmişken foveanın temporalinden gelen aksomal demetler foveanın etrafını dolaşacak şekilde arkuat fibrilleri oluşturarak OD'ye ulaşırlar. RGH aksonları 0,6-2 µm kalınlıkta olup, intraretinal seyirleri boyunca myelinsizdirler, ancak OD'in lamina kribrozından geçtikten sonra myelin kılıfla sarılırlar ve bu nedenle optik sinir lamina kribroza'dan sonra çap olarak genişler. Maküladan çıkıp OD'ye uzanan liflerin toplamına ise "papillomaküler band" adı verilir.

İnternal limitan membran: İLM retina iç yüzeyinde gerçek bir bazal membrandır. Retinal yüzey ise retinanın ana glial hücresi olan MH ayaklı çıkıntılarından oluşmaktadır. OD kenarında astroglial hücrelerin bazal laminası olarak devam eder ve Elschnig membranı olarak adlandırılır. İLM; incelendiği vitre bazı ya da fovea gibi bölgelerde vitreal kortekse sıkı bağlantılar içerir.

Nöroglia: Genel olarak retinanın destek hücreleridir ve bariyer oluşturma, yapısal organizasyon, sinir hücre ve uzantılarının izolasyonu, herhangi bir zedelenmede retinal tamir (gliosis) ve rejenerasyondan sorumludurlar. Retinada bulunan glial hücreler yapı ve fonksiyon açısından merkezi sinir sistemindeki glial hücrelerle birçok açıdan benzerler. Embriyolojik köken ve morfolojik açıdan makroglia ve mikroglia olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Makroglial hücreler embriyolojik olarak nöral katlantıdan köken alırlar ve retinanın en büyük hücresi

olan MH ve astroglialardan oluşurlar. Mikroglial hücreler vasküler endotel hücreleri ve perisitler gibi mesodermal kökenlidir, morfolojik olarak çok daha ufak boyutlardadır.

1.2.4.Glokomun Sınıflandırılması

1.2.4.1.Edinsel Glokomlar

1.2.4.1.1.Açık Açılı Glokom

1.2.4.1.1.1.Trabekülum Öncesi Engel (membran oluşumu)

- a) Neovasküler Glokom
- b) Travma
- c) Ön Kamaraya Doku İlerlemesi
- d) İltihabi Membranlar (Fuchs Heterokromik Sikliti, İnterstisyel Keratit)

1.2.4.1.1.2. Trabekülum Engeli

- a) Süzme Yeteneğinde Azalma
 - Primer Açık Açılı Glokom
 - Steroid Glokomu
- b) Trabekülum Ağında Birikim
 - Alyuvar Birikimi
 - *Hemorajik Glokom
 - *Hayalet Hücreli Glokom
 - Makrofaj Birikimi
 - *Hemolitik Glokom
 - *Fakolitik Glokom
 - *Melanolitik Glokom
 - Neoplastik Hücre Birikimi
 - *Malign Tümörlere Bağlı Glokom
 - *Jüvenil Ksantogranüloma Bağlı Glokom
 - Pigment Partikülleri Birikimi
 - *Pigmenter Glokom
 - *Pseudoeksfolyasyon Glokomu
 - *Üveite Bağlı Glokom
 - *Malign Melanoma Bağlı Glokom
 - Protein Birikimi

- *Lense Bağlı Glokom (Fakolitik ve Fakoanaflaktik Glokom)
- Viskoelastik Maddeye Bağlı Glokom
- Vitreusa Bağlı Glokom
- Alfa Kimotripsin Glokomu

c) Trabekulumda Değişiklik

- Ödem
- *Trabekülitis
- *Episklerit ve Sklerit
- *Alkali Yanığı
- Travmatik Açık Resesyonu
- Göz içi Yabancı Cisim
- *Şalkosis
- *Siderosis

1.2.4.1.1.3.Trabekulum Sonrası Engel

a) Schlemm Kanalı Tıkanması

- Schlemm Kanalı Kollapsı
- Orak Hücre ile Tıkanma

b) Yüksek Episkleral Venöz Basınç

- Karotiko-Kavernöz Fistül
- Kavernöz Sinüs Trombozu
- Retrobülber Tümör
- Troid Oftalmopati
- Vena Kava Süperior Tıkanması
- Mediastinal Tümörler

1.2.4.1.2.Açık Kapanması Glokomu

1.2.4.1.2.1. İrisin Öne Çekilmesi

a) Membran Kontraktürü

- Neovasküler Glokom
- Travma

b) İnflamatuvar Membran Kontraktürü

1.2.4.1.2.2. İrisin Öne İtilmesi

a) Pupilla Bloklü

- Pupilla Bloğu Glokomu
- Lense Bağlı Glokom
- Şişkin Lens
 - *Sublukse Lens
 - *Hareketli Lens
- Çevresel Ön Yapışıklıklar
 - *İris-Vitreus Bloğu
 - *Pseudofakik Glokom
 - *Üveit

b) Pupilla Bloksuz

- Plato İris
- Malign Glokom (Silyer Blok Glokomu)
- Lense Bağlı Glokom
- Lens Ekstraksiyonu
- Skleral Çökertme
- Panretinal Fotokoagülasyon
- Santral Retinal Ven Tıkanması
- Göz İçi Tümörler
- Ön Üvea Kistleri

1.2.4.2.Doğumsal ve Gelişimsel Glokomlar

1.2.4.2.1.Açık Açılı Glokom:

1.2.4.2.1.1. Trabekülüm Öncesi Nedenler

a) İrido-Korneal Endotelyal Sendrom

b) Posterior Polimorf Distrofisi

1.2.4.2.1.2 Trabeküler Nedenler

a) Ön Kamara Açısının Tıkanması

- Tümör Hücreleri
- Açıda Anomali
 - *Primer Konjenital Glokom
 - *Juvenil Glokom

*Axenfeld-Rieger Sendromu

*Peter's Anomalisi

*Aniridi

1.2.4.2.1.3. Trabekulum Sonrası Nedenler

a) Episkleral Venöz Basıncın Artması

-Sturge-Weber Sendromu

-Ailevi Yüksek Episkleral Venöz Basıncı

1.2.4.2.2. Açık Kapanması Glokomu:

1.2.4.2.2.1. Açık Membran Kontraktürü

a) İrido-Korneal Endotelyal Sendrom

b) Posterior Polimorf Distrofisi

1.2.4.2.2.2. Pupiller Bloklü

a) Lens Subluksasyonu

-Marfan Sendromu

-Weill-Marchesani Sendromu

-Homosistinüri

1.2.4.2.2.3. Pupiller Bloksüz

a) Retinoblastom

1.2.4.2.2.4. Lens Arkası Membran Kontraktürü

a) Prematür Retinopatisi

b) Persistan Hiperplastik Primer Vitreus

1.2.5. Glokomda Muayene Yöntemleri

1.2.5.1. Göz İçi Basıncı

1.2.5.1.1. Tonometri

Pratikte kullanılan cihazlar GİB'i göze bir kuvvet uygulayıp bu kuvvete gözün verdiği direnç cevabın değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır (57). Bu yöntemler indirekt yöntemlerdir. Bilinen en eski yöntem parmak ile dokunarak glob sertliğinin değerlendirilmesidir. Tonometreler gözde oluşturdukları değişime göre çökertme-indentasyon yöntemi ve düzleştirme- aplanasyon yöntemi olmak üzere 2 ana grupta toplanır:

1.2.5.1.1.1. İndentasyon tonometrileri

En çok kullanılan ve en eski yöntem Schiotz tonometrisidir (1905). Korneaya gelen alt ucunda hareketli metal prob vardır. Korneaya çökertme uygulayarak doku direncini değerlendirir. Yapılan ölçümde elde edilen değer değişim kartından mmHg'ye çevrilir. Schiotz tonometrisinde hata noktaları bulunmaktadır. Ölçümü etkileyen en önemli 2 unsur oküler rijidite ve korneanın yapısıdır. Kalın ve dik bir korneada çökertmek için daha fazla ağırlık gerekeceğinden GİB hatalı olarak yüksek ölçülebilir.

1.2.5.1.1.2. Aplanasyon tonometreleri

Kornea üzerinde standart bir alanın düzleştirilmesi esasına dayanmaktadır. İlk kez 1954 yılında Goldmann tarafından uygulamaya konulmuştur. Günümüzde GİB ölçümünde uluslar arası standart cihaz olarak kabul edilmektedir. Biyomikroskop ile kullanılan cihazın ucundaki prizma korneada 3,06 mm çaplı alanı düzleştirmektedir. Düzleştirme yöntemlerinde, çökertici yöntemlere göre göze çok daha az basınç uygulandığından GİB'de ölçüm sırasında anlık değişime yol açmamaktadır.

Son on yılda oftalmoloji pratiğinde kullanımı yaygınlaşan Tonopen elektronik tonometresi, GİB ölçümünde standart olarak bilinen Goldmann aplanasyon tonometresine alternatif bir cihaz olarak önerilmektedir (59). Elde taşınabilen, kalibrasyonu ve kullanımı kolay ve kornea patolojisi olanlarda da GİB ölçümüne imkan sağlayan bir aplanasyon tonometresidir. Goldmann aplanasyon tonometresine göre kornea yüzeyinde daha küçük bir temas alanını düzleştirir (2.36 mm²) (60, 61). Cihaz çok sayıda ölçüm kaydı yapar ve bir güvenilirlik seviyesi (%5, %10, %20, >%20) ile birlikte ortalama bir değer verir. Aplanasyon tonometresi ile GİB ölçümünün mümkün olmadığı kapak ödemi, kornea ödemi, kornea epitel defektlerinin söz konusu olduğu durumlarda ayrıca yatan hastalarda Tono-Pen tonometresi yararlı olabilir.

Bu çalışmada tonopen XL aplanasyon tonometrisi kullanılmıştır. Tercih edilmesinin nedeni; ratların kornea çaplarının insanlara göre daha küçük olması, kolay taşınabilirliği ve güvenilir ölçümler almasıdır.

1.2.5.1.2. Tonografi

HA dışı akım kolaylığının değerlendirilmesinde 3 metod kullanılmaktadır. Tonografi bunlar içinde en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Diğer iki yöntem

perfüzyon ve basınç kabıdır. Tonografi non-invaziv bir yöntemdir. Temel prensibi 18. yüzyılda yaşayan Poiseuille'nin küçük tüp içinden geçen sıvıların akım kuralının Goldmann tarafından HA dinamiğine uyarlanmasıdır. Tonografi yapılırken Schiotz tonometresi kornea üzerinde yaklaşık 4 dakika tutulur. Tonometrenin ağırlığı ve basıncı GİB'i yükseltir ve GİB'in yükselmesi HA dışı akımını arttırır. GİB'in Schiotz tonometresinden devamlı okunması ve zaman içindeki değişim ile düşmesi HA dışı akımı hakkında fikir verir.

1.2.5.2. Ön Kamara ve Açı

1.2.5.2.1. Gonyoskopi

Gonyoskopi göz muayene yöntemleri içinde en önemlilerinden birisidir. Bu muayene yöntemi ile, ön kamera açısındaki yapıların topografik incelemesi yapılabilmektedir. Gonyoskopi ile, irisin yapışma seviyesi (gerçek veya görülen), periferik iris profili, ön kamara açısı genişliği, trabeküler pigmentasyonun düzeyi ve iridotrabeküler ilişkiler, örneğin sineşiler incelenebilmektedir. Ayrıca glokomun sınıflanması, uygun tedavinin seçilmesi ve prognoz için gonyoskopiye gereksinim duyulmaktadır.

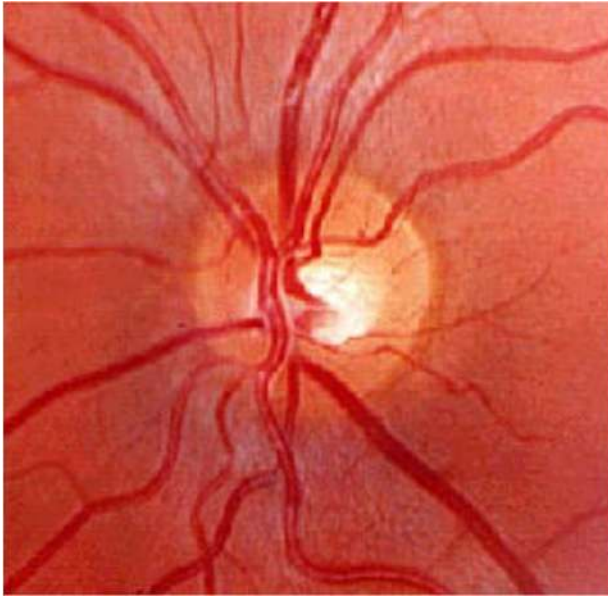
Gonyoskopi ile açının değerlendirilmesi çok faydalı bir yöntemdir. Açı elemanlarının sistematik olarak incelenmesi, bunların kaydedilmesi sayesinde, aynı hastanın, farklı zamanlardaki değişikliklerinin saptanması mümkün olabilmektedir. Bu konuda birçok farklı derecelendirme yöntemi olmasına karşın Spaeth'in yöntemi günümüzde en fazla uygulanan yöntemdir. Bu yöntemde açı ile ilgili tüm parametreleri değerlendirmek mümkün olmaktadır. Gonyoskopi aynasından, açıdaki elemanların görünümüne göre yapılan, Shaffer-Etienne sınıflaması, basit ve açının kapanma olasılıklarını gösteren bir düzenlemedir (Tablo 1).

Tablo 1. Shaffer-Etienne sınıflamasına göre açının değerlendirilmesi

0- Hiçbir oluşum görülemiyor	Açı kapalı
1- Schwalbe çizgisi görülebiliyor	Kapanma olasılığı yüksek
2- Schwalbe çizgisi, trabeküler sistem görölüyor. Sklera mahmuzu görülemiyor	Kapanma olasılığı çok az
3- Sklera mahmuzu dahil hepsi görölüyor	Kapanma olanaksız
4- Siliyer band dahil tüm açı oluşumları görölüyor	Kapanma olanaksız

1.2.5.3. Optik Sinir Başı

Optik sinir başı RGH aksonlarının optik sinir kanalında toplanmasıyla oluşur. Sinir lifleri kanala doğru keskin bir dönüş yapar. Bu kanal çok katlı ve delikli bir lamina tabakası (lamina kribrosa) ile örtülüdür. Yaklaşık 1.200.000 sinir lifi, 1000 dolayında demetlere ayrılarak, 200-300 adet değişik boyutta delikten geçmek durumundadır. Optik disk boyutları önemli varyasyon gösterir. Vertikal olarak 1,88 mm ve horizontal olarak 1,77 mm boyutlarındadır. Skleranın hemen arkasında, myelin kılıfının katılımıyla sinir 3 mm'lik boyuta ulaşır (62). Optik disk aynı zamanda retinal damarların giriş çıkış yaptıkları yerdir (Şekil 6).



Şekil 6. Optik sinir başının normal görünümü

Glokomda OD ve civarında görülen değişiklikler karmaşık ve çoğu kez birbiriyle bağımlı gibi görünmeyen patolojik nedenlerle ortaya çıkmaktadır. GİB artışı, vazospazm, disk yapısında anomaliler, kan akımında anomaliler, anormal kollajen ve venöz dönüşü engelleyen hastalıklar bu etkenlerdendir.

Optik disk, glokomun değerlendirilmesi açısından en önemli bölgedir. Optik disk, intrapapiller (optik çukurluk ve nöroretinal rim) ve parapapiller (koryoretinal atrofi) olarak iki kısımda incelenebilir. İkisi arasındaki sınırı, OD ön duvarını yapan Elsnig'in peripapiller skleral halkası belirler. Optik disk çapı, OD şekli, nöroretinal rim büyüklüğü, nöroretinal rim şekli, optik çukurluğun OD alanına göre yapısı, C/D oranı, OD hemorajileri, parapapiller koryoretinal atrofi, retinal damar çapları ve SLT, OD morfolojisini belirleyen değişkenlerdir.

1.2.5.3.1. Optik Sinir Başı Muayene Yöntemleri

Canlılarda optik sinirin değerlendirilmesi 1851 de Von Helmholtz'un oftalmoskopi icadı ile başlayan bir süreçtir. 1855'de Von Graefe GON'u "optik sinirin çukurlaşması ile birlikte körlük" olarak tanımlamış, 1907'de ilk olarak Elschmig normal ve patolojik OD'ler arasındaki farkları belirtmiştir. Birçok klinik ve histopatolojik çalışma OD'de yapısal değişikliklerin glokomatöz GA kayıplarından önce ortaya çıktığını gösterir. Özellikle son yıllarda teknolojik gelişmelerin oftalmolojide uygulanması OD görüntülenmesi ve değerlendirilmesinde çok önemli gelişmelere yol açmıştır. Optik diskte oluşacak glokomatöz değişiklikleri izlemek ve normal diski glokomlu diskten ayırt edebilmek için kullanılagelen yöntemler aşağıda belirtilmiştir.

1.2.5.3.1.1. Oftalmoskopik Muayene

- Direkt Oftalmoskopi
- İndirekt Oftalmoskopi

1.2.5.3.1.2. Optik Disk Fotografisi

- Non-Stereoskopik Fotografi
- Stereoskopik Fotografi

1.2.5.3.1.3. Fotogrammetri-Planimetrik Ölçümler

1.2.5.3.1.4. Optik Sinir Başının Bilgisayarlı Analizi

Optik Disk Analizörleri:

- i-Topcon IMAGInet
- ii-Humphrey Retinal Analizör
- iii-Rodenstock Optik Disk Analizörü
- iv-Glaucoma-Scope

Konfokal Tarayıcı Laser Oftalmoskopi Prensipli ile Çalışan Cihazlar:

- i-Heidelberg Retina Tomografisi (HRT I ve HRT II)
- ii-Topografik Tarayıcı Sistem (Top SS)

Optik Koherens Tomografi (OKT)

OKT 2 ve OKT 3 Versiyon (Glokom Analiz Paketi)

Retina Kalınlık Analizörü (RTA)

RTA-2 (Yeni Versiyon) (63).

1.2.5.3.2. Retina Sinir Lifi Tabakası Analizi

Glokom riski altındaki hastalar normal GA ve OD'e rağmen başlangıç glokom hasarının bir göstergesi olan SLT defekti gösterebilirler. Bu nedenle glokom şüpheli olgularda SLT'nin değerlendirilmesi gerek erken tanıda gerekse glokom hasarının ilerlemesinin saptanmasında büyük önem taşımaktadır. Gerek OD çukurluğunda gerekse GA'da hasar ortaya çıktığında RGH aksonlarının yaklaşık yarısı kaybedilmiş durumdadır. Glokomda SLT'nin değerlendirilmesi amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. SLT'nin kırmızıdan yoksun ışıqla değerlendirilmesi veya SLT fotoğrafı çekilmesi subjektif ve kalitatif bir yöntemdir. Buna göre daha objektif bir yöntem, belirli bir referans plan üzerinde kalan yüzey değişikliklerinin ölçümüdür. Retina yüzeyinin topografisi bugün için tarayıcı lazer oftalmoskopi prensibini kullanan Heidelberg Retina Tomografisi ve TopSS gibi cihazlarla yapılabilmektedir (64). Referans planına gereksinim duyan ölçümlerde (TopSS) kontur çizgisi (OD sınırlarını belirleyen çizgi) boyunca papilla çevresindeki retina yüksekliği saptanmaktadır ve bu ölçümün teorik olarak SLT ile arasında doğrusal orantı bulunduğu kabul edilmektedir. Bu yöntemin duyarlılığı %73 olarak saptanmıştır.

1.2.5.3.3. Optik Koherans Tomografi (OKT)

Retinal yapıların pupilla yoluyla in vivo görüntülenmesini sağlayan girişimsel olmayan ve temas etmeden işlev yapan bir yöntemdir. Göz dokularından ve özellikle retina dokusunda geriye yansıyan ışığın değerlendirilmesiyle retinanın dikine kesitlerini yüksek çözünürlükle ekranda gösteren ve değerlendiren bir tekniktir (65). Papilla çevresi SLT'nin değerlendirilmesinde OD çevresinden silindirik şeklindeki doku kesitlerinin alınması yararlı bir yoldur. Fokal SLT kayıplarını saptamak için, SLT kalınlığındaki ve yansıma özelliklerindeki değişiklikleri normal varyasyonlardan ayırt etmek için dikkatlice incelemek gerekir. SLT'nin ön ve arka her iki kenarındaki çökmeler gerçek incelme için yardımcı bir göstergedir. Glokomun erken dönemlerinde SLT'deki incelme, GA kaybı ve OD' de çukurluk ile oransal paralellik göstermeyebilir.

1.2.5.4. Görme Alanı

Görme alanı ölçümünün yapılması olan perimetride amaç, GA topografisini çıkararak normalden sapmayı tespit etmektir. Başlıca iki teknik kullanılır;

A. Kinetik teknik; uyarının görülmediği bölgeden görüldüğü bölgeye getirilerek GA'nın sınırları belirlenir.

B. Statik teknik; belirli noktadaki retina duyarlılığı ölçülür. Eşik değeri üzerinde test uyarısı verilerek ololgunun uyarısı göremediği noktalar belirlenir. Bu yöntemle santral GA'daki göreceli ve mutlak skotomlar belirlenir.

Manuel GA aletleri;

- Tangent perdesi
- Goldman perimetresi
- Tübingen perimetresi

Otomatik GA aletleri;

- Harrington – Flocks Tarama Aleti
- Friedman Görme Alanı inceleycisi
- Bilgisayarlı Görme Alanı

Yeni GA muayene aletleri;

- Swedish Interactive Testing Algorithm (SITA)
- Kısa Dalga Otomatik Perimetri(Swap=Blue On Yellow Perimetri)
- Frekans Doubling Perimetri (FDP)
- High Resolusyon Perimetri (HRP)

GA, karanlık denizinde görme adası olarak tanımlanmıştır. Ada, foveaya uyan santral keskin bir pik noktası ve eğimli kısımlara sahiptir. Görme alanı üstte 60°, nazalde 65°, altta 75° ve temporalde 109° lik açılara sahiptir. Pik noktası en fazla duyarlılığın olduğu ve bu nedenle en zayıf uyarıların bile görülebildiği noktadır. Bu adanın kenarlarında ise ışık duyarlılığı daha azdır ve karanlık adaptasyonda fovea periferi göre daha az duyarlıdır. Glokomatöz GA kaybı RGH ile lamina kribroza arasındaki bölümlerin hasarına bağlı olarak gelişir. Günümüzde glokomatöz GA muayenesinde klasik olarak kullanılan akromatik otomatik statik perimetreler ile saptanabilen en erken glokomatöz defekt evresinde yaklaşık olarak %40 – 50'ye yakın retina SLT kaybı olduğu gösterilmiştir (57). Glokoma özgü defektler OD'in hasarlanması ile sonuçlanan sinir lifleri demet defekti tarzındadır. Bu retina SLT'nin anatomik dizilişi ile uygunluk gösteren lokal veya generalize defektler şeklindedir. Tipik glokomatöz defektler lokoalize defektler şeklindedir. GA kaybının en yaygın özelliği yatay meridyene uygunluk göstermesi eğilimi ve nazal

pozisyonunda olmasıdır. Diğer bir özelliği Bjerrum alanında (temporal olarak fiksasyondan 10°-20° arasında, nazal olarak 2°-25° arasında) olmasıdır.

Glokomda görülen lokalize defektler:

1. İzole parasantral skotom
2. Arkuat veya Bjerrum skotom
3. Nazal basamak veya depresyon
4. Temporal basamak veya depresyon
5. Santral ve temporal GA adacığı (66)

Glokomun en erken belirtisi generalize defektler olabilir. Optik diskteki küçük dağılmış demetlerin hasarı duyarlılıkta generalize bir azalma meydana getirecektir ve bu, lokal defektlerden daha zor tanınmaktadır. Çünkü yaş, ortam opasifikasyonları, miyozis ve diğer hastalıklar da generalize kayıp yapan diğer durumlardır.

1.2.5.5. Psikofiziksel Testler

Psikofiziksel testler erken glokomatöz hasarı ortaya çıkarmak için geleneksel perimetriye ek olarak geliştirilmişlerdir. Görme alanı testi mükemmel bir test değildir. Klinik olarak GA'da kaybın ortaya çıkması için belli oranda RGH hasarı olması gerekmektedir. Psikofizyolojik testlerdeki amaç RGH hasarını mümkün olan en erken dönemde ortaya çıkarmaktır. Bu testlerden objektif olanlar hastanın aktif katılımına ihtiyaç duymazlar (ERG ve VEP). Subjektif testler ise hastanın bilinçli katılımıyla gerçekleşen testlerdir.

1.2.5.5.1. Kontrast Duyarlılık

Kontrast duyarlılığı testi ile merkezi GA'nın fonksiyonel bütünlüğü araştırılır. Kontrast duyarlılık ile GA sahası arasındaki ilişki glokomun erken tanısı ve muhtemelen tedavisi için özel önem taşır.

1.2.5.5.2. Renk Görme Testi

Renk görme anormallikleri glokomda altın olan standart perimetrik kayıplardan önce meydana gelebileceği için retina SLT kaybı olmadan görsel fonksiyonların test edilmesi için kullanılabilir. Merkezi makuler fonksiyon için;

1. Anomoloskop
2. Pseudoizokromatik tablolar (Ishihara testleri)
3. Renkli düğme ton testleri (Farnsworth – Munsell (FM) 100 ton testi)

Periferik GA renk duyarlılığı ise renkli perimetri ile değerlendirilebilir (67).

1.2.5.5.3. Karanlık Adaptasyonu

Karanlığa adaptasyon eğrisinde normal değerler ilerleyen yaşla birlikte giderek azalır ve glokomlu hastalarda bozulmuş olabilir.

1.2.5.5.4. Glokomda Elektrofizyolojik Yöntemler

VEP: VEP dalgasının ortalama oluş süresi ve büyüklüğü glokom hastalarında normal şahıslara göre farklılık gösterir ancak üst ve alt sınırlar oldukça geniştir. Otoregülasyonu bozuk olan glokomlu gözlerde perfüzyon basıncının azaltılmasının sonucu olarak VEP amplitüdü azalır, latansı uzar, normalde 100-120 milisaniye olan pozitif VEP dalgası oluş zamanı 120 milisaniye üzerine çıkar. Bu teste ‘basıncı tolerans testi’ denir (68).

ERG: ERG’nin kaydedildiği tabakalar fotoreseptörlerden RGH’ye kadar olan retina dış tabakalarıdır. Ancak glokomlu gözlerde hasar RGH ve retina SLT arasında yerleşmiştir. Bu yüzden klasik ERG’nin glokomlu olgularda pratik değeri yoktur. ERG retinanın total yanıtını oluşturduğu için fokal retina yanıtları glokomlu hastalarda daha önemlidir. Bu tür kayıtlar için patern ERG, fokal ERG, multifokal ERG gibi yeni ERG teknikleri geliştirilmiştir (69).

1.2.5.6. Santral Kornea Kalınlığı ve Glokom

Glokomun tanı ve tedavisinde GİB’in doğru ölçülmesi en önemli aşamayı oluşturmaktadır. Ehlers ve Whitacre santral kornea kalınlığının GİB ölçümüne etki ettiğini göstermişlerdir (70-71). Korneanın santral kalınlığı normalde 520µm dolayında olup periferik bölümü asimetrik olarak kalınlaşır ve limbusa doğru 650µm’e ulaşır (72). Santral kornea kalınlığı ölçümleri korneanın metabolik durum, hidrasyon gibi yapısal kompozisyonunu gösteren bir işarettir ve pakimetre denen aletlerle ölçülür. Santral kornea kalınlığı diüurnal bir varyasyona sahiptir. İnce kornealarda basınca bağlı daha fazla bir deformasyon olur, bu da GİB’in düşük saptanma nedenini kısmen açıklar. Kalın korneaları çöktürmek ve düzleştirmek için daha fazla basınca ihtiyaç vardır. Böylece GİB daha yüksek ölçülecektir (73).

Whitacre ve ark. (71) ince kornealarda GİB’in 4.9mmHg kadar daha düşük ölçüldüğünü, kalın kornealardaysa 6.8mmHg daha yüksek ölçüldüğünü belirtmektedirler. Santral kornea kalınlığında ortalama her 50µm’lik sapma için

normal gözlerde 1.1mmHg; glokom ve glokom şüphesi olan gözlerde 2.5mmHg'lık GİB farklılığı oluşmaktadır (71).

1.2.6. Glokomda Tedavi

Güncel glokom tedavisinin ana hedefi, en az yan etki ile görme işlevinin korunmasıdır. Yükselmiş GİB glokomda hasar için en önemli risk faktörüdür (73). Bu nedenle her hastanın tedavi planında hedef GİB belirlenmelidir. Hedef GİB, uygulanan tedavi ile glokomun ilerlemesine engel olacak GİB düzeyidir (74). Glokomda tedavi; Tıbbi, cerrahi ve laser tedavisi olarak sınıflandırılır.

1.2.6.1. Tıbbi Tedavi

Genel anlamda PAAG'nin tedavisi tıbbidir. Tedavi amacı ile topikal ve sistemik ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar tek başına, sabit veya sabit olmayan kombinasyonlar halinde kullanılabilir. Tedavinin başarısını hastanın tedaviye uyumu, ilaç etkileşimleri, yan etkiler ve birlikte olan sistemik hastalıklar belirler. Bunların içerisinde yetersiz tedavi uyumu glokomun cerrahi olmayan tedavisini sınırlayan en önemli etkidir (74).

Glokomun Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

- Parasempatomimetikler
- Sempatomimetikler
- Beta Blokörler
- Karbonik Anhidraz İnhibitörleri
- Hiperozmotik ajanlar
- Prostaglandin Analogları

1.2.6.1.1. Parasempatomimetik İlaçlar (Kolinergikler)

Glokom tedavisinde kullanılan en eski ilaçlardır. Asetilkolin benzeri etki gösterirler. Silyer kastaki muskarinik reseptörleri uyarak miyosis yaparlar. Böylece iris gerilir ve iris dokusunun hacmi azalır. Bu da trabeküler ağın açılmasını sağlar. Göz içi basıncını dışa akımı arttırarak azaltırlar. Başlangıç değerine göre GİB'i % 10-20 azaltırlar (75). Parasempatomimetik ilaçları direkt ve indirekt etkili olarak ikiye ayırabiliriz (76).

Direkt Etkililer: Asetilkolin, asiklidin, pilokarpin, karbakol bu grupta yer alan ilaçlardır. Muskarinik reseptörleri direkt uyarak etki ederler.

1.2.6.1.1.1. Pilokarpin

En çok kullanılan direkt etkili parasempatometiktir. Aynı zamanda bir alkaloiddir. Göz damlası ve pomat formlarında % 2'den % 4'e kadar değişen konsantrasyonlarda bulunur. Göze geçişi oldukça hızlıdır. Uygulamadan 30 dakika sonra GİB düşmeye başlar. Günde 4 kez kullanılmaktadır. Aköz dışı akımını arttırarak etki eder. Göz ve alın ağrısı, konjonktival hiperemi, punktat stenoz, bulantı-kusma, diyare, öksürük, bronkospazm gibi yan etkileri bulunmaktadır (77).

1.2.6.1.1.2. Karbakol

Pilokarpine benzer etki gösterir ancak GİB'i düşürmede daha etkindir. % 1.5-%3 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur. Yan etkileri pilokarpinden daha fazla olduğundan pek tercih edilmez (77).

İndirekt Etkililer: Sinir-kas kavşağında kolinesterazı inhibe ederek asetilkolini arttırırlar. Fizostigmin, ekotiyofat, demakaryum bu grupta yer alan ilaçlardır. Etki sürelerinin uzun olması ve yan etkilerinin fazlalığı nedeniyle pek tercih edilmezler (77).

1.2.6.1.2. Sempatometik İlaçlar

Adrenerjik agonistler olarak ta isimlendirilen bu ilaçlar α ve β adrenerjik reseptörleri uyarak etki ederler. Alfa-2 reseptörlerinin uyarılması HA yapımını azaltır, beta reseptörlerin uyarılması ise hem HA yapımını azaltır hem de dışı atılımını arttırır. Bu grupta epinefrin ve didivefrin gibi nonselektif ajanların yanında aproklonidin ve brimonidin gibi selektif alfa3 adrenerjik agonistler yer alır (78).

1.2.6.1.2.1. Epinefrin (Adrenalin)

Nonselektif adrenerjik ajan olan epinefrin günde 2 kez kullanılır. % 0.25-%2 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur. Etki süresi 12-24 saattir. Midriasis oluşturmaktadır. Akut açı kapanma glokomu oluşturabileceğinden kullanımı açık açılı glokomlarla sınırlıdır. Lensi olmayan hastalarda maküla ödeme neden olabilir. Yanma, batma, punktal stenoz, fornikslerde adrenokrom birikimi, baş ağrısı, iridosiklit, taşikardi, hipertansiyon, ritm bozuklukları oluşturabilir (78).

1.2.6.1.2.2. Dipivefrin

Epinefrin analogudur. Epinefrinden daha az yan etkiye sahiptir. % 0.1 konsantrasyonda günde 2 kez kullanılır (74).

1.2.6.1.2.3. Aproklonidin

Selektif alfa-2 reseptör agonistidir. % 0.5 konsantrasyonda günde 2 kez kullanılır. Ön segment laser girişimleri, ön ve arka segment cerrahilerinden önce profilaktik olarak kullanılmaktadır. Etkisi 12 saattir. Kronik kullanımda alerjik reaksiyonlara neden olabilir (78-79).

1.2.6.1.2.4. Brimonidin

Selektif alfa-2 reseptör agonistidir. RGH ve iç retina tabakaları üzerinde nöron koruyucu etkinliği vardır. Günde 2 kez kullanılır. Aproklonidine göre daha az oküler allerji yapar. Kan basıncında düşme, baş dönmesi ve kuru ağız gibi yan etkileri vardır (78,79).

1.2.6.1.3. Beta Blokörler

β blokörler korpus siliyarede HA yapımını azaltarak GİB'i düşürürler (80). Göz içi basıncını ortalama % 20 kadar azaltmaktadırlar (81). β blokörler nonselektif ve selektif olarak iki gruba ayrılırlar (82).

Nonselektif Ajanlar: Beta-1 ve 2 reseptörlerini bloke ederler. Timolol, metipronolol, karteolol, propranolol, levabutanol, nadalol bu grupta yer alırlar.

Selektif Ajanlar: Sadece β -1 reseptörlerini bloke ederler. Betaksolol, atenolol, proktolol bu grupta yer alır.

1.2.6.1.3.1. Timolol

Timolol glom tedavisinde kullanıma giren ilk β blokördür. Nonselektif β -1 ve 2 antagonistidir. HA yapımını azaltarak etki gösterir. β blokörler içerisinde GİB'i düşürücü etkisi en yüksek olan ajandır. Günde iki kez kullanılır. % 0.25 ve % 0.50'lik konsantrasyonları mevcuttur. % 0.1'lik jel formu günde 1 kez kullanılır. Etkisi 2 saatte maksimuma ulaşır. Etki 12-24 saat sürer. Timolol tedavi başlangıcında HA yapımını % 40 kadar azaltır. Bu etki zamanla azalır. Nadiren oküler yanma ve hiperemi gibi oküler yan etkileri vardır. Asıl yan etkileri sistemiktir. KOAH, astım, sinüs bradikardisi, 2.-3. derece kalp bloğu ve kalp yetmezliği olanlarda kullanılmamalıdır (83).

1.2.6.1.3.2. Betaksolol

HA yapımını azaltarak etkili olan selektif β -1 reseptör blokörüdür. GİB düşürücü etkisi timololden biraz daha azdır. Dışa akım direncini etkilemez. Bir miktar nöroprotektif etkisi vardır. Bu etkisi nedeni ile NTG'de ve hafif artmış GİB

olan hastalarda tercih edilir. Selektif β -1 reseptör blokörü olduğu için astım hastalarında tercih edilebilir. Nöroprotektif etkisi nedeni ile GA'yı timololden daha iyi korur. % 0.25-% 0.5 konsantrasyonlarda bulunur (84).

1.2.6.1.3.3. Levobunolol

Nonselektif β blokördür. Uzun etkilidir ve kuru gözü olan hastalarda tercih edilebilir. % 0.5 konsantrasyonda bulunur ve günde 2 kez kullanılmaktadır (82).

1.2.6.1.3.4. Karteolol

İntrinsik sempatomimetik aktiviteye sahip bir beta blokör olduğu için sempatik sinir sistemini bloke etmez hatta bir miktar aktive eder. Bu etki sayesinde daha az kardiovasküler yan etki oluşturur. Kan-lipid seviyesi üzerine olumlu etkisi bulunduğu için hiperlipidemik hastalarda tercih edilebilir. Günde 2 kez kullanılır. % 1 ve % 2'lik konsantrasyonları mevcuttur (82).

1.2.6.1.4. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Karbonik anhidraz, hidrojen ve bikarbonat dengesi ile su ve karbondioksit reaksiyonunu katalizleyen enzimdir. Bu enzim pigmente ve non pigmente silyer epitelyum hücre membranında lokalizedir (84).

Aköz yapımında enzimin net etkisi, silyer epitel membranını aktif olarak geçip arka kamarada ozmotik gradient oluşturan bikarbonat iyonlarını meydana getirmektir. Gradyent farkından dolayı, su pasif olarak akar ve aköz yapımıyla sonuçlanır. Bu enzimin inhibisyonu ile aköz yapımı % 50 kadar azalır ve dolayısıyla GİB düşer. Aköz dışı akımı ve episkleral venöz basınç üzerine etkisi yoktur (86).

Sistemik Karbonik Anhidraz İnhibitörleri: Asetozolamid, metazolamid ve diklorfenamiddir.

Topikal Karbonik Anhidraz İnhibitörleri: Dorzolamid ve Brinzolamiddir.

1.2.6.1.4.1. Asetozolamid

Antihipertansif tedavide oral diüretik olarak kullanılmaya başlandıktan sonra GİB düşürücü etkisi anlaşılmıştır. Genellikle günde 4 kez 250 mg tablet şeklinde oral olarak kullanılır. GİB düşürücü etkisi diüretik etkisiyle ilgili değildir. Hümör aköz yapımını azaltır. Metabolik asidoz yapar. Metabolik asidoz optik sinir kan akımını artırarak glokomlu hastalarda görme fonksiyonunu korur. Akut GİB yüksekliklerinde etkili bir ilaçtır. Baş ağrısı, el ve ayaklarda uyuşma, tinnitus, işitme

azalması, ağızda acı tat, depresyon, hipopotasemi, ürolithiasis, bulantı, libido kaybı, kan diskrazisi gibi yan etkileri vardır (87).

1.2.6.1.4.2. Dorzolamid

HA yapımını azaltarak etki eden topikal bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. Korneal penetrasyonu yüksektir. % 2'lik dorzolamid günde 3 kez topikal olarak kullanılır. Göz içi basıncını yaklaşık % 18 azaltmaktadır (88). İritasyon, yanma ve ağızda acı tat hissi gibi yan etkileri vardır. Steril müköpürülen konjonktivit yapabilir (89).

1.2.6.1.4.3. Brinzolamid

Potent ve seçici bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. % 1'lik konsantrasyonu günde 2 kez kullanılmaktadır. Ağızda acı tat ve oküler iritasyon gibi yan etkileri vardır (90).

1.2.6.1.5. Hiperozmotik Ajanlar

Kan ve vitreus arasında bir ozmotik gradient yaratıp vitreustan sıvı çekerek GİB'i düşürürler. Özellikle GİB'in kısa sürede düşürülmesi gereken akut aç kapanması glokomu gibi durumlarda tercih edilirler. Vitreus dehidratasyonu iris-lens diyaframını geriye doğru çekerek ön kamarayı derinleştirir ve açığı açar (91).

1.2.6.1.5.1. Gliserol

Günde 1-1.5g/kg şeklinde oral yoldan uygulanır. Otuz dakika içerisinde etkisi başlar ve 2-3 saat sürer. % 50'lik solüsyonlar şeklindedir. Daha az diürez yapar. Bulantı, kusma, baş ağrısı ve vertigo yapar. Diabetik hastalarda kullanımı sakıncalıdır (90).

1.2.6.1.5.2. İsosorbide

Günde 1-1.5g/kg şeklinde oral yoldan kullanılır. % 45'lik solüsyonları vardır. Kalori değeri olmadığı için diabetiklerde kullanılabilir. Daha yavaş GİB düşüşü sağlar. Kalp yetmezliği yapabilir (90).

1.2.6.1.5.3. Mannitol

% 20'lik konsantrasyonları 2-5mg/kg dozunda intravenöz (IV) olarak kullanılır. Etkisi yaklaşık 30 dk sonra başlar ve 6 saat kadar sürer. Hızlı etkilidir. En çok tercih edilen hiperozmolar ajandır. Dehidratasyon en önemli yan etkisidir (91).

1.2.6.1.5.4. Üre:

Günde 0.5-2g/kg olarak IV uygulanır. Hızlı etkilidir ve kalori değeri yoktur. Metabolize olmadan atılır. Tromboflebit yapabilir (91).

1.2.6.1.6. Prostaglandin Analogları

Biyolojik olarak aktif maddeler olan prostoglandinler eikozonoid hormonlardandır. Araşidonik asitten köken alırlar ve hücre membranındaki fosfolipidlerden salıverilirler. Gözde konjonktiva, silyer cisim, iris ve trabeküler dokuda üretilirler. Prostaglandinler düşük konsantrasyonlarda HA'nın uveaskleral dışa akımını arttırarak GİB'i düşürürler. Ancak yüksek konsantrasyonlarda gözde enflamasyona neden oldukları için GİB'i yükseltebilirler (92).

Uveoskleral dışa akımı, korpus siliyare kaslarında gevşeme ve silyer kas demetleri arasındaki genişleme ve ilaveten silyer kas hücrelerini çevreleyen ekstrasellüler matriks metabolizmasındaki değişikliklerle arttırmaktadırlar (93). Prostaglandinlerin en sık görülen yan etkisi konjonktival hiperemidir. En önemli yan etki iris pigmentasyonundaki artıştır. Bu % 10-20 hastada görülür. Pigmentasyon artışı ilacı kesmekle ilerlemez ve geri dönmez. İris pigmentasyon artışı iristeki melanositlerde melanin sentezinin artması ile ilişkilidir. Bunların yanı sıra yanma, batma, kaşıntı, bulanık görme, göz kapaklarında pigmentasyon artışı, baş ağrısı, yüzde kızarıklık, herpetik keratit nüksü gibi yan etkiler de görülebilir (94).

Uzun süre topikal prostoglandin kullanımına bağlı kirpiklerde uzama oluşabilir. Afakik ve arka kapsülü yırtılmış psödo fakik hastalarda kistoid maküla ödemi görülebilir (95).

1.2.6.1.6.1. Latanoprost

ProstaglandinF2 α analogudur. FP reseptörleri aracılığı ile etki gösterir. Bir ön ilaçtır. Korneadan penetre olurken hidrolize olur ve biyolojik olarak aktivite kazanır. Silyer kastaki reseptörlere bağlanarak uveoskleral dışa akımı arttırırlar. Genel olarak GİB'i 6-9 mmHg kadar düşürürler. Önemli avantajları % 0.005'lik solüsyonun günde tek doz uygulanması, düşük kardiyopulmoner etki ve yüksek konsantrasyonlu ajanlar hariç, diğer ilaçlarla kombinasyon yapılabilmesidir. Etkisini 1 saatte gösterir ve bu etki 24 saat devam eder. PAAG'lu olguların % 44'ünde GİB'i % 30 veya daha fazla azalttığı bildirilmiştir (92-95).

Latanoprost damlatıldıktan yaklaşık 12 saat sonra en yüksek etki meydana gelir ve akşam kullanımı sabah kullanımına göre daha etkilidir (96). Latanoprostun bir avantajı da noktürnal hipertansiyonu önlemesidir. Uyku sırasında oküler perfüzyonun düşmesine bağlı glokomatöz hasar meydana gelir. Latanoprost NTG’de gece ilerleyen OD hasarını önleyebilir (97). Latanoprostun PAAG’da timolol ile sabit veya sabit olmayan kombinasyon şeklinde kullanımı belirgin GİB düşüşü sağlar (98).

1.2.6.1.6.2. Travoprost

ProstaglandinF2 α analogudur. Kimyasal yapı olarak latanoprostta benzer. Selektif FP reseptör agonistidir. Latanoprostta göre bu reseptörlere daha fazla afinite gösterir. Uveoskleral dışa akımı arttırarak GİB’i azaltır. Günde tek doz % 0.004 konsantrasyonda kullanılır. Göz içi basıncında 7-8mmHg düşüş sağlar. Latanoprostta göre konjonktiva hiperemisine daha çok neden olur. Soğuk zincire gerek duyulmaması ise latanoprostta üstünlüğüdür (92- 98).

1.2.6.1.6.3. İsopropil Unoproston

Prostaglandin metabolit analogu olan bir dokosanoiddir. Prostaglandinlerden yapısal olarak farklıdır. Prostaglandinler gibi FP ve EP reseptörlerine etki etmediği için daha az yan etki oluşturur. Uveoskleral ve trabeküler dışa akımı arttırarak GİB’i düşürür. Günde 2 kez % 0.15 konsantrasyonda kullanılır. GİB’de ortalama 3.3 mmHg kadar azalma sağlar. Nöron koruyucu ve vazodilatatör etkinliği vardır. Göz içi basıncını % 11-23 kadar düşürür. GİB’i düşürmede timolol kadar etkindir, diğer prostoglandin analoglarından daha az etkindir (98).

1.2.6.1.6.4. Bimatoprost

Bir prostamiddir. Prostamidler de membran lipidlerinden köken alır, ancak biyosentetik öncüsü araşidonik asit değil anadamiddir. Prostamidler, FP reseptörlerine bağlanmazlar, serbest olarak bulunurlar. % 0.3 konsantrasyonda günde 1 kez kullanılırlar. Soğuk zincire ihtiyaç duymazlar. Latanoprosttan daha fazla hiperemi yaparlar (99). Korneal enzimler tarafından aktivasyon gerektirmeyen aktif bir ilaçtır. Dışa akımı arttırarak etki ederler. Trabeküler dışa akımda % 35, uveoskleral dışa akımda % 50 artış sağlarlar (100).

Glokomda Kullanılan Sabit Kombine İlaçlar

Günümüzde glokom tedavisinde monoterapilerle hedef basınç değerlerine ulaşamadığında sabit veya sabit olmayan kombinasyon tedavileri uygulanmaktadır.

Sabit kombinasyonların sabit olmayan kombinasyonlara bazı üstünlükleri bulunmaktadır (101):

- 1) Kullanılan damla sayı ve dozajı azaltmaktadır.
- 2) İkinci damlanın damlatılması ile oluşan birinci damlanın gözden yıkanması ve dolayısıyla etkisinin azalması ortadan kalkmaktadır.
- 3) Tedavideki prezervan madde sayısı azaldığı için oküler yüzeye ait yan etkiler azalmaktadır.
- 4) Damla sayısı azaldığı için hasta uyumu artmaktadır.
- 5) Maliyet azalmaktadır.

1.2.6.2. Laser Tedavisi

Argon laser trabeküloplasti ve selektif laser trabeküloplasti ilaçlarla tatmin edici GİB düşüşünün sağlanamadığı ya da yaşlılarda olduğu gibi medikal tedaviye uyumun olmadığı hastalarda tercih edilebilir. Burada amaç HA'nın trabeküler ağdan dışarı akımının arttırılmasıdır. Selektif laser trabeküloplastide 532 nm Q-Switch YAG laser kullanılmaktadır. Selektif laser trabeküloplasti argon lasere göre trabeküler ağa daha az hasar verdiği ve tekrarlanabildiği için tercih edilmektedir (102).

Laser yöntemleri:

- * Argon Laser Trabeküloplasti
- * Diod Laser Trabeküloplasti
- * Nd: YAG Laser iridotomi
- * Argon Laser iridotomi
- * Laser Periferik iridoplasti
- * Transskleral Siklofotokoagülasyon
- * Nd: YAG Laser Siklofotokoagülasyon
- * Diode Laser Siklofotokoagülasyon
- * Transpupiller Siklofotokoagülasyon
- * Endoskopik Siklofotokoagülasyon
- * Laser Sklerostomi; ab eksterno ve ab interno olarak sınıflandırılmaktadır.

1.2.6.3. Cerrahi Tedavi

A- CERRAHİ YÖNTEMLER

- * İridektomi
- * İridenkleizis
- * Scheie ameliyatı
- * Elliot trepenasyonu
- * Trabekülektomi
- * Trabekülotomi

B- NONPENETRAN GLOKOM CERRAHİSİ

- * Viskokanalostomi
- * Derin sklerektomi

C- FİLTRASYON CERRAHİSİ

- * Trabekülektomi
- * İridenkleizis
- * Scheie operasyonu
- * Eliot trepenasyonu

D- SIKLODESTRÜKTİF YÖNTEMLER

- * Siklodiatermi
- * Siklokrioterapi
- * Siklofotokoagülasyon
- * Sikloanemizasyon

E- SETON CERRAHİSİ

- * Akım kısıtlamasız implantlar: Molteno, Shocket, Baerveldt
- * Akım kısıtlamalı implantlar: Krupin, Joseph, White, Optimed, Ahmed Glokom Valvi

1.2.7. Rat Görme Sistemi

Sıçanlarda, LGN (lateral genikulat nukleus), parvoselüler ve magnoselüler diye ayrılmamıştır ve ayrı görsel alt sistemler tanımlanmamıştır. Sıçanlar, insanlara göre, retinada, LGN’de ve görme korteksinde çok az özelleşme gösterirler. Sıçanlar renkli görmeyi yoksundurlar (103). Sıçanların temporal (zamansal) frekansları ayırtma yetenekleri vardır. Magno sisteme karşılık gelen bir sistem varken, parvo sistemine karşılık bir sistemlerinin olduğu şüphelidir. Çünkü uzaysal rezolüsyonları

insanlardann daha küçüktür (104). Türler arası topografik özelleşme ve algı yeteneklerindeki farklılıklara rağmen, iki tür arasında nitelik olarak parvoselüler ve magnoselüler sistemlerinde benzerlik bulunmaktadır. Primatlara benzer olmakla birlikte, ratların görsel yolakları RGH'nin morfolojisi, optik traktustaki sinir liflerinin hızı, RGH'nin LGN tabakalarındaki dağılımı, talamokortikal projeksiyonların kortikal dağılımı ve ileti hızları, LGN'deki nöronların reseptif alan özellikleri ve görsel korteks bakımından fonksiyonel ve yapısal olarak farklılıklar gösterirler. Primer görme korteksinden input alan ekstrasial görsel bölgeler diğer memelilerde olduğu gibi ratlarda da şekilli görmeyi sağlar (103).

Daha önce ratlarda glokom oluşturulması için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Göz içine sodyum hyaluronat verilmesi bunlardan birisidir. 30 gauge iğne ile sodyumhyaluronat enjeksiyonu, cerrahi mikroskop altında korneoskleral limbustan ön kamaraya self- sealing giriş yapılarak, iğne ucunun iris ve lens ile teması engellenerek, iris damarlarında solma izlenene dek uygulanabilir (105). Çalışmamızda limbus hizasında nazal kadran hariç diğer 3 kadranı da içine alacak şekilde vasküler ark ve episkleral venler disposable oftalmik koterle koterize edilmesi yöntemi kullanılmıştır (106). Bu yöntemle benzer olarak daha önce episkleral venlerin ve vasküler arkın laser fotokoagülasyon ile yakıldığı bildirilmiştir (107). Daha önce intrakamaral hint mürekkebi uygulanması ve bunun ardından boyanan trabeküler ağın 360 derece argon laser ile yakılarak açıda oluşturulan dejenerasyona sekonder GİB'de artış sağlanması (31) uygulanmış olmakla birlikte biz çalışmamızda episkleral venlerin ve vasküler arkın koterizasyonu yöntemini uygulamayı tercih ettik. Bu yöntemin kullanılmasının nedeni uygulama kolaylığı, cerrahi prosedürün tek seansta uygulanabiliyor oluşu, ekipman gereksiniminin diğer yöntemlere göre daha az olması ve işlemin tek seans olmasının ratlarda daha az stres oluşturmasıdır.

1.2.8. Glokomda Belirteçler

1.2.8.1. Glokomda Oksidatif ve Nitratif Stres Belirteçleri

1.2.8.1.1. Lipit Peroksidasyonu ve Glokom

Oksidatif stres sırasında üretilen ROS lipitlerin (hem hücresel membran lipitleri hem de dolaşımda bulunan lipoprotein molekülleri) peroksidasyonunu indükler ve oldukça reaktif aldehitleri meydana getirir (108). Oluşan son ürünler

MDA ya da 4-hidroksinanenal (4-HNE) oksidatif streste patolojik moleküler süreçte iyi bilinen markırlardır (109). Yapılan bir çalışmada PAAG hastalarından toplanan 49 gözün lens, HA ve trabeküler ağ dokusu lipid ekstraktlarında konjuge dienlerin, lipid peroksidasyonu son ürünlerinin birikiminin çalışılması için ultraviyole spektrofotometri ve floresans analiz kullanılmıştır. Kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında glokom hastalarının HA ve trabeküler dokuda lipid peroksidasyon ürünleri anlamlı düzeyde yüksek konsantrasyonda bulunmuştur (110). Benzer şekilde; yapılan bir diğer çalışmada artmış GİB'e sahip ratlarda MDA seviyeleri vitreus ve retinada yüksek olarak bulunmuştur (111, 46). Poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu nöronal hücrelerde apoptozisi uyaran 4-HNE'i de içeren birçok aldehitin oluşumu ile sonuçlanır (112). 4-hidroksinanenalin doz ve zamana bağımlı etkileri normal ve glokomlu insan gözlerinden elde edilen OD astrositlerinin primer kültüründe çalışılmıştır. Altı saat kadar 50 mM ve daha yüksek konsantrasyonda 4-HNE uygulaması normal OD astrositlerinin yaşamsallığını %50'den fazla düşürmüştür (113). Glutasyon (GSH) hücrede en çok bulunan nonprotein tiyoldür ve 4-HNE'nin inaktivasyonunda önemli ve kilit antioksidandır (114). Bir saat kadar 4-HNE mumamelesinin ardından normal astrositlerde GSH seviyelerinde önemli düşüş gözlenmiştir (112). Glokomlu insanların gözlerinden alınan OD astrositlerinin primer kültüründe normal astrositler ile karşılaştırıldığında GSH'nın bazal seviyelerinin azaldığı gözlenmiştir (114). Bu bulgu glokomda antioksidan savunma mekanizmalarının değişmiş olduğunu göstermektedir.

Kronik hiyaluronik asit injeksiyonu ile oluşturulan glokomlu ratlarda artmış lipid peroksidasyonu artmış antioksidan enzim aktivitelerine eşlik eder (115). Tiyobarbütirik asit reaktif substratı ile ölçülen retina lipid peroksidasyonu zaman ve hipertansiyona bağımlı biçimde yüksek olarak bulunmuştur. Tiyobarbütirik asit reaktif substratında gözlenen bu artışa GSH, CAT ve SOD enzim aktivitelerinde düşüş eşlik eder (115).

1.2.8.1.2. Protein Nitrasyonu ve Glokom

Aromatik nitrasyon patolojik koşullar, NOx ve oksidatif stresi içine alan sinyalizasyon olaylarının aracısı olarak tanınır. Çok sayıda in vitro biyokimyasal çalışma protein tirozin rezidülerinin nitrasyonunun proteinin fonksiyonunu değiştirebildiğini göstermiştir (116). NOx tayini, hem insan hastalık dereceleri hem

de hayvan modellerinde NOx'dan türeyen oksidanların tanısal belirteci olarak kullanılabilir (117). Artmış GİB NOS-2 ekspresyonunu, retinal protein nitrasyonunu ve apoptozisi artırır (22). Protein nitrasyonu ve apoptozisin, oküler dejenerasyonun eşlik ettiği klinik koşullarda hastalığın ilerleyişini alevlendirdiği ileri sürülmektedir. NOS-2'nin seçici inhibisyonu ve GİB'in düşürülmesi uzun dönem görme kaybını önleyebilir ve glokomun idare edilmesinde gelişmelere yol açabilir. Gerçekten de farmakolojik çalışmalar aminoguanidin ile NOS-2 inhibisyonunun kronik glokom rat modelinde RGH'de nöronal korunmayı desteklediğini göstermiştir (118). Glokomlu OD'de gözlenen NOS-2, NOS-2'nin artmış GİB ile ilişkili RGH ölümüne katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir (15, 23). NOx aracılı sitotoksikite ve apoptozisi uyaran NOx kapasitesi makrofajlarda (25), astrositlerde (26) ve nöronal hücrelerde (27) rapor edilmiştir. NOx aracılı apoptozisin mekanizması halen açıklanmamasına rağmen NOx'in yol açtığı apoptozis, p53'ü aktive ederek apoptozise neden olduğu rapor edilen DNA hasarının bir sonucu olabilir (119).

1.2.8.1.3. DNA-Oksidasyonu ve Glokom

Oksidatif DNA hasarı DNA-protein çapraz bağlantılarına, zincir kırıklarına ve baz modifikasyonlarına neden olabilir. DNA zincir kırıkları dokularda alkali hücrelerde ise DNA fragmantasyonunun terminal deoksinükleotid transferaz (TdT)-aracılı in situ son etiketleme kullanılarak belirlenmesi ile ölçülebilir (120). Aközün akışında meydana gelen azalmaya bağlı olarak gelişen artmış GİB glokoma neden olan ana etkindir (8). Gözün dışı akış sistemi ön oda açısında trabeküler ağ tabakasını da içeren bir seri endotelyal hücre dizisi yapısından oluşmaktadır. Oksidatif DNA hasarı seviyeleri, PAAG hastalarından toplanan trabeküler ağ tabakası örneklerinde belirlenmiştir (13). DNA oksidasyonu, GİB ve GA hasarı ile hastalığın seyri arasındaki ilişki; ekstrakte edilmiş DNA örneklerinde ölçülmüştür. Oksidatif DNA seviyeleri, GA hasarı ve GİB arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Oksidatif DNA hasarının, artmış GİB'e yol açan trabeküler ağ tabakası hasarına neden olduğu sonucuna varılmıştır. Başka bir çalışmaya göre GSH transferaz genleri fizyolojik koşullarda trabeküler ağda mevcuttur ve oksidatif DNA hasarının PAAG ile ilişkili olduğunu göstermektedir (12).

1.2.8.1.4. Apopitozis ve Glokom

Glokomda apopitoz yoluyla RGH ölümüne ait çeşitli hipotezler mevcuttur. Artmış GİB nedeniyle aksoplazmik akımın blokajı ve buna bağlı olarak nörotrofinlerin çekilmesi sonucu DNA kırıklarının oluşması bu varsayımlardan biridir. Bir diğer varsayıma göre iskemi sonrası salınan glutamat nedeniyle hücre içine Ca^{2+} akışı olmakta ve yine DNA'da kırılmalar meydana gelmektedir. Vasküler defekt ve vazospazm da RGH'de apopitoza yol açabilmektedir. Levin ve ark iskemik optik nöropatili bir hastanın optik sinirini incelediklerinde RGH'de apopitotik hücre ölümünü saptamışlardır (121). Eksojen brain derived growth factor'ün (BDGF) göz içine verilmesi optik sinir kesisi RGH'nin hayatta kalma süresini artırmıştır (122, 123). Dreyer ve ark glokomlu hastaların vitreuslarında glutamat oranının arttığını göstermişlerdir (124).

DNA hasarı ve apopitoz, güncel olan bir araştırma konusudur; organizmada pek çok sistemde gösterilebilmekte ve henüz tam olarak aydınlatılamamış çoğu hastalıktaki rolü netleştirilmeye çalışılmaktadır. Günümüzde çok önemli bir görmezlik ve sosyoekonomik kayıp nedeni olan glokom hastalığında da patogeneze, bu çalışmada da gösterildiği gibi, apopitozun rolü vardır ve glokomda RGH'de apopitozisi engellemeye çalışan ilaçlar halen araştırılmaktadır. Çalışmamızda nöronal retina katmanlarında apoptozisin belirlenmesi amacı ile mikroskobik DNA fragmentasyon tayini yapılmıştır.

1.2.8.2. Glokomda İmmunohistokimyasal Belirteçler

1.2.8.2.1. Glial Fibriler Asidik Protein

Astrositler ve mikroglialar tüm yaşam boyunca sinir sisteminin bütünlüğünü korumakla görevlidir ve normal retinada astrositlerin; RGH nin aksonlarının etrafını sarmak, MH gibi diğer glial hücrelerle bağlantı kurmak, potasyum tamponlamada ve nöronal sinyalizasyonda görev almak gibi işlevleri vardır (29, 125). MH retinanın başlıca glia hücresidir ve retinal nöronların fonksiyonel ve yapısal desteğini sağlamaktadır (30). MH normal koşullarda anlamlı düzeyde GFAP eksprese etmez ancak yaşa bağlı makula dejenerasyonu, retinal distrofi/dejenerasyonlar, diyabetik retinopati ve glokom gibi pekçok retinal patolojide GFAP düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır (126). Böylece GFAP-immün boyanma pozitif MH'nin akut ve kronik nöroretinal patolojilerin güvenilir bir belirteci olduğu söylenebilir (127).

Çalışmamızda da immunohistokimya boyama yöntemleri kullanılarak GFAP yanıtı değerlendirildi.

1.2.8.2.2. Vimentin

Proteinlerin ara filaman (intermediate filament) ailesinin bir ilkel üyesidir çünkü çoğu fetal hücrelerin erken gelişiminde mevcuttur. Ara filamanlar, ökaryotik hücrelerde mikrotübüller ve aktin mikrofilamanlarıyla beraber, hücre iskeletini oluşturur (128).

Müller hücreleri ve astrositler RGH modülasyonunda major rol oynamakla birlikte, deneysel glokom modelinde OD ve retinada glial hücrelerin aktivasyonunda rol oynadığı gösterilmiştir (129-130). Özellikle retinada RGH etrafında destek rolü gören MH diğer gliyal dokularda ara filaman olarak görev yapmaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarda rat modelinde oluşturulmuş GİB yüksekliğinde MH'de ve astrositlerde, retina SLT'deki tahribatla orantılı olarak vimentin pozitif bulunmuştur (131). Vimentin salınımindaki artış, deneysel glokom modelinde maymun gözlerindeki MH'de glutamat metabolizmasında bir indikatör olan glutaminin artması ile bağlantılı bulunmuştur (132). Ayrıca RGH'lerdeki artmış hasar sonucu viteustaki glutamatın MH tarafından geri alınmasının arttığı öne sürülmüştür (133). Buna bağlı olarakta GFAP ve S-100 gibi MH belirteçlerinde artış görülmüştür. Çalışmamızda vimentin immunohistokimya boyama yöntemleri ile vimentin düzeyleri kontrol ve tedavi gruplarında değerlendirilmiştir.

1.2.8.2.3. S-100

S-100 proteini temelde beyin gri cevherinde özellikle astrosit ve schwann hücrelerinde bulunan sitoplazmik asidik Ca^{2+} bağlayan bir proteindir. Tam olarak bilinmemekle birlikte S-100 proteininin büyük çoğunlukla hücre içi yerleşimi nedeniyle Ca^{2+} reseptör proteini olarak fonksiyon gördüğü düşünülmektedir. Zimmer ve ark. S-100'ün hücre yapısı, büyüme, enerji metabolizması ve hücre içi iletişim gibi çeşitli süreçleri düzenlediğini ileri sürmüşlerdir (134). S-100'den son yıllarda nörotropik sitokin olarak bahsedilmektedir. Ayrıca S-100 proteini aksonal büyüme, glial proliferasyon ve Ca^{2+} homeostazisi ile ilgili bulunmuştur (135). S-100 β izoformu gliyal hücreler, schwann hücreleri, Langerhans hücrelerinde bulunduğu gösterilmiştir (136). Daha önce yapılmış çalışmalardan yola çıkıldığında S-100'ün MH hasarının belirteci olduğu ve gliyal hücrelerdeki metabolik faaliyetlerde rol oynadığı

gösterilmiştir (137). Lam ve ark larının yaptığı çalışmada deneysel glokom modelinde rat gözlerinde S-100'un persistan artışı gösterilmiştir (31). S-100 immün boyanma paternlerinin gösterilmesi ile MH hasarına bağlı gliyal hücrelerdeki cevap gösterilmeye çalışılacaktır.

1.2.9. Nöroprotektif İlaçlar

Nöroprotektif tedavinin amacı farmakolojik ya da farklı yollardan ortamda oluşan hasarı azaltmak ya da hücrenin meydana gelen değişimler ile başa çıkması için gerekli araçları sağlamaktır (138-139). Bu yaklaşıma göre herhengi bir kronik dejeneratif hastalıkta aktif dejenerasyon sürecine maruz kalan bazı nöronlar bulunduğu ortamın kendisine karşı bir saldırı oluşturmaya yol açabilir. Dejenerasyon sonucu hücrelerin hızlı kaybı hasara uğramış nöronlardan kaynaklanır (140). Nöroproteksiyon, risk devam ettiği sürece nöronlarda korunmanın sağlanmasına çalışır (141). Nöroproteksiyonun esas çekici yani hastalık nedenini tedavi etmeye ihtiyaç duymamasıdır. İşe karışan faktörler basınca bağlı olsun ya da olmasın nöroproteksiyon RGH ölümüne yol açan son ortak yola etki eder.

Birçok farmakolojik ilaç, büyüme faktörleri ve diğer bileşenlerin çok sayıda nörolojik ve nörodejeneratif hastalıkta in vitro nöroprotektif olduğu rapor edilmiştir. Bazı ajanların optik sinirde nöroprotektif aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (138).

1.2.9.1. Ca² Kanal Blokörleri

Ca² kanal blokörlerinin glutamat-NMDA'nın meydana getirdiği hücre içi Ca² akımını nötralize ettiği gösterilmiştir. Netland ve ark. Ca² kanal blokörleri alan NTG ve PAAG hastalarında yaptıkları bir çalışmada kontrol ile karşılaştırıldığında bu blokörleri kullanan hastalarda glokom ilerleyişinde düşüş olduğunu göstermişlerdir (142). Güçlü bir Ca² kanal blokörü olan flunarizinin farelerde optik sinir transeksiyonundan sonra RGH yaşamsallığını arttırdığı gösterilmiştir (143). Ca² kanal blokörlerinin kan basıncını düşürme özelliklerinden dolayı optik sinirde perfüzyonu azaltarak iskemiye yol açabilirler (144).

1.2.9.2. Antiglokomatözler

Rat optik sinir hasarı modelinde RGH kaybını azaltma yeteneğine sahip olan brimodinin nöroprotektif özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. (140). Geo ve ark.

intravitreal brimodinin rat RGH’de beyinden türeyen nörotrofin ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir (145).

1.2.9.3. N-metil-D-aspartat Antagonistleri

Aşırı Ca^{2+} akışını önleyerek nöroproteksiyon sağlayan NMDA antagonistleri NMDA reseptörlerinin aşırı uyarımını inhibe edebilirler. Bir NMDA antagonisti olan memantin hem kültür hem de in vivo RGH’lerin eksitotoksik cevabını bloke eder (146). Göz içi basıncının 120 mm-Hg’ya yükseltilerek yapılan retinal iskemi rat modelinde sistemik olarak verilen memantin RGH kaybını düşürmüştür (147). Ayrıca maymunlarda yapılan deneysel oküler hipertansiyon glokom modelinde SLT kaybı, görsel fonksiyon kaybı ve merkez görme yolağı nöronal bozulmasına karşı nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (148-149) .

1.2.9.4. Nitrik Oksit Sentaz-2 İnhibitörleri

Önemli miktarlarda NOx apoptozisten önce gerçekleşen DNA nitrozilasyonu ve fragmentasyonunda önemli rol oynar (150). Neufeld ve ark. üç episklral damarın koterize edilerek oluşturulduğu rat modelinde NOS-2 inhibitörü olan aminoguanidinin oral kullanımının glokomun neden olduğu hasara karşı koruyucu etkisi ile ilgili çalışmalar yapmıştır (118). Uygulamadan altı ay sonra tedavi edilmemiş hayvanların OD’leri solgun ve hasarlı iken tedavi alan hayvanların OD’leri normal olarak gözlenmiştir. Tedavi edilmemiş gözlerin RGH’lerinin ortalama %36 ‘sını kaybettiği, tedavi edilenlerin ise RGH’lerinin %10’dan daha azını kaybettiği histolojik olarak gösterilmiştir.

1.2.9.5. Nörotrofinler

Beyinden türeyen nörotrofinler, silier nörotrofin faktörü ve temel fibroblastik büyüme faktörü hücre kültürü ve in vivoda insan RGH’lerinin yaşamsallığını arttırdığı gösterilmiştir (151). Bu maddenin dağılımı ile ilgili olarak öne sürülen bir yaklaşıma göre ön oda ile vitreus kavitesi arasındaki fistülde yapılan nörotrofinler iristen retinaya ulaşabilir.

1.2.9.6. Glokom Tedavisinde Kullanılan Antioksidanlar

Antioksidanlar ROS’u nötralize ederler. Katalaz, SOD, vitamin C ve E gibi serbest radikal süpürücüler oksidatif hasar sırasında oluşan ürünlerin temizlenmesinde faydalıdır. Oküler dokular ve sıvılar oksidatif hasara karşı korunmada kilit rol oynayan antioksidanları içerir. Süperoksit kendisini

dismutasyona uğratarak H_2O_2 ve O_2 oluşturan, sitoplazmik mitokondrial ve ekstraselüler SOD tarafından uzaklaştırılır (152). Gözün ön segment dokularında oluşturulan H_2O_2 CAT ya da GPx enzimi ile uzaklaştırılır (153). Süperoksit dismutaz ve CAT'ın spesifik aktivitesi hem normal insan kadavra trabeküler ağ tabakasında (154) hem de tavşan iris ve korneal endotelyumunda ölçülmüştür (155). Süperoksit dismutazın spesifik aktivitesi normal insan kadavra trabeküler ağ tabakasında yaşa bağlı bir düşüş gösterirken bu düşüş CAT aktivitesinde gözlenmemiştir. Ancak CAT aktivitesinin yaşa bağlı düşüşü tavşan iris ve korneal endotelyumunda görülmüştür. GSH ve askorbik asit insanların HA'da tespit edilebilen düşük moleküler ağırlıkta antioksidanlardır (48). Lipit peroksidasyonu sırasında Vitamin E'nin hızlı düşüşü Vitamin E radikalini tekrar kullanılabilir hale getirebilen askorbik asit ile azaltılabilir (156). Oniki kontrol ve 38 kronik açık açılı glokom hastasına ait kan askorbik asit seviyeleri ölçülmüş ve anlamlı bir fark görülmemiştir (157). Aksine PAAG teşhisi yeni koyulmuş olan 21 hasta ile 34 aynı yaş ve cinsiyette kontrol örneklerinin plazma GSH seviyeleri ölçülmüş ve glokom hastalarının kontrollerden önemli derecede düşük GSH seviyelerine sahip oldukları gözlenmiştir (33). Laboratuar sonuçları ve hayvan çalışmaları oksidatif hasarın glokom patogenezindeki rolünü desteklese de tamamlanan denemeler ek antioksidan (Vitamin E, askorbik asit) kullanımı ve PAAG riski arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösterememiştir (158).

1.2.9.7. Ghrelin

İlk olarak 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen ghrelin temel olarak mide fundusundan salınan 28 aminoasitlik lipopeptid yapıda bir hormondur. Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreas, merkezi sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde de sentezlenmektedir (159, 160).

Ghrelin, orta zincirli bir yağ asidi olan n-oktanoik asit tarafından 3. sıradaki rezidünün, serin aminoasidine modifiye edildiği, 28 aminoasitli bir peptiddir. Serin asilasyonu ghrelinin biyolojik aktivitesi, reseptöre bağlanması ve reseptör aktivasyonu için gereklidir (159). N-terminaldeki 7 aminoasit dizisi ve 3. rezidünün açıl modifikasyonu biyolojik aktivitesi için önemlidir (161). İnsan ghrelin geni 3p25-26 kromozomu üzerinde lokalizedir ve 4 ekson ve 3 introndan meydana gelir.

Ghrelinin genomik yapısının analizi, matür peptidin ekson 1 ve 2’de şifre edildiğini göstermiştir. İnsan ghrelin prekürsörleri 117 aminoasit içerir (162).

Ghrelinin; büyüme hormonu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin (PRL) salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir. Ghrelinin başlıca etkileri Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Ghrelinin başlıca etkileri

GH salınımını artırır
ACTH ve kortizol salınımını artırır
PRL salınımını artırır
İştahı artırır
Karbonhidrat metabolizmasını artırır
Gastrik motiliteyi artırır
Uykuyu artırır
Kalpde inotropik etkiyi artırır
Vazodilatasyonu artırır
Hücre proliferasyonunu artırır
Isı regülasyonu sağlar
Kemikte kalsitropik etki gösterir
İmmün sistem modülatörüdür

Gastrik ghrelin sekresyonu lokal veya merkezi uyarım ile düzenlenebilir. Bu da mekanik uyarı, mide lümenindeki sindirim ürünlerinin hareketi, sistemik dolaşımdaki maddeler ve merkezi sinir sisteminden gelen uyarıları kapsar (163). Ghrelinin yarı ömrü 60 dakikadan kısadır çünkü plazma esterazı tarafından kolayca yıkılır ve des-oktanil-ghreline dönüşür ki bu molekül inaktiftir (164). Plazma konsantrasyonu 200-600 ng/L’ dir. Fakat %80’i biyolojik aktiviteden yoksun olan deamide ghrelindir (163).

Ghrelinin farklı mekanizmalar ile anti inflamatuvar ve anti oksidan etkileri daha önce gösterilmiştir (165, 166). Lipit peroksidasyonunu engellemekle birlikte CAT, GPx, SOD enzim aktivitesini de artırır (167).

1.2.9.7.1. Ghrelinin nöroprotektif etkinliği

Ghrelin apoptotik stimulusu engelleyerek adiposit, osteoblast, kardiomyosit ve endotel hücreleri gibi birçok hücrede protektif etki gösterir (168-

170). Daha önce ghrelinin düşük dozlarda hipotalamik nöronal hücrelerde apoptozis inhibisyonu ile hücre ölümünü engellediği bildirilmiştir (171). Yine iskemi reperfüzyon modellerinde ghrelinin hücre üzerindeki protektif etkileri gösterilmiştir (172, 173). Ghrelinin nöroprotektif etkinliğin GHS-R reseptörü üzerinden GHS-R1a aktivasyonu ile oluştuğu düşünülmektedir (168).

Kemirgenlerde oluşturulan Parkinson Hastalığı modelinde intraperitoneal ghrelin enjeksiyonlarının dopamin hücre kaybını azalttığı, bunun indüklenmiş kaspaz 3 aktivasyonunu inraselüler apoptotik sinyal molekülü olan Bcl-2 ve Bax moleküllerinin yeniden düzenlenmesine bağlandığı bildirilmiştir (174, 175). Parkinson Hastalığının bir parçası olan artmış mikrogliya aktivasyonu ghrelin enjeksiyonundan sonra inhibe edilmiştir (175). Ghrelinin nöroproteksiyondaki etkisi mitokondriyal biyogenez, mitokondriyal solunum zincirindeki proteinlerin yeniden düzenlenmesi ve artmış ROS süpresyonu ile sağlanmıştır (176).

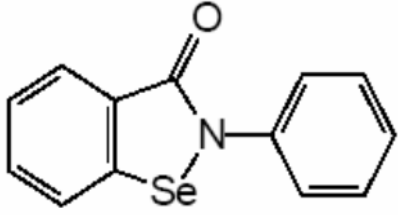
Son yıllardaki in vivo ve in vitro çalışmalar ghrelinin nöroprotektif etkinliğinin iskemik strok modellerinde artmış olduğunu bildirmektedir. Ratlarda oluşturulmuş in vivo iskemi reperfüzyon modellerinde intraperitoneal veya IV uygulanan ghrelinin belirgin nöroprotektif etki ile beyindeki infarkt hacmini azalttığı ve hücre ölümünü azalttığı gösterilmiştir (171, 177).

Çalışmamızda daha önceki çalışmaların ışığında ghrelinin glokom modelinde nöroprotektif etkinliğini araştırmayı planladık.

1.2.9.8. Organoselenyum Bileşikleri ve Ebselen

Organoselenyum bileşiklerinin GPx aktivitesine benzer aktiviteleri, organik çatısında varolan selenyum atomundan kaynaklanmaktadır. Organik selenyum bileşikleri selenyum-nitrojen etkileşimi ile sağlamlaştırılmış bağlara sahiptir. Bu durum bu bileşiklerin antioksidan aktivitesini oluşturan temel nedenlerden biridir. Organoselenyum bileşiklerinin biyokimya ve uygulamalı biyolojide yaygın kullanılmasının bir nedeni de toksik bileşikler olmamalarından dolayıdır (178). GPx, biyolojik zarları ve hücresel yapıları oksidatif stresin hasarlarından korumaktadır. GPx'in enzimatik aktivitesi, onun selenosistein artıklarından oluşan katalitik bölge içermesinden dolayıdır (179). Organik selenyum bileşiklerinin bulunmasıyla antioksidan, antiviral ve antikanser özellikleri selenyumun katalitik aktivitesine dayanmaktadır (180). Çeşitli organik selenyum bileşikleri, peroksidleri

uzaklaştırmaktadır ancak bu reaksiyon tiol varlığında gerçekleşmektedir. Karbon selenyum bağları, bu bileşikler daha reaktif hale getirmektedir. Selenik asidin ve selenyum atomunun nitrojen ile birlikte etkileşimi ile tioller nötrofilleri uzaklaştırmaktadır (181-183). Organik selenyum bileşiklerinin tüm özelliklerine sahip olan antioksidan ebselenin, GPx'a benzer aktivitesi bulunmaktadır (184). Şekil 7'de ebselenin kimyasal yapısı verilmiştir.



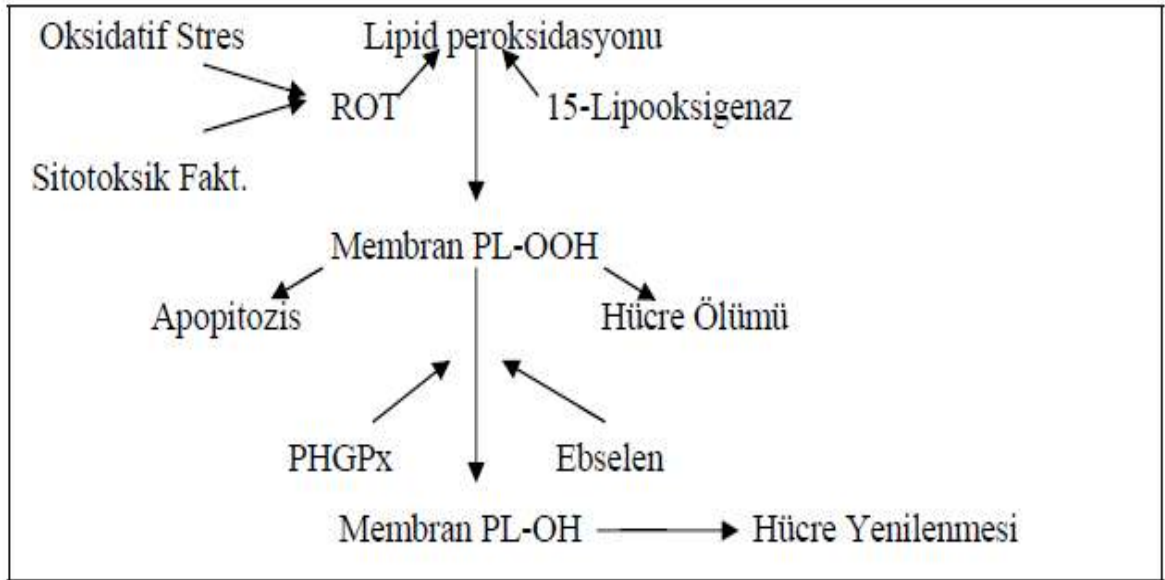
Şekil 7. Ebselenin kimyasal yapısı (184).

Yağda çözünebilir bileşik olan ebselen, hidroperoksitleri ve lipoperoksitleri ve GPx aktivitesinden dolayı GSH'ı indirgeyebilmektedir. Ebselen tiollerle ve tiol içeren proteinlerle tepkimeye girmektedir. Ebselen, serbest radikalleri çok fazla uzaklaştıramamakta ancak organik hidroperoksitleri özellikle lipid hidroperoksitlerini etkili biçimde uzaklaştırabilmektedir (185, 186). Ebselen, tiollerle tepkimeye girerek sülfür-selenyum bağlarını oluşturur ve bu bağlarda isoselenazol bağlarının açılmasına eşlik etmektedir. Aynı zamanda ebselen, kararlı organik selenyum bileşiği olmanın yanında antioksidanları, enzim inhibitörleri, sitokinleri harekete geçirici ajan, radyasyona karşı ajan ve immunomodülator olarak kullanılabilir (187, 188). Ebselen aynı zamanda hücre koruyucu özelliğe sahiptir (183, 184, 189). Ebselen potansiyel olarak nöroprotektif bileşik olarak insanlarda (190) ve kemirgenlerde (191) kullanılmaktadır. Ebselen inflamasyonda rol alan bazı enzimleri anti-inflamatuar aktivite yoluyla inhibe etmektedir (186).

1.2.9.8.1. Ebselenin Lipid Peroksidasyonuna Etkisi ve Hücre Koruyucu Özelliği

Reaktif oksijen türleri ve lipooksigenazlar biyolojik zarlar üzerinde toksik etkiye sahiptirler ve lipid peroksidasyonunun sürecini başlatmaktadırlar (192, 193). Hidroperoksitleri indirgeme özelliğine sahip olan ebselen, iz metallerin verilmesiyle mikrozomlarda (185) ve mitokondrilerde (194) yeni oluşmaya başlayan lipid peroksidasyonunu durdurmaktadır (183). Ebselen, hidroperoksitlere karşı koruyucu etkisinin yanında yan etkisi olabilecek ilaçlara ve serbest radikallerin reaksiyonuna

neden olabilecek faktörlere karşı hücre koruyucu etki göstermektedir. Şekil 8’de ebselenin hücre koruyucu özelliği şematize edilmiştir (183). Selenyum içeren ebselen, doğal antioksidanlar veya GSH gibi yüksek derecede ikincil reaksiyon oranına sahiptir. Bundan dolayı ebselen doku koruyucu özellik göstermektedir. Ebselenin en önemli özelliği, oksijen varlığında GSH’un oksidasyonunu gerçekleştirememesidir. Bu sayede serbest radikallerin kontrolsüz üremesi durdurulmaktadır (195). Dokularda hasar oluşturan oksidatif strese karşı koruyucu niteliktedir (183). Ebselen, antioksidan özelliğe sahip olmasından dolayı hücreleri, H₂O₂ ve lipid peroksitleri içeren hidroperoksitlerin hasarından korumaktadır. Bunların sonucu olarak ebselen, dokuda gerçekleşen hasarı indirgeyebilmektedir.



Şekil 8. Ebselenin hücre koruyucu özelliği. Hidroperoksi fosfolipidler ve fosfolipid alkoller hücreler üzerinde toksik etkiye sahiptirler (193).

Reaktif türler, lipid peroksidasyonunu arttıran ve nükleik asitler, lipidler ve proteinler gibi makromoleküllerde yıkım olaylarına neden olmaktadır. Reaktif türlerden olan peroksinitrit inflamatuvar durumlarda oksidatif yıkıma neden olmaktadır. Peroksinitrit, O₂ ve NO_x arasındaki reaksiyon sonucu oluşmaktadır (196-197). Bunun yanında ebselen, NO_x oluşumunda etkili enzim olan NOS’u bir dereceye kadar inhibe edebilmektedir (186, 199). NADPH oksidaz ve/veya ksantin oksidazın inhibe edilmesiyle O₂’nin oluşumu engellenmektedir. Dolayısıyla peroksinitrit oluşumu engellenerek, bu oksidanın organizmaya zararlı etkilerinden korunmuş olunmaktadır (200).

Peroksinitrit, düşük yoğunluktaki lipoproteinleri oksitlemektedir (197). Düşük moleküler ağırlığa sahip olan ebselen, reaktif türlerden peroksi radikallerini ve peroksinitriti uzaklaştırmaktadır ve peroksinitrit ile reaksiyona girerek, bu reaktif türünü muhtemel zararlı etkilerini önlemektedir (200).

Esterazların, lipooksigenazların ve hidroperoksitlerin aktivasyonu ile eş zamanlı olarak gerçekleşen proteazların aktivasyonu sonucu hücre hasarı gerçekleşmektedir (201). Ebselen bu reaksiyon basamaklarını içeren ve inflamasyonda rol alan lipooksigenaz, NOS, NADPH oksidaz, protein kinaz C gibi bazı enzimleri anti-inflamatuar aktivite yoluyla düşük konsantrasyonlarda inhibe etmektedir (186). Bu durumda, prooksidan enzimlerin aktivitesi kısıtlanarak ve makrofajlar harekete geçerek oksidatif stresin neden olduğu hasarda oksidanların etkileri önlenmiş olur (202). H⁺/K⁺ ATPaz aktivitesini de indirgeyen ebselen, bu nedenden dolayı dokunun zarar gördüğü durumlarda koruyucu etki göstermektedir .

Bu çalışmada ebselenin daha önce belirtilmiş özellikleri göz önünde bulundurularak glokom modelindeki nöroprotektif etkinliğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde yetiştirilen 35 adet Sprague Dawley cinsi, ortalama 250 gram ağırlığında 2-3 aylık rat kullanıldı. Ratlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde sirkadiyen ritme uygun olarak, 23 °C oda ısısında, kafesler içinde, sürekli serbest yem ve su verilmek suretiyle beslendi.

2.1. Anestezi Tekniği ve Glokom Oluşturulması

Anestezi ve analjezi uygulamasında intramüsküler 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı ve derin anestezi olması için intramüsküler enjeksiyondan 8 dakika sonra tüm hayvanların gözlerine topikal %1'lik proparacain hidroklorid damlatıldı.

Hayvanların sağ gözüne operasyon yapıldı. Limbus hizasında nazal kadrant hariç diğer 3 kadrantı da içine alacak şekilde vasküler ark ve episkleral venler disposable oftalmik koterle koterize edildi ve operasyon sonrasında gözler serum fizyolojik ile yıkanıp, antibiyotikli damla tatbik edildi.

2.2. Gruplandırma

Ratlar her bir grupta 7 denek olacak şekilde randomize 5 gruba ayrıldı.

Grup 1 (kontrol): Herhangi bir işlem yapılmadı ve tedavi verilmedi. Ondördüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup 2 (sham 1): Deneklere glokom oluşturuldu ve 1ml/kg dimetil sulfoksid (DMSO) solüsyonu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) her gün intraperitoneal olarak verildi. Ondördüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi. Ebselen; farmakolojik yapısından dolayı salinde çözünmediği için DMSO içinde çözünmüştür. Bu nedenle, ebselen verilen grubun sham grubu olarak sham 1 grubu belirlenmiştir.

Grup 3 (sham 2): Deneklere glokom oluşturuldu ve 1ml/kg salin solüsyonu her gün intraperitoneal olarak verildi. Ondördüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi. Ghrelin farmakolojik yapısından dolayı salin solüsyonunda çözünmüştür. Bu nedenle, ghrelin verilen grubun sham grubu olarak sham 2 grubu belirlenmiştir.

Grup 4 (ebselen tedavi grubu): Deneklere glokom oluşturuldu. DMSO solusyonunda çözünmüş 400 mikromol/kg ebselen (Sigma, St. Louis, MO, USA), her gün intraperitoneal olarak verildi. Ondördüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup 5 (ghrelin tedavi grubu): Deneklere glokom oluşturuldu ve 40 µg/kg ghrelin her gün intraperitoneal olarak verildi. Ondördüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

2.3. Göz İçi Basınç Ölçümü

Çalışmada ratlardaki GİB'i ölçmek için TonoPen tonometre kullanılmıştır. Ölçümler % 0.5 proparacaine HCL eşliğinde ameliyattan önce, ameliyattan sonra 5. gün ve 10. gün olacak şekilde yapılmıştır. TonoPen tonometre kullanılarak rat gözlerinde doğru, tekrarlanabilir, noninvaziv GİB tayini yapılması sağlanmıştır.

2.4. Göz dokularının alınması

Hayvanlara analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edilmiştir. Sakrifiye edilen ratlardan çıkarılan gözlerden HA örnekleri 27 G iğne ile aspire edildi ve MDA ve NOx düzeylerinin tespiti için biyokimya laboratuvarına gönderildi. İris ve silier cisim örnekleri alındı ve NOS-2 düzeyleri ölçülmesi için biyokimya laboratuvarına gönderildi. Kalan posterior segmentten retinal tabaka ve optik sinir diseksiyonu yapıldı ve immunohistokimyasal olarak GFAP, vimentin, S-100 proteinleri gösterilmesi ve apoptozisin TUNEL (terminal deoxyribonucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin end labeling) işaretleme tekniği ile boyanarak gösterilmesi için patoloji laboratuvarına gönderildi.

2.5. MDA seviyesinin belirlenmesi

MDA seviyesi lipid peroksidasyonunu belirlemektedir. MDA seviyesi ölçülmesi için eşit miktarda ön kamara sıvısı kullanıldı. Bu çalışmada ön kamara sıvısında MDA seviyeleri, Yüksek Performanslı Likit Kromatografi (HPLC) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sırasında MDA kiti (ImmuChrom GmbH, Hessen Germany) kullanılmıştır. MDA'nın derivatizasyon reaktifi ile floresan ürünlere dönüşmesini takiben, reaksiyon solusyonu eklenerek ortamın pH'sı optimum değerlere getirildi. MDA'nın oluşturduğu floresans, izokratik HPLC sisteminde, spektrofotometrik detektörle 553 nm (emisyon) ve 515 nm (eksitasyon)'de ölçüldü. Örneklerinde MDA düzeyleri µmol/L olarak verildi.

2.6. NO_x Seviyesinin Belirlenmesi

ELISA ile total nitrit/nitrat düzeylerinin değerlendirilmesi için eşit miktarda HA örnekleri alındı ve eşit oranda dilüe edildi. NO_x düzeyi, nitrit/ nitrat kalorimetrik assay kiti (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, ABD) kullanılarak ELISA cihazı ile belirlendi.

2.7. NOS-2 Seviyesinin Belirlenmesi

Western Blot Analizi için donmuş siliyer cisim örnekleri tartıldı ve proteaz ve fosfataz inhibitör içeren RIPA lizis buffer içinde çözdürüldü. Dokuların gramı başına 3 ml RIPA lizis buffer kullanıldı. Proteaz ve fosfataz inhibitörü olarak dokunun gramı başına 10 mg/ml PMSF stokundan 10 µl, sodyum ortovanadattan 10 µl, proteaz inhibitör kokteylinden 10 µl olacak şekilde eklendi. Tüm prosedürler +4⁰C'de sürdürüldü ve ardından üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde Bullet Blender doku Homojenizatörü (Next Advanced Inc, Averill Park, NY) kullanılarak homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi. Homojenize örnekler +4⁰C'de 10000xg'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki süpernatantı alındı ve tekrar santrifüj edilerek temiz bir lizat oluşturuldu. Örnekler -80⁰C'de muhafaza edildi. Örneklerin protein miktarları Qubit Fluorometer ile Quant-İT protein kiti ile tayin edildi. Kromojenik deteksiyon yöntemi kullanarak protein jeline 50µg protein yüklenilerek örnek hazırlandı. Mikrosantrifüj tüpüne eklenen örnek miktarı üzerine 2,5µl NuPAGE LDS sample buffer (4X) ve 1 µl NuPAGE Reducing agent (10X) ilave edilerek 70 ⁰C'de 10 dk boyunca denatüre edildi. Denatüre edilen örnek buz üzerinde soğutuldu. İnvitrogen firmasından temin edilen SURELOCK X CELL dikey jel sistemine ilk kuyucuğa SeeBlue Plus 2 Pre-Stained marker, diğer kuyucuklara ise hazırlanılan örnekler yüklenildi. 200 volt'ta 35 dk süreyle jeli yürüttükten sonra elektroforez işlemi sonlandırıldı. Jel kasetini kırarak, yürütülen jel distile su içine alındı. Iblot dry blotting sistemi kullanılarak PDVF membranına proteinleri transfer ederek blotlama işlemi gerçekleştirildi. Primer antikor olarak polyclonal anti-NOS-2 (rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) antikor 1:200 oranda eklenilerek 1 saat inkübe edildi. Yıkama işlemlerinin ardından kit içeriğinde hazır olan sekonder antikor eklenip inkübasyona bırakıldı. Yıkama işlemlerinin ardından Chromogenic substrat eklenerek proteinlerin görünür hale gelmesi sağlandı.

2.8. TUNEL ve Retinal İmmunohistokimya Boyanması

2.8.1. Apoptotik hücre taraması

Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptotik hücreler belirlendi. Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilip PBS ile yıkandı. 0.05% 'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 3% hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37⁰ de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Peroxidase ile inkübe edildi. Diaminobenzidine substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilenle zıt boyası yapılan kesitler kapatıldı. Pozitif kontrol için meme dokusu kullanıldı. Negatif kontrol dokusunda Tdt enzimi yerine Reaction Buffer kullanıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BX50) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilin ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi (203). TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın yaygınlığı esas alındı. TUNEL boyamanın yaygınlığı 0'dan +3'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 3).

Tablo 3. TUNEL boyanma yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Hafif
+2	Orta
+3	Şiddetli

2.8.2. GFAP İmmunohistokimya Boyanması

İmmünohistokimyasal boyama için retina ve OD'den geçen, dört mikron kalınlığında kesitler parafin bloklardan hazırlandı. Kesitler GFAP kiti (LifeSpan

BioSciences, Seattle, ABD) kullanılarak otomatik immunohistokimyasal boyanma cihazı (Ventana, Benchmark XT) yardımıyla boyandı. Preparatlar özel kapatma maddesi ile kapatılarak Olympus marka ışık mikroskobu ile randomize olarak incelendi. Aynı mikroskopun fotoğraf ataçmanı ile dokuların X40 büyütmede dijital fotoğrafları çekildi. Nükleer pozitiflik zayıf (+), orta (++) ve güçlü olarak (+++) değerlendirildi.

2.8.3. S-100 İmmünohistokimyasal Boyanması

İmmünohistokimyasal boyama için retina ve OD'den geçen, dört mikron kalınlığında kesitler parafin bloklardan hazırlandı. Kesitler S-100 kiti (LifeSpan BioSciences, Seattle, ABD) kullanılarak otomatik immunohistokimyasal boyanma cihazı (Ventana, Benchmark XT) yardımıyla boyandı. Preparatlar özel kapatma maddesi ile kapatılarak Olympus marka ışık mikroskobu ile randomize olarak incelendi. Aynı mikroskopun fotoğraf ataçmanı ile dokuların X40 büyütmede dijital fotoğrafları çekildi. Nükleer pozitiflik zayıf (+), orta (++) ve güçlü olarak (+++) değerlendirildi.

2.8.4. Vimentin İmmünohistokimya Boyanması:

İmmünohistokimyasal boyama için retina ve OD'den geçen, dört mikron kalınlığında kesitler parafin bloklardan hazırlandı. Kesitler vimentin kiti (LifeSpan BioSciences, Seattle, ABD) kullanılarak otomatik immunohistokimyasal boyanma cihazı (Ventana, Benchmark XT) yardımıyla boyandı. Preparatlar özel kapatma maddesi ile kapatılarak Olympus marka ışık mikroskobu ile randomize olarak incelendi. Aynı mikroskopun fotoğraf ataçmanı ile dokuların X40 büyütmede dijital fotoğrafları çekildi. Nükleer pozitiflik zayıf (+), orta (++) ve güçlü olarak (+++) değerlendirildi.

2.9. İstatistiksel analiz

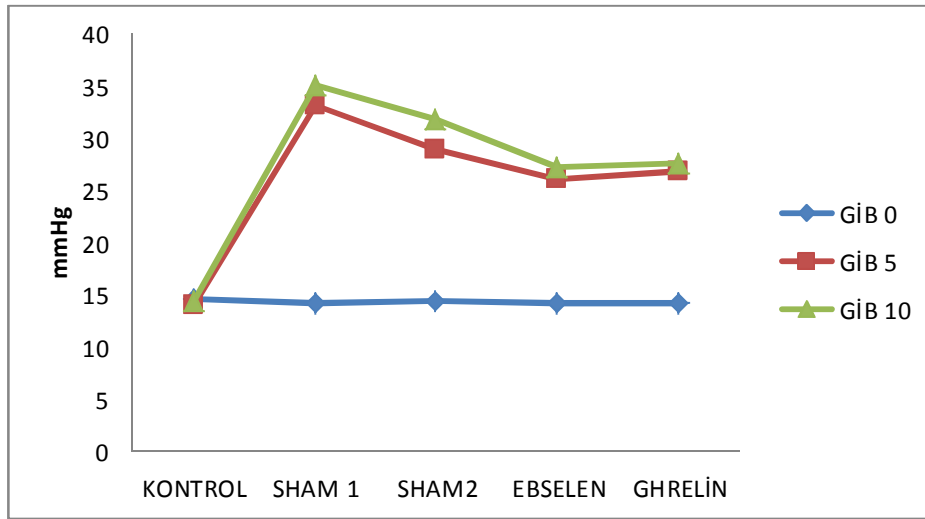
İstatistiksel değerlendirme SPSS 16,0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Her değişken için normallik testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve onu takiben Tukey Post Hoc Testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uymayanlarda nonparametrik olan Kruskal Wallis Varyans Analizi ve onu takiben Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır. Ayrıca ilişkili değişkenler için Wilcoxon testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

Deney süresince deneklerin genel görünüm ve hallerinde değişiklik gözlemlenmemiştir.

3.1. Göz İçi Basınç Ölçümü Sonuçları

Kontrol ve deney gruplarının GİB ölçümlerinin 0. gün, 5. gün ve 10. gündeki sonuçları Şekil 9’da verilmiştir. Sprague Dawley ratlarında GİB artışını sağlamak amacı ile yapılan unilateral üç-damar koterizasyonu sonucunda GİB değerleri kontrol grubu dışında diğer gruplarda artmıştır.



Şekil 9. GİB değerlerinin günlere göre değişimi grafiği

Tablo 4. Ortalama GİB değerlerinin günlere göre değişimi

	GİB 0. GÜN	GİB 5. GÜN	GİB 10. GÜN
KONTROL	14,57±1,13	14,00±2,08	14,42±1,51
SHAM 1	14,28±2,21	a33,14±4,59	b35,00±3,65
SHAM 2	14,42±1,13	a28,85±1,95	b31,85±1,06
EBSELEN	14,14±1,34	a26,14±1,95	b27,28±1,49
GHRELİN	14,14±1,34	a26,85±2,11	b27,57±1,90

a: Kontrol grubuna göre 5. günde GİB değerlerinde anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

b: Kontrol grubuna göre 10. günde GİB değerlerinde anlamlı fark vardır ($p<0,05$).

Kontrol gruplarına ait hayvanların GİB değerlerinin günlere göre değişimi incelenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$; $p=0,26$).

Tablo 4' de Sham 1 grubuna ait hayvanların GİB değerlerinin günlere göre değişimi ve kontrol grubuna göre değişimi incelenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p<0,05$). Ameliyat öncesi alınan GİB ölçümleri ile ameliyat sonrası 5. günde alınan GİB ölçümleri arasında anlamlı derecede fark saptanmış olmakla birlikte, postoperatif 5. ve 10. günler arasındaki GİB ölçümleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

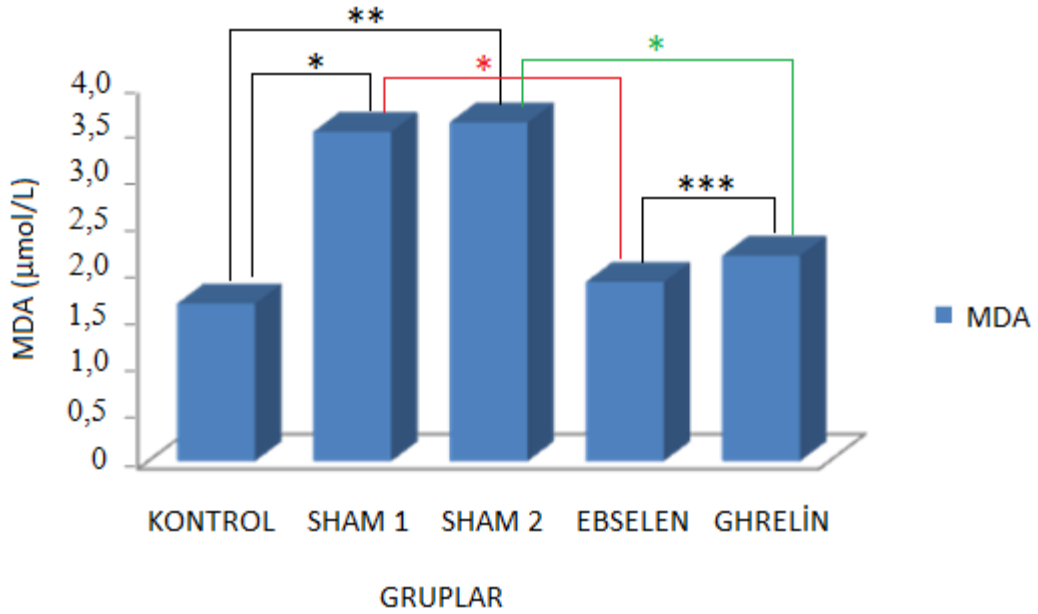
Sham 2 grubuna ait hayvanların GİB değerlerinin kontrol grubuna ve günlere göre değişimi analiz edildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p<0,05$). Sham 1 grubuna benzer şekilde sham 2 grubunda da preoperatif ile postoperatif 5. gün ve 10. gün GİB ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir ($p<0,05$). Sham 1 grubu ve sham 2 grubu GİB değerleri karşılaştırıldığında arada istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p>0,05$; $p=0,068$).

Ebselen ve ghrelin gruplarındaki hayvanların GİB değerleri günlere göre incelendiğinde ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında preoperatif ve postoperatif ölçümler arasında anlamlı düzeyde artış izlenmiştir ($p<0,05$). Ancak sham 1 ve sham 2 grupları ile karşılaştırıldığında arada istatistiksel olarak anlamlı derecede fark görülmemiştir ($p>0,05$; $p=0,364$, $p=0,654$). Buna rağmen göreceli olarak sham 1 ve sham 2 gruplarına göre ebselen ve ghrelin gruplarında GİB ölçümleri daha düşüktür. Ayrıca postoperatif 5. ve 10. günler arasında GİB değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p>0,05$; $p=0,988$, $p=0,999$).

3.2. MDA Düzeyi Sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerindeki HA örneklerinde MDA düzeyleri tablo 5'de gösterilmiştir. Şekil 10'da görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki MDA seviyelerinde anlamlı derecede artış olduğu izlenmiştir ($p<0,01$; $p=0,0001$, $p=0,0001$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında MDA seviyelerinde anlamlı fark yoktur ($p>0,05$; $p=0,992$). Ebselen grubundaki hayvanların HA örneklerinde, MDA düzeylerinin sham 1 grubuna göre anlamlı derecede daha az olduğu görülmüştür ($p<0,01$; $p=0,0001$). Benzer olarak ghrelin grubundan alınan örnekler ile sham 2 grubu karşılaştırıldığında MDA seviyeleri anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,01$; $p=0,0001$). Ebselen ve ghrelin grupları ise kendi arasında incelendiğinde, MDA düzeylerinde göreceli olarak fark izlense

anlamli derecede fark olmadigi gorulmustur ($p>0,05$; $p=0,678$). Ebselen ve ghrelin gruplari ile kontrol grubu karstastirildiginda MDA seviyeleri analizi sonucu istatistiksel olarak anlamli fark gorulmemistir ($p>0,05$; $p=0,815$, $p=0,1$).



Şekil 10. Gruplara göre MDA düzeylerinin değışimi grafiği * $p<0,01$ ** $p<0,01$ *** $p>0,05$ * $p<0,01$ * $p<0,01$

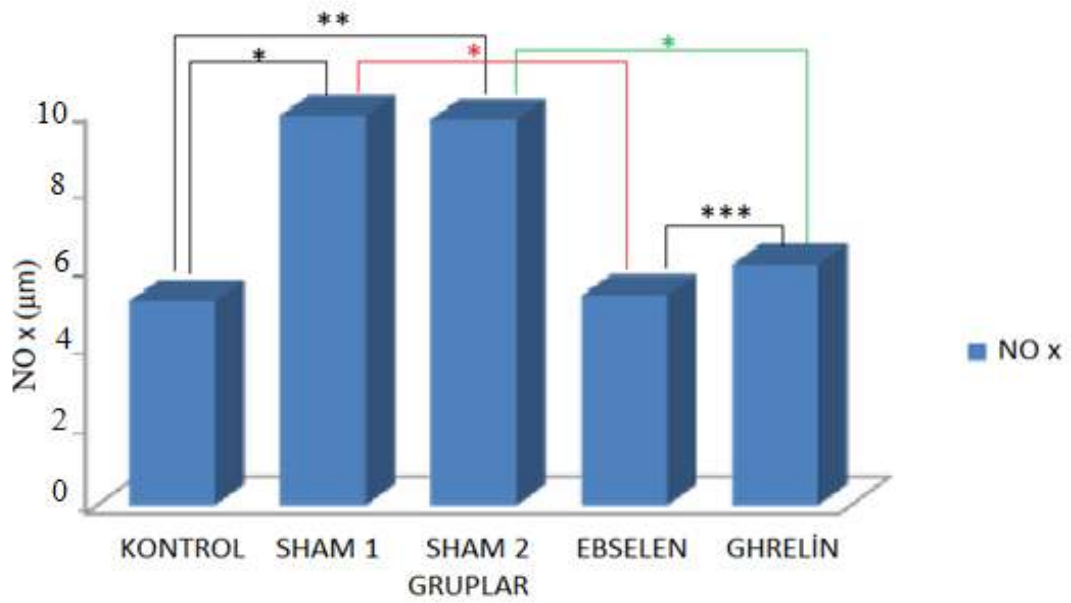
Tablo 5: Gruplara göre MDA düzeylerinin değışimini gösteren tablo

	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	EBSELEN	GHRELİN
MDA (μmol/L) (Ort.± SD)	1,68 ± 0,22	3,51 ± 0,45	3,61 ± 0,57	1,91 ± 0,43	2,19 ± 0,19

3.3. NOx Düzeyi Sonuçları

Tablo 6' da gruplardan alınan HA'daki NOx düzeyleri gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 ve sham 2 gruplarındaki hayvanların HA'daki NOx analizleri arasında anlamli derecede artış olduğu görülmüştür ($p\leq 0,01$; $p=0,01$, $p=0,008$, Şekil 11). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında ise NOx düzeylerinde benzerlik olduğu ve istatistiksel olarak anlamli fark bulunmadığı izlenmiştir ($p>0,05$; $p=1,0$). Ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen gruplarda, NOx düzeyleri benzerlik göstermektedir, iki grup arasında anlamli fark izlenmemiş olup ($p=0,973$), kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında, kontrol grubu ile aralarında anlamli fark

görülmemiştir ($p>0,05$; $p=1,0$; $p=0,950$). Ancak ebselen ile tedavi edilen grupta sham 1 grubuna göre NOx seviyelerinde anlamlı derecede azalma olduğu izlenmiştir ($p<0,05$; $p=0,013$). Benzer olarak ghrelin ile tedavi edilen grup sham 2 grubu ile karşılaştırıldığında, NOx seviyelerinde azalmanın anlamlı olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$; $p=0,046$).



Şekil 11. Gruplara göre NOx düzeylerinin değişimi grafiği. * $p<0,01$ ** $p=0,01$

*** $p>0,05$ * $p<0,05$ * $p<0,05$

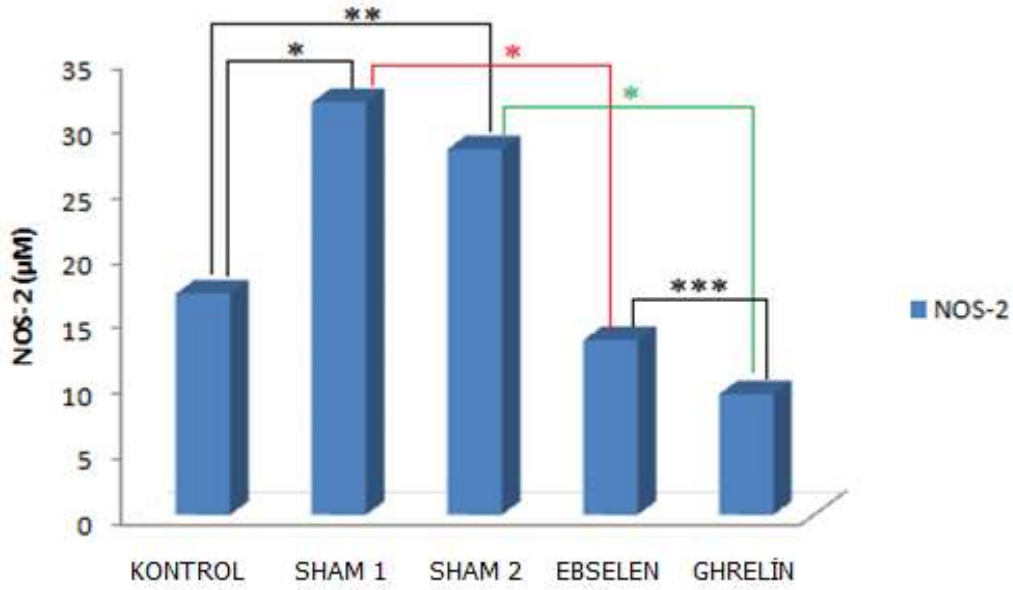
Tablo 6. Gruplara göre NOx düzeylerinin değişimini gösteren tablo

	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	EBSELEN	GHRELİN
NOx (µM) (Ort.± SD)	5,19±1,0	9,9±3,18	9,8±3,26	5,33±1,91	6,12±1,87

3.4. NOS-2 Düzeyi Sonuçları

Tablo 7’de izlendiği gibi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 ve sham 2 gruplarında NOS-2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış mevcuttur ($p<0,05$; $p=0,037$, $p=0,003$). Ebselen ile tedavi edilen grup, sham 1 grubu ile karşılaştırıldığında NOS-2 düzeylerinde anlamlı derecede azalma vardır ($p<0,01$; $p=0,002$). Ghrelin ile tedavi edilen grup sham 2 grubu ile karşılaştırıldığında ebselene benzer şekilde anlamlı düzeyde azalma izlenmiştir ($p<0,01$; $p=0,0001$).

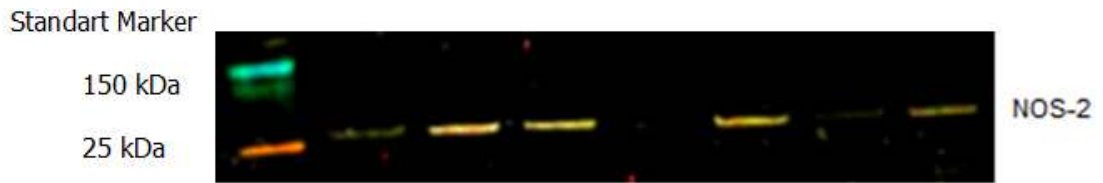
Ebselen ve ghrelin tedavi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark izlenmemiştir ($p>0,05$; $p=0,757$).



Şekil 12. Gruplara göre NOS-2 düzeylerinin değişimi grafiği. * $p<0,05$ ** $p<0,05$ * $p<0,01$ * $p<0,01$ *** $p>0,05$

Tablo 7. Gruplara göre NOS-2 düzeylerinin değişimini gösteren tablo

	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	EBSELEN	GHRELİN
NOS-2 (µM) (Ort.± SD)	17,0±2,16	31,7±8,01	28,1±10,2	13,42±5,74	9,28±1,49

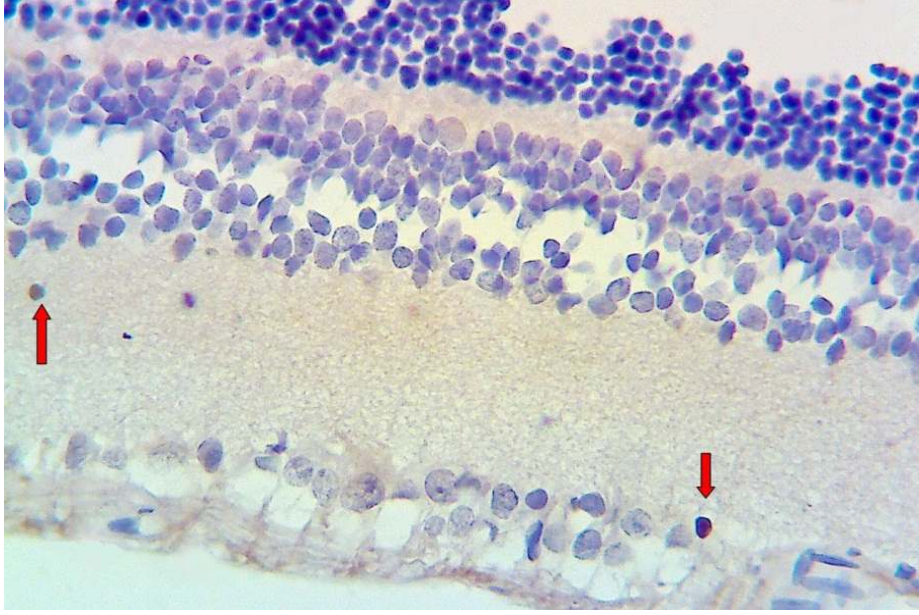


Şekil 13. Western Blot yöntemiyle NOS-2'nin gösterilmesi

3.5. Retinal İmmunohistokimya ve TUNEL Boyanması Sonuçları

3.5.1. Apoptozis Sonuçları

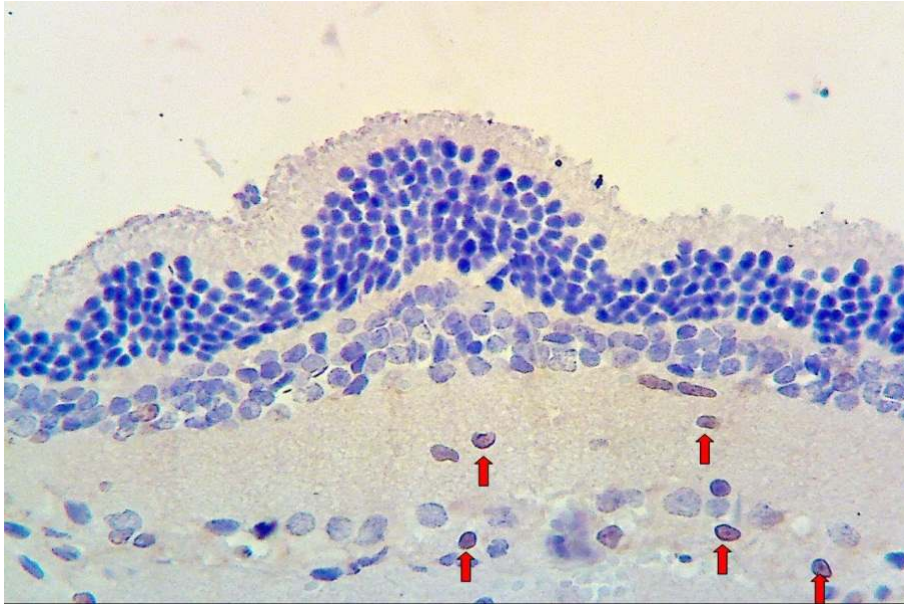
Beş grup için birer hayvana ait retinal apoptozis boyaması örnekleri gösterilmiştir. Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği kontrol grubunda +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 14).



Şekil 14. Kontrol grubunun TUNEL ile boyanması

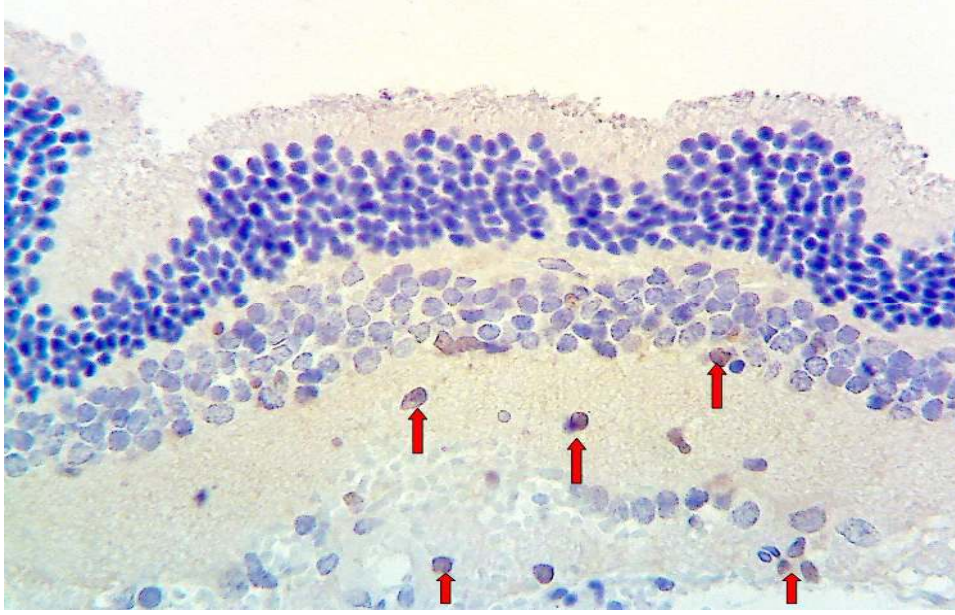
Şekil 14, 15, 16, 17 ve 18'deki oklar apoptotik hücreleri göstermektedir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 grubunda apoptoziste belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu görüldü (Şekil 15). Apoptotik hücrelerin RGH tabakasında, İPT ve İNT'de daha fazla olduğu görüldü.



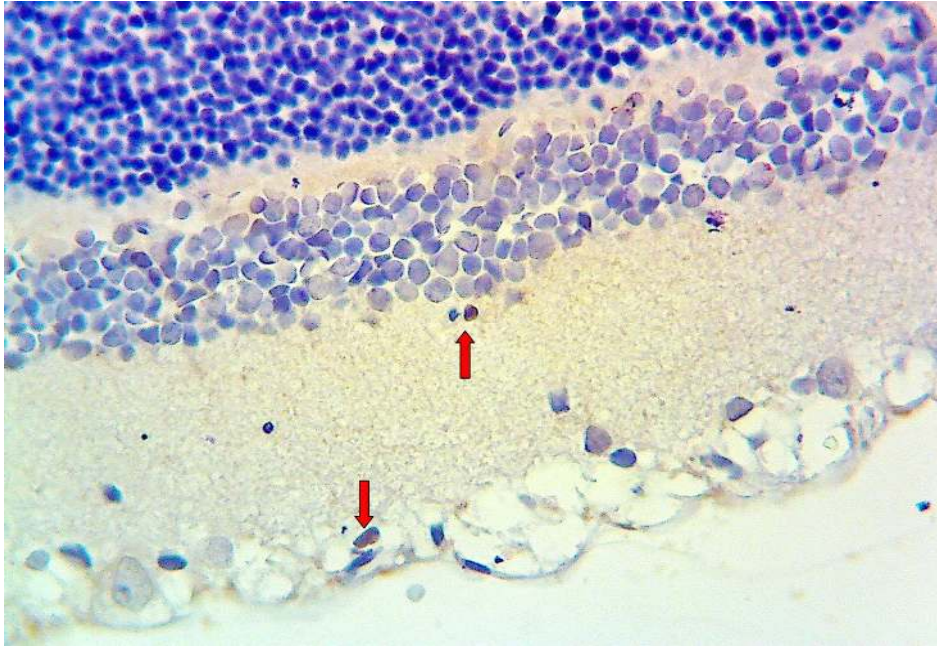
Şekil 15. Sham 1 grubunun TUNEL ile boyanması

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 2 grubunda yaygınlık sham 1 grubu ile benzerdi ve yaygınlık +3 olarak değerlendirildi (Şekil 16). Sham 2 grubundaki apoptotik hücre dağılımı da retinanın histolojik katları değerlendirildiğinde sham 1 grubu ile benzerlik taşımakta idi.

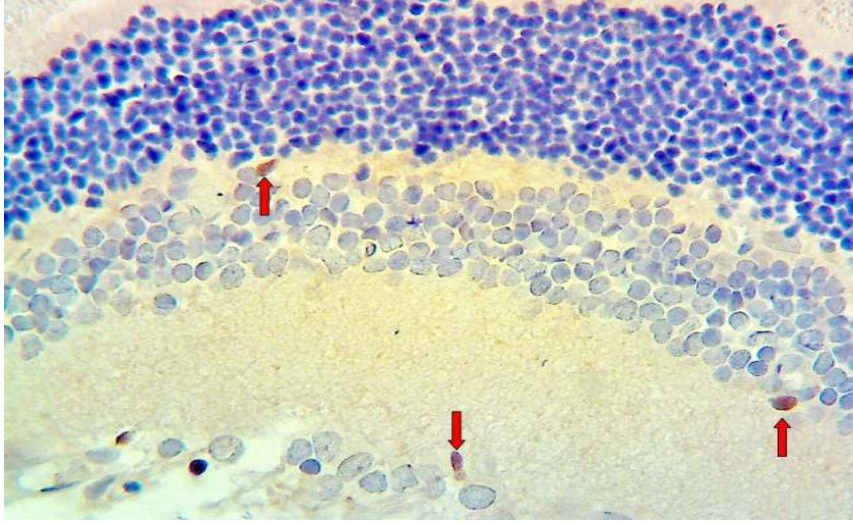


Şekil 16. Sham 2 grubunun TUNEL ile boyanması

Ghrelin ve ebselen verilen tedavi gruplarında ise sham 1 ve sham 2 gruplarına göre apoptozisin belirgin azaldığı, kontrol grubuna yakın olduğu izlendi ve +2 olarak değerlendirildi (Şekil 17 ve 18).



Şekil 17. Ebselen grubunun TUNEL ile boyanması

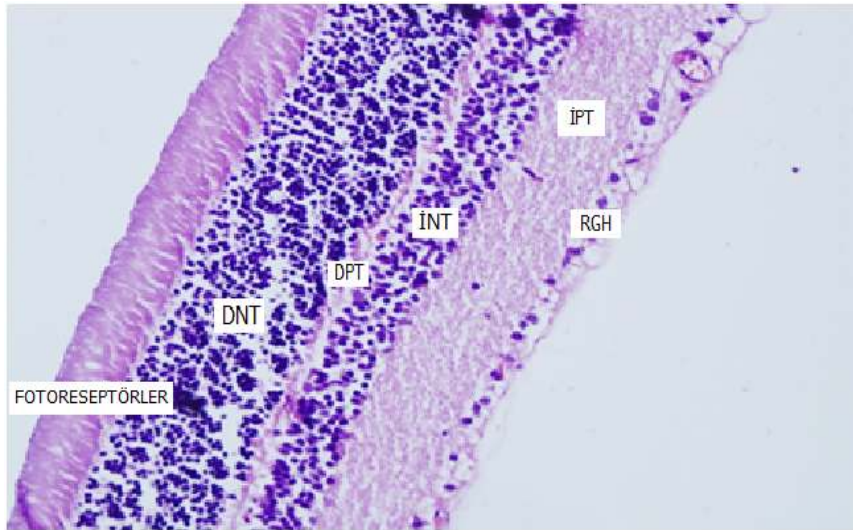


Şekil 18. Ghrelin grubunun TUNEL ile boyanması

Retinal kesitler incelendiğinde TUNEL + liği RGH tabakasında, İPT ve İNT’de gözlemlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 ve sham 2 gruplarında TUNEL ile boyanma yaygınlığındaki artış istatistiksel olarak anlamlı görüldü ($p<0,05$). Ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen grupta ise TUNEL + liği anlamlı derecede azalmıştı ($p<0,05$).

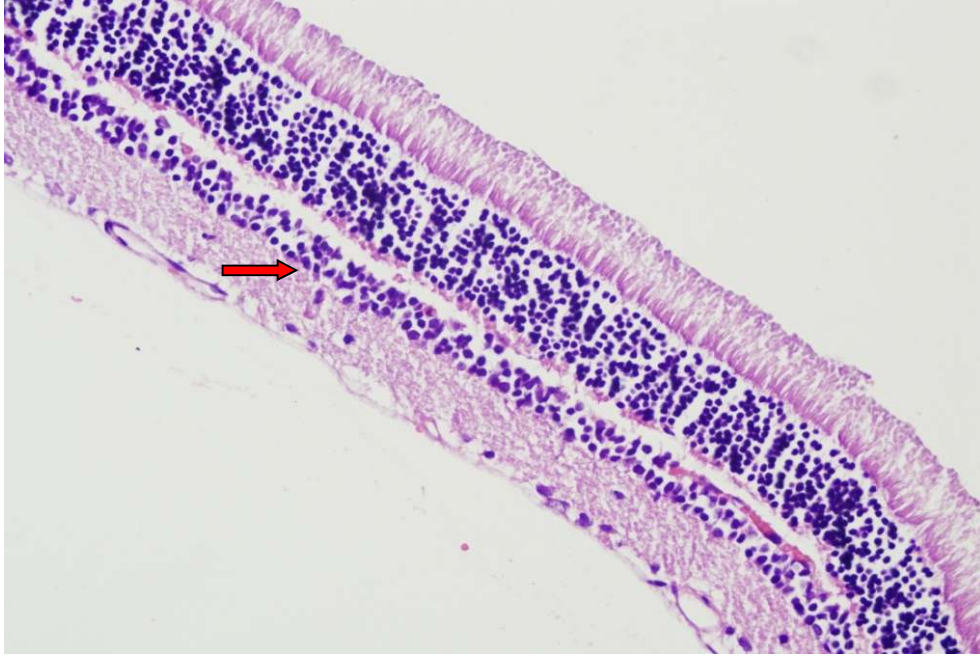
3.5.2. Retinal Hematoksilen-Eozin ile Boyanma Sonuçları

Glokomda GİB artışı sonucu baskı altındaki retinada incelme, hematoksilen eozin ile boyanan retinada, ışık mikroskopisi altında izlenebilmektedir. Bu incelmenin özellikle İNT’de olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubundan alınan örneklerdeki kesitlerde İNT’de gözle görülür şekilde daha kalın olduğu izlenmektedir(Şekil 19).



Şekil 19. Kontrol grubunun hematoksilen-eozin ile boyanması

Kontrol grubu ile kıyaslandığında sham 1 ve sham 2 gruplarından alınan örneklerdeki kesitlerde İNT'deki incelme dikkat çekicidir (Şekil 20 ve 21).



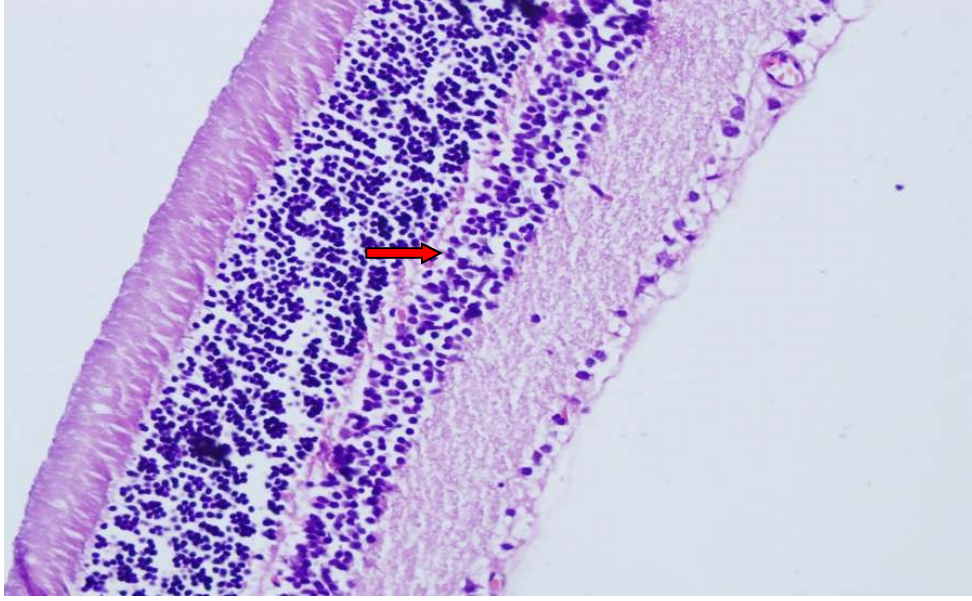
Şekil 20. Sham 1 grubunun hematoksilen eozin ile boyanması

Şekil 20, 21, 22 ve 23'deki kırmızı oklar İNT'yi göstermektedir.

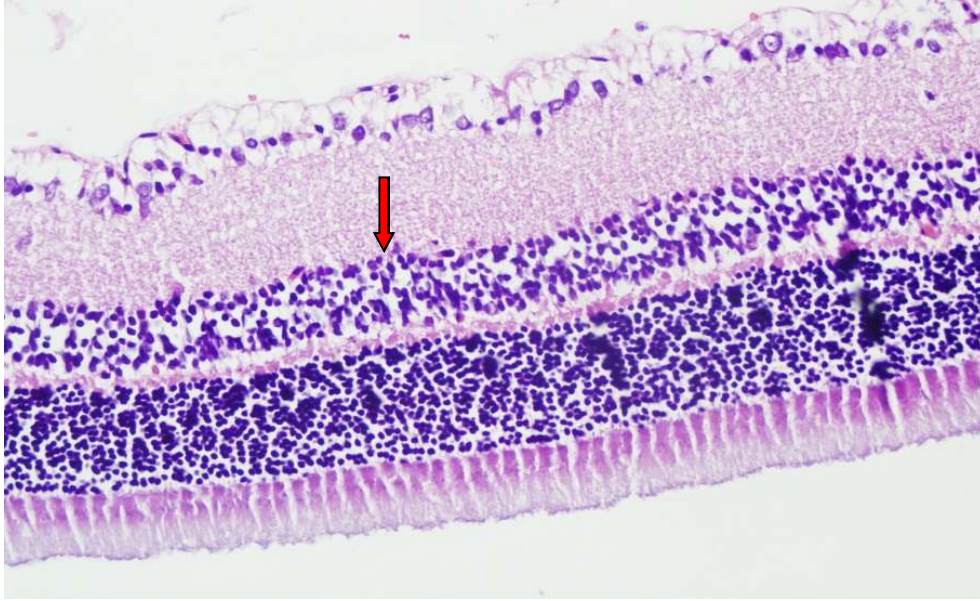


Şekil 21. Sham 2 grubunun hematoksilen eozin ile boyanması

Ghrelin ve ebselen grubunun ise kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir (Şekil 22 ve 23).



Şekil 22. Ghrelin grubunun hematoksilin-eozin boyanması

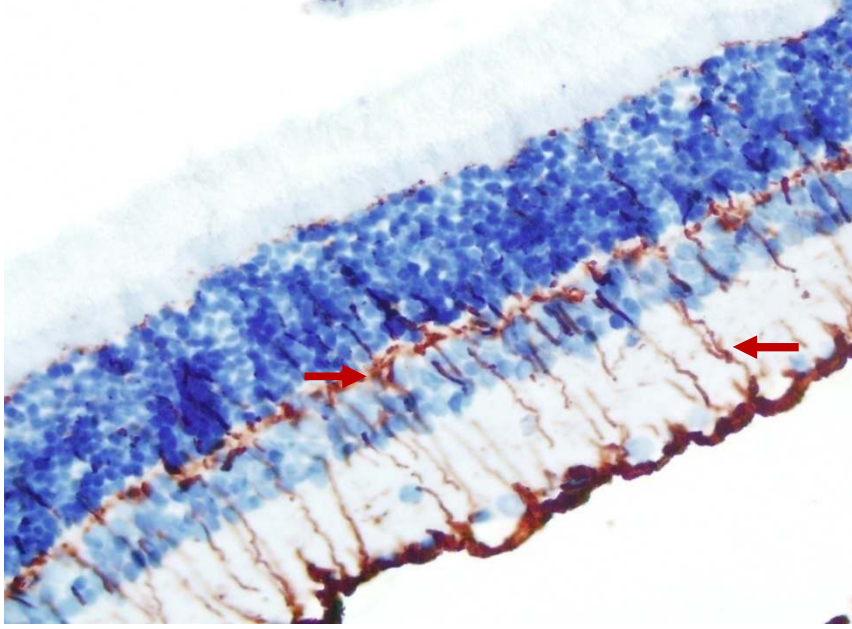


Şekil 23. Ebselen grubunun hematoksilin eozin ile boyanması

3.5.3. Retinal GFAP Boyanma Sonuçları

Retinal GFAP immunohistokimya boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu, her gruptan alınan birer örnek gösterilmiştir. Hem MH'lerinin hem de MH süreçlerinin GFAP immunreaktivitesi gösterdiği dikkat çekicidir. GFAP pozitifliği kontrol grubunda +1 yaygınlığında gözlenmiştir (Şekil 24). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 grubunda (Şekil 25) retinal GFAP immunreaktivitesinde anlamlı derecede artış vardır ve +3 yaygınlığında olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Sham 2 grubundaki yaygınlık ise sham 1 grubu ile benzerdir

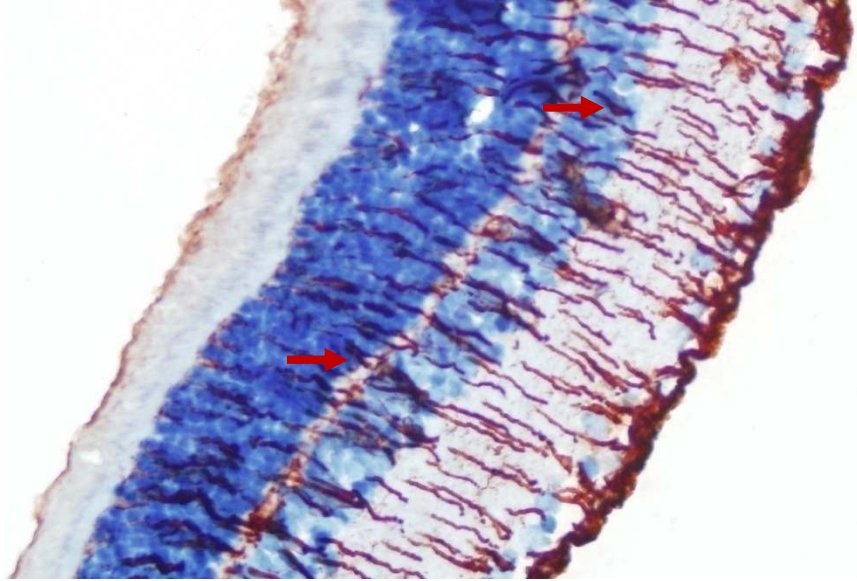
ve yaygınlık +3 olarak değerlendirilmiştir (Şekil 26). Ghrelin ve ebselen verilen tedavi gruplarında ise boyanmanın sham1 grubuna göre belirgin azaldığı ($p<0,05$), kontrol grubuna yakın olduğu izlenmiştir ve +2 yaygınlık derecesinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 27 ve 28).



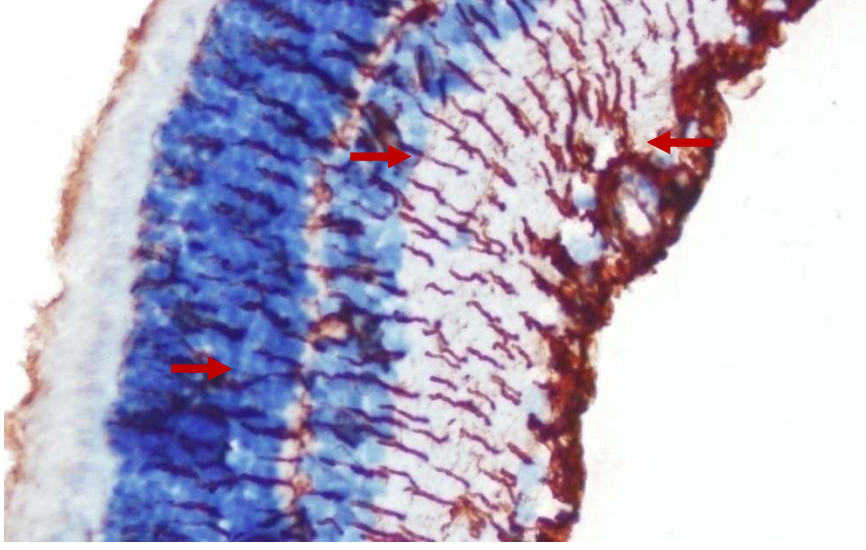
Şekil 24. Kontrol grubunun GFAP ile boyanması

Şekil 24, 25, 26, 27 ve 28'deki oklar MH ve proçeslerini göstermektedir.

Kontrol grubuna ait deneklerdeki retinal boyanmanın dış segmentlere ilerlemediği, RGH, İPT, İNT, DPT'de az miktarda boyanmanın varlığı izlenmiştir.

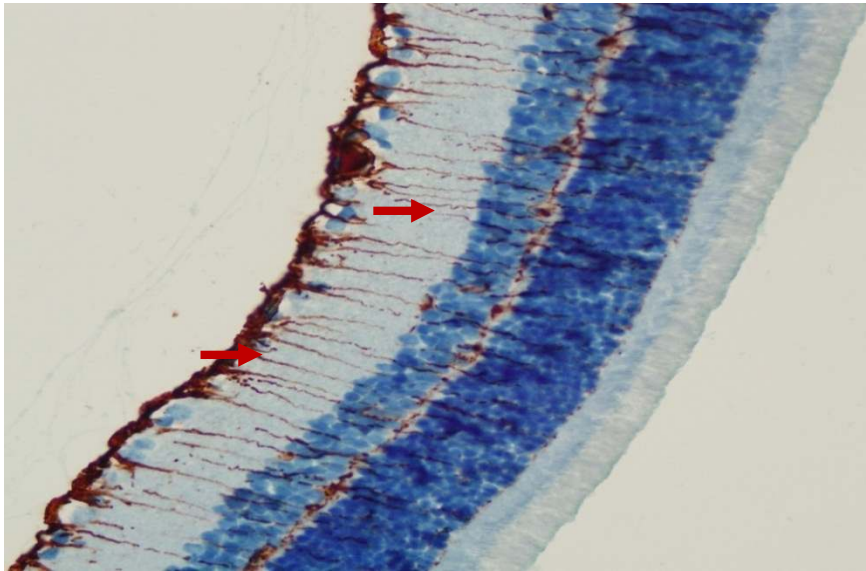


Şekil 25. Sham 1 grubunun GFAP ile boyanması



Şekil 26. Sham 2 grubunun GFAP ile boyanması

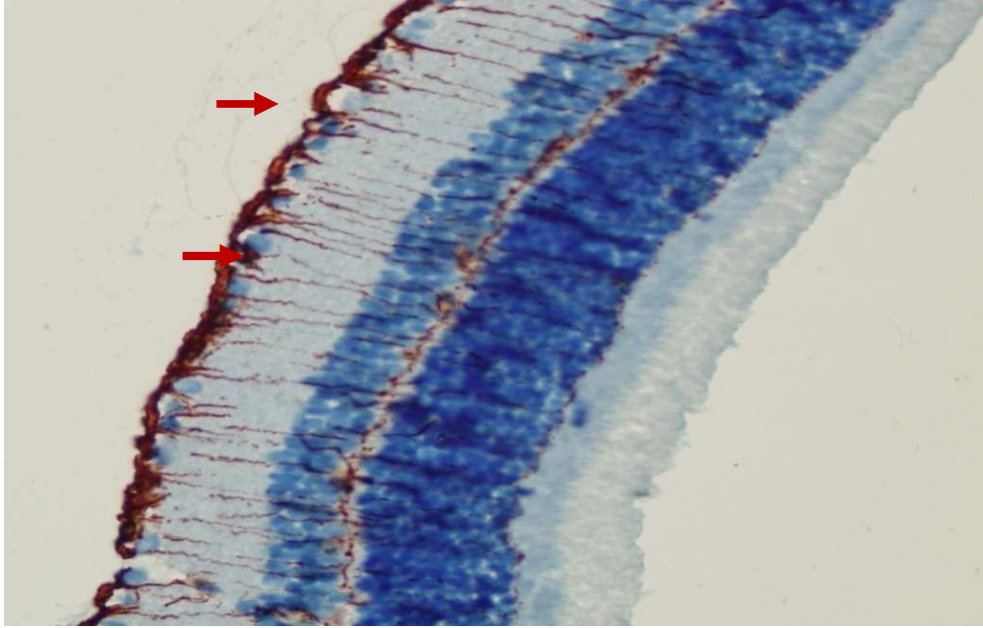
Glokom indüksiyonu yapılmış olan sham 1 ve sham 2 gruplarında GFAP ekspresyonu anlamlı derecede ($p<0,05$) artmış olduğu ve bu artışın genellikle İPT’de yoğunlaştığı gözlenmiştir (Şekil 25 ve 26). Müller Hücreleri ve süreçlerinin ise bu gruplarda RGH, İNT, DPT ve DNT çevresinde yoğunlaşmış olduğu dikkat çekicidir (Şekil 25). Sham 1 ve sham 2 gruplarındaki GFAP immünreaktif hücreler ve süreçler tüm retina katları boyunca gözlenmiştir. Bu hücrelerin DNT’nin dış segmentine ve hatta fotoreseptör tabakasına kadar uzandıkları görülmüştür (Şekil 26).



Şekil 27. Ebselen grubunun GFAP ile boyanması

Ebselen ve ghrelin gruplarında ise boyanmanın daha çok kontrol grubuna benzediği (Şekil 27 ve 28), fotoreseptör tabakasına ulaşmadığı görülmüştür. GFAP

immunreaktif hücrelerin ebselen ve ghrelin gruplarında, RGH, İPT, İNT ve DPT'lere kadar uzandığı izlenmiştir.



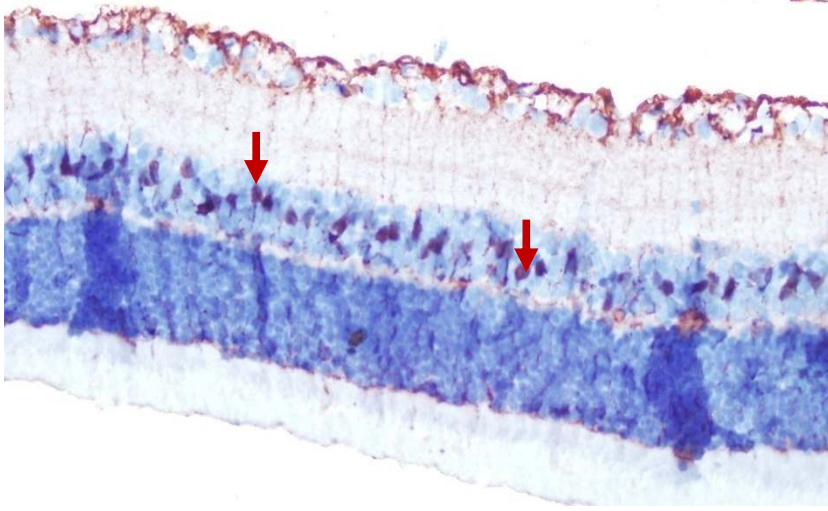
Şekil 28. Ghrelin grubunun GFAP ile boyanması

3.5.4. Retinal S-100 Boyanma Sonuçları

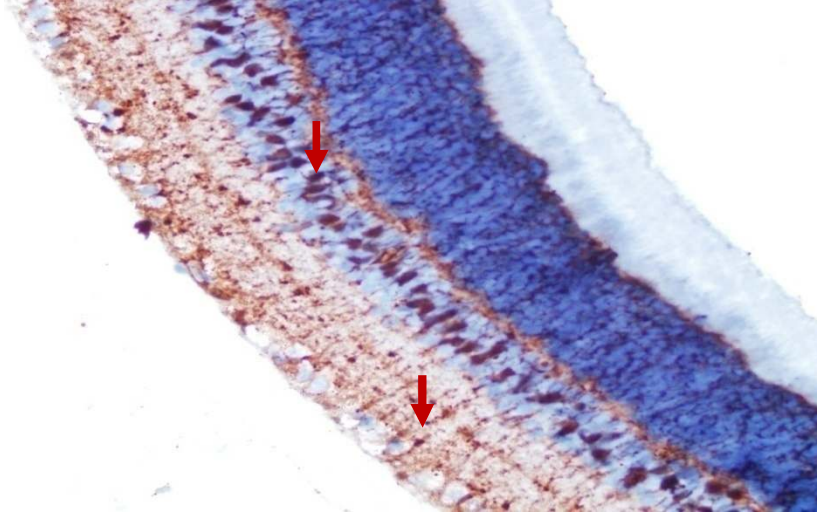
Retinal S-100 immunohistokimiya boyanması sonucu, her gruptan alınan birer örnek ışık mikroskopisi altında gösterilmiştir. Müller hücrelerinin S-100 immunreaktivitesi gösterdiği dikkat çekicidir. Kontrol grubundan alınan örneklerde İNT'de MH'nin S-100 ekspresyonu görülmüştür (Şekil 29). Ayrıca RGH tabakasındaki az miktarda S-100 ile boyanma dikkat çekicidir. S-100 ile boyanma yaygınlığı kontrol grubunda +1 olarak değerlendirilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 ve sham 2 grubundaki S-100 ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği ve +3 yaygınlığında olduğu görülmüştür ($p<0,05$). İç nükleer tabakalarda MH artışı olduğu gibi İPT ve DNT'ye kadar uzanan S-100 immunreaktivitesi izlenmiştir (Şekil 30 ve 31).

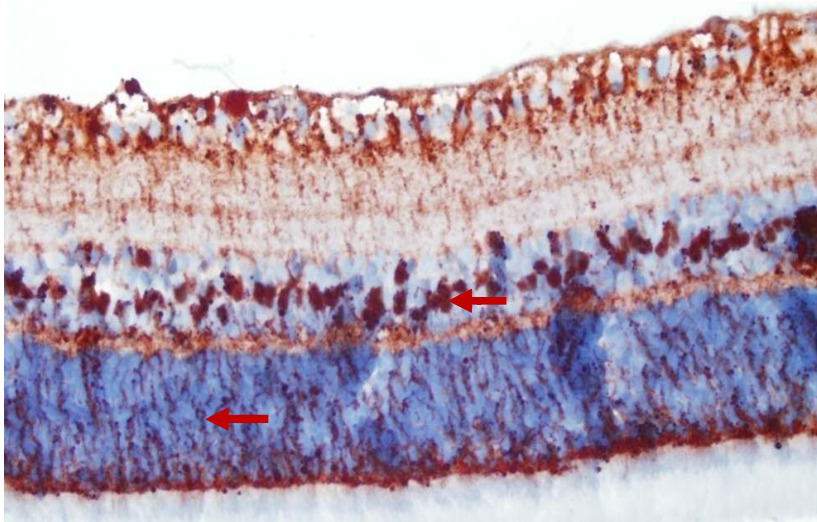
Şekil 29, 30, 31, 32 ve 33'deki oklar MH ve proçeslerini göstermektedir.



Şekil 29. Kontrol grubunun S-100 ile boyanması

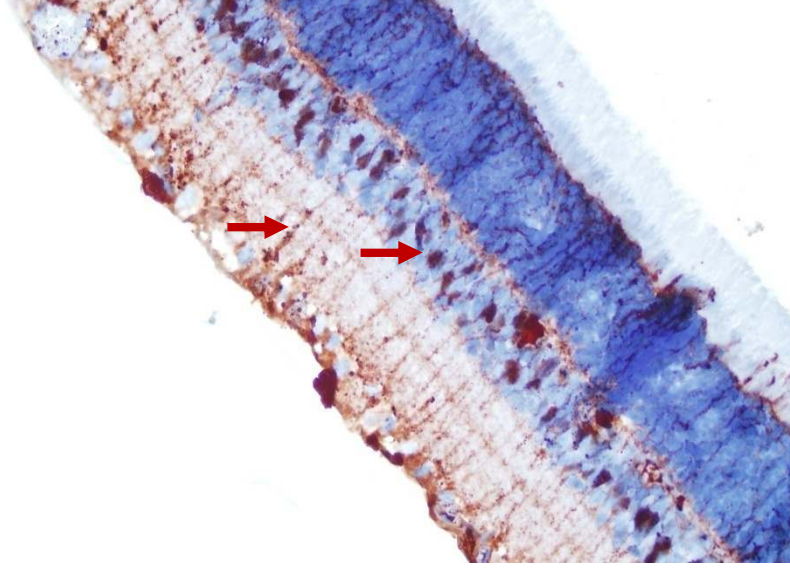


Şekil 30. Sham 1 grubunun S-100 ile boyanması

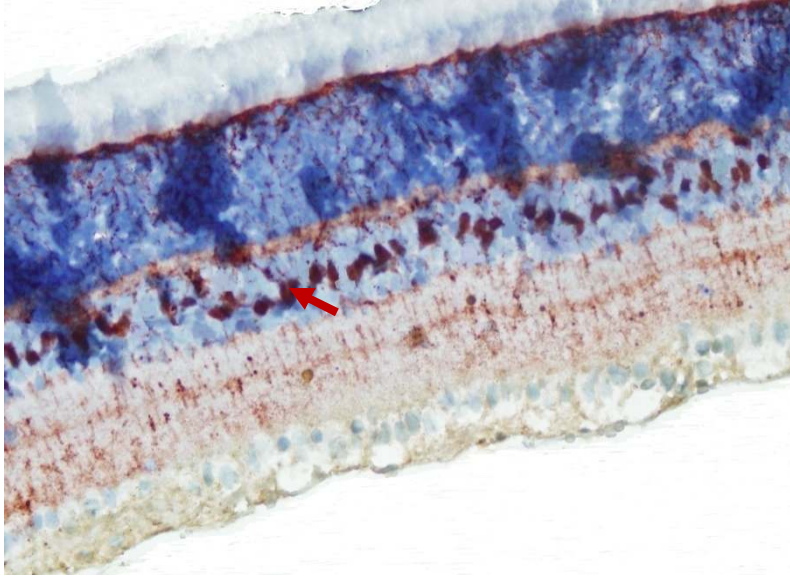


Şekil 31. Sham 2 grubunun S-100 ile boyanması

Ebselen ve ghrelin grupları incelendiğinde İNT'deki MH'lerinin S-100 immunreaktivitesinin + 2 yaygınlığında olduğu gözlenmiştir. İstatistiksel olarak sham 1 ve sham 2 gruplarına göre anlamlı derecede azalma olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Ayrıca İPT ve DNT'deki boyanmanında daha az olduğu görülmüştür (Şekil 32 ve 33).



Şekil 32. Ebselen grubunun S-100 ile boyanması

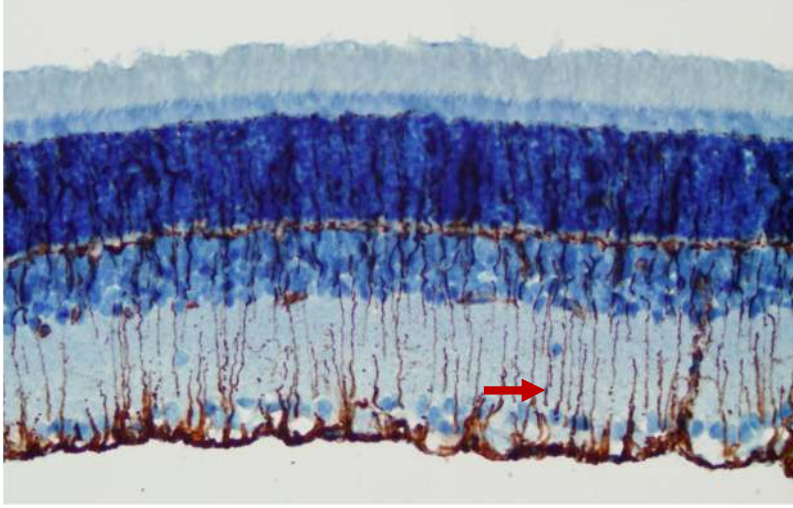


Şekil 33. Ghrelin grubunun S-100 ile boyanması

3.5.5. Retinal Vimentin Boyanma Sonuçları

Retinal vimentin immunohistokimyasal boyanma sonucu, her gruptan alınan birer örneğin ışık mikroskopisi altındaki görüntüleri gösterilmiştir. Vimentin

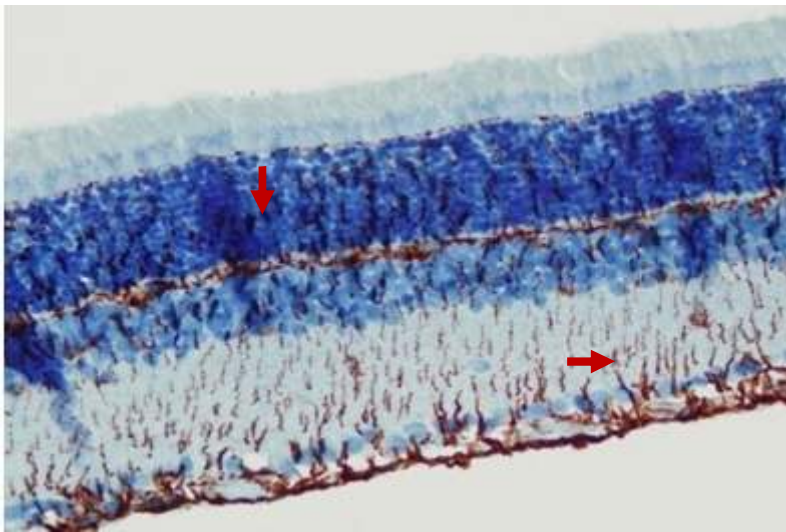
immunohistokimyasal boyanmanın MH'lerinde ve özellikle MH proçeslerinde olduğu dikkat çekicidir. Kontrol grubundan alınan örneklerde retinal vimentin ekspresyonu RGH, İPT ve DPT'de gözlenmiştir. Ayrıca İNT'deki MH proçeslerindeki vimentin ekspresyonu görölmüştür. Vimentin immunohistokimyasal boyanmanın ise +1 yaygınlığında olduğu görölmüştür (Şekil 34).



Şekil 34. Kontrol grubunun vimentin ile boyanması

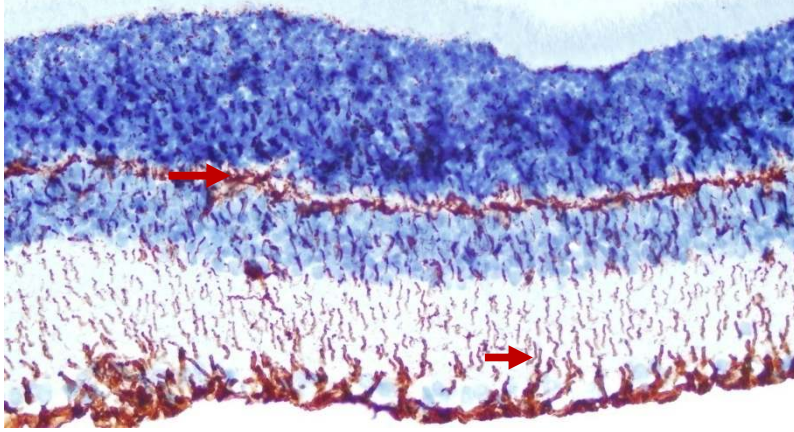
Şekil 34, 35, 36, 37 ve 38'deki oklar MH ve proçeslerinin boyanmasını göstermiştir.

Kontrol grubu ile kıyaslandığında sham 1 ve sham 2 gruplarında retinal vimentin immunohistokimya boyanma yaygınlığı +3 olarak değerlendirilmiştir (Şekil 35 ve 36) ve istatistiksel olarak anlamlı derecede artış olduğu görölmüştür ($p<0,05$).



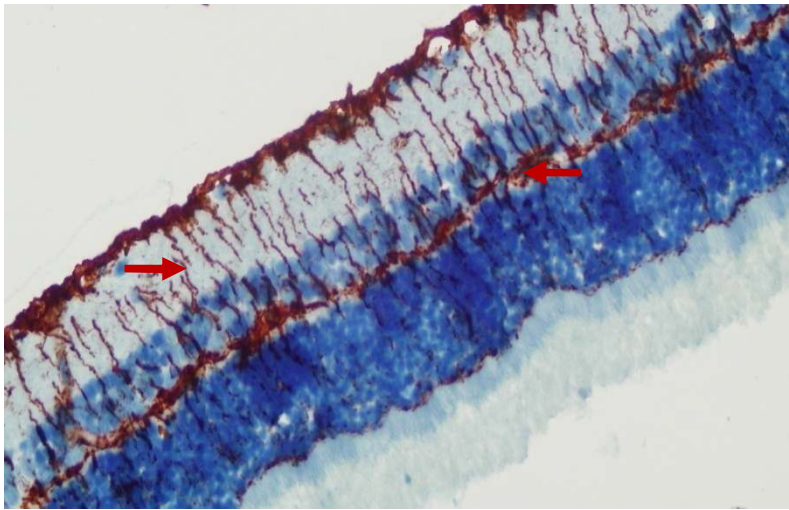
Şekil 35. Sham 1 grubunun vimentin ile boyanması

Sham 1 ve sham 2 gruplarındaki İPT ve İNT'deki MH ve MH proçeslerinin artmış vimentin ekspresyonu görölmüştür. Ayrıca sham 1 ve sham 2 gruplarında DPT'deki vimentin + liğinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğu dikkat çekmiştir. Sham 1 ve sham 2 gruplarında vimentin + liği DNT' de artmış olarak izlenmiştir.

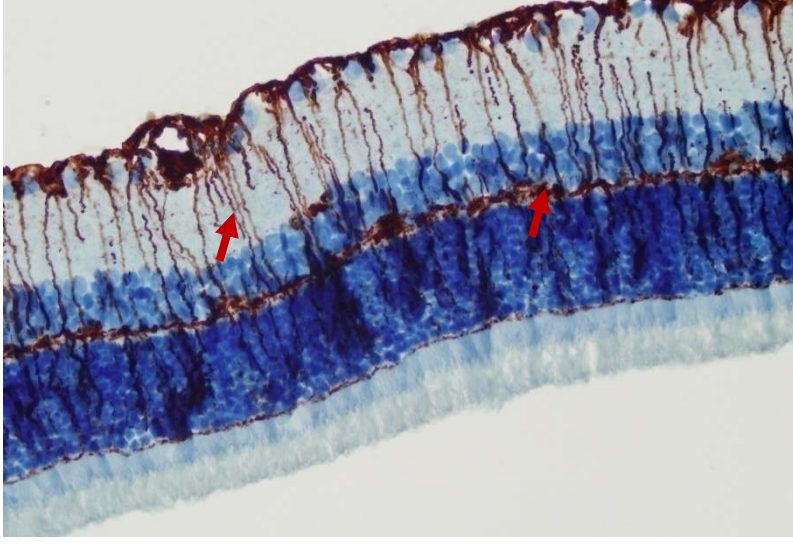


Şekil 36. Sham 2 grubunun vimentin ile boyanması

Ebselen ve ghrelin tedavi gruplarındaki (Şekil 37 ve 38) vimentin ekspresyonu değerlendirildiğinde sham 1 ve sham 2 gruplarına göre anlamlı derecede azalma olduğu görölmüştür ($p<0,05$). Bu gruplarda kontrol grubuna benzer olacak şekilde retinal vimentin immunohistokimyasal boyanma yaygınlığı +1 olarak değerlendirilmiştir. Ebselen ve ghrelin tedavi gruplarındaki MH'lerinin vimentin ekspresyonu incelendiğinde RGH, İPT ve İNT'de olduğu görölmüştür. Ayrıca DPT'de de görülen vimentin ekspresyonu izlenmiştir.



Şekil 37. Ebselen grubunun vimentin ile boyanması



Şekil 38. Ghrelin grubunun vimentin ile boyanması

4. TARTIŞMA

Glokom dünyada körlük nedenleri arasında katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra 3. sırada yer almaktadır. Bu hastalık sinsice ilerleyip görme keskinliği ve GA'yı etkileyene kadar hastalar tarafından farkedilemediğinden tanı ve tedavinin önemi daha da artmaktadır. Buna bağlı olarak hastalığın tanısı konulduğu andan itibaren medikal veya cerrahi tedavi en kısa sürede uygulanmalıdır. Glokom tedavisinin amacı en az komplikasyon veya yan etki ile görme fonksiyonlarını korumak ve GİB'ı OD ve GA hasarını durduracak noktaya düşürmek olmalıdır. Gelişmiş ülkelerde glokomun ilerideki prevalansı artmaya yatkındır ve büyük bir halk sağlığı problemi olarak gösterilmektedir. Glokomun neden olduğu görme kaybı, RGH'leri ve aksonlarının dejenerasyonunun bir sonucudur. Yüksek GİB'ın bu hastalık sürecindeki risk faktörlerinden biri olduğu saptanmış olsa da dejenerasyon mekanizması belirsizdir. GİB kontrolüne rağmen, glokomlu gözlerde sürekli olan görme kaybı, nöron koruyucu tedavi ihtiyacını öne çıkarmaktadır (204).

GON gelişmesinde en temel faktörün yükselmiş GİB olduğu bilinmektedir. GON oluşumunda ise trabeküler ağ, Schlemm kanalı duvarlarının episkleral damarlar gibi HA'yı drene eden sistemde ortaya çıkan dejenerasyonlara bağlı boşaltım sorunlarına sekonder, GİB gittikçe yükselerek mekanik etki sonucu retinanın SLT'de oluşan iskemik etkinin artması ve patolojik sürecin geri dönüşümsüz olarak işlemesi başlamış olur. Aksonal fibrillere ve ön optik siniri destekleyen yapılara direkt baskının artması ile RGH'de ölüm ve aksonoplazmik akımda yavaşlama görülebilmektedir (205). Bu teori göz önünde bulundurularak çalışmamızda GİB artışı sağlanması için episkleral ven koterizasyonu yöntemi uygulanmıştır. Birçok çalışmada episkleral ven koterizasyonu ile ratlarda başarılı bir şekilde GİB artışı sağlanmıştır. Karaküçük ve ark. larının (206) yaptığı bir çalışmada ratlarda iki veya üç veni koterize ederek elde edilen modellerin, PAAG oluşturmada mükemmel, ucuz ve tekrarlanabilen bir yöntem olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada GİB yüksekliğinin yaklaşık üç ay devam ettiği görülmüştür. GİB artışından 20 saat sonra RGH kaybı tespit edilmiştir ve sonrasında bu kayıp devam etmiştir (206). Çalışmamızda ketamin ve xylazin ile uyutulan ratların GİB'i, pilli oftalmik koterle üç episkleral ven koterize edilerek başarılı bir şekilde yükseltilmiştir.

Literatürde GİB ölçümü için; tonopen, pnömotometre, kanülasyon tekniğinin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur (206). Bu çalışmada Tonopen, GİB ölçümünde başarılı olarak kullanılmıştır. Özellikle tonopenin ince uçlu olması ratlarda kolay kullanılmasını sağlamıştır. Hata payı %5'in altında olan 10 ölçümün ortalaması alınmıştır. Böylece daha güvenilir sonuçlar elde edilmiştir.

Glokomun meydana getirdiği yapısal değişikliklerin temelini oksidatif hasarın oluşturduğunu gösteren birçok çalışma vardır (13, 115). Lipit peroksidasyonu in vivo oksidatif stresin belirlenmesinde yararlı bir belirteçtir. Daha önce Erdurmuş ve ark. larının yaptığı bir çalışmada MDA düzeyleri, PAAG'si olan ve psödoeksfoliasyon sendromlu hastalardan alınan kan örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olarak bulunmuştur. MDA düzeylerindeki artış, bu hastalıklardaki oksidatif stresteeki artışa bağlanmıştır (207). Ghanem ve ark. larının yaptıkları bir çalışmada ise senil kataraktı olan ve PAAG'si olan hastaların HA örneklerinde MDA düzeylerinin her iki hastalıktada istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı ve PAAG olan hastalardaki şiddetli GA kaybı ile artmış MDA düzeyleri arasında ilişki olabileceği belirtilmiştir (208). Glokom gibi ciddi RGH hasarı ve ciddi görme kaybı ile seyreden hastalıklarda intraokuler dokularda oluşmuş olan oksidatif stres artışı engellenebilir ve antioksidatif defans sistemi geliştirilip, oksidan-antioksidan denge korunabilirse görme kaybının ve RGH hasarının önüne geçilebilir (209).

Çalışmamızda MDA düzeylerinin GİB yüksekliği sağlanan gruplarda artmış olduğu görülmüştür. Ancak MDA ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen gruplarda azalmıştır. MDA düzeyinin azalmış olması, azalmış lipit peroksidasyonu ve azalmış oksidatif- nitratif hasarı göstermektedir. Ebselen ve ghrelin gruplarından alınan HA örneklerinde MDA seviyelerinin düşük olması bize glokomatöz hasarın bu tedaviler ile engellenebilir olduğunu göstermiştir. Ayrıca ebselen grubunda MDA seviyeleri ghrelin grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Organoselenyum bileşiği olan ebselenin ghreline göre lipit peroksidasyonunu daha fazla engellediği gösterilmiştir.

Nitrik oksit sentaz-2 ekspresyonu sonucu meydana gelen NOx, oksidasyon ve nitrasyon reaksiyonları verebilen sekonder türlerin oluşumuna neden olarak sitotoksik ve inflamatuvar yanıtın gelişmesinde rol oynar. Göz içi basınç artışının NOS-2 ekspresyonunu arttırdığı Aslan ve ark. tarafından yapılan bir çalışma ile

gösterilmiştir (22). Nitrik oksit sentaz-2 inhibisyonunun görme kaybını önleyebileceği düşünülmektedir (118). Daha önce ghrelinin gastrik mukozal hücrelerde dolaylı olarak NOS-2 ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (210). Ratlarda yapılmış gastrik iskemi-reperüzyon modelinde ghrelinin nitrik oksit sentaz aktivitesi ile artan NOx'a bağlı oluşmuş hasarda koruyucu olduğu gösterilmiştir (173). Ebselenin ratlarda oluşturulan beyin hasarı modellerinde NOS-2 inhibisyonu yaparak NOx düzeylerini azalttığı ve nöroprotektif olduğu bildirilmiştir (211). Hattori ve ark ebselenin NOS-2 ekspresyonunun inhibisyonu ile septik şokta endotel kaynaklı hasarın engellenebileceğini öne sürmüşlerdir (212). Nitrik oksit sentaz-2 inhibisyonunun RGH'de glokomun yarattığı dejenerasyona karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (118). Çalışmamızda GİB artışına bağlı olarak geliştirilen glokomun siliyer cisim dokusunda oluşturabileceği moleküler oksidasyonun tespit edilmesi amaçlanmış ve bu doğrultuda siliyer cisim NOS-2 enzim miktarının kalitatif tayini yapılmıştır. Ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen gruplarda, sham gruplarına göre NOS-2 düzeyleri literatüre uygun olarak düşük seviyelerde bulunmuştur.

Nitrik oksit sentaz- 2 tarafından meydana getirilen NOx'ın retinal apoptozise yol açtığı düşünülmekte fakat NOx aracılı apoptozisin mekanizması halen açıklanamamaktadır. NOx'ın yol açtığı apoptozis, p53'ü aktive ederek apoptozise neden olduğu rapor edilen DNA hasarının bir sonucu olabilir (119). Çalışmamızda da glokomun RGH tabakası ile İNT ve İPT 'de meydana getirdiği apoptozis gösterilmiştir. RGH tabakası ile İNT ve DNT'de artmış olan apoptotik hücreler apoptozisin NOS-2 uyarımıyla gerçekleştiğini desteklemektedir. Artmış GİB retinada, NOx üretimini uyararak patojenik değişimleri şiddetlendirebilir. Erdurmuş ve ark. psödoeksfoliasyon glokomu ve PAAG hastalarında serum NOx düzeylerini anlamlı olarak yüksek oranda bulmuşlardır (207). Çalışmamızda artmış GİB'e sekonder olarak sham gruplarında NOx düzeylerinin normalden yüksek oranda olduğu görülmüştür. Ancak bu artış tedavi olarak ghrelin ve ebselen verilen gruplarda, tedavi verilmeyenlere göre anlamlı derecede daha düşüktür. Daha önce birçok çalışmada ebselen ve ghrelinin farklı dokularda NOx düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir (213, 199). Çalışmamızda da literatüre uygun şekilde HA'da NOx düzeyleri daha düşük olarak görülmüştür. RGH ölümünde önemli rolü olan NOx

düzeylerinin ebselen ve ghrelin gruplarında düşük düzeylerde bulunması bize bu gruplardaki glokomatöz hasarın daha az olduğunu göstermiştir.

Son çalışmalarda GİB yükseltilmiş ratlarda TUNEL bulguları apoptotik hücre ölümünü desteklemektedir. Gross ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, RGH tabakasında, deneysel gözlerde daha belirgin, kontrol grubunda nadir olmak üzere TUNEL pozitif hücreler görülmüştür (214). Daha önceki çalışmalarda normal retinal dokuların histogenetik hücre ölüm sırası incelendiğinde RGH tabakasından başlayıp iç ve dış nükleer tabakalara doğru ilerlediği görülmüştür (215). Glokomatöz hasara bağlı ölüm sırası da benzer şekilde; artmış GİB sonucu aksonal dejenerasyon, mikrogliyal dokularda aktivasyon, TNF- α salınımı, sitokinlerin salınımı ve kompleman yolunun aktivasyonu sonucunda RGH ölümü ile son bulmaktadır (216-217). Çalışmamızda, literatürle uyumlu şekilde kontrol grubunda daha az olmak üzere TUNEL metodu ile apoptozis gösterilmiştir. Apoptozis yaygınlığı sham gruplarında daha fazla, ebselen ve ghrelin gruplarında daha az olarak görülmüştür. Ebselen ve ghrelinin RGH üzerinde protektif etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Astrositler, MH ve mikrogliya hücreleri, retinadaki non-nöronal hücrelerin majör tipleri olup, bu hücrelerin aktivasyonunun omurgalılarda nöronal hasarlanma, dejenerasyon ve rejenerasyon süreçlerinde arttığı gösterilmiştir (218). Bu hücrelerin retinada hem protektif hem de destrüktif rol oynadığı daha önce gösterilmiştir (219). MH nin çeşitli nöronal sinyalleri tanıma özelliği gösterdiği ve retina ekstrasellüler aralığındaki K⁺, H⁺ ve glutamat ve GABA gibi nörotransmitterlerin seviyelerini aktif olarak kontrol ettikleri gösterilmiştir (30). Ayrıca mikrogliaların K⁺ iletkenliğine duyarlı olduğu ve agresif oksijen radikalleri üretimi ve glutamat salınması gibi glokomdaki olası patofizyolojik hücre ölümü zincirine etki edebilecek süreçlerde rol oynadığı da ileri sürülmektedir (30). Deneysel çalışmalarda ratlarda oluşturulan glokom modeli üzerinde retinal glia hücrelerinin glokom sürecindeki aktiviteleri incelenmiş ve bu aktivitenin immün cevap yönünde belirgin şekilde artmış olduğu izlenmiştir (31, 220). Literatürdeki benzer bir çalışmada, glokomatöz süreçte glial hücrelerin GİB yükselmesi ile birlikte aktive oldukları ve bu hücrelerin reaktivitesinin de glokomatöz retinadaki nöronal dejenerasyon ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (127). Aynı çalışmada, artmış glial hücrelerin nöron dejenerasyon ürünlerinin temizlenmesi amacı ile aktive oldukları yorumu yapılmıştır.

Woldemussie ve ark. nın yapmış olduğu çalışmada MH'deki GFAP oluşumu GİB artışından sonra en erken 4. günde bulunmuştur (126). Glokomda retinada GFAP ekspresyonunda artış olduğu birçok kez izlenmiş olup, çalışmamızdaki sonuçlarda literatüre uygun şekilde, sham gruplarında GFAP artışı gözlemlenirken, ebselen ve ghrelin gruplarında GFAP ekspresyonu azalmıştır.

Aktive MH'den GFAP' tan başka S-100 ve vimentin ekspresyonu olduğu da daha önce gösterilmiştir (31). Daha önce yapılmış çalışmalarda artmış vimentin ekspresyonu glutamin immunreaktivitesindeki artışa bağlanmıştır. Aynı şekilde vimentin ekspresyonu glutamat metabolizması ile bağlantılı olabilir. Carter- Dawson ve ark.'ları glokomatöz hasar ile artmış glutamatın MH tarafından geri alımının arttığını ileri sürmüşlerdir. Buna bağlı olarak erken dönemlerde artmış olarak görülen vimentin immun pozitifliği kronik dönemde glutamatın vitreusta konsantrasyonunun düşmesi ile azalabilir sonucuna varılmıştır (133). Diğer çalışmalarda ise vimentin ekspresyonu gliyanın proliferasyonu ve diferansiyasyonuna bağlanmıştır (221). Vimentinin astrosit ve RGH'den salınan TNF- α , NOx ve diğer sitokinlerin etkisi ile oluşan glokomatöz hasara yanıt olarak oluştuğu düşünceside mevcuttur (222-223). Çalışmamız sonucunda sadece erken dönemdeki yanıtlar incelenmiş olup, bu dönemde kontrol grubuna kıyasla sham gruplarında vimentin ekspresyonundaki artış izlenmiştir. Ebselen ve ghrelin gruplarında ise MH'lerindeki vimentin immunreaktivitesinin azaldığı gözlemlenmiştir.

S-100 proteini erişkin memelilerde retinal MH'lerinin spesifik belirteci olup, Ca² bağlayan guanilat siklaz aktivatörüdür. S-100 protein fosforilasyonu, enzim aktivitesi, hücre iskeletinin yapı taşlarının dinamikleri, hücrenin oksidatif hasardan korunması gibi birçok intraselüler aktivitede rol oynar (224). Ayrıca ekstraselüler alanda lökositlerin kemoatraksiyonu ve makrofaj aktivasyonu gibi görevleri de vardır (225). S-100 proteini ekstraselüler ve intraselüler aktivitelerine bağlı olarak hem protektif hem de destrüktif etkilere sahiptir. Retinada glokomatöz hasara yanıt olarak S-100 immunreaktivitesi daha önce yapılan çalışmalarda persistan olarak artmıştır (31). Bu artış, MH'nin GİB artışı sonucu oluşmuş kronik hasara bağlı protektif etkinliğinin artması olarak değerlendirilmiş ve glokom fizyopatogenezinin bir basamağı olduğu ileri sürülmüştür (31). Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz verilerde literatür ile benzerlik göstermektedir. Kontrol grubuna kıyasla sham 1 ve 2

gruplarında artmış S-100 ekspresyonu görülmüştür. Özellikle S-100'deki artışın İNT'deki MH'de olduğu görülmüştür. Bununla birlikte ebselen ve ghrelin ile tedavi edilen gruplarda S-100 immunreaktivitesi azalmıştır.

Ebselenin göz üzerindeki etkilerini araştıran oftalmolojik çalışmalar kısıtlı olmakla birlikte; daha önce Aydemir ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada, ebselenin ratlarda Na selenit ile oluşturulmuş katarakt modelinde, oksidatif stresi azaltarak katarakt gelişimini engellediği görülmüştür (226). Ebselenin anti inflamatuvar özelliğinin gösterildiği bir çalışmada, deneysel üveit modelinde ebselen ile inflamasyonun baskılanması gösterilmiştir (227). Ayrıca ebselenin intraoküler dokularda gösterilmesi ile kan aköz bariyerini ve kan retina bariyerini geçebildiği belirtilmiştir (228). Çalışmamızda da gösterilmiş olduğu gibi ebselen göz dokularına geçişi olabilen ve deneysel glokom modelinde RGH üzerinde protektif etkinliği olabilen bir ajandır.

Ghrelinin göz üzerindeki etkileri henüz net olarak ortaya konmamıştır. Rat gözünde yapılan çalışmalarda ön kamarada ghrelinin mRNA'sı tespit edilmiştir (229). Rocha- Sousa'nın (229) yapmış olduğu çalışmada insan gözlerinde HA'da ghrelin tespit edilmiştir. Ghrelin kan beyin bariyerini rahatlıkla geçer, oküler dokulara geçiş bu yolla olabilmektedir, ayrıca rat gözlerinde yapılan çalışmada ghrelinin mRNA'sının saptanmış olması lokal olarak da gözde üretilebileceğini bize göstermektedir. Katsanos ve ark. (230)'nın yapmış oldukları çalışmada glokom hastalarının ön kamarasında kontrol grubuna göre ghrelin düzeylerinin anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır. Bu çalışmalardan yola çıkılarak deneysel glokom modelinde ghrelin tedavisi uygulanmıştır. Ghrelin, RGH üzerinde protektif olabilen ve glokomatöz hasarın zararlı etkilerini ortadan kaldırabilen bir ajandır.

Oksidatif ve nitratif sürecin glokomun patogenezinde önemli rol oynadığına dair yeterince kanıt bulunmaktadır. Glokomda serbest radikal üretiminin primer mi yoksa sekonder mi geliştiği halen anlaşılamamıştır. Hümör aközün akış sisteminde meydana gelen herhangi bir bozukluk GİB artışına yol açarak glokomun klinik başlangıcına sebep olabilir. Bu tip durumlarda oksidatif stres glokom patogenezinde sekonder bir olay olarak göz önünde tutulabilir. Artmış GİB ya da NTG modellerinde retinal oksidatif hasar, RGH tabakasına direk olarak zarar vererek GON'a yol açabilir. Bu hastalığa sahip kişilerde in vivo oksidatif stresi azaltmaya yönelik

terapötik denemeler devam etmektedir. Koruyucu tedavinin etkili bir şekli hastalığın erken dönemlerinde girişimde bulunulması ve ROS'un üretildiği spesifik bölgelerin hedeflenmesidir. Yapılacak yeni çalışmalar ve klinik denemeler glokomda nöronal dejenerasyonun mekanizmasının anlaşılmasını sağlayacak ve daha etkili tedavilerin dizayn edilmesine yardımcı olabilecektir.

5. KAYNAKLAR

1. Quigley HA, Addicks EM. Chronic experimental glaucoma in primates. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1980; 19: 137-52.
2. Kamal D, Hitchings R. Normal tension glaucoma--a practical approach. *Br J Ophthalmol*, 1998; 82: 835-40, 1998.
3. Önal M. Glokomda retina sinir lifleri ve peripapiller bölge. *Ret Vit* 1995; 3: 334-337.
4. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. *Am J Ophthalmol*, 2004; 137: 62-9.
5. Derin N, Yargıçoğlu P, Aslan M, Elmas O, Agar A, Adıgüzel Y. The effect of sulfite and chronic restraint stress on brain lipid peroxidation and anti-oxidant enzyme activities. *Toxicol Ind Health* 2006; 22: 233-40.
6. Pang IH, Johnson EC, Jia L, Cepurna WO, Shepard AR, Hellberg MR, et al. Evaluation of inducible nitric oxide synthase in glaucomatous optic neuropathy and pressure-induced optic nerve damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 1313-21.
7. Fechtner RD, Weinreb RN. Mechanisms of optic nerve damage in primary open angle glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994; 39: 23-42.
8. Yan DB, Coloma FM, Metheetrairut A, Trope GE, Heathcote JG, Ethier CR. Deformation of the lamina cribrosa by elevated intraocular pressure. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 643-8.
9. Salmon JF. Glaucoma. 17 ed. *General Ophthalmology*. P. Riodan-Eva, Whitcher JP, Asbury T (ed). New York: McGraw-Hill 2008; 212-222.
10. Sacca SC, Izzotti A, Rossi P, Traverso C. Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress. *Exp Eye Res* 2007; 84: 389-99.
11. Zhou L, Li Y, Yue BY. Oxidative stress affects cytoskeletal structure and cell-matrix interactions in cells from an ocular tissue: the trabecular meshwork. *J Cell Physiol* 1999; 180: 182-189.

12. Izzotti A. DNA damage and alterations of gene expression in chronicdegenerative diseases. *Acta Biochim Pol* 2003; 50: 145-54.
13. Sacca SC, Pascotto A, Camicione P, Capris P, Izzotti A. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2005; 123: 458-463.
14. Gottanka J, Johnson DH, Martus P, Lutjen-Drecoll E. Severity of optic nerve damage in eyes with POAG is correlated with changes in the trabecular meshwork. *J Glaucoma* 1997; 6: 123-32.
15. Liu BA, Neufeld H. Expression of nitric oxide synthase-2 (NOS-2) in reactive astrocytes of the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000; 30: 178-186, 2000.
16. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268: 12231-12234.
17. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-666.
18. Lyons CR, Orloff GJ, Cunningham JM. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J Biol Chem* 1992; 267: 6370-6374.
19. Petros A, Lamb G, Leone A, Moncada S, Bennett D, Vallance P. Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 34-39.
20. Becquet F, Courtois Y, Goureau O. Nitric oxide in the eye: multifaceted roles and diverse outcomes. *Surv Ophthalmol* 1997; 42: 71-82.
21. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-58.
22. Aslan M, Yucel I, Akar Y, Yucel G, Çiftçioğlu MA, Şanlıoğlu S. Nitrotyrosine formation and apoptosis in rat models of ocular injury. *Free Radic Res* 2006; 40: 147-53.

23. Shareef S, Sawada A, Neufeld AH. Isoforms of nitric oxide synthase in the optic nerves of rat eyes with chronic moderately elevated intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2884-2889.
24. Goureau O, Bellot J, Thillaye B, Courtois Y, Kozak Y. Increased nitric oxide production in endotoxin-induced uveitis. Reduction of uveitis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Immunol* 1995; 154: 6518-6523.
25. Sarih M, Souvannavong V, Adam A. Nitric oxide synthase induces macrophage death by apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191: 503-508.
26. Hu J, Van Eldik LJ. S100 beta induces apoptotic cell death in cultured astrocytes via a nitric oxide-dependent pathway. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1313: 239-245.
27. Heneka MT, Loschmann PA, Gleichmann M, Weller M, Schulz JB, Wullner U, Klockgether T. Induction of nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated apoptosis in neuronal PC12 cells after stimulation with tumor necrosis factor- α /lipopolysaccharide. *J Neurochem* 1998; 71: 88-94.
28. Merrill JE. The role of microglial cells and astrocytes in pathology: introduction. *Dev Neurosci* 1994; 16: 113.
29. Lam TK, Chan WY, Kuang GB. Differential expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the retinae and visual cortices of rats with experimental renal hypertension. *Neurosci Lett* 1995; 198: 165-168.
30. Newman E, Reichenbach A. The muller cell: a functional element of the retina. *Trends Neurosci* 1996; 19: 307-312.
31. Lam TT, Kwong JMK, Tso OM. Early Glial Responses after Acute Elevated Intraocular Pressure in Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 638-645.
32. Tezel G, Yang X, Cai J. Proteomic identification of oxidatively modified retinal proteins in a chronic pressure-induced rat model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46: 3177-3187.
33. Ko ML, Peng PH, Ma MC, Ritch R, Chen CF. Dynamic changes in reactive oxygen species and antioxidant levels in retinas in experimental glaucoma. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 365-373.

34. Choi J, Kim KH, Jeong J, Cho HS, Lee CH, Kook MS. Circadian fluctuation of mean ocular perfusion pressure is a consistent risk factor for normal-tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 104-11.
35. Mozaffarieh M, Grieshaber MJ, Flammer, Oxygen and blood flow: players in the pathogenesis of glaucoma. *Mol Vis* 2008; 14: 224-33.
36. Henry TD, Archer SL, Nelson D, Weir EK, From AH. Enhanced chemiluminescence as a measure of oxygen-derived free radical generation during ischemia and reperfusion. *Circ Res* 1990; 67: 1453-61.
37. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999; 283: 1482-1488.
38. Greenfield DS. Glaucomatous versus nonglaucomatous optic disc cupping: clinical differentiation. *Semin Ophthalmol* 1999; 14: 95-108.
39. Jonas JB, Dichtl A, Budde WM, Lang P. Optic disc morphology in pigmentary glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 875-879.
40. Yamamoto T, Kitazawa Y. Vascular pathogenesis of normal-tension glaucoma: a possible pathogenetic factor, other than intraocular pressure, of glaucomatous optic neuropathy. *Prog Retin Eye Res* 1998; 17: 127-143.
41. Flammer J. The vascular concept of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994; 38: 3-6.
42. Sucher NJ, Lipton SA, Dreyer EB. Molecular basis of glutamate toxicity in retinal ganglion cells. *Vision Res* 1997; 37: 3483-3493.
43. Hayreh SS, Bill A, Sperber GO. Effects of high intraocular pressure on the glucose metabolism in the retina and optic nerve in old atherosclerotic monkeys. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994; 32: 745-52.
44. Hennis A, Wu SY, Nemesure B, Leske MC. Hypertension, diabetes, and longitudinal changes in intraocular pressure. *Ophthalmology* 2003; 110: 908-914.
45. McGwin G, McNeal S, Owsley C, Girkin C, Epstein D, Lee PP. Statins and other cholesterol-lowering medications and the presence of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2004; 122: 822-826.

46. Yucel I, Akar Y, Yucel G, Çiftçioglu MA, Keles N, Aslan M. Effect of hypercholesterolemia on inducible nitric oxide synthase expression in a rat model of elevated intraocular pressure. *Vision Res* 2005; 45: 1107-1114.
47. Montoliu C, Llansola M, Monfort P, Corbalan R, Fernandez- Marticorena I, Hernandez-Viadel ML, Felipe V. Role of nitric oxide and cyclic GMP in glutamate-induced neuronal death. *Neurotox Res* 2001; 3: 179- 188.
48. Richer SP, Rose RC. Water soluble antioxidants in mammalian aqueous humor: interaction with UV B and hydrogen peroxide. *Vision Res* 1998; 38: 2881-288.
49. Garland DL. Ascorbic acid and the eye. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 1198-1202.
50. Behndig A, Svensson B, Marklund SL, Karlsson K. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 471-475.
51. Huang W, Akesson B. Radioimmunoassay of glutathione peroxidase in human serum. *Clin Chim Acta* 1993; 219: 139-148.
52. Martin-Alonso JM, Ghosh S, Coca-Prados M. Cloning of the bovine plasma selenium-dependent glutathione peroxidase (GP) cDNA from the ocular ciliary epithelium: expression of the plasma and cellular forms within the mammalian eye. *J Biochem* 1993; 114: 284-291.
53. Shields MB. *Textbook of Glaucoma* 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins 1998;108-136.
54. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol* 1996; 80: 389-393.
55. Bengtsson B. Incidence of manifest glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1989; 73: 483- 487.
56. Yan DB, Coloma FM, Metheetrairut A, Trope GE, Heathcote JG, Ethier CR. Deformation of the lamina cribrosa by elevated intraocular pressure. *Br J Ophthalmol*, 78(8): 643-8, 1994.
57. Orhan M. Hümör Aköz Dinamiği. Turaçlı ME, Önel M, Yalvaç IS (Editörler). Ankara: Glokom, SFN Yapım- Grafik Tasarım- Baskı, 2003: 4-10.

58. Yalvaç IS. Glokom. Aydın P, Akova YA (editörler). Temel Göz Hastalıkları, Ankara: Güneş Kitabevi, 2001: 261-284.
59. Whitacre MM, Stein R. Surces of error with use of Goldmann-type tonometers. *Surv Ophthalmol* 1993; 38: 1-30.
60. Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 714- 720.
61. Mok KH, Wong CS. Tono-Pen tonometer and corneal thickness. *Eye* 1999; 13: 35-37.
62. Quigley HA, Brown AE, Morrison JC, Drance SM. The size and shape of the optic disc in normal human eyes. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 51-57.
63. Mardin CY, Jünemann AG. The diagnostic value of optic nerve imaging in early glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2001; 12: 100-104.
64. Turaçlı EM, Tekeli O, Deniz H. heidelberg retinal tomografi, tarayıcı laser oftalmoskopi ve bilgisayarlı görme alanı parametrelerinin karşılaştırılması. *T Oft Gaz* 2002; 33: 346-353.
65. Huang D, Swanson EA, Lin CP. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254: 1178-1181.
66. Keltner JL, Johnson CA, Cello KE, Edwards MA, Bandermann SE, Kass MA, Gordon MO. Ocular Hypertension Treatment Study Group. Classification of visual field abnormalities in the ocular hypertension treatment study. *Arch Ophthalmol* 2003; 121: 643-650.
67. Acar S, Tandoğdu S, Örgü Y, Taşındı E, Ünal M. Glokom Şüpheli ve Primer Açık Açılı Glokomlu Hastalarda Edinsel Renk Görme Kayıpları. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 1995; 4: 210-213.
68. Sanaç AŞ. Visual evoked potential. *Türk Oftalmoloji Gazetesi* 1988; 18: 84-107.

69. Asyalı A, Demirbay P, Tuna T, Ural F. Primer Açık Açılı Glokom, Okuler Hipertansiyon ve Normal Olgularda Patern ERG Bulgularının Karşılaştırılması T Oft Gaz 2000; 30: 465-469.
70. Ehlers N, Bramsen T, Sperlinh S. Applanation tonometry and central corneal thickness. Acta Ophthalmol 1975; 53: 34-43.
71. Whitacre M, Stein R, Hassanein K. The effect of corneal thickness on applanation tonometry. Am J Ophthalmol 1993; 115: 592-596.
72. Edelhauser HF, Ubels JL. The cornea and sclera. Kaufman PL, Alm A (Editörler). Adler's Physiology of the eye, 10. baskı, st. Louis, Mosby, 2003: 205-215.
73. Odberg T, Jacobsen JE, Hultgren SJ, Halseide R. The impact of glaucoma on the quality of life of patients in Norway. 1. Results from a self-administrated questionnaire. Acta Ophthalmol Scand 2001; 79: 116-120.
74. Terminology and Guidelines for Glaucoma, European Glaucoma Society, 2. edition 2003: Chapter 3-2.
75. Derich RC. Cholinergic agents. Morrison JC, Pollac IP (eds). Glaucoma science and practice. New York: Thieme, 2003: 383-390.
76. Nardin GF, Zimmerman TJ. Ocular cholinergic agents. The Glaucomas. Shields MB, Ritch R, Krupin T (eds). Second edition, Mosby-year book, st. Louis 1996: 1399-1408.
77. Shields MB. Cholinergic stimulators. Textbook of Glaucoma. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998: 384-397.
78. Shields MB. Adrenergic stimulators. Textbook of Glaucoma. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998: 398-412.
79. Shin BH, Glover BK, Cho SC, Kim YY, Kim C, Nguyen KD. Longterm brimonidine therapy in glaucoma patients with aproclonidine allergy. Am J Oph 1999; 127: 511-515.
80. Coakes RL, Brubaker RS. The mechanism of timolol in lowering intraocular pressure. Arch Ophthalmol 1978; 96: 2045-2048.

81. Levobunolol Study Group T. Levobunolol: a beta adrenoceptor antagonist effective in the long-term treatment of glaucoma. *Ophthalmology* 1985; 92: 1271-1276.
82. Kayaalp SO (editör). Beta adrenerjik reseptör blokörleri. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Cilt 2; 1985: 1192-1220.
83. Singh K, Zimmerman TJ. Update on the status of topical beta blockers in the treatment of glaucoma. *Ophthalmology Clinics of North America*, New developments in glaucoma. Lee DA (Editor). Philadelphia: NB Saunders Company 1995: 295.
84. Mao LK, Steward WC, Shields MB. Correlation between intraocular pressure control and progressive glaucomatous damage in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1991; 111: 51-54.
85. Lutjen-Drecoll E, Lonnerholm G, Eichorn M. Carbonic anhydrase distribution in the human and monkey eye by light and electron microscopy. *Graefes Arch Ophthalmol* 1983; 220: 285.
86. Dailey RA, Brubaker RF, Bourne WM. The effects of timolol maleate and acetazolamide on the rate of aqueous formation in normal human subjects. *Am J Ophthalmol* 1982; 93: 232.
87. Shields MB. Carbonic anhydrase inhibitors. *Textbook of Glaucoma*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998: 431-439.
88. Lipp EA, Carlson LE, Ehinger B. Dose-response and duration of action of dorzolamide, a topical carbonic anhydrase inhibitor. *Arch Ophthalmol* 1992; 100: 495.
89. Schnyder CC, Tran VT, Mermoud A, Herbot CP. Sterile mucopurulent conjunctivitis associated with the use of dorzolamide eyedrops. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 1429-1431.
90. Turaçlı ME. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri. Turaçlı ME, Önel M, Yalvaç SI (edit). *Glokom*. Ankara: SFN yayıncılık 2003; 179-183.

91. Türker G. Hiperozmotikler. Ankara Oftalmoloji Derneği Akademik Eğitim Programı 12. Ulusal Oftalmoloji Kursu, Hasanreisoglu B (editör). Ankara: Yıldırım Basımevi, 1992: 114-116.
92. Turaçlı ME. Prostaglandin Analogları. Turaçlı ME, Önel M, Yalvaç SI (edit): Glukom. Ankara: SFN yayıcılık 2003; 176-179.
93. Bill A. Uveoscleral drainage of aqueous humor: Physiology and Pharmacology. Prog Clin Biol Res 1989; 312: 417-27.
94. Camros CB. United States Latanoprost Study Group. Comparison of latanoprost and timolol in patients with ocular hypertension and glaucoma. A six month, masked, multi center trial in the United States. Ophthalmology 1996; 103: 138-47.
95. Kaufman PL, Mittag TW. Medical therapy of glaucoma. Glaucoma Texbook of Ophthalmology 1994; 86: 9-24.
96. Alm A, Stjernschantz J, Scandinavian Latanoprost Study Group. Effects on intraocular pressure and side effects of 0.005 % latanoprost once daily, evening or morning. A comparison with timolol. Ophthalmology 1995; 102: 1743-52.
97. Mc Kibbin M, Menage MJ. The effect of once-daily latanoprost on intraocular pressure and pulsatile ocular blood flow in normal tension glaucoma. Eye 1999; 13: 31-4.
98. Hejkal TW, Comros CB. Prostaglandine analogs in the treatment of glaucoma. Semin Ophthalmol 1999; 14: 114-123.
99. Cantor LB. Bimatoprost: A member of a new class of agents, the prostamides, for glaucoma menegment. Ext Opin Invest Drugs 2001; 10: 721-731.
100. Woodward DF, Kraus AH-P, Chen J. The pharmacology of bimatoprost. Surv Ophthalmol 2001; 45: 337-345.
101. Chrai SS, Makoid MC, Ericson SP, Robinson JR. Drop size and initial dosing frequency problems of topically applied ophthalmic drugs. J Pharrm Sci 1974; 63: 333- 338.

102. Latina MA, Sibayan SA, Shin DH. Q-switched 532nm Nd: YAG laser trabeculoplasty (selective laser trabeculoplasty). *Ophthalmology* 1998; 105: 2082-90.
103. Neitz J, Jacobs GH. Reexamination of spectral mechanisms in the rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 1986; 100: 21-29.
104. Taylor WR, Vaney DI. New directions in retinal research. *Trends Neurosci* 2003; 26: 379-385.
105. Benozzi J, Nahum LP, Campanelli JL. effect of hyaluronic acid on intraocular pressure in rats. *Invest Ophthalmology Vis Sci* 2002; 43: 2196-2200.
106. Sawada A, Neufeld AH. Confirmation of the rat model of chronic, moderately elevated intraocular pressure. *Exp Eye Res* 1999; 69: 525-531.
107. WoldeMussie E, Ruiz G, Wijono M, Wheeler LA. Neuroprotection of Retinal Ganglion Cells by Brimonidine in Rats with Laser-Induced Chronic Ocular Hypertension. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2849-2855.
108. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 81-128.
109. Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarotto E. Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1163-82.
110. Babizhayev MA, Bunin A. Lipid peroxidation in open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989; 67: 371-377.
111. Ko ML, Peng PH, Ma MC, Ritch R, Chen CF. Dynamic changes in reactive oxygen species and antioxidant levels in retinas in experimental glaucoma. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 365-373.
112. Kruman I, Bruce-Keller AJ, Bredesen D, Waeg G, Mattson MP. Evidence that 4-hydroxynonenal mediates oxidative stress-induced neuronal apoptosis. *J Neurosci* 1997; 17: 5089-5100.

113. Malone PE, Hernandez MR. 4-Hydroxynonenal, a product of oxidative stress, leads to an antioxidant response in optic nerve head astrocytes. *Exp Eye Res* 2007; 84: 444-454.
114. Dickinson DA, Levonen AL, Moellering DR, Arnold EK, Zhang H. Human glutamate cysteine ligase gene regulation through the electrophile response element. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 1152-1159.
115. Moreno MC, Campanelli J, Sande P, Sanes DA, Keller MI. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 803-812.
116. Cassina AM, Hodara R, Souza JM, Thomson L, Castro L, Ischiropoulos H, et al. Cytochrome c nitration by peroxynitrite. *J Biol Chem* 2000; 275: 21409-21415.
117. Aslan M, Ryan TM, Townes TM, Coward L, Kirk MC, Barnes S, et al. Nitric oxide-dependent generation of reactive species in sickle cell disease. Actin tyrosine induces defective cytoskeletal polymerization. *J Biol Chem* 2003; 278: 4194-4204.
118. Neufeld AH, Sawada A, Becker B. Inhibition of nitric-oxide synthase 2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9944-9948.
119. Kim YM, Bombeck CA, Billiar TR. Nitric oxide as a bifunctional regulator of apoptosis. *Circ Res* 1999; 84: 253-256.
120. Collins AR, Horvathova E. Oxidative DNA damage, antioxidants and DNA repair: applications of the comet assay. *Biochem Soc Trans* 2001; 29: 337-341.
121. Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 1995; 61: 33-44.
122. Mansour-Robaey S, Clarke DB, Wang YC, Bray GM, Aguayo AJ. Effects of ocular injury and administration of brain derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1632- 1636.
123. Nickells RW, Zack DJ. Apoptosis in ocular disease: a molecular review. *Ophthalmic Genetics* 1996; 17: 145-165.

124. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 299-305.
125. Merrill JE. The role of microglial cells and astrocytes in pathology: introduction. *Dev Neurosci* 1994; 16: 113.
126. Woldemussie E, Wijono M, Ruiz G. Müller cell response to Laser- induced increase in intraocular pressure in rats. *Glia* 2004; 47: 109-119.
127. Wang X, Tay SS, Ng YK. An immunohistochemical study of neuronal and glial cell reactions in retina of rats with experimental glaucoma. *Exp Brain Res* 2000; 132: 476-484.
128. Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry*. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2006: 200-253.
129. Furuyoshi N, Furuyoshi M, May CA. Vascular and glial changes in the retrolaminar optic nerve in glaucomatous monkey eyes. *Ophthalmologica* 2000; 214: 24–32.
130. Johnson EC, Deppmeier LMH, Wentzien SKF, Hsu I, Morrison JC. Chronology of optic nerve head and retinal responses to elevated intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 431– 442.
131. Hernandez M, Rodriguez FD, Sharma SC, Vecino E. Immunohistochemical changes in rat retinas at various time periods of elevated intraocular pressure. *Molecular Vision* 2009; 15: 2696-2709.
132. Carter-Dawson L, Shen F, Harwerth R, Smith EL III, Crawford MLJ, Chuang A. Glutamine immunoreactivity in Muller cells of monkey eyes with experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 1998; 66: 537–545.
133. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of human and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996; 114: 299–305.
134. Zimmer D B, Cornwall E H, Landar A, Song W. The S-100 protein family: history, function and expression. *Brain Res Bull* 1995; 37: 417-429.

135. Haglid K, Yang Q, Hamberger A, Bergman S, Widerberg A, Danielson N. S-100 stimulates neurite outgrowth in the rat sciatic nerve grafted with a cellular muscle transplants. *Brain Res* 1997; 753: 196-201.
136. Büttner T, Weyers S, Postert T. S-100 Protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke* 1997; 28: 1961-1965.
137. Sommer I, Lagenaur C, Schachner M. Recognition of Bergmann glial and ependymal cells in the mouse nervous system by monoclonal antibody. *J Cell Biol* 1981; 90: 448-458.
138. Kaushik S, Pandav SS, Ram J. Neuroprotection in glaucoma. *J Postgrad Med* 2003; 49: 90-95.
139. Kaufman PL, Gabelt BT, Cynader M. Introductory comments on neuroprotection. *Surv Ophthalmol* 1999; 43: 89-90.
140. Schwartz M, Beklin M, Yoles E, Solomon A. Potential treatment modalities for glaucomatous neuropathy: neuroprotection and neuroregeneration. *J Glaucoma* 1996; 5: 427-432.
141. Chew SJ. Neuroprotection: the next breakthrough in glaucoma. Proceedings of the third annual optic nerve rescue and restoration think tank. *J Glaucoma* 1997; 6: 263-266.
142. Netland PA, Chaturvedi E, Dreyer B. Calcium channel blockers in the management of low-tension and open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 608-613.
143. Eschweiler GW, Bahr M. Flunarizine enhances rat retinal ganglion cell survival after axotomy. *J Neurol Sci* 1993; 116: 34-40.
144. Caprioli J. Neuroprotection of the optic nerve in glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 75: 364-367.
145. Gao H, Qiao X, Cantor LB, WuDunn D. Up-regulation of brain-derived neurotrophic factor expression by brimonidine in rat retinal ganglion cells. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 797-803.

146. Vorwerk CK, Lipton SA, Zurakowski D, Hyman BT, Sabel BA, Dreyer EB. Chronic low-dose glutamate is toxic to retinal ganglion cells. Toxicity blocked by memantine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1618-1624.
147. Lagreze WA, Knorle R, Bach M, Feuerstein TJ. Memantine is neuroprotective in a rat model of pressure-induced retinal ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1063-1066.
148. Hare WA, WoldeMussie E, Lai RK, Ton H, Ruiz G, Chun T, Wheeler L. Efficacy and safety of memantine treatment for reduction of changes associated with experimental glaucoma in monkey, I: Functional measures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2625-2639.
149. Yucel YH, Gupta N, Zhang Q, Mizisin AP, Kalichman MW, Weinreb RN. Memantine protects neurons from shrinkage in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 217-225.
150. Naskar R, Dreyer EB. New horizons in neuroprotection. *Surv Ophthalmol* 2001; 3: 250-276.
151. Rabacchi SA, Ensini M, Bonfanti L, Gravina A, Maffei L. Nerve growth factor reduces apoptosis of axotomized retinal ganglion cells in the neonatal rat. *Neuroscience* 1994; 63: 969-973.
152. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1986; 58: 61-97.
153. Costarides AP, Riley MV, Gren K. Roles of catalase and the glutathione redox cycle in the regulation of anterior-chamber hydrogen peroxide. *Ophthalmic Res* 1991; 23: 284-294.
154. De La Paz MA, Epstein DL. Effect of age on superoxide dismutase activity of human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1849-1853.
155. Riley MV. Physiologic neutralization mechanisms and the response of the corneal endothelium to hydrogen peroxide. *Clao J* 1990; 16: 16-21.
156. May JM. Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane. *Faseb J* 1999; 13: 995-1006.

157. Asregadoo ER. Blood levels of thiamine and ascorbic acid in chronic openangle glaucoma. *Ann Ophthalmol* 1979; 11: 1095-1100.
158. Kang JH, Pasquale LR, Willett W, Rosner B, Egan KM, Faberowski N, Hankinson SE. Antioxidant intake and primary open-angle glaucoma: a prospective study. *Am J Epidemiol* 2003; 158: 337-46.
159. Kojima M, Hosoda H, Date Y. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
160. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85: 495-522.
161. Sun Y, Wang P, Zheng H, Smith RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci* 2004; 101: 4679-4684.
162. Kaiya H, Van Der Geyten S, Kojima M, Hosoda H, Kitajima Y, Matsumoto M, et al. Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology* 2002; 143: 3454-3463.
163. Bilgin HM. Ghrelin: gündemdeki hormon. *Dicle Tıp Dergisi* 2006; 33: 268-272.
164. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-478.
165. Dixit VD, Schaffer EM, Pyle RS, Collins GD, Sakthivel SK, Palaniappan R, et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. *J Clin Invest* 2004; 114: 57-66.
166. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Kwiecien S, Drozdowicz D, et al. Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. *Regulatory Peptides* 2004; 120: 39-51.
167. Obay BD, Taşdemir E, Tümer C, Bilgin HM, Atmaca M. Dose dependent effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides* 2008; 29: 448-455.

168. Kim MS, Yoon CY, Jang PG, Park SJ. The mitogenic and antiapoptotic actions of ghrelin in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol* 2004; 18: 2291–2301.
169. Kim S, Her SJ, Park SJ. Ghrelin stimulate proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 2005; 37: 359–369.
170. Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonisconi S. Ghrelin and des acyl ghrelin inhibi tcell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 2006; 159: 1029–1037.
171. Chung H, Kim E, Lee DH, Seo S, Ju S, Lee D. Ghrelin inhibits apoptosis in hypothalamic neuronal cells during oxygen-glucose deprivation. *Endocrinology* 2007; 148: 148–159.
172. Chang L, Ren Y, Liu X, Li WG, Yang J, Geng B. Protective effects of ghrelin on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 43: 165–170.
173. Konturek PC, Brzozowski T, Walter B, Burnat G, Hess T, Hahn EG. Ghrelin induced gastro protection against ischemia-reperfusion injury involves an activation of sensory afferent nerves and hyperemia mediated by nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 2006; 536: 171–181.
174. Andrews ZB, Eroin D, Beiler R, Liu ZW, Abizaid A. Ghrelin promotes and pro tects nigro striatal dopamine function via UCP2-dependent mitochondrial mechanism. *J Neuro Sci* 2009; 29: 14057–14065.
175. Jiang H, Li LJ, Wang J, and Xie JX. Ghrelin antagonizes MPTP-induced neurotoxicity to the dopaminergic neurons in mouse substantia nigra. *Exp Neurol* 2008; 212: 532–537.
176. Andrews ZB. The extra hypothalamic actions ghrelin on neuronal function. *TrendsNeurosci* 2011; 34; 31–40.
177. Hwang S, Moon M, Kim S, Hwang L, Ahn K.J, Park S. Neuroprotective effect of ghrelin is associated with decreased expression of prostate apoptosis response. *Endocrinol J* 2009; 56; 609–617.

178. Klayman DL, Gunther WH. Organic Selenium Compounds: Their Chemistry and Biology, New York: Wiley, 1973: 56-86.
179. Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohe R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D, Flohe L. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods in Enzymology* (Ed). Packer L. San Diego, California: Academic Press, 1995: 38-53.
180. Muges G, Du Mont WW, Seis H. Chemistry of biologically important synthetic organoselenium compounds. *Chem Rev* 2001;101:2125-79.
181. Back TG. Organoselenium chemistry: an overview. *Organoselenium Chemistry: a Practical Approach* (Ed). Harwood LM, Moody CJ. Oxford University Press, New York: 1999: 1-4.
182. Muges G, Du Mont WW. Structure-activity correlation between natural glutathione peroxidase (GPx) and mimics: a biomimetic concept for the design and synthesis of more efficient GPx mimics. *Chem-Eur J* 2001; 7: 1365-1370.
183. Schewe T. Molecular actions of ebselen an antiinflammatory antioxidant. *Gen Pharmacol* 1995; 26: 1153-1169.
184. Nakamura Y, Feng Q, Kumagai T, Torikai K, Ohigashi H, Osawa T, et al. Ebselen, a glutathione peroxidase mimetic selenoorganic compound, as a multifunctional oxidant. *J Biol Chem* 2002; 277: 2687-2694.
185. Muller A, Cadenas E, Graf P, Sies H. A novel biologically active selenoorganic compound—I. Glutathione peroxidase-like activity in vitro and antioxidant capacity of PZ 51 (Ebselen). *Biochem Pharmacol* 1984; 33: 3235–3239.
186. Maiorino M, Roveri A, Ursini F. Antioxidant effect of Ebselen (PZ 51): Peroxidase mimetic activity on phospholipid and cholesterol hydroperoxides vs free radical scavenger activity. *Arch Biochem Biophys* 1992; 295: 404-409.
187. Fligiel S, Lee E, McCoy J, Johnson K, Varani J. Protein degradation following treatment with hydrogen peroxide. *Am J Pathol* 1984; 115: 418–425.
188. Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J* 1990; 4: 2587–2597.

189. Sies H. Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 313-323.
190. Yamaguchi T, Sano K, Takakura K, Saito I, Shinohara Y, Asano T, Yasuhara H. Ebselen in acute ischemic stroke: a placebo-controlled, doubleblind clinical trial. Ebselen Study Group. *Stroke* 1998; 29: 12-17.
191. Dawson DA, Masayasu H, Graham DI, Macrae IM. The neuroprotective efficacy of ebselen (a glutathione peroxidase mimic) on brain damage induced by transient focal cerebral ischaemia in the rat. *Neurosci Lett* 1995; 185: 65-69.
192. Köse K, Doğan P. Lipid Peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi* 1992; 1: 340-350.
193. Schewe T, Kühn H. Do 15-lipoxygenases have a common biological role. *Trends Biochem Sci* 1991; 16: 369-373.
194. Narayanaswami V, Sies H. Oxidative damage to mitochondria and protection by ebselen and other antioxidants. *Biochem Pharmacol* 1990; 40: 1623- 1629.
195. Chardiere J, Yadan JC, Erdelmeier I, Tailhan-Lomont C, Moutet M. Design of new selenium containing mimics of glutathione peroxidase. *Oxidative Processes and Antioxidants*. Paoletti R (Ed). New York: Raven Press, 1994: 165-184.
196. Epe B, Ballmaier D, Roussyn I, Briviba K, Sies H. DNA damage by peroxynitrite characterized with DNA repair enzymes. *Nucleic Acids Res* 1996; 24: 4105-4110.
197. Heinecke JW. Mechanisms of oxidative damage of low density lipoprotein in human atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8: 268-274.
198. Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett* 1995; 364: 279-82.
199. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J* 2001; 357: 593-615.
200. Arteel GE, Briviba K, Sies H. Protection against peroxynitrite. *FEBS Letters* 1999; 445: 226-230.
201. Spiteller G. Enzymatic lipid peroxidation-a consequence of cell injury? *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 1003-1009.

- 202.** Wang JF, Komarov P, Sies H, Groot H. Inhibition of superoxide and nitric oxide release and protection from reoxygenation injury by Ebselen in rat Kupffer cells. *Hepatology* 1992; 15: 1112.
- 203.** Cotter TG, Martin SJ. *Techniques in Apoptosis (A User's Guide)*. London: Portland Press, 1996; 9-125.
- 204.** Naskar R, Wissing M, Thanos S. Detection of early neuron degeneration and accompanying microglial responses in the retina of a rat model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43: 2962-2968.
- 205.** Di Polo A. Mechanism of neural injury in glaucoma; neuroprotection in glaucoma. *Allergan* 2007;18-30.
- 206.** Karaküçük S, Yüce Y, Ulusal H, Öner A, Gümüş K. Topikal Antiglokomatöz Ajanların Gangliyon Hücre Apoptozuna Etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*. 2009; 31: 310-317.
- 207.** Erdurmuş M, Yağcı R, Atış Ö, Karadağ R, Akbaş A, Hepşen IF. Antioxidant status and oxidative stress in primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma. *Curr Eye Res* 2011; 36: 713-718.
- 208.** Ghanem AA, Arafa LF, El-Baz A. Oxidative stress markers in patients with primary open-angle glaucoma. *Curr Eye Res* 2010; 35: 295-301.
- 209.** Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Reides CG, Evelson PA, Llesuy SF. Time course changes of oxidative stress markers in a rat experimental glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 4635-4640.
- 210.** Slomiany BL, Slomiany A. Helicobacter pylori induces disturbances in gastric mucosal akt activation through inducible nitric oxide synthase-dependent s-nitrosylation: effect of ghrelin. *Gastroenterology* 2011; 308: 727-728.
- 211.** Koizumi H, Fujisawa H, Suehiro E, Shirao S, Suzuki M. Neuroprotective effects of ebselen following forebrain ischemia: involvement of glutamate and nitric oxide. *Neurol Med Chir* 2011; 51: 337-343.

212. Hattori R, Inoue R, Sase K, Eizawa H, Kosuga K, Aoyama T, et al. Preferential inhibition of inducible nitric oxide synthase by ebselen. *Eur J Pharmacol* 1994; 15; 267: 1-2.
213. Aslan A, Yildirim M, Ayyildiz M, Güven A, Ağar E. The role of nitric oxide in the inhibitory effect of ghrelin against penicillin-induced epileptiform activity in rat *Neuropeptides* 2009; 43: 295–302
214. Gross RL, Ji J, Chang P, Pennesi ME. A Mouse model of elevated intraocular pressure: Retina and Optic nerve findings. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2003; 101: 163-169.
215. Beazley LD, Perry VH, Baker B and Darby JE. An investigation into the role of ganglion cells in the regulation of division and death of other retinal cells. *Dev Brain Res* 1987; 33: 169-184.
216. Ju KR, Kim HS, Kim JH, Lee NY, Park CK. Retinal glial cell responses and Fas/FasL activation in rats with chronic ocular hypertension. *Brain Res* 2006; 1122: 209-221.
217. Kuehn MH, Kim CY, Ostojic J, Bellin M, Alward WL, Stone EM, Sakaguchi DS, Grozdanic SD, Kwon YH. Retinal synthesis and deposition of complement components induced by ocular hypertension. *Exp Eye Res* 2006; 83: 620-628.
218. Battisti WP, Wang J, Bozek K. Macrophages, microglia, and astrocytes are rapidly activated after crush injury of the goldfish optic nerve: a light and electron microscopic analysis. *J Comp Neurol* 1995; 354: 306-320.
219. Hughes EH, Schlichtenbrede FC, Murphy CC, Broderick C, van Rooijen N, Ali RR, Dick AD. Minocycline delays photoreceptor death in the rds mouse through a microglia-independent mechanism. *Exp Eye Res* 2004; 78: 1077-1084.
220. Etüş H, Yüksel N, Solaoğlu S, Karabaş L, Çağlar Y. Deneysel glokom modelinde memantin: müler hücre aktivitesine etkisinin immünohistokimyasal değerlendirilmesi. *Glo-Kat* 2009; 4: 157-161.
221. Schiffer D, Giordana MT, Mighell A, Giaccone G, Pezzotta S, Mauro A. Glial fibrillary acidic protein and vimentin in the experimental glial reaction of the rat brain. *Brain Res* 1986; 374: 110–118.

222. Tezel G, Wax MB. Increased production of tumor necrosis factor alpha by glial cells exposed to simulated ischemia or elevated hydrostatic pressure induces apoptosis in cocultured retinal ganglion cells. *J Neurosci* 2000; 20: 8693–8700.
223. Morgan JE, Caprioli J, Koseki Y. Nitric oxide mediates excitotoxic and anoxic damage in rat retinal ganglion cells cocultured with astroglia. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 1524–1529.
224. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001; 33: 637–668.
225. Barger SW, Van Eldik LJ, Mattson MP. S100 beta protects hippocampal neurons from damage induced by glucose deprivation. *Brain Res* 1995; 677: 167–170.
226. Aydemir O, Güler M, Kaya MK, Deniz N, Ustündağ B. Protective effects of ebselen on sodium-selenite-induced experimental cataract in rats. *J Cataract Refract Surg* 2012; 6: 18.
227. Bosch-Morell F, Romá J, Marín N, Romero B, Rodriguez-Galietero A, Johnsen-Soriano S, et al. Role of oxygen and nitrogen species in experimental uveitis: anti-inflammatory activity of the synthetic antioxidant ebselen. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 669-675.
228. Bosch-Morell F, Romá J, Puertas FJ, Marín N, Díaz-Llopis M, Romero FJ. Efficacy of the antioxidant ebselen in experimental uveitis. *Free Radic Biol Med*. 1999; 27: 388-391.
229. Rocha-Sousa A, Saraiva J, Henriques-Coelho T, Falcão-Reis F, Correia-Pinto J, Leite-Moreira AF. Ghrelin as a novel locally produced relaxing peptide of the iris sphincter and dilator muscles. *Exp Eye Res* 2006; 83: 1179-1187.
230. Katsanos A, Dastiridou A, Georgoulas P, Cholevas P, Kotoula M, Tsironi EE. Plasma and aqueous humour levels of ghrelin in open-angle glaucoma patients. *Clin Experiment Ophthalmol* 2011; 39: 324-329.

6. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Aydın Söke’de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Söke’de tamamladım. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 2008 yılında Eylül TUS sınavı sonrası Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Anabilim Dalı’nda ihtisas eğitime başladım.