

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

**DENEYSEL KATARAKT MODELİNDE GHRELİN
VE MELATONİN'İN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Rumeysa TANYILDIZI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER**

**ELAZIĞ
2012**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi Standartları'na uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

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

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

Tüm eğitim ve öğrenim hayatımda desteklerini yanımda hissettiğim aileme sonsuz minnet ve sevgilerimi sunarım.

ÖZET

Katarakt, dünyada görme azlığı yapan nedenler arasında ilk sırada yer almakta ve insidansı yaş ile artmaktadır. Bu çalışmada sodyum selenitle oluşturulan deneysel katarakt modelinde ghrelin ve melatoninin kataraktı önleyici etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmada, 35 adet Spraque Dawley türü rat randomize olarak beş eşit gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu olarak belirlenen grup I hariç yavru ratlara doğumlarının 10. gününde subkutan sodyum selenit enjeksiyonu yapılmıştır. Postpartum 8-15. günler arası sham I olarak belirlenen ikinci gruba 2 mg/kg/gün serum fizyolojik, sham II olarak belirlenen üçüncü gruba %1'lik etanol-serum fizyolojik, melatonin ve ghrelin grubu olarak belirlenen dördüncü ve beşinci gruplara ise sırasıyla 10 µg/g/gün melatonin ve 20 ng/kg/gün ghrelin intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Katarakt evrelemesi yapıldıktan sonra lensler kapsülleriyle beraber çıkarılıp glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) ve total nitrit (TN) seviyeleri analiz edilmiştir.

Ortalama katarakt evreleri sham I, sham II, melatonin ve ghrelin grubunda sırasıyla 1.71±1.06, 1.78±1.12, 0.35±0.39, 1.64±1.21 olarak saptanmıştır. Melatonin grubunun katarakt evresi ortalaması kontrol grubu hariç diğer grupların ortalamalarından istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Melatonin grubunda ortalama lens GSH, TAS ve TN seviyeleri diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulunurken, MDA ve TOS seviyeleri ise sham I-II ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Ghrelin grubunun lens biyokimyasal analizleri sham gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Melatonin grubunda lens MDA ve TOS seviyelerinin sham I-II ve ghrelin gruplarına göre daha düşük, GSH, TAS ve TN seviyelerinin ise daha yüksek olması, melatoninin kataraktı önleyici etkisini desteklemektedir. Ghrelinin ise kataraktı önlemede melatonin kadar etkili olmadığı görülmüştür. Ghrelinin katarakt oluşumunu önlemede etkin olan dozunun saptanabilmesi için farklı dozlar ile yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Sodyum selenit, deneysel katarakt, melatonin, ghrelin

ABSTRACT
THE EFFECTS OF GHRELIN AND MELATONIN ON EXPERIMENTAL
CATARACT MODEL

Cataract is the most common cause of blindness worldwide and its incidence is likely to increase with age. The aim of this study is to investigate whether melatonin and ghrelin have protective effects on experimental cataract model formed by sodium selenite in rats.

In this study, thirty-five Spraque Dawley rat pups were randomly assigned to form five groups. Subcutaneous sodium selenite injection was applied to all the newborn rats except the group I (control) on postpartum tenth day and between postnatal days of 8 and 15; pups in group II (sham I) were administered 2 mg/kg /day saline solution, pups in group III (sham II) were administered %1 ethanol-salin solution, pups in group IV were administered 10 µg/g/day melatonin and pups in group V were administered 20 ng/kg/day ghrelin intraperitoneally. Cataract grading was made and the lenses were extracted with capsules. Glutathion (GSH), malondialdehyde (MDA), total antioxidant (TAS), total oxidant (TOS) and total nitrit (TN) levels were analyzed in the samples of lens.

The mean cataract levels in the sham I, sham II, melatonin and ghrelin group were found as 1.71 ± 1.06 , 1.78 ± 1.12 , 0.35 ± 0.39 , 1.64 ± 1.21 . The mean cataract level in the melatonin group was found to be significantly lower than the other groups except control group ($p < 0.05$). The mean lens GSH, TAS and TN levels in the melatonin group were found significantly higher than the other group levels; and the mean lens MDA and TOS levels were found significantly lower than sham I-II and ghrelin groups ($p < 0.05$). Protective effect of ghrelin on the cataract was found similar to sham groups ($p > 0.05$).

In melatonin group, lower levels of lens MDA and TOS and higher levels of lens GSH, TAS and TN supports the protective effect of melatonin on cataract. However, ghrelin failed to produce the protective effect. Further studies using different doses are needed to determine the effective dose of ghrelin on cataracts.

Keywords: Sodium selenite, experimental cataract, melatonin, ghrelin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Genel Bilgiler	2
1.2.1. Lens Embriyolojisi	2
1.2.2. Lens Anatomisi	3
1.2.3. Lens Histolojisi	4
1.2.3.1. Lens Kapsülü	4
1.2.3.2. Lens Epiteli	4
1.2.3.3. Lens Fibrilleri	5
1.2.4. Lensin Fizyolojisi ve Biyokimyası	5
1.2.5. Lensin Saydamlığının Sürdürülmesi	6
1.2.5.1. Lensin Protein Metabolizması	6
1.2.5.2. Lensin Karbonhidrat Metabolizması	6
1.2.5.3. Lensin Su ve Elektrolit Dengesi	7
1.2.5.4. Lens Lipidleri	7
1.2.5.5. Lensde Oksidatif Hasar Ve Koruyucu Mekanizmalar	8
1.2.5.6. Fotobiyoloji	8
1.3. Katarakt	9
1.3.1. Epidemiyoloji	9
1.3.2. Katarakt Nedenleri	10
1.3.3. Kataraktların Sınıflandırılması	11
1.3.3.1. Doğumsal Kataraktlar	11

1.3.3.2. Senil Kataraktlar	11
1.3.3.2.1. Kortikal Katarakt	12
1.3.3.2.2. Nükleer Katarakt	12
1.3.3.2.3. Arka Subkapsüler Katarakt	12
1.3.3.3. Sistemik Hastalıklarda Katarakt	13
1.4. Klinik	13
1.5. Tedavi	14
1.5.1. Medikal Tedavi	14
1.5.2. Cerrahi Tedavi	14
1.6. Deneysel Katarakt Modelleri	15
1.6.1. Selenit Modeli	15
1.6.1.1. Etki Mekanizması	15
1.7. Serbest Radikaller	16
1.7.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	17
1.7.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları	18
1.7.3. Serbest Radikallerin Etkileri	18
1.8. Antioksidan Savunma Sistemleri	20
1.8.1. Antioksidanlar	20
1.8.1.1. Enzimler	21
1.8.1.2. Enzim Olmayanlar	22
1.8.2. Glutasyon (GSH)	23
1.8.3. Malondialdehit (MDA)	24
1.8.4. Total Oksidan-Antioksidan Seviye	24
1.8.5. Nitrik Oksit (NO)	25
1.9.1. Melatonin	27
1.9.2. Ghrelin	28
2. GEREÇ VE YÖNTEM	31
2.1. Gruplar	31
2.2. Anestezi Tekniği	32
2.3. Katarakt Evrelemesi	32
2.4. Malondialdehit Analizi	32
2.5. Glutasyon Analizi	32

2.6. Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizi	33
2.7. Total Oksidant Seviye (TOS) Analizi	33
2.8. Total Nitrit Analizi	33
2.9. İstatistiksel Analizler	33
3. BULGULAR	34
3.1. Katarakt Evrelemesi	35
3.2. Lens Malondialdehit, Redükte Glutasyon, Total Antioksidan, Total Oksidan ve Total Nitrit Değerleri	38
4. TARTIŞMA	45
5. KAYNAKLAR	54
6. ÖZGEÇMİŞ	67

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Ghrelinin etkileri	29
Tablo 2. Deney grupları ve oluşan katarakt evreleri	35
Tablo 3. Lens MDA, GSH, TAS, TOS ve TN değerleri	39

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Erişkin lens kapsülünün bölgelere göre kalınlığı	4
Şekil 2. Oksidatif stres ve antioksidan sistem	16
Şekil 3. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı	20
Şekil 4. Melatoninin kimyasal yapısı	27
Şekil 5. Ghrelinin kimyasal yapısı	28
Şekil 6. Katarakt evrelerinin gruplara göre dağılımı	35
Şekil 7. Evre 0 katarakt	36
Şekil 8. Evre 1 katarakt	36
Şekil 9. Evre 2 katarakt	37
Şekil 10. Evre 3 katarakt	37
Şekil 11. Evre 4 katarakt	38
Şekil 13. Lens GSH seviyelerinin gruplara göre dağılımı	40
Şekil 14. Lens TAS seviyelerinin gruplara göre dağılımı	42
Şekil 15. Lens TOS seviyelerinin gruplara göre dağılımı	42
Şekil 16. Lens TN seviyelerinin gruplara göre dağılımı	44

KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
AFMK	: N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinüramin
ARN	: Arkuat nukleus
ATP	: Adenozintrifosfat
Ca	: Kalsiyum
DM	: Diabetes Mellitus
EKKE	: Ekstrakapsüler katarakt ekstraksiyonu
GSH	: Redükte glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GH	: Growth hormon
GHRH	: Growth hormon releasing hormon
GR	: Glutatyon redüktaz
HO₂[·]	: Hidroperoksit radikali
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HOCl	: Hipoklorikasit
İCV	: İntraserebroventriküler
İKKE	: İntrakapsüler katarakt ekstraksiyonu
K	: Potasyum
L- NAME	: N-nitro-L-arginine methyl ester
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
MDA	: Malondialdehit
Mg	: Magnezyum
MIP	: Major intrinsik protein
Na	: Sodyum
NADPH	: Nikotinamid adenindinükleotid fosfat
NO	: Nitrikoksit
NOS	: Nitrikoksit sentaz
e NOS	: Endotelial nitrikoksit sentaz
i NOS	: İndüklenebilir nitrikoksit sentaz
n NOS	: Nöronal nitrikoksit sentaz
[·]OH	: Hidroksil radikali

OONO	: Peroksinitrit
¹O₂	: Singlet oksijen
O₂⁻	: Süperoksit
PRL	: Prolaktin
RO	: Reaktif oksijen
ROB	: Reaktif oksijen bileşikleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
TAS	: Total antioksidan
TOS	: Total oksidan
UV	: Ultraviole
WHO	: World Health Organisation

1. GİRİŞ

1.1. Giriş ve Amaç

Lensin şeffaflığını kaybetmesine katarakt denir. Katarakt terimi, şelale veya demir parmaklık anlamına gelen “cataracta” kelimesinden türemiştir. Etyopatogenezinde heredite, travma, inflamasyon, metabolik bozukluklar, beslenme bozuklukları, radyasyon ve senil değişiklikler rol oynayabilmektedir. Yaşa bağlı kataraktın oluşumunda rol oynayan etkenlerin başında lenste serbest oksijen radikallerinin artışı ve antioksidan olarak görev yapan enzimlerin azalmasına dikkat çekilmektedir (1).

Katarakt görsel fonksiyon kapasitesini giderek azaltan multifaktöryel orijinli patolojik bir süreçtir. Prevelansı yaşla birlikte artmakta ve 74 yaşın üzerinde %50 oranına kadar çıkmaktadır. Kataraktın tek tedavi yönteminin lensin cerrahi olarak alınması olduğu düşünülürse, yaygınlaşan bu cerrahinin yüksek bir maliyetinin de olduğu göz ardı edilmemelidir (2).

Katarakt, dünyada görme azlığı yapan nedenler arasında ilk sırada yer almaktadır (3). Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organisation) 2020 yılında katarakta bağlı kör insan sayısının 40 milyona ulaşacağını bildirmekte ve 2000 ile 2020 arasında nüfusun gereksinimini karşılamak için ameliyat sayısının üç katına çıkması gerektiğini öne sürmektedir. Prevalansına bağlı olarak, senil katarakt en önemli sosyoekonomik etkiye sahiptir (2,3).

Oksidatif maddelerin üretiminde artma ve antioksidan vitaminlerin azalması katarakt patogenezinde önemlidir (4). Antioksidanlar, özellikle de A, C ve E vitaminleri lensi oksidatif hasardan koruma potansiyeline sahiptir. Çalışmalardan elde edilen kanıtlar, yüksek miktarda antioksidan alımı ve yüksek serum antioksidan seviyelerinin koruyucu etkisi olduğunu desteklemektedir (5,6).

Melatonin ve ghrelin antioksidan özelliği ile bilinen hormonlardır. Melatonin; uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. In vivo ve in vitro çalışmalarla antiproliferatif ve antioksidan etkilere de sahip olduğu gösterilen melatoninin, kanser ve yaşlanmanın önlenmesinde de etkili olabileceği öne sürülmektedir (7). Melatoninin bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991

yılında Ianas ve ark. (8) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (9,10).

Ghrelin, Kojima ve ark. (11) tarafından tanımlanmış olup, başlıca mide (entero-endokrin hücreler) olmak üzere diğer birçok doku ve inflamatuvar hücrelerden sentezlenen polipeptid yapıda bir hormondur (12,13). Büyüme hormonu salınımını, iştahı ve lipogenezi indüklemeye özellikleri vardır (14,15). Deneysel pankreatit, kolit, akut akciğer hasarı ve artrit modellerinde ghrelin uygulanmasının inflamasyonu baskıladığı ve bu etkilerinin yanısıra dokularda oluşabilecek oksidatif stresi de önlediği gösterilmiştir (16-22). Ghrelinin; lipid peroksidasyonunu önlediği ve süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunu artırdığı Zwirski-Korczala ve ark. (23) tarafından bildirilmiştir.

Antioksidan özellik taşıyan melatoninin, deneysel katarakt modelinde anti-kataraktojenik etkisi olduğu bildirilmiştir (24). Ghrelinin ise katarakt üzerindeki etkisine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Biz de çalışmamızda ghrelin ve melatoninin lensteki oksidatif hasar üzerine olan etkilerini karşılaştırmayı amaçladık.

Yaşa bağlı katarakt oluşumunun mekanizmalarını tam olarak ortaya koymak için araştırmalarda en sık kullanılan deneysel katarakt modeli selenit katarakt modelidir. Bu model hızlı bir şekilde katarakt oluşturmaya ve tekrarlanabilir olabilmesi açısından araştırmacılara önemli kolaylıklar sunmaktadır (25).

Biz de çalışmamızı selenit katarakt modeli ile gerçekleştirerek antioksidan özelliği ile bilinen ghrelin ve melatoninin, katarakt oluşumuna etkilerini araştırmayı amaçladık.

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. Lens Embriyolojisi

Lensi oluşturan hücreler embriyonun kraniyal tarafında bulunan yüzey ektoderminden köken almaktadırlar. Nöroektoderminden salınan kimyasal mediatörler lensin gelişimine katkıda bulunmakta ve gestasyonun 25. gününde optik vezikül oluşmaya başlamaktadır (26). Optik vezikülle teması olan yüzey epitel hücreleri, lens plağını oluşturacak şekilde uzamaktadırlar. Lens vezikülü yüzey ektoderminden ayrıldıktan sonra arka kutupta kalan hücreler uzamaya başlamaktadırlar. Bu primer fibril hücreleri vezikülün lümenini doldurmakta ve gestasyonun yedinci haftasında

lensin ekvator bölgesinde yer alan kübik hücrelerin çoğalması ve uzayıp nükleuslarını kaybetmesiyle sekonder lens fibrilleri oluşmaktadır. Sekonder fibril hücrelerinin bazal ve apikal uçları lens merkezine doğru yönelmekte ve primer fibriller lens merkezine doğru itilmektedirler. Erişkin lensinde bu hücreler embriyonik nükleusu oluşturmaktadırlar. Ekvatorun önündeki fibriller lensin ön kutbuna, arkasındaki fibriller ise arka kutbuna doğru ilerlemekte ve gestasyonun 2-8. ayları arasında fetal nükleus oluşmaktadır. Ön ve arkada çoğalan fibrillerin karşılaştığı noktalarda Y sütürleri oluşmakta ve sekizinci haftada belirginleşmektedirler (26,27).

Gestasyonun yaklaşık dokuzuncu haftasında, lensi çevreleyen kapiller ağ tamamen gelişmiş haldedir ve doğumdan kısa süre önce programlanmış hücre ölümü ile yok olmaktadır. Normal yetişkin gözlerde posterior vasküler kapsülün kalıntısı lensin arka yüzeyinde küçük bir opasite halinde kalmakta ve Mittendorf noktası adını almaktadır (27).

1.2.2. Lens Anatomisi

Lens; ışığı kırmak, akomodasyon yapmak gibi görevleri olan saydam ve bikonveks bir yapıdır. Korneadan sonra gözün en kırıcı ortamı olan lensin (16- 20 D), fetal gelişimden sonra kanlanması ve innervasyonu bulunmamakta ve bu dönemden sonra metabolik gereksinimleri büyük oranda hümör aközden sağlanmaktadır (28).

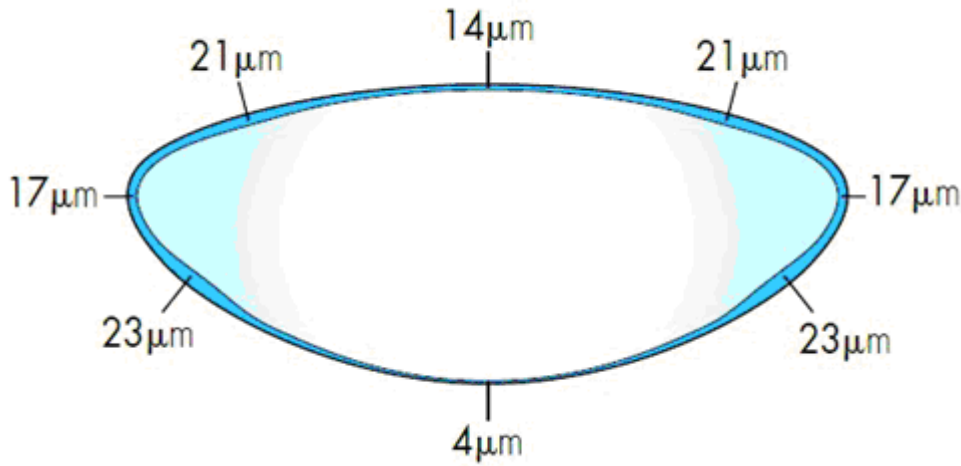
Lens, irisin arkasında, vitreusun önünde ön hyaloid membran tarafından oluşturulan patellar fossaya yerleşmiştir. Ön yüzeyi kornea tarafında aköz sıvısı ile arka yüzeyi ise vitreus ile temas halindedir (29). Lens, bulunduğu arka kamarada zonül fibrilleri aracılığıyla asılı durmaktadır. Fibrillinden zengin olan bu lifler siliyer epitelden köken almakta ve lens kapsülünün dış kısmına 1-2 µm derinlikte olmak üzere bağlanmaktadır (30,31).

Lens hayat boyu büyümeye devam etmektedir. Ön ve arka yüzünün çepeçevre birleştiği yer ekvator olarak adlandırılmaktadır. Lensin doğumda 6-6.5 mm olan ekvatoryal çapı, genç yetişkinlerde 8.5-9 mm'ye, 3-3.5 mm olan ön arka uzunluğu ise 4-4.5 mm'ye ulaşmaktadır (28).

1.2.3. Lens Histolojisi

1.2.3.1. Lens Kapsülü

Lens, küçük moleküllerin geçişine izin veren elastik ve aselüler bir zarf olan lens kapsülünün içinde bulunmaktadır. Kapsül; önde lens epiteli, arkada ise lif hücreleri tarafından sentezlenen, tip IV kollajenden oluşan elastik ve şeffaf bir bazal membrandır. Ön kapsül santrali erişkinde 14 mikron kalınlığında iken arka kapsül santrali ise 4 mikron kalınlığındadır (Şekil 1). Lens kapsülü uç uca eklenmiş lamellerden meydana gelmekte ve bu lameller kapsülün dışına yakın alanlarda en dar şeklini alırken, hücrelerin toplandığı alanlarda ise en geniş halde bulunmaktadırlar (32). Lamellerin içinde; tip IV kollajen, laminin, heparin sülfat, proteoglikan, fibronektin ve entaktin gibi ana yapı proteinleri bulunmakta ve bu farklı yapıların oynadıkları roller kesin olarak bilinmese de, in vitro deneylerle tip IV kollajenin hücresel adhezyonu artırdığı ve fibronektinin ise migrasyonu desteklediği gösterilmiştir (32,33).



Şekil 1. Erişkin lens kapsülünün bölgelere göre kalınlığı

1.2.3.2. Lens Epiteli

Lens epiteli, ön kapsül altında tek sıra halinde dizilmiş yüzey ektoderminden köken alan hegzogonal hücre tabakası olup ekvatoryal lens kavsine doğru uzamaktadır. İntrauterin hayatta çoğalmaya başlayan lens epiteli yüzey ektoderminden köken aldığı için apikal kısmı içe, tabanı dışa dönük şekilde dizilmiştir (28).

Epitel hücrelerinin proliferatif kapasiteleri bulundukları yere göre değişkenlik göstermekte olup merkezde olanlar sabit iken ekvatordakiler ise hayat boyu epitel hücresi üretmeye devam etmektedirler. Yeni oluşan hücreler ekvatora doğru ilerleyerek hacimce genişlemekte ve nükleus, mitokondri, ribozom gibi organellerini kaybederek fibriller yapıya farklılaşmaktadırlar (28,33).

1.2.3.3. Lens Fibrilleri

Lensin primer içeriğini oluşturan lens fibrilleri ana yapı elemanlarıdır. Lif membranlarının komponentleri ile yeni lif oluşumu başlamakta ve membranlarda major intrinsik protein (MIP 26), lipid, fosfolipid ve proteinler yer almaktadır. Ana sterol kolesterol iken ana fosfolipid ise sfingomiyelindir. Yağ asidi olarak palmitat kullanılmaktadır. Bu üç ögenin yüksek konsantrasyonu, akışkanlığı az olan son derece düzenli bir membran yapısının ortaya çıkmasını sağlamaktadır (34,35).

Ekvator çevresinde bulunan mitotik özelliğe sahip lens epitel hücreleri 80'li yaşlara kadar yaklaşık 200 milyon lens fibrili üretmekte ve bu lens fibrilleri eski hücrelerin üzerine devamlı olarak yığılmaktadırlar (36). Böylece iç içe kabuk oluşturacak şekilde uzamaktadırlar. Nukleusları ekvatora yakın olduğu için uzanan kısımda organellerin olmaması nedeniyle lensin şeffaflığı sağlanmaktadır (35,36).

1.2.4. Lensin Fizyolojisi ve Biyokimyası

Lensin şeffaflığı, içerdiği yapıların yeterince beslenmesine bağlıdır. Lense giden hyaloid kan desteğinin (tunica vasculosa lentis) çekilmesinin ardından, metabolik ihtiyaçlar ön kamara sıvısı ve vitreus aracılığıyla gerçekleştirilmektedir.

Lensin şeffaf olmasının başlıca nedeni, ana yapı elemanları olan fibrillerin hegzogonal yapıları ve hücreler arası boşluğun az olmasıdır. Lens 400-1000 nanometre'lik (nm) elektromanyetik enerjinin tümüne geçirgendir. 295 nm dalga boyu altındaki ışınlar kornea tarafından emilirken 295-400 nm arasındaki ultraviyole ışınlarının tamamına yakını lens tarafından absorbe edilmektedir (35).

Lens vücuttaki diğer tüm dokulardan daha yüksek oranda protein içermekte ve ağırlığının %65 - 66'sını su, %33 - 35'ini protein, %1'ini ise aminoasit, lipid, karbonhidrat, elektrolitler ve peptidler oluşturmaktadır. Proteinler sudaki çözünürlüklerine göre; suda eriyen sitoplazmik ve suda eriyemeyen hücre iskeleti ve plazma membranı olmak üzere iki tiptedirler. Yaşlanma ile polipeptidlerde zamanla bozulma görülmekte ve bunun sonucu olarak da lensin şeffaflığı bozulmaktadır.

Lensin saydamlığı büyük ölçüde lens hücrelerinin makromoleküler komponentlerinin çok düzenli dizilim göstermelerine ve ışığı dağıtan komponentlerdeki kırıcılık indeksi farklarının küçük olmasına bağlanmaktadır (35).

1.2.5. Lensin Saydamlığının Sürdürülmesi

Protein ve karbonhidrat metabolizması, hücre bölünmesi, hücresel farklılaşma, oksidatif hasar ve koruyucu mekanizmalar arasındaki hücresel homeostazın idamesi lensin saydamlığının devamını desteklemektedir. Su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi lensin normal su oranının korunmasında ve saydamlığının sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır (27,36).

1.2.5.1. Lensin Protein Metabolizması

Proteinler lens ağırlığının %33-35'ini oluşturmaktadırlar. İnsan vücudunda proteinlerin en yüksek oranda bulunduğu yer lenstir. Proteinler, suda eriyenler ve erimeyenler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Lensin yaklaşık %80'i suda eriyen proteinlerden meydana gelmekte ve bu proteinlerin büyük bir kısmını kristalin olarak adlandırılan protein grubu oluşturmaktadır. Eriyebilen kristalin proteinler alfa, beta ve gamma fraksiyonlar olmak üzere üç grupta sınıflandırılmaktadırlar (37). Alfa kristalin en büyük kristalin olma özelliğine sahip olup doğumdan önce oluşmakta ve embriyonik lens proteini olarak da bilinmektedir. Suda erimeyen proteinler lens liflerinin zarlarında bulunmaktadırlar. Yaşlanmayla birlikte suda erimeyen protein oranı artmakta ve lens opasiteleri oluşmaktadır. Zamanla lensin toplam protein miktarında meydana gelen azalma kataraktlı gözlerde daha belirgin olmaktadır. Erişkin saydam lenste suda eriyen proteinlerin oranı % 81 iken, kataraktlı lenste bu oran sadece % 51,4 civarındadır. Bu durum lens kapsülünden kristalin kaybını düşündürmektedir (27).

1.2.5.2. Lensin Karbonhidrat Metabolizması

Lenste enerji üretimi büyük oranda glukoz metabolizmasına bağlıdır. Glukoz, lens içine basit diffüzyon ve kolaylaştırılmış diffüzyon ile alınmaktadır. Enerjinin %70'i anaerobik glikolizden elde edilmekte ve glikoliz düzeyi heksokinaz miktarı ile sınırlı olmaktadır. Yaşlanma ile heksokinaz düzeyinin düşmesi enerji üretiminde azalmaya neden olmakta ve bunun sonucunda elektrolit metabolizmasının kontrolü de güçleşmektedir. Glikoliz sonucu oluşan laktik asitin büyük kısmı Krebs siklusunda kullanılmaktadır. Krebs siklusu ile lensteki toplam glukozun sadece %3'ü

metabolize edilmekte ve lensin toplam enerji ihtiyacının %20'si bu yolla sağlanmaktadır. Açığa çıkan karbondioksit ise basit diffüzyon ile aköze geçmektedir (38).

Enerji üretiminde kullanılan diğer bir yol ise heksozmonofosfat yoludur. Pentoz fosfat yolu olarak da bilinmektedir. Glikozun %5'i bu yola girmekte ve lenste yüksek seviyede glikoz bulunması durumunda stimüle olmaktadır. Bu yolun önemi, glutatyon redüktaz ve aldoz redüktaz aktiviteleri için gerekli olan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oluşumudur (27).

Glukozun metabolize edilmesinde kullanılan bir başka yol ise sorbitol yolu olup, %5 oranında gerçekleşmekte ve bu yolla glukoz önce aldoz redüktaz enzimi ile sorbitole sonra da polyol dehidrogenaz aracılığı ile fruktoza dönüştürülmektedir. Sorbitolün, lensin ozmotik etki ile su çekerek şişmesi sonucunda özellikle diyabetik katarakt gelişiminde önemli rolü olduğu bilinmektedir (38).

1.2.5.3. Lensin Su ve Elektrolit Dengesi

Lensin saydamlığının sağlanması açısından su ve elektrolit dengesinin korunması önemlidir. Erişkin insan lensinin %65-66'sını su oluşturmakta olup bunun %80'i kapsülde bulunmakta ve nükleusa doğru gidildikçe azalmaktadır. Hücre içi suyun regülasyonu büyük ölçüde sodyum (Na) ve potasyum (K) gibi monovalan katyonlara bağımlıdır. Sodyum- potasyum dengesi lens epitelindeki aktif bir katyon transport mekanizması ile sağlanmaktadır. Sodyum pompası en önemli transport mekanizması olup hücre membranı potasyuma karşı daha geçirgendir. Lenste kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) da denge içinde bulunmaktadır. Kalsiyum konsantrasyonunun artması ile katarakt arasında ilişki olduğu saptanmıştır (36, 39).

1.2.5.4. Lens Lipidleri

Lens lipidlerinin çoğu hücre membranlarında protein-lipid kompleksleri şeklinde bulunmakta ve kolesterol, fosfolipidler, glikosfingolipidlerden oluşturmaktadır. Lens hücre membranında bulunan asıl fosfolipid sfingomiyelindir. Kolesterol ve sfingomiyelin birlikteliği lens hücre mebranını stabil hale getirmektedir (39).

1.2.5.5. Lensde Oksidatif Hasar Ve Koruyucu Mekanizmalar

Lensin normal hücresel metabolik aktivitesi sonucu, serbest oksijen radikalleri oluşmakta ve bu yüksek reaktif kapasiteye sahip serbest radikaller lens liflerinde hasara neden olabilmektedirler. Serbest oksijen radikallerinin oluştuğu hasarlar:

1. Membran ve plazma lipidlerinin peroksidasyonu
2. DNA hasarı
3. Lens fibril hasarı
4. Korteksteki protein ve lipidlerin hasarı
5. Protein sentezi blokajı
6. Protein ve lipidlerin birbirine bağlanması ve polimerizasyonu ile suda çözünmeyen agregat oluşumudur (27,36).

Oksidasyon-redüksiyon mekanizmalarının lens için özel önemi vardır. Oksidatif hasar birçok moleküler değişikliğe yol açarak katarakt oluşumuna katkı sağlamaktadır. Oksidatif hasara karşı glutatyon önemli rol oynamakta ve lens içindeki glutatyonun tamamına yakını indirgenmiş formda (GSH) bulunmaktadır. İndirgenmiş glutatyon lenste sentezlenmekte olup; korteks ve epitelde yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Glutatyon; lensin önemli bir antioksidanı olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) ve organik peroksitleri detoksifiye ederek etki göstermektedir. İnsan ve deneysel katarakt tiplerinde glutatyon düzeyi belirgin olarak azalmakta ve lens oksidatif hasara karşı savunmasız kalmaktadır (40).

Lensin koruyucu mekanizmaları hem selüler hem de moleküler seviyede işlev görmektedir. Lensi oksidatif hasara karşı korumak için vitamin E gibi moleküller lens membranında yer almaktadır. Lenste süperoksit dismutaz (SOD) enzimi de bulunmakta olup normal lenste yüksek konsantrasyonda bulunmasına rağmen kataraktöz lenslerde konsantrasyonu azalmaktadır (39).

1.2.5.6. Fotobiyoloji

Lens, ultraviyole (UV) ışınlarına karşı duyarlı olup 295 nm dalga boyu altındaki ışınlar kornea tarafından emilirken, 295-400 nm arasındaki ultraviyole ışınlarının tamamına yakını lens tarafından absorbe edilmektedir (35). Lensin UV ışığını absorbe etmesinden sonra içinde rengini sarımsı yapan çeşitli flüorofor

oluşumları ve pigmentasyonlar oluşmaktadır. Yaşlanma ile lensteki renk değişimi arasında ilişki olduğu bildirilmektedir (41). Lensteki intrinsik floresans, aromatik yan zincir içeren fenilalanin, tirozin ve triptofan gibi aminoasit rezidülerine bağlı olarak gelişmekte iken ekstrinsik floresans ise, lens içindeki çeşitli kromoforlar tarafından üretilmektedir. Mavi, yeşil, turuncu ve kırmızı kromoforlar tanımlanmıştır (41,42).

Lens floresansının artması ile suda erimeyen lens proteinleri arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir. Bu hipoteze göre, kromoforlar proteinlerin çapraz bağlanmasına ve agregasyonuna katkıda bulunarak katarakt gelişimine yol açabilmekte ve lens proteinlerinin foto-oksidasyonunun uyarıcısı olarak da görev yapabilmektedirler. Lens komponentlerinin foto-oksidasyonu askorbik asit, glutatyon ve E vitamini gibi birçok antioksidan sistem tarafından düzenlenmektedir (39).

1.3. Katarakt

Lens intrauterin dönemden başlayarak çeşitli dejeneratif değişiklikler gösterebilmekte ve bunun sonucunda lens opasiteleri ortaya çıkabilmektedir. Etiyolojide heredite, travma, inflamasyon, metabolik bozukluklar, radyasyon ve senil değişiklikler rol oynayabilmektedir (1).

Yaşa bağlı kataraktın oluşumunda lenste serbest oksijen radikallerinin artışı suçlanmaktadır. Oksidatif hasar ile oluşturulan deneysel katarakt modellerinde en erken elektron mikroskopik değişiklik, epitelyal ve yüzeyel kortikal hücrelerin vakuolizasyonudur. Lens liflerinin şişmesiyle su içeriğinde artış olmakta ve katarakt matür hale gelinceye kadar su içeriği azalmaktadır. Katarakt gelişimi ile hücre membranındaki iyon pompasının bozulması sonucu potasyum kaybı olmaktadır. Lenste kalsiyum içeriği artmakta iken oksijen tüketimi, askorbik asit ve glutatyon miktarı ise azalmaktadır. Katarakt gelişimi sonucunda, özellikle çözünebilir protein miktarında azalma olmakta ve buna albüminoidlerdeki artış eşlik etmektedir. Bu mekanizmanın en iyi örneği senil nükleer sklerotik katarakttır (38).

1.3.1. Epidemiyoloji

Nüfusun yaşlanmasıyla, katarakta bağlı görme kayıplarının sıklığı her yıl artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü; 2020 yılında katarakta bağlı görme azlığı olan insan sayısının kırk milyona ulaşacağını bildirmektedir (3). Dünya genelinde yaşlı nüfus oranının giderek artması nedeniyle senil kataraktlar önemli sosyoekonomik etkiye sahiptirler.

1.3.2. Katarakt Nedenleri

Kataraktın başlangıcı on yıl kadar geciktirilebilirse, yıllık yapılan katarakt operasyonlarının sayısının %45 oranında azalacağı tahmin edilmekte ve bu da kataraktın risk faktörlerinin belirlenmesinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (4,5).

Kataraktın gelişmesinde birçok etken suçlanmaktadır. Yaşlanma, katarakt gelişimde en önemli risk faktörüdür. Yetmiş yaşında katarakt gelişme riski, 50 yaşındaki riske göre yaklaşık 13 kat fazladır. Senil katarakt genetik, çevresel, sosyoekonomik ve biyokimyasal nedenler olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (43).

Siyah ırkta beyazlara göre daha fazla kortikal ve nükleer katarakt geliştiği tespit edilmiştir (43). Kortikosteroidler, fenotiazinler, klorokin, miyotik kolinerjikler ve trankilizanlar gibi ilaçların katarakt gelişimine neden olduğu bilinmektedir (44,45). Ayrıca iyonize radyasyon da katarakta neden olabilmektedir (46). Katarakt ve ultraviyole B (UV-B) radyasyonu arasındaki ilişkiye destek, kataraktın prevelansı ve güneş ışığına maruz kalınan saat arasındaki ilişkiyi gösteren coğrafik korelasyon çalışmalarından gelmektedir (46,47).

Sigara içenlerde nükleer lens opasitelerinde artmış bir risk olduğu gösterilmiştir (4,5). Sigara dumanı içinde yer alan siyanidin, lens proteinlerinin karbamilasyonuna neden olarak katarakt gelişimine katkıda bulunmaktadır. Antioksidanlar, özellikle de A, C ve E vitaminleri lensi oksidatif hasardan koruma potansiyeline sahiptir. Yüksek miktarda antioksidan alımı ve yüksek serum antioksidan seviyelerinin katarakt oluşumunu engellediği gösterilmiştir (46). Hipoparatiroidide görülen hipokalsemi de katarakt gelişimine neden olabilmektedir. Katarakt sistemik hastalıkların bir komponenti olarak karşımıza çıkabilmekle birlikte glokom, üveit, retinal dejenerasyonlar (retinitis pigmentoza, girat atrofi, dejeneratif miyopi) ve retina dekolmanı gibi birçok oküler hastalıkla birlikte de görülebilmektedir. Gözün künt ve penetran travmaya maruz kalması da katarakta neden olabilmektedir (46).

1.3.3. Kataraktların Sınıflandırılması

A- Anatomik Lokalizasyonuna Göre

- 1- Kortikal
- 2- Nükleer
- 3- Kapsüler
- 4- Mikst

B- Etiyolojisine Göre

- 1- Konjenital (doğumsal) ve İnfantil
- 2- Senil
- 3- Travmatik
- 4- Komplike
- 5- Sekonder
- 6- Patolojik (sistemik)

Bu bölümde doğumsal-infantil, senil ve sistemik hastalıklarla görülen kataraktlara yer verilmiştir.

1.3.3.1. Doğumsal-İnfantil Kataraktlar

Doğumdan sonra ilk 3 aya kadar gelişen kesafetlere doğumsal kataraktlar, 3. ile 18. ay arasında gelişen kesafetlere ise infantil kataraktlar denilmektedir (48). Ambliyopi, şaşılık ve nistagmusu sebep olmaları nedeniyle özel bir öneme sahiptirler. Görme düzeyi; kataraktın boyutu, lokalizasyonu ve yoğunluğu ile ilişkili olup etyolojide maternal enfeksiyonlar, sistemik hastalıklar, heredite ve lokal oküler hastalıklar suçlanmaktadır (49-51).

1.3.3.2. Senil Kataraktlar

En sık görülen katarakt tipi olarak önde gelen sağlık problemlerinden biri olan senil kataraktın fizyopatolojisi multifaktöriyeldir. Yaşlanmayla lens epitel tabakası ve korteksi yoluyla nükleus hücrelerine giriş yapan su, besinler, antioksidanlar ve suda çözünen düşük molekül ağırlıklı metabolitlerin miktarında azalma olmakta ve bu nedenle yaşa bağlı olarak meydana gelen ilerleyici oksidatif hasar, senil katarakt gelişimine yol açmaktadır. Oksidatif maddelerin üretiminde artma ve antioksidan vitaminlerin azalması katarakt patogeneğinde önemlidir (52).

Senil katarakt temel olarak 3 kısımda incelenir.

1. Kortikal
2. Nükleer
3. Arka subkapsüler

1.3.3.2.1. Kortikal Katarakt

En sık görülen senil katarakt tipidir. Kortikal kataraktlar genellikle bilateral olarak görülmekte ve görme keskinliği üzerine olan etkileri, opasitenin görsel eksen üzerindeki lokalizasyonuna bağlı olarak değişmektedir (48).

Kortikal tabaka nükleusa göre daha az yoğun olduğu için elektrolit dengesizliğine bağlı aşırı hidrasyona daha yatkındır (53,54). Erken bulgular lenste vakuollerin izlenmesi ya da lens liflerindeki ayrılımdır. Biyomikroskopik olarak ileri dönemlerde periferik kama şeklinde opasiteler ve lens içinde lameller ayrılmalar dikkati çekmekte ve araba tekerleği şeklinde çevresel bir yapı oluşmaktadır. Kortikal kataraktlar en iyi retroilluminasyon ile saptanmaktadır (48).

1.3.3.2.2. Nükleer Katarakt

Yaşlanmayla birlikte lens nükleusunun sertleşmesi ve renginin koyulaşması söz konusudur. Nükleer katarakt, lensteki sklerotik değişikliklerin bir sonucu olup uzak görmeyi yakın görmeden daha çok etkilemektedirler. Erken evrelerde, nükleusun sertleşmesi lensin kırıcılık indeksinde artmaya ve buna bağlı miyopik kaymaya neden olmaktadır (55).

Nükleer kataraktlar, lensin yapısal proteinlerinin fizyokimyasal değişikliklere uğraması ile ilişkilidir. Oksidasyon, nonenzimatik glikozilasyon, proteolizis, deamidasyon, fosforilasyon ve karbamilasyona bağlı olarak yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin formasyonu ve agregasyonu ışığın geçişine engel olmaktadır. Nükleer lens proteinlerinin kimyasal modifikasyonu lens renginin önce sarıya daha sonra kahverengiye ilerlemiş vakalarda ise siyaha dönüşmesine (katarakta nigra) neden olmaktadır. A (alfa) kristalin proteininin, agregasyonu önleyerek katarakt gelişimini engellediği düşünülmektedir (56,57).

1.3.3.2.3. Arka Subkapsüler Katarakt

Arka subkapsüler katarakt genellikle nükleer ve kortikal katarakta göre daha erken yaşta görülmektedir. Erken evrelerde hastalar parlak ışıktaki kamaşma ve görme azlığından şikayetçi olabilmekte ve yakın görme keskinliği uzak görme

keskinliğinden daha fazla etkilenebilmektedir. Santrale lokalize olduklarında göz dibi muayenesini engelleyebilmektedirler. Arka subkapsüler katarakt radyasyon, steroid alımı, diyabet, yüksek miyopi ve inflamasyon sonucu da oluşabilmektedir (48).

1.3.3.3. Sistemik Hastalıklarda Katarakt

Katarakt sistemik bozukluklara eşlik edebilmekte ve diyabet, galaktozemi, kronik böbrek hastalığı, miyotonik distrofi gibi birçok hastalıkla birlikte görülebilmektedir (39).

Diyabetik Katarakt

Diabetes Mellitus (DM); lensin refraktif indeksini ve akomodatif kuvvetini etkileyebildiği gibi şeffaflığını da bozabilmektedir. Diyabette lens içine glukoz diffüzyonu artmakta ve aldoz redüktaz ile hücre membranlarından geçemeyen sorbitol oluşmaktadır. Lens içinde biriken sorbitole bağlı olarak osmotik denge bozulmakta ve lens içine su girişi artmaktadır. Glikasyon, kristalinlerin karbamilasyonu gibi posttranslasyonel protein modifikasyonu ve artmış oksidatif hasar gibi mekanizmaların tümü katarakt oluşumundan sorumlu olabilmektedir. Katarakt başlamadan önce miyopi gelişebilmekte ve daha sonra lens hızla kataraktöz hale gelebilmektedir. Ön ve arka lens korteksinde kartanesi görünümlü gri beyaz subkapsüler opasiteler gözlenmektedir (58).

Galaktozemik Katarakt

Galaktozemi, galaktozun glukozla dönüşmesinin yetersiz kaldığı otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Kataraktın sebebi galaktitolün lens içinde birikmesi ve lens liflerinin ozmotik olarak şişmesidir. Tipik olarak, retroillüminasyonda nükleus ve derin kortekste kesifleşme artışının neden olduğu yağ damlası görünümü ortaya çıkmaktadır. Katarakt genellikle ön ve arka subkapsüler tipte olup, daha sonra nükleer katarakta ve matür katarakta dönüşebilmektedir. Kataraktın ilerlemesi diyetten galaktozun çıkarılması ile durdurulabilmektedir (59).

1.4. Klinik

Kataraktı olan bir hasta değerlendirilirken, lensteki opasiteye bağlı olarak gelişen görme azalmasının hastanın günlük hayatını ve görme kalitesini ne kadar etkilediği belirlenmelidir.

Kataraktın ve semptomlarının gelişimi genellikle yavaş seyirli olmakla birlikte hastaların görme düzeyinde azalma, kamaşma, bulanık görme ve çift görme gibi şikayetleri olabilmektedir. Farklı tipteki kataraktların görme keskinliği üzerine farklı etkileri olabilmektedir. Nükleer katarakt uzak görmeyi yakın görmeden daha çok etkileyebilmektedir. Arka subkapsüller katarakt yakın görmeyi büyük oranda etkileyebilmekte iken kortikal kataraktta ise görme eksenini tutuluncaya kadar görme keskinliği korunabilmektedir (48).

1.5. Tedavi

1.5.1. Medikal Tedavi

Farmakolojik olarak katarakt oluşumunun önlenmesi, devam etmekte olan bir araştırma konusudur. Lensi oksidatif hasardan koruma potansiyeline sahip yüksek serum antioksidan seviyelerinin kataraktı önleyici etkisi olduğu bilinmektedir (4-6). Beaver Dam Göz Çalışması, yüksek serum β karoten seviyelerinin nükleer skleroza karşı koruyucu etkisini desteklemektedir (60). Kuzey Hindistan'da yapılan bir çalışmada, kan antioksidan dağılımı ile katarakt arasında ters orantı olduğu tespit edilmiştir (61). Günümüzde katarakt oluşumunu önleyecek veya geciktirecek kanıtlanmış bir tıbbi tedavi seçeneği bulunmamaktadır.

1.5.2. Cerrahi Tedavi

Tıbbi tedavisi araştırma konusu olan kataraktın cerrahi tedavisinin 3000 yıllık bir tarihi vardır. Katarakt cerrahisine ait en eski yazılı kanıt, M.Ö. 600 yıllarında Hindu cerrah Susruta tarafından yazıldığı düşünülen Hint yazıtlarıdır. Cerrahi yöntem, açılan bir sklerotomiden künt bir aletle girilerek kataraktlı lensin vitreus kavitesine itilmesinden ibaretti (62).

Lensin, anatomik yerini tesbit etmek 1600'lü yıllarda mümkün olmuştur. 1752'de Fransa'da Jacques Daviel gözün alt yarısında limbustan yaptığı insizyonla, ön kamaraya girerek lensi göz dışına çıkarmıştır (63). Göz içine lens yerleştirme fikri ilk olarak MÖ 2. yüzyıla dayanırsa da, I. Dünya Savaşı sırasında İngiliz savaş pilotlarında travma sonrası göze giren pleksiglass maddesinin herhangi bir reaksiyon vermediği gözlenmiş ve aynı maddeden yapılmış göz içi lensler tasarlanmıştır (64). 1949'da Ridley afak bir gözde pupilin arkasına akrilik bir lens yerleştirerek oftalmolojide bir çığır açmıştır (63,64).

Günümüzde kataraktın özelliğine göre değişik cerrahi teknikler uygulanmaktadır (65).

- İntrakapsüler katarakt ekstraksiyonu (İKKE)
- Ekstrakapsüler katarakt ekstraksiyonu (EKKE)
- Fakoemülsifikasyon
- Femtosaniye lazer yardımcı Fako cerrahisi

1.6. Deneysel Katarakt Modelleri

1.6.1. Selenit Modeli

İlk olarak 1978 yılında Ostadalova ve arkadaşları tarafından deneysel katarakt modeli oluşturulmasında kullanılan sodyum selenit, günümüzde deneysel araştırmalarda katarakt oluşturmak için en sık tercih edilen farmakolojik ajanlardan biridir (66). Selenit katarakt modelinde, Sprague-Dawley cinsi yeni doğan ratlara, doğumu takiben 9-11. günde subkütan olarak enjekte edilen tek doz 30 nmol/g selenit ile yaklaşık 5-7 gün sonra nükleer katarakt oluşumu bildirilmektedir (67).

1.6.1.1. Etki Mekanizması

Selenit kataraktı, insan kataraktına birçok açıdan benzerlik göstermekte ve oksidatif strese bağlı lens hasarı sonucu oluşmaktadır. Kalsiyum ve suda erimeyen protein miktarı artarken, glutatyon ve suda eriyen protein miktarında azalma gözlenmekte, proteoliz meydana gelmekte ve vezikül formasyonu görülmektedir. Bu modelde oksidatif stres ile lens epitelinde metabolik değişiklikler, kalsiyum birikimi, proteoliz, kristalin presipitasyonu ve hücre iskeletinin kaybı gibi birçok biyokimyasal olaylar meydana gelmektedir (39,68).

Senil katarakt gruplarının büyük çoğunluğunda lenste kalsiyum konsantrasyonu artmaktadır. Selenit katarakt modelinde de nükleusta kalsiyum yüksek oranda tespit edilmiştir. Teorik olarak, lens kalsiyumundaki artma, Ca-ATPaz pompasının direkt olarak inhibisyonuna bağlı olabilmektedir. Selenit uygulanan ratların lenslerinde Ca-ATPaz aktivitesinin % 50 oranında azaldığı gösterilmiş olmakla birlikte Ca-ATPaz pompasının inhibisyonu, kalsiyum birikimini açıklayacak çok önemli bir mekanizma olarak bilinmektedir (48). Kalsiyum dengesindeki bozulma, antioksidanlar tarafından önlenebilmektedir (39). Selenit, lens lipidlerinin peroksidasyonuna ve ön kamara sıvısında hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumuna sebep

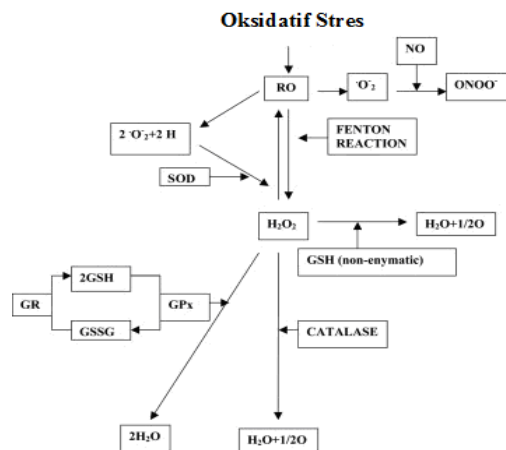
olmakta ve oksidatif hasarın önlenmesinde büyük bir görevi olan redükte glutatyonun konsantrasyonunun azaltmaktadır (69).

1.7. Serbest Radikaller

Bir atom veya molekülün yapısındaki elektronlar, çekirdeğin etrafında yer alan yörüngede bulunmaktadır. Her bir yörüngede bulunan iki elektron eşleşme eğilimindedir. Serbest radikal, dış yörüngesinde eşleşmemiş yani serbest bir elektron bulunduran atom veya moleküle denir (70, 71).

Biyomoleküllerin çoğu, atomları birbirlerine kovalent bağlarla bağlı nonradikal yapılardır. Atomlar arası kovalent bağlar, elektron çiftlerinin paylaşılmasıyla oluştuğundan dolayı serbest radikallerde yarım bağ olduğu düşünülmekte ve bu özellik onları kimyasal olarak reaktif yapmaktadır (72, 73).

Serbest radikaller aerobik hücrelerin tüm fonksiyonlarında, metabolizma sırasında veya patolojik durumlarda yan ürün olarak meydana gelebilmekte ve hücrelerde geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz değişikliklere neden olabilmektedirler. Bu değişiklikler oksidasyon, fragmentasyon, köprüleşme (disülfid bağlantısı, protein-protein bağlantısı, protein-lipit bağlantısı) ve protein sarmalında kesilme şeklinde olabilmekte ve bunun sonucunda ciddi hücre, doku ve organ hasarı meydana gelebilmektedir (73). Serbest radikaller hücre metabolizmasının bir ürünü olarak sürekli üretilmekte ve antioksidan savunma mekanizmaları ile dengede tutulmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. Oksidatif stres ve antioksidan sistem

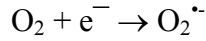
GPx: glutatyon peroksidaz, **GR:** glutatyon redüktaz, **GSH:** redükte glutatyon, **NO:** nitrik oksit, O_2^- : superoksit, **ONOO:** peroksinitrit, **RO:** reaktif oksijen, **SOD:** superoksit dismutaz

1.7.1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri

Serbest radikaller, oksijen merkezli olan ve oksijen merkezli olmayan serbest radikaller olmak üzere 2 grupta incelenmektedirler. Oksijen merkezli serbest radikallerin başlıcaları süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$)'dir. Ayrıca hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikal olmayan fakat etkileri ve sonuçları sebebiyle kimyasal aktiviteleri yüksek reaktif oksijen bileşikleri (ROB) de mevcuttur (74).

Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$)

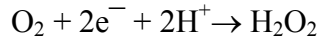
Biyolojik sistemlerde en fazla bulunan radikal öncülü moleküler oksijendir. Oksijenin tek bir elektronla indirgenmesi ile süperoksit radikali oluşmaktadır.



Başlıca kaynağı sitoplazmadaki P450 sistemi olmakla birlikte dismutasyon yolu ile H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarını indirgemesi sebebiyle önemli bir radikaldir (75).

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit radikali oksijen molekülüne iki adet elektron eklenmesi ile oluşmaktadır. Süperoksit radikali suyun bulunduğu ortamlarda dismutasyona uğrayarak hidrojen peroksit radikalini oluşturmaktadır (76).



Biyolojik sistemlerde H_2O_2 'in asıl kaynağı $O_2^{\bullet-}$ 'in dismutasyonu olmakla birlikte bu reaksiyon spontan veya süperoksit dismutaz (SOD) ile enzimatik olarak gerçekleşmektedir.

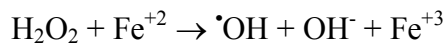


Hidrojen peroksit biyolojik membranları geçebilmektedir (76).

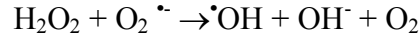
Hidroksil radikali ($\bullet OH$)

Hidroksil radikalinin reaktivitesi yüksek olmakla birlikte yapıldığı hücre bölümünden daha uzağa difüzyonuna gerek kalmadan reaksiyona girebilmektedir. Yarı ömrü kısa olmakla birlikte önemli iki kaynağı Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonudur (77,78).

Fenton reaksiyonu aşağıda belirtildiği gibi gerçekleşmektedir:



Haber-Weiss reaksiyonu aşağıda belirtildiği gibi gerçekleşmektedir:

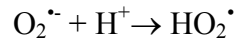


Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Singlet oksijen eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal olmamakla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formu olarak bilinmektedir (76).

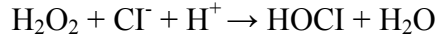
Hidroperoksit radikali ($\text{HO}_2^{\cdot}$)

Süperoksitten daha reaktif olan hidroperoksit radikali, süperoksit radikalının protonlanmasıyla oluşmaktadır (79).



Hipoklorik asid (HOCl)

Nötrofil ve makrofajlar tarafından enzimatik olarak üretilmekte ve bakterisit etki için salınmaktadır (79).



1.7.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Organizmada oksidatif strese neden olan radikal oluşumu endojen ve çevresel faktörleri içeren eksojen mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Endojen faktörler mitokondriyal sızıntı, solunumsal patlama, enzim reaksiyonları, otooksidasyon tepkimeleridir. Çevresel faktörlerin başlıcaları ise sigara dumanı, hava kirliliği, ultraviyole ışınları, iyonize radyasyon ve ksenobiotiklerdir (74-79).

1.7.3. Serbest Radikallerin Etkileri

DNA ve Nükleik Asitlere Etkileri

İyonize radyasyona maruz kalınması sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona neden olmaktadır. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girebilmektedir. Hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hücre ölümüne neden olabilmektedir (80,81).

Proteinlere Etkileri

Serbest radikaller, aminoasitler ile reaksiyona girerek sülfidril gruplarının kaybına, karboksil gruplarının oluşmasına yol açmakta ve protein yapısındaki

enzimlerin spesifik aktivitelerini ortadan kaldırmaktadırlar. Hasar gören proteinler ya proteoliz ile ortadan kaldırılmakta ya da onarılmaktadırlar (82).

Membran Lipidlerine Etkileri

Hücre membranlarındaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatmaktadırlar. Lipid peroksidasyonu, membranda bulunan (fosfolipid, glikolipid, gliserid ve sterol yapısında yer alan) poliansatüre yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilmekte ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yaymaktadırlar. Lipid peroksidasyonu, ciddi hücre hasarlarına yol açan değişiklikler yaparak hastalık patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır (76,82).

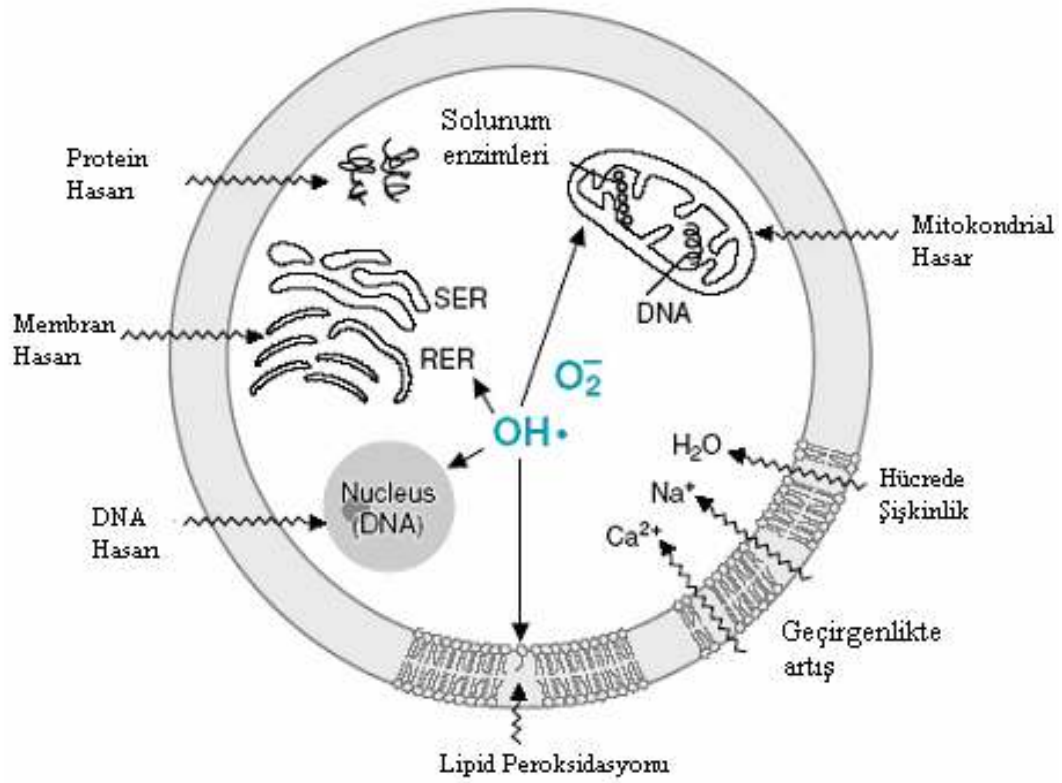
Karbohidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Serbest oksijen radikalleri bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbohidratların parçalanmalarına da yol açabilmektedirler (83).

1.8. Antioksidan Savunma Sistemleri

1.8.1. Antioksidanlar

Organizma içindeki serbest oksijen radikalleri geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan birçok tepkimeye neden olmaktadır (Şekil 3). Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücresel, mitokondrial, nükleer ve endoplazmik zarlarda lipid peroksidasyonunu başlatmakta ve mitokondrial hasara neden olan Ca^{+2} 'un hücreye akın etmesine neden olmaktadır (84).



Şekil 3. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarı

Antioksidanlar, dokulardaki lokalizasyonlarına göre intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenmekte olup fonksiyonlarına göre ise radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve oluşan radikallerin dokudaki etkilerini engelleyen (E vitamini, ubikinon, retinoik asit, β karoten, glutatyon, ürat) antioksidanlar olarak iki kategoride sınıflandırılmaktadırlar. Antioksidanlar etkilerini 6 değişik mekanizma ile göstermektedirler (76).

1.Oksijen ile reaksiyona girerek lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilmektedirler.

2.Metal iyonlarını bağlayarak radikal oluşum reaksiyonlarını önleyebilmektedirler.

3.Anahtar rol oynayan süperoksid ve hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen türlerini uzaklaştırmaktadırlar.

4. Hidroksil, alkoksil, peroksil radikallerini uzaklaştırabilmekte ve peroksitleri alkol gibi nonradikal ürünlere dönüştürerek etkilerini gösterebilmektedirler.

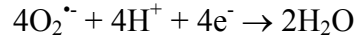
5. Başlamış olan oksidan zincirini kırmaktadırlar. Zincir oluşumuna neden olan serbest radikallerle reaksiyona girebilmekte ve yağ asidi zincirlerinden hidrojen iyonu salınımını önleyebilmektedirler.

6. Membran lipitlerini etkileyerek peroksit oluşturabilen oksijeni baskılayabilmektedirler (76).

1.8.1.1. Enzimler

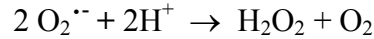
Sitokrom oksidaz

Mitokondride solunum zincirinin en son basamağında yer alan, bakır içeren bir enzimdir. Solunum zincirindeki görevini sürdürürken, süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlamaktadır (85).



Süperoksit dismutaz (SOD)

Reaktif oksijen türlerine karşı primer antioksidan enzim süperoksit dismutazdır. Süperoksit dismutaz, süperoksit molekülünün hidrojen peroksit ve moleküler oksijene tepkimesini katalizler (82,86).



Süperoksit dismutazın fizyolojik görevi, hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazla iken ekstrasellüler sıvılarda ise aktivitesi düşük olmaktadır (85-88).

Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzim olup her biri selenyum atomu içermekte olan dört alt tipi bildirilmiştir (82). Hidrojen peroksid ve lipid hidroperoksidlerin yıkımını katalizleyerek membran lipitlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korumaktadır. Hidroperoksidler enzim aktivitesi ile indirgenmekte iken glutasyon ise yükseltgenmektedir. Glutasyon peroksidazın hidrojen peroksid ve hidroperoksidleri indirgemesi glutasyon redüktaz ve NADPH mevcudiyetine bağlıdır. Glutasyon redüktaz, glutasyonunun okside formunun redüksiyonundan sorumludur. Glutasyon peroksidaz aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına yol açmakta ve bu durum özellikle selenyum eksikliği olan durumlarda karşımıza çıkmaktadır. Vitamin E yetersizliği durumlarında membranları oksidatif strese karşı GSH-Px korumaktadır (82, 89).

Katalaz

Dokularda farklı düzeyde bulunabilen bir hemoprotein olan katalaz başlıca mitokondride, peroksizomlarda ve nadiren de sitozolde bulunmaktadır. Katalaz ve SOD birlikte çalışmakta olup birinin yaptığı hidrojen peroksidi diğeri su ve oksijene dönüştürmektedir. İnsan eritrositleri katalazdan zengin olup kandaki katalaz aktivitesi eritrositlerden kaynaklanmaktadır (82).

1.8.1.2. Enzim Olmayanlar

Lipid fazda bulunanlar: Vitamin E, karotenler, flavonoidler (74,79).

Sıvı fazda bulunanlar: Albumin, askorbik asit, bilirubin, ferritin, glutatyon, laktoferrin, melatonin, ürat ve sistein (74,79).

Karotenler (A Vitamini)

Alkoller (retinoller), aldehitler (retinaller) ve retinoik asitler başta olmak üzere A vitamininin çeşitli türleri bulunmaktadır. A vitamininin en etkili ve en yaygın türü β - karoten'dir (90).

Beta karotenler, hücreleri oksidan strese karşı üç farklı şekilde korurlar:

- a. Flavinler ve porfirinler gibi triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama
- b. Singlet oksijeni baskılama
- c. Peroksil radikallerini temizleme

A vitamininin antioksidan etki yanında hücre ve intrasellüler zar dayanıklılığının sağlanmasında, epitel dokunun bütünlüğünün sürdürülmesinde ve glikoprotein sentezinde de rolü olduğu bilinmektedir (90).

Askorbik Asit (C Vitamini)

Askorbik asit plazma ve hücre zarında bulunan major antioksidanlardan biridir. Suda çözünabilir düşük moleküler ağırlıklı bu antioksidan kollajen sentezi, demir absorpsiyonu ve hücrelerin antioksidan durumunun korunmasında gereklidir. Tokoferoller, peroksidler ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerini redüklemektedir.

Askorbik asitin antioksidan olarak esas görevi lipit hidroperoksitlerinin oluşumunu engellemektir. Lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek, lipidleri ve zarları oksidan hasara karşı korumaktadır (91).

E Vitamini

Tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. Biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini d- α -tokoferoldür. Güçlü bir antioksidan olarak, zarlarda bulunan fosfolipidlerin yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Yağda çözünen fakat suda çözünmeyen bu bileşikler oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve ısıya dayanıklıdır (92).

Tokoferoller, eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren ve indirgeyebilen hidroksil grubu içermektedirler. Radikal reaksiyonları sırasında zincir kırıcı etkiye sahip olup glutatyon ve askorbik asit ile antioksidan etkisi artmaktadır (93,94).

Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidan sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan polifenollerdir. Antioksidan, antiarteriyosklerotik, antiinflamatuvar, antitümör, antitrombojenik, antiviral, antiallerjik etkileri vardır. Flavonlar, flavonollar, flavanonlar, kateşinler, isoflavonlar ve antosiyanidinler olmak üzere altı sınıfa ayrılmaktadırlar. Flavonoidler, lipid peroksidasyonunu serbest oksijen radikallerini bağlayarak ve radikal oluşturuca enzimleri inhibe ederek engellemektedirler. Flavonoidler tarafından temizlenebilen ve formasyonları inhibe edilebilen reaktif oksijen ürünleri; süperoksit anyonları, hidroksil radikali, alkol radikali, peroksil radikali ve perhidroksi radikali (95).

1.8.2. Glutatyon (GSH)

Tripeptid yapıdaki GSH (L- γ -glutamil-L-sisteinil-glisin), oksidatif strese karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Glutatyon, redoks döngüsünde substrat olarak rol alırken, reaktif oksijen bileşiklerine karşı direkt olarak da savunma yapabilmektedir. Suda çözünen, önemli bir antioksidan ve indirgeyici ajan olmakla birlikte birçok metabolik görevi de vardır (96).

Glutatyonun hücresel düzeyi γ -glutamil transpeptidaz, glutatyon sentetaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktazı içeren enzim sistemi tarafından korunmaktadır (97).

İndirgenmiş glutatyon çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenerek, okside glutatyon (GSSG) dönüşmektedir. Yükseltgenmiş glutatyonun tekrar indirgenmesi

NADPH'in da rol aldığı bir reaksiyonla olmakta ve bu şekilde dokularda GSSG/GSH oranı düşük tutulmaktadır (98).

Glutasyon, lensin oksidatif hasardan korunmasında önemli rol oynamaktadır. Glutasyon sentezinden sorumlu enzimlerin, yaşa bağlı gelişen kataraktı azalttığı gösterilmiştir (39). Lensteki glutasyonun tamamına yakını redükte formda (GSH) bulunmakta ve glutasyon sentezi için enerji kaynağının, glikolizden elde edilen ATP'den sağlandığı tahmin edilmektedir (39).

Lensin glutasyon konsantrasyonu yüksektir. İnsan ve deneysel katarakt tiplerinin tümünde glutasyon konsantrasyonunun azaldığı saptanmıştır. Glutasyonun hücre içi konsantrasyonunun azalması, lipid peroksidasyonuna ve birçok hücresel sistemin serbest radikaller tarafından hasara uğratılmasına yol açmaktadır (69).

1.8.3. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit, hücre lipidlerinin oksidasyonu ile yapılarının bozulması sonucu oluşan ana metabolittir. Yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir fakat lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi korelasyon göstermektedir. Plazma ya da idrardaki miktarı oksidan stresin iyi bir göstergesidir. Peroksidatif yol boyunca birçok reaktif ara ürün oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu ile oluşan MDA, DNA ve proteinlere çapraz bağlanarak bunların fonksiyon ve aktivitelerini değiştirebilmektedir. Peroksidasyon ürünleri, aterosklerozda, iskemik ve travmatik beyin hasarında önem arz etmektedir. Membran fosfolipitleri ve LDL serbest radikallerin etkilerine karşı en duyarlı makromoleküllerdir (99).

Lipid peroksidasyonuna neden olan en önemli radikaller; O_2 ve $OH^\bullet$ radikalleridir. Lipid peroksidasyonu sonucunda, özellikle doymamış yağ asitlerinin çift bağlarının oksidasyonu membran akışkanlığında azalmaya, membran salınım fonksiyonlarında düzensizliğe ve membran geçirgenliğinde bozulmaya neden olmaktadır (100).

1.8.4. Total Oksidan-Antioksidan Seviye

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan

durumlara karşı savunma sistemini sürdürebilmesinde kan önemli rol oynamaktadır. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (101).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin, seruloplazmin, ürik asit, E vitamini ve C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır (102).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunmakta ve sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatın, askorbatın ise tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (101,102).

1.8.5. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit hem fizyolojik hem de patofizyolojik süreçlerde önemli role sahip bir serbest radikaldir. Fizyolojik şartlar altında NO, serbest oksijen radikali ile reaksiyona girerek, güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturmaktadır. Peroksinitrit, hücresel proteinlerin, lipidlerin ve LDL partiküllerinin oksidasyonu veya direkt hücre toksisitesi ile vasküler fonksiyonlar üzerinde zararlı etkilere sahiptir (103).

Nitrik oksit muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle sentezlenmektedir. Nitrik oksit sentaz (NOS) sinir dokusunda, vasküler endotelde, trombositlerde ve diğer dokularda bulunmaktadır. Nitrik oksit sentazın (NOS), nöronal NOS (tip I, nNOS), indüklenebilir NOS (tip II, iNOS) ve endotelial NOS (tip III, eNOS) olmak üzere farklı lokalizasyonlara sahip üç izoenzimi bulunmaktadır. Nöronal NOS (tip I, nNOS) nöral iletide foksiyon gören Ca^{2+} ve kalmodulin bağımlı esas izoformlardan biridir. Endotelial NOS (tip III, eNOS) böbreklerde bulunmaktadır. Endotelial NOS (tip III, eNOS) vasıtasiyla oluşturulan nitrik oksit

(NO•), vasküler düz kas hücrelerinin relaksasyonu için en önemli sinyaldir. İndüklenebilir NOS (tip II, iNOS) normal şartlar altında bulunmamakta ve inflamasyon veya enfeksiyon durumlarında sitokinler veya endotoksinler tarafından indüklenip üretilmektedir (103).

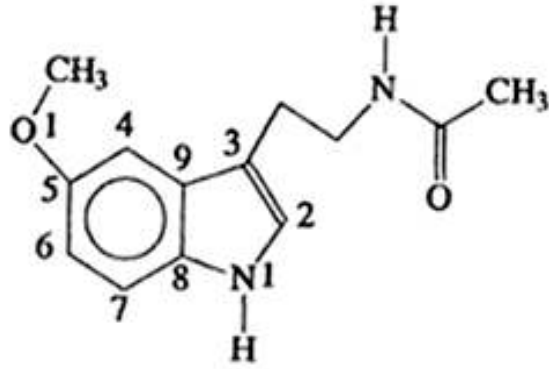
Nitrik oksitin göz üzerine birçok etkileri vardır. Nitrik oksit sentazın isoformları gözde; retina, silier cisim, iris, konjktiva ve korneada bulunmaktadır. Nitrik oksit düşük konsantrasyonda aköz hümörde de bulunmaktadır. Bir miktar nitrik oksitin normal oküler fonksiyonlar için gerekli olduğu bilinse de fazla miktarda üretilmesi iNOS ‘u aktifleyerek üveit, retinit, glokom ve katarakt gibi hastalıklara yol açabilmektedir (104).

Ratlarda selenit ile katarakt oluşumunda iNOS indüksiyonu olduğu gösterilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda kataraktojenik etkisi oksidatif strese yol açmasına bağlıdır. Kataraktlı gözlerde aköz hümörde NO seviyelerinin yükseldiği saptanmış olup yapılan başka bir çalışmada ise kataraktöz lenslerde NO metaboliti olan nitrit seviyelerin yükseldiği tespit edilmiştir (104,105).

1.9.1. Melatonin

Melatonin, pineal bezden salgılanan ve vücudun sirkadiyen ritmini düzenleyen bir hormondur. Vücudun uyku-uyanıklık siklusunu düzenlediğine inanılan melatonin karanlıkta salgılanmaktadır (106). Melatonin (N-asetil 5-metoksitriptamin), serotonin kaynaklı güçlü bir antioksidan indol türevi olup ilk kez sığır epifiz bezinin pinealosit adı verilen hücrelerinden salgılandığı keşfedilmiş ve bir hormon olarak değerlendirilmiştir (107).

Melatonin hücrenin bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin engelini de kolayca geçebilmekte ve bu nedenle çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterebilmektedir. Yapısındaki pirol halkasının antioksidan özelliğinde rolü büyüktür (Şekil 4). Fizyolojik şartlarda, melatoninin pirol halkasının yıkılımı, N1-asetil-N2-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Bu metabolitin güçlü radikal yok edici özelliği vardır (108).



Şekil 4. Melatoninin kimyasal yapısı

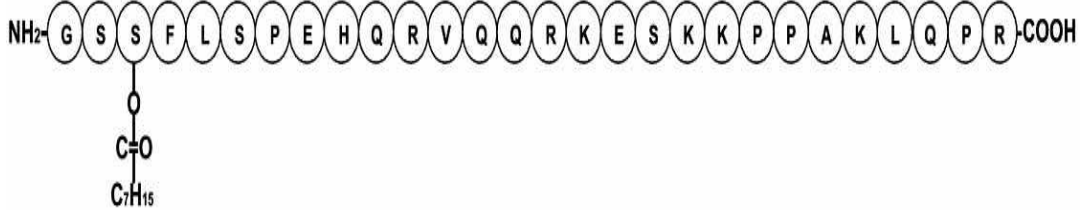
Melatoninin antioksidan özellikleri 90'lı yılların başlarından beri bilinmekte olup serbest radikalleri, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini nötralize edebilme özelliğinin yanı sıra; pek çok antioksidan enzimin de sentezini stimüle ettiği saptanmıştır (109). Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan sistem enzimlerinin üretimini arttırmaktadır. Melatoninin antioksidan mekanizmaları, C ve E vitamini gibi klasik antioksidanlardan farklılık göstermektedir. Klasik antioksidanların redoks siklusuna girerek oksidasyonu önlemeleri yanında, artırma durumları da olabilmekte iken melatonin; üriner sistemle atılabilen çok sayıda AFMK gibi metabolitler oluşturarak, oksidanlarla savaşmakta ve redoks siklusuna girmemektedir (110). Bu sebeple oksidasyona neden olmamakta ve diğer antioksidanlardan farklı olarak terminal antioksidan adını almaktadır. Kaskad reaksiyon ile antioksidan özelliği artmakta ve diğer antioksidanlarla da sinerjistik etkilerinden dolayı en etkili antioksidan olarak bilinmektedir (110).

1.9.2. Ghrelin

İlk olarak 1999 yılında keşfedilen ghrelin temel olarak mide fundusundan salınan lipopeptid yapıda bir hormondur (11). Ghrelin ismi, gelişim anlamına gelen “ghre” ile salgılatma anlamına gelen “relın” sözcükleri birleştirilerek türetilmiştir (11). Hipotalamus, hipofiz, tükürük bezi, tiroid bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreas, MSS, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde de sentezlenmekte olan ghrelinin mRNA' sı bir çok dokuda tespit edilmiştir (111).

Ghrelin, orta zincirli bir yağ asidi olan n-oktanoik asit tarafından 3. sıradaki rezidünün serin aminoasidine modifiye edildiği 28 aminoasitli bir peptiddir (Şekil 3).

Serin asilasyonu ghrelinin biyolojik aktivitesi, reseptöre bağlanması ve reseptör aktivasyonu için gereklidir (11). N-terminaldeki 7 aminoasit dizisi ve 3. rezidünün açıl modifikasyonu biyolojik aktivitesi için önemlidir (112).



Şekil 5. Ghrelinin kimyasal yapısı

İnsan ghrelin geni 3p25-26 kromozomu üzerinde lokalizedir. Dört ekson ve üç introndan meydana gelmektedir. Ghrelinin genomik yapısının analizi, matür peptidin ekson 1 ve 2’de şifre edildiğini göstermiştir (113).

Ghrelinin çok sayıda fizyolojik fonksiyonu olmakla birlikte bunlar arasında growth hormon (GH) salınımını stimüle etme özelliği ilk sırada yer almaktadır. Ghrelinin, GH salınımını stimüle eden growth hormon releasing hormondan (GHRH) daha etkili olduğu gösterilmiştir (11).

Ghrelinin; adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir. Ghrelin hormonu, yağ doku (adipoz doku)’dan salgılanan leptin hormonuna zıt etki göstermektedir. Arkuat nükleus (ARN) leptinin endokrinolojik ve fizyolojik etkilerine aracılık etmekte ve yoğun şekilde ghrelin reseptörü de içermektedir. Ghrelinin başlıca etkileri Tablo 1’de özetlenmiştir (114).

Tablo 1. Ghrelinin 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
Oksidatif stresi azaltır

Ghrelin; büyüme, iştah, yağ birikimi ve glukoneogenezisi artırması gibi etkileri olan anabolik hormonlardan biri olup bu etkilerinin yanısıra antioksidan özelliği ile dokularda oluşabilecek oksidatif stresi ve apoptozisi de önlemektedir (114). Ghrelinin; lipid peroksidasyonunu önlediği ve superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunu artırdığı Zwirski-Korcza ve ark. (23) tarafından gösterilmiştir. Başka bir çalışmada subaraknoid kanamaya bağlı gelişen oksidan hasarda ghrelinin beyin dokusu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ghrelinin, lipid peroksidasyonunu gösteren MDA düzeylerini düşürdüğü ve glutatyon tüketimini azaltarak etkili olduğu böylece oksidatif strese bağlı doku hasarını azalttığı gösterilmiştir (115).

Ghrelinin intraserebroventriküler (Icv) uygulaması hipotalamusdaki nitrikoksit sentaz (NOS) seviyelerini artırmaktadır. Besin alımını artırıcı etkisinin, NOS inhibisyonu yapmak için kullanılan N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) uygulanımı ile inhibe olması, ghrelinin en azından bir kısım etkilerini nitrikoksit (NO) üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir (116). Ghrelinin anti-apoptotik etkileri bildirilmiş olup sitotoksik ajanların toksik etkilerini azaltabileceği ileri sürülmüştür (21). Chung ve ark. (22) ise, ghrelinin iskemi sırasında sitokrom c ve caspaz 3 salınımını azaltarak, apoptotik yolağı inhibe ettiğini ve dolayısıyla apoptozisi durdurarak beyin dokusunu hasardan koruduğunu tespit etmişlerdir.

Ghrelinin iskemi reperfüzyon sonrası meydana gelen hasardan mideyi ve kalbi koruduğu da gösterilmiştir (23).

2.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, Biyokimya Anabilim Dalı'nın katkısı ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun izni ile gerçekleştirildi. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edilen 35 adet Sprague Dawley türü rat çalışmada kullanıldı. Ratlar standart şartlarda (12 saat gün ışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odalarda) özel kafeslerde barındırıldı.

2.1. Gruplar

Ratlar her grupta yedi denek olacak şekilde randomize olarak 5 gruba ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: Sham I grubu (Katarakt oluşturulup, serum fizyolojik uygulanan grup)

Grup 3: Sham II grubu (Katarakt oluşturulup, %1'lik etanol-serum fizyolojik uygulanan grup)

Grup 4: Melatonin grubu (Katarakt oluşturulup, melatonin uygulanan grup)

Grup 5: Ghrelin grubu (Katarakt oluşturulup, ghrelin uygulanan grup)

Kontrol grubu (grup I) hariç yavru ratlara doğumlarının 10. gününde subkutan sodyum selenit (30 nmol/gr, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubunda katarakt oluşturulmadı ve tedavi verilmedi. Toz halinde bulunan melatonin farmakolojik yapısından dolayı %1'lik etanol-serum fizyolojik çözeltisi içinde, ghrelin ise serum fizyolojik içinde çözünerek hazırlandı. Ghrelin verilen grubun sham grubu olarak grup 2 ve melatonin verilen grubun sham grubu olarak ise grup 3 belirlendi. Postpartum 8-15. günler arası; ikinci gruptaki ratlara 2 mg/kg/gün dozunda serum fizyolojik, üçüncü gruptaki ratlara %1'lik etanol-serum fizyolojik, dördüncü gruptaki ratlara 10 µg/g/gün melatonin ve beşinci gruptaki ratlara 20 ng/kg/gün ghrelin intraperitoneal olarak uygulandı. Postpartum 3. haftada katarakt oluşumu biyomikroskopik muayene ile değerlendirildi. Biyomikroskopik muayeneden önce pupil dilatasyonu için % 0,5'lik tropikamid ve % 2,5'lik fenilefrin hidroklorid damlaları kullanıldı. İki saat boyunca her 30 dakikada bir damla damlatıldı. Lensler biyomikroskopik olarak değerlendirilerek morfolojik katarakt evrenmesi yapıldı. Fotoğrafları (Topcon, fotoslitlamp, x25 büyütme, Tokyo-Japon) çekildi.

Deney süresi tamamlanan ratlar, anestezi altında dekapite edildikten sonra tek gözde kapsülüyle birlikte çıkarılan lens örneklerinde malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), total antioksidan (TAS), total oksidan (TOS) ve total nitrit (TN) düzeyleri ölçüldü.

2.2. Anestezi Tekniği

Anestezi ve analjezi uygulamasında intramusküler 50 miligram/kilogram ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile 6 miligram/kilogram ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı.

2.3. Katarakt Evrelemesi

Katarakt evrelemesinde Hiraoka ve Clark'ın tanımladığı sınıflama kullanıldı (117).

Bu evrelemeye göre:

Evre 0: Normal saydam lens.

Evre 1: Başlangıç arka subkapsüler veya minimal nükleer opasite.

Evre 2: Fibrilleri şişmiş nükleer opasite veya seyrek arka subkapsüler opasite.

Evre 3: Kortikal yayımlı diffüz nükleer opasite.

Evre 4: Parsiyel nükleer opasite.

Evre 5: Lens korteksinin tutulmadığı nükleer opasite.

Evre 6: Matür lens opasitesi.

2.4. Malondialdehit Analizi

Rat lens numunesi, 1-2 dakika süreyle 15000 devir/dakikada, % 10'luk homojenat oluşturacak şekilde, distile su ilave edilerek buz üzerinde homojenize edildi. Elde edilen homojenat MDA (ImmuChrom GmbH, Hessen Germany) analizine hazır hale getirilerek sonuçlar $\mu\text{mol/L}$ olarak gösterildi.

2.5. Glutatyon Analizi

Rat lens numunesi, 1-2 dakika süreyle 15000 devir/dakikada, % 10'luk homojenat oluşturacak şekilde, distile su ilave edilerek buz üzerinde homojenize edildi. Elde edilen homojenat GSH (ImmuChrom GmbH, Hessen Germany) analizine hazır hale getirilerek sonuçlar glutatyon standart grafiğinden değerlendirilerek lensler için $\mu\text{mol/L}$ olarak gösterildi.

2.6. Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizi

Rat lens numunelerinden hazırlanan homojenat TAS analizine hazır hale getirildikten sonra Total Antioxidant Status Assay Kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Turkey) kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar değerlendirilerek lensler için mmolTrolox Equiv./L olarak gösterildi.

2.7. Total Oksidan Seviye (TOS) Analizi

Rat lens numunelerinden hazırlanan homojenat TOS analizine hazır hale getirildikten sonra Total Oxidant Status Assay Kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Turkey) kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar değerlendirilerek lensler için $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak gösterildi.

2.8. Total Nitrit (TN) Analizi

ELISA ile total nitrit düzeylerinin değerlendirilmesi için rat lens numunelerinden hazırlanan homojenat TN analizine hazır hale getirildikten sonra nitrat/ nitrit kalorimetrik assay kiti (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan, ABD) kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar değerlendirilerek lensler için μM olarak gösterildi.

2.9. İstatistiksel Analizler

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, uymayanlarda ise nonparametrik olan Kruskal Wallis Varyans Analizi ve onu takiben Mann-Whitney U Testi kullanılmış olup p değerinin 0.05'in altında olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

Biyomikroskopik muayene ile lensler değerlendirilerek Hiraoka ve Clark'ın tanımladığı sınıflamaya göre katarakt evrelemesi yapıldı. Katarakt evrelerine ait fotoğraflar Şekil 7-11'de gösterilmiştir.

Kontrol grubunu oluşturan 7 adet ratın 14 gözündeki lensler saydam olarak değerlendirildi.

Sham I grubundaki 7 adet ratın 14 gözünde evre 0-4 arasında değişen katarakt oluşumu izlendi. Sham I grubunda oluşan katarakt evreleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Sham II grubundaki 7 adet ratın 14 gözünde evre 0-4 arasında değişen katarakt oluşumu izlendi. Sham II grubunda oluşan katarakt evreleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Melatonin uygulanan gruptaki 7 adet ratın 14 gözünde evre 0-2 arasında değişen katarakt oluşumu izlendi. Melatonin grubunda oluşan katarakt evreleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Ghrelin uygulanan gruptaki 7 adet ratın 14 gözünde evre 0-4 arasında değişen katarakt oluşumu izlendi. Ghrelin grubunda oluşan katarakt evreleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Kontrol grubu dışındaki sham I, sham II, melatonin ve ghrelin grubundaki ortalama katarakt evreleri sırasıyla; 1.71 ± 1.06 , 1.78 ± 1.12 , 0.35 ± 0.39 , 1.64 ± 1.21 olarak bulundu. Gruplardaki ortalama katarakt evreleri Tablo 2'de izlenmektedir. Grupların ortalama katarakt evrelerine ait istatistiksel sonuçlar ise şekil 6'da gösterilmiştir.

Ortalama katarakt evreleri, kontrol grubuna göre sham I ve sham II gruplarında istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Sham I ve II gruplarının katarakt evresi ortalamaları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark olmadığı saptandı ($p > 0.05$; $p = 1.0$). Melatonin grubunun katarakt evresi ortalaması sham I ve II gruplarının ortalamalarından istatistiksel olarak düşük bulundu ($p < 0.05$; $p = 0.02$, $p = 0.01$). Ghrelin grubunun katarakt evresi ortalaması sham I-II gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$; $p = 1.0$, $p = 0.99$). Ghrelin grubunun katarakt evresi ortalaması melatonin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$; $p = 0.04$). Melatonin grubunun ortalama katarakt evresi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark

saptanmadı ($p>0.05$; $p=0.84$). Ghrelin grubunda ise ortalama katarakt evresi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.01$; $p=0.0001$).

3.1. Katarakt Evrelemesi

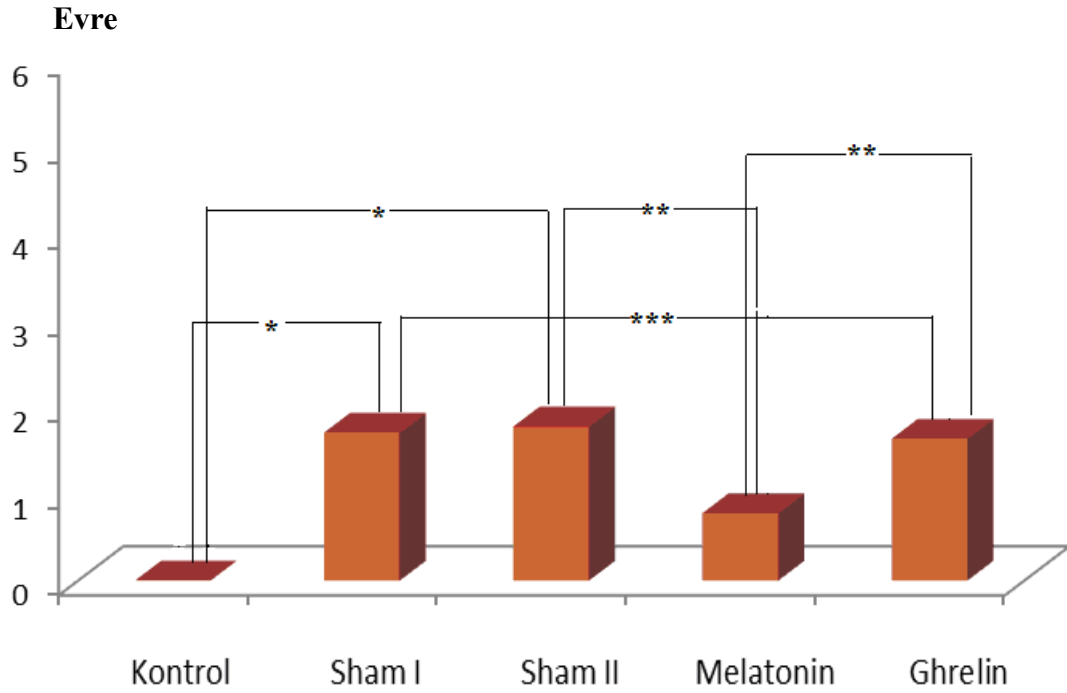
Tablo 2. Deney grupları ve oluşan katarakt evreleri

Gruplar	E0	E1	E2	E3	E4	E5	E6	Ort. Evre($\pm$ SD)
Kontrol	14	-	-	-	-	-	-	0.00 $\pm$ 0.00
Sham I	3	-	10	-	1	-	-	1.71 $\pm$ 1.06 ^a
Sham II	3	-	9	1	1	-	-	1.78 $\pm$ 1.12 ^a
Melatonin	10	3	1	-	-	-	-	0.35 $\pm$ 0.39 ^b
Ghrelin	4	-	8	1	1	-	-	1.64 $\pm$ 1.21 ^a

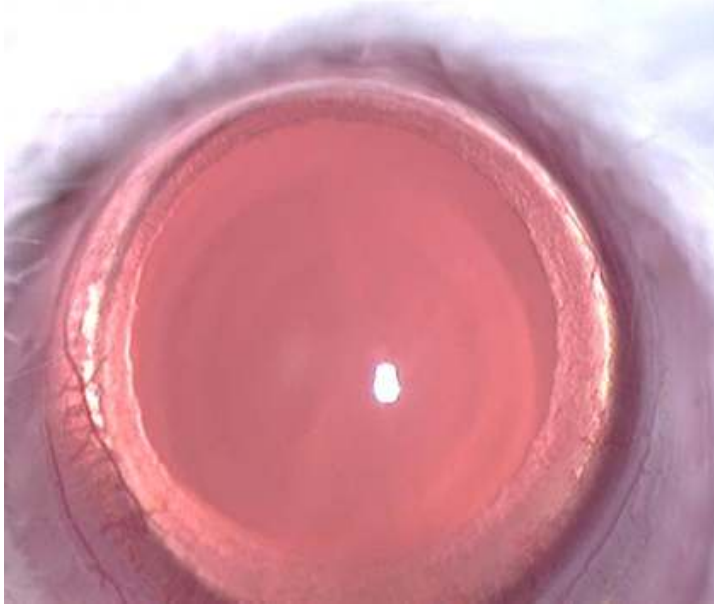
E: Katarakt evreleri, SD: standart sapma

a; kontrol grubuna göre anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$)

b; sham I-II ve ghrelin gruplarına göre anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$)

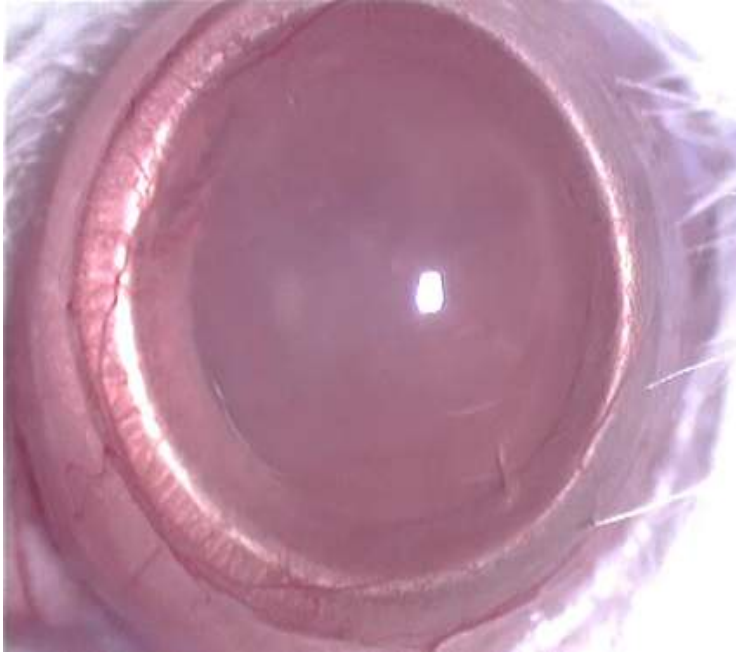


Şekil 6. Katarakt evrelerinin gruplara göre dağılımı * $p<0.01$, ** $p<0.05$, *** $p>0.05$



Şekil 7. Evre 0 katarakt

Kontrol grubuna ait morfolojik incelemede evre 0 (saydam lens) katarakt



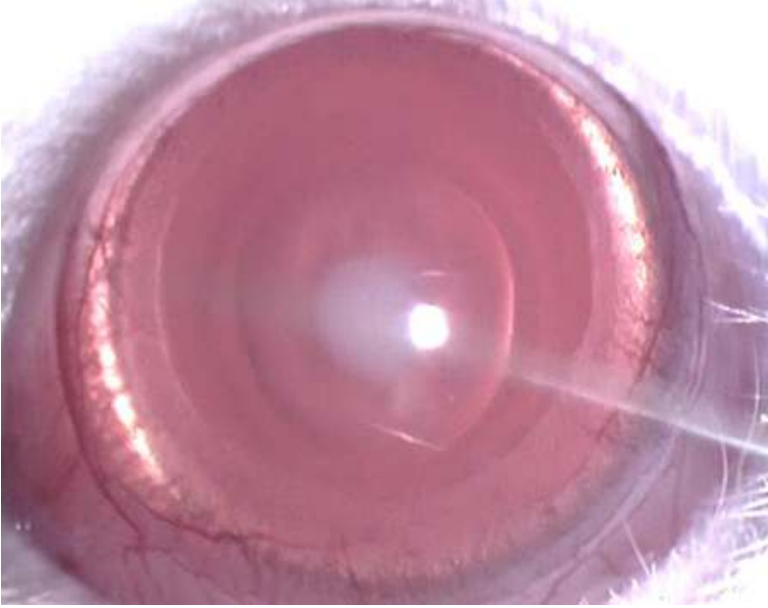
Şekil 8. Evre 1 katarakt

Minimal nükleer opasite ile melatonin grubuna ait evre 1 katarakt



Şekil 9. Evre 2 katarakt

Fibrilleri şişmiş nükleer opasite ile ghrelin grubuna ait evre 2 katarakt



Şekil 10. Evre 3 katarakt

Kortikal yayımlımlı diffüz nükleer opasite ile sham II grubuna ait evre 3 katarakt



Şekil 11. Evre 4 katarakt

Parsiyel nükleer opasite ile sham I grubuna ait evre 4 katarakt

3.2. Lens Malondialdehit (MDA), Redükte Glutasyon (GSH), Total Antioksidan (TAS), Total Oksidan (TOS) ve Total Nitrit (TN) Değerleri

Kontrol, sham I-II, melatonin ve ghrelin gruplarından çalışma süresi sonunda alınan lens örneklerinden elde edilen MDA, GSH, TAS, TOS ve TN seviyelerine ait sonuçlar ve bu sonuçların istatistiksel değerlendirmeleri yapıldı.

Kontrol, sham I-II, melatonin ve ghrelin gruplarında ortalama lens MDA seviyeleri sırasıyla; 3.9 ± 0.9 $\mu\text{mol/L}$, 10.9 ± 1.8 $\mu\text{mol/L}$, 11.1 ± 2.1 $\mu\text{mol/L}$, 6.3 ± 0.8 $\mu\text{mol/L}$, 10.1 ± 1.1 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulundu. Çalışma gruplarındaki ratlardan alınan lens dokularındaki MDA seviyeleri değerlendirildiğinde, sham I ve sham II gruplarındaki ortalama MDA seviyelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış izlendi ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Melatonin grubunda ortalama MDA seviyelerinin sham I-II gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük olduğu izlendi ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Ghrelin grubunda ise ortalama MDA seviyeleri sham I-II gruplarına göre düşük bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$; $p = 0.89$, $p = 0.71$). Ghrelin grubunun ortalama lens MDA seviyeleri melatonin grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$; $p = 0.02$). Melatonin grubunda ortalama MDA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$; $p = 0.88$). Ghrelin grubunda ise ortalama MDA

seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.01$; $p=0.0001$). Ortalama lens MDA seviyeleri Tablo 3 ve Şekil 12’de gösterilmiştir.

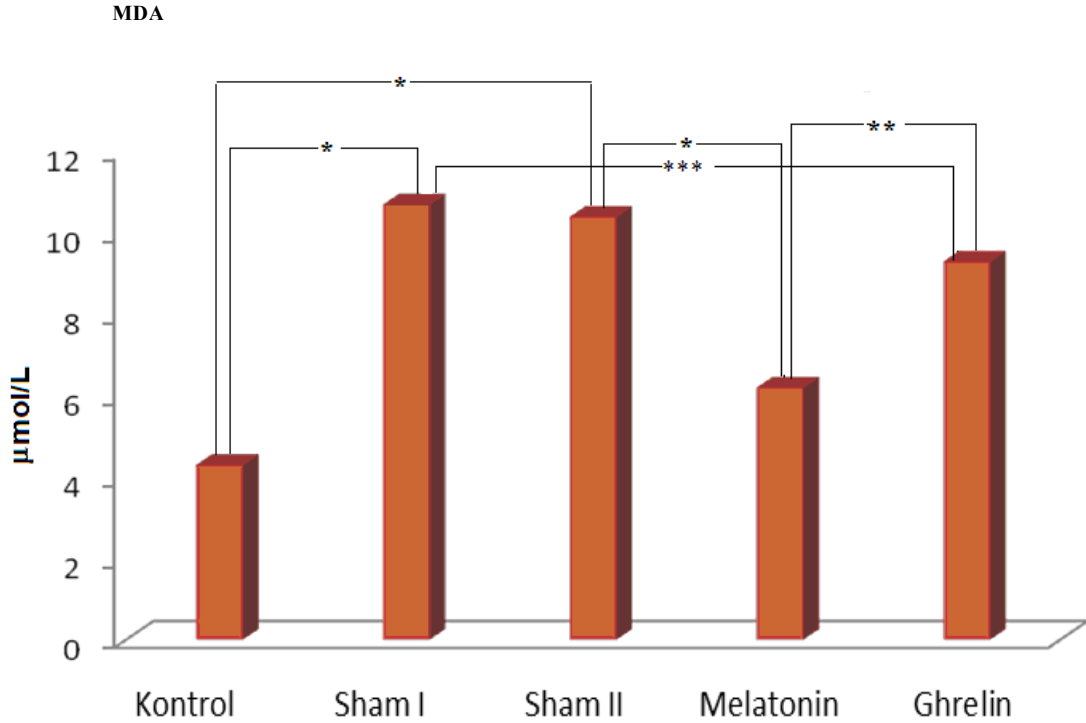
Tablo 3. Lens MDA, GSH, TAS, TOS ve TN değerleri

	Kontrol	Sham I	Sham II	Melatonin	Ghrelin
MDA ($\mu\text{mol/L} \pm \text{SD}$)	3.9 $\pm$ 0.9	10.9 $\pm$ 1.8 ^a	11.1 $\pm$ 2.1 ^a	6.3 $\pm$ 0.8 ^b	10.1 $\pm$ 1.1 ^a
GSH ($\mu\text{mol/L} \pm \text{SD}$)	13.4 $\pm$ 2.2	6.6 $\pm$ 1.6 ^a	6.8 $\pm$ 2.1 ^a	15.8 $\pm$ 2.2 ^b	7.1 $\pm$ 1.7 ^a
TAS (mmolTrolox Equiv./L $\pm$ SD)	6.8 $\pm$ 1.3	2.3 $\pm$ 1.09 ^a	2.5 $\pm$ 1.1 ^a	8.1 $\pm$ 1.3 ^b	2.5 $\pm$ 1.2 ^a
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L $\pm$ SD)	120.1 $\pm$ 10	178.2 $\pm$ 10.1 ^a	180.6 $\pm$ 10.7 ^a	131.5 $\pm$ 6.7 ^b	176.9 $\pm$ 11.3 ^a
TN ($\mu\text{M} \pm \text{SD}$)	6.3 $\pm$ 0.9	9.5 $\pm$ 1.06 ^a	9.5 $\pm$ 0.9 ^a	16.1 $\pm$ 1.1 ^{ab}	11.6 $\pm$ 1.6 ^a

MDA: malondialdehit, GSH: glutatyon, TAS: total antioksidan, TOS: total oksidan, TN: total nitrit

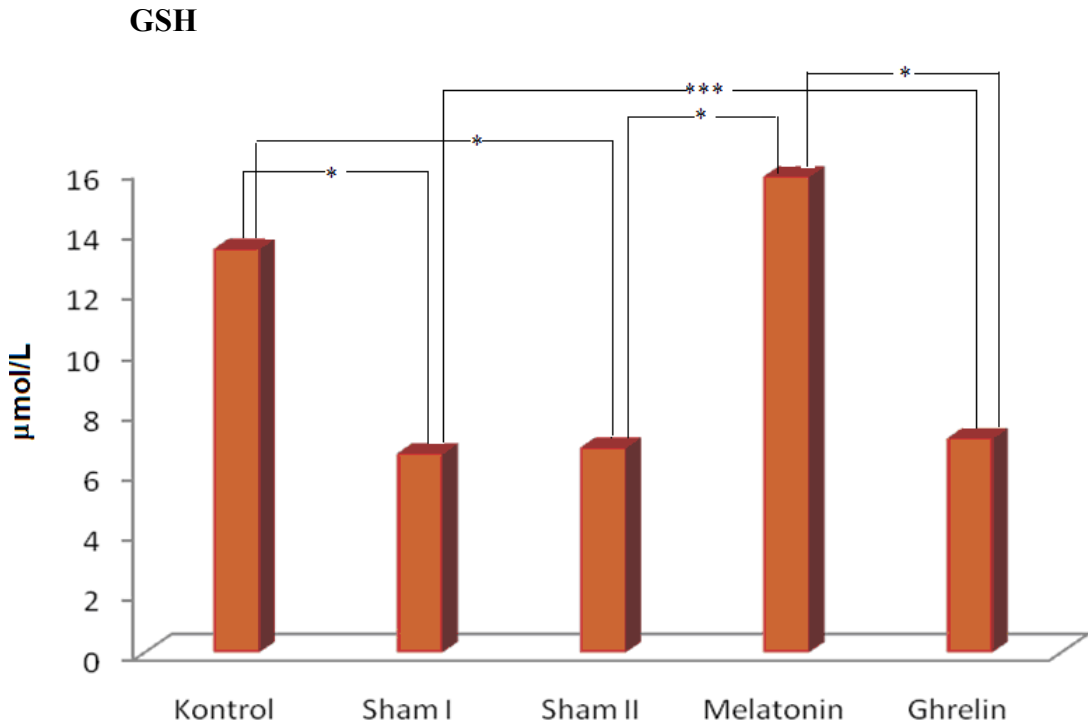
a; kontrol grubuna göre anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$)

b; sham I-II ve ghrelin gruplarına göre anlamlı farklılık vardır ($p<0.05$)



Şekil 12. Lens MDA seviyelerinin gruplara göre dağılımı * $p<0.01$, ** $p<0.05$, *** $p>0.05$

Kontrol, sham I-II, melatonin ve ghrelin gruplarında ortalama lens GSH seviyeleri sırasıyla; 13.4 ± 2.2 $\mu\text{mol/L}$, 6.6 ± 1.6 $\mu\text{mol/L}$, 6.8 ± 2.1 $\mu\text{mol/L}$, 15.8 ± 2.2 $\mu\text{mol/L}$, 7.1 ± 1.7 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulundu. Çalışmamızda lens dokusundaki ortalama GSH seviyeleri; sham I-II gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Melatonin grubunda ortalama lens GSH seviyeleri sham I-II ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Ghrelin grubunda ise ortalama GSH seviyeleri sham I ve sham II gruplarına göre yüksek bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$; $p = 0.98$, $p = 0.99$). Melatonin grubunda ortalama GSH seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$; $p = 0.25$). Ghrelin grubunun ortalama GSH seviyeleri ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Lens örneklerindeki ortalama GSH seviyeleri Tablo 3 ve şekil 13'te gösterilmiştir.

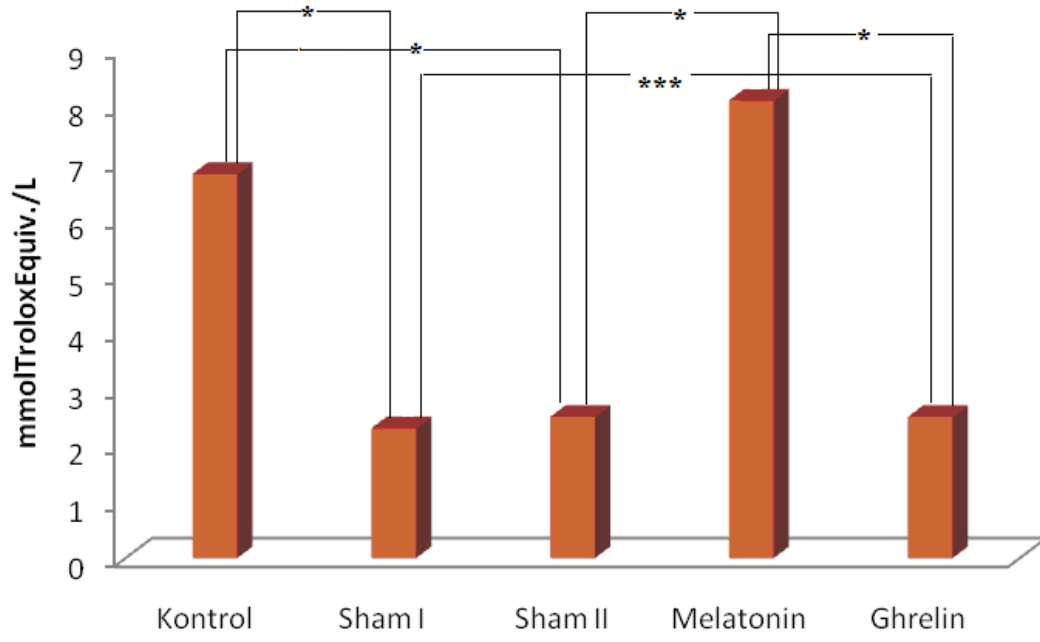


Şekil 13. Lens GSH seviyelerinin gruplara göre dağılımı * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$,

*** $p > 0.05$

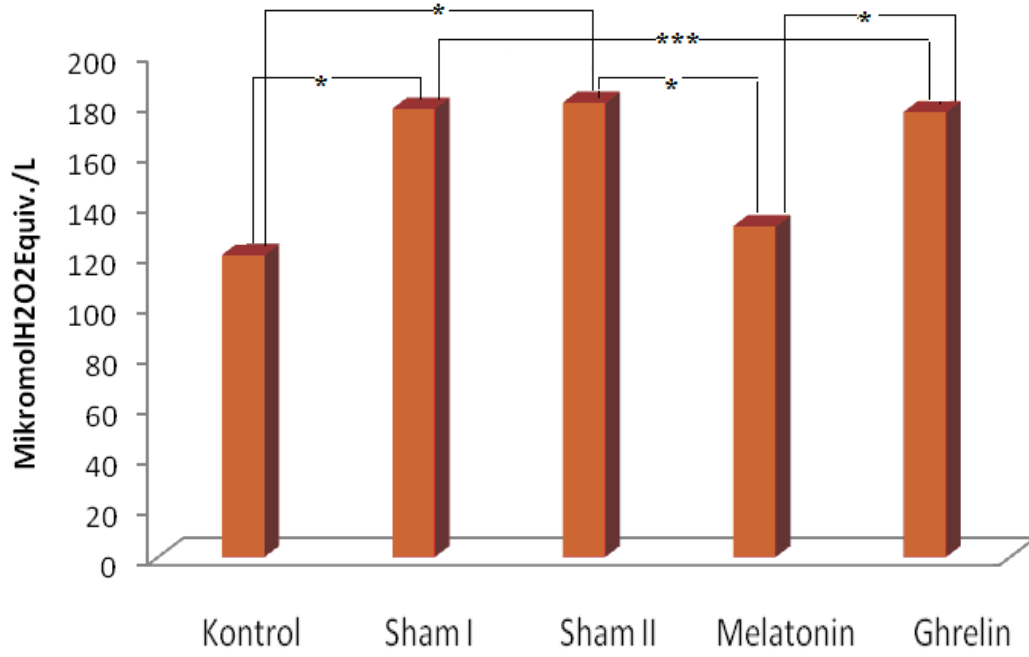
Kontrol, sham I-II, melatonin ve ghrelin gruplarında ortalama lens TAS seviyeleri sırasıyla; 6.8 ± 1.3 mmolTrolox Equiv./L, 2.3 ± 1.09 mmolTrolox Equiv./L, 2.5 ± 1.1 mmolTrolox Equiv./L, 8.1 ± 1.3 mmolTrolox Equiv./L, 2.5 ± 1.2 mmolTrolox Equiv./L olarak bulunurken, ortalama lens TOS seviyeleri ise sırasıyla; 120.1 ± 10 μ mol H₂O₂ Equiv./L, 178.2 ± 10.1 μ mol H₂O₂ Equiv./L, 180.6 ± 10.7 μ mol H₂O₂ Equiv./L, 131.5 ± 6.7 μ mol H₂O₂ Equiv./L, 176.9 ± 11.3 μ mol H₂O₂ Equiv./L olarak bulundu. Çalışmamızda lens dokusundaki ortalama TAS seviyeleri, sham I-II gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken ($p < 0.01$; $p = 0.0001$), melatonin grubunda ise bu oran sham I-II ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Ghrelin grubunda TAS seviyeleri sham I-II gruplarına göre yüksek bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$; $p = 0.98$, $p = 0.99$). Melatonin grubunda ortalama TAS seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$; $p = 0.36$). Ghrelin grubunda ise ortalama TAS seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Lens dokusundaki ortalama TOS seviyeleri ise sham I-II gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Melatonin grubunda bu oran sham I-II ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Ghrelin grubunda ise ortalama TOS seviyeleri sham I-II gruplarına göre düşük bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$; $p = 1.0$, $p = 0.99$). Melatonin grubunda ortalama TOS seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$; $p = 0.27$). Ghrelin grubunda ise ortalama TOS seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Lens örneklerindeki ortalama TAS ve TOS seviyeleri Tablo 3 ve şekil 14-15'te gösterilmiştir.

TAS



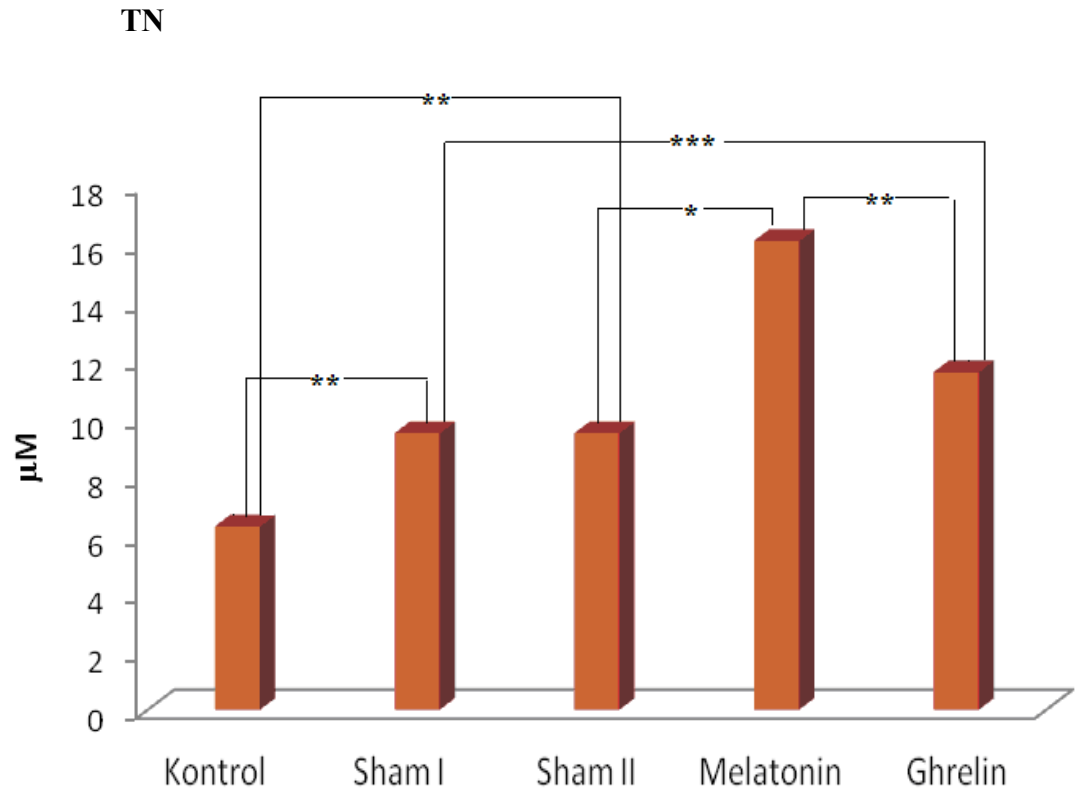
Şekil 14. Lens TAS seviyelerinin gruplara göre dağılımı * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$, *** $p > 0.05$

TOS



Şekil 15. Lens TOS seviyelerinin gruplara göre dağılımı * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$, *** $p > 0.05$

Kontrol, sham I-II, melatonin ve ghrelin gruplarında ortalama lens TN seviyeleri sırasıyla; $6.3 \pm 0.9 \mu\text{M}$, $9.5 \pm 1.06 \mu\text{M}$, $9.5 \pm 0.9 \mu\text{M}$, $16.1 \pm 1.1 \mu\text{M}$, $11.6 \pm 1.6 \mu\text{M}$ olarak bulundu. Çalışma gruplarındaki ratlardan alınan lens dokularındaki ortalama TN düzeyleri değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre sham I-II gruplarındaki ortalama TN düzeylerinde anlamlı bir artış izlendi ($p < 0.05$; $p = 0.01$, $p = 0.04$). Melatonin grubunda ortalama lens TN düzeyleri sham I-II gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek izlendi ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Ghrelin grubunda ise ortalama TN seviyeleri sham I ve sham II gruplarına göre yüksek bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0.05$; $p = 0.17$, $p = 0.40$). Melatonin grubunda ortalama TN seviyeleri ghrelin grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.05$; $p = 0.03$). Melatonin grubunda ortalama TN seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$; $p = 0.0001$). Ghrelin grubunda ise ortalama TN seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$; $p = 0.03$). Ortalama lens TN seviyeleri Tablo 3 ve şekil 16'da gösterilmiştir.



Şekil 16. Lens TN seviyelerinin gruplara göre dağılımı * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$, *** $p > 0.05$

4. TARTIŞMA

Katarakt, dünyada görme azlığı yapan nedenler arasında ilk sırada yer alan, multifaktöryel orjinli patolojik bir süreçtir (3). Prevelansı yaşla birlikte artmakta ve 74 yaşının üzerinde %50 oranına kadar çıkmaktadır (2). Kataraktın tek tedavi yöntemi lensin cerrahi olarak alınmasıdır ancak yaygınlaşan bu cerrahinin yüksek bir maliyetinin de olduğu göz ardı edilmemelidir (118).

Katarakt oluşumunun önlenmesi için farmakolojik açıdan birçok tedavi seçeneği araştırılmasına rağmen, çözüm bulunmasının uzun yıllar alacağı görülmektedir (119,120). Günümüzde katarakt tedavisi; lensin cerrahi olarak alınıp, yerine yapay göz içi lensi yerleştirilmesi şeklinde olmaktadır (3). Araştırmalar bir yandan cerrahi tekniklerin geliştirilmesi yönünde ilerlerken bir yandan da katarakt gelişiminin engellenmesi arayışları üzerinde yoğunlaşmakta olup şu an için etkin bir profilaktik tedavi yöntemi mevcut değildir.

Günümüzde deneysel araştırmalarda katarakt oluşturmak için radyasyon, galaktoz, streptozotosin ve selenit modeli gibi deneysel katarakt modelleri geliştirilmekte ve kontrol grubu ile katarakt gelişimini engelleyeceği öngörülen ilacın verildiği grup arasındaki iyileşme oranının karşılaştırılması tüm bu çalışmaların ortak temelini oluşturmaktadır (46,67). Selenit kataraktı, insan kataraktına birçok açıdan benzerlik göstermektedir. İlk olarak 1978 yılında Ostadalova ve ark. (66) tarafından deneysel katarakt modeli oluşturulmasında kullanılan selenit günümüzde deneysel araştırmalarda katarakt oluşturmak için en sık tercih edilen farmakolojik ajanlardan biridir. Selenitin katarakt oluşturmadaki temel mekanizma, lenste bir oksidan gibi davranarak hasar oluşturmaya esasına dayanmaktadır. Biz de antioksidan özelliği ile bilinen ghrelin ve melatoninin, lens üzerindeki oksidatif hasar ve katarakt oluşumu üzerine etkisini tespit etmeği amaçladığımız bu çalışmamızı, selenit katarakt modeli ile gerçekleştirerek Sprague-Dawley cinsi yeni doğan ratlara, doğumu takiben 10. günde subkütan olarak enjekte ettiğimiz tek doz 30 nmol/g selenit ile yaklaşık 7-11 gün sonra katarakt oluştuğunu gözlemledik.

Lens opasifikasyonunda oksidatif stresin önemli bir rolü vardır. Lensin koruyucu mekanizmaları hem selüler hem de moleküler seviyede işlev görmektedir. Lensi oksidatif hasara karşı korumak için görev alan vitamin E gibi moleküller lens membranında yer almaktadır. İndirgenmiş glutatyon, lenste sentezlenmekte olup

korteks ve epitelde yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Lens, protein tiollerini ve askorbatı indirgenmiş durumda tutarak radyasyon ile indüklenen serbest radikalleri temizlemektedir (40). Glutasyon ve askorbik asit miktarlarındaki azalma ile lens, serbest radikallerin yol açacağı oksidatif hasara açık hale gelmekte ve bu nedenle C ve E vitaminleri ile β karoten gibi antioksidanlar kataraktın önlenmesinde önemli role sahip olabilmektedirler (46). Deneysel katarakt çalışmalarında kullanılan selenit, lens lipid peroksidasyonuna ve ön kamara sıvısında hidrojen peroksit oluşumuna neden olmakla birlikte oksidatif hasarın önlenmesinde görev alan redükte glutasyonun da konsantrasyonunu azaltarak etki göstermektedir (66).

İlk olarak 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen ghrelinin; büyüme hormonu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin (PRL) salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite, hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği ve antioksidan etkiye sahip olduğu böylece dokularda oluşabilecek oksidatif stresi önlediği gösterilmiştir (21,22). Ghrelinin; lipid peroksidasyonunu önlediği ve superoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir (23,115). Plazma ghrelin seviyesi, açlıkla artmakta ve gün içerisinde spontan olarak değişmektedir (121,122).

Ghrelinin göz üzerindeki etkileri henüz net olarak ortaya konmamıştır. Rocha- Sousa'nın (123) yapmış olduğu bir çalışmada insan gözlerinde ön kamarada ghrelin tespit edilmiştir. Ghrelin kan beyin bariyerini rahatlıkla geçebilmekte ve oküler dokulara geçiş de kan aköz bariyeri yoluyla olabilmektedir, ayrıca rat gözlerinde yapılan bir çalışmada ghrelinin mRNA'sının saptanmış olması lokal olarak da gözde üretilebileceğini bize göstermektedir (123). Katsanos ve ark. (124) yapmış oldukları çalışmada ise glokom hastalarının ön kamarasında kontrol grubuna göre ghrelin düzeylerinin anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır. Bu da bize ghrelinin gözdeki patolojik süreçlerde rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim bilgilerimize göre ghrelinin katarakt oluşumunu engelleyici etkisiyle ilgili henüz bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda antioksidan özelliğe sahip olan ghrelinin lensteki oksidatif hasar üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

Melatonin; kan basıncı, vücut ısısı, uyku, ruhsal durum ve üreme fizyolojisinin düzenlenmesinde rol alan bir hormon olarak bilinmektedir (125,126). Melatoninin biyolojik saatler üzerine olan etkilerinin yanı sıra antioksidan etkilerinin de olduğu ilk kez 1990'lı yıllarda bulunmuş olmasına rağmen (127) bu konu üzerindeki çalışmalar oldukça hızlı gelişim göstermiş ve melatoninin antioksidan etkileri ile önemli görevler üstlendiği gösterilmiştir (128). Melatoninin lipofilik özellikte olması nedeniyle doğrudan veya spesifik reseptörler aracılığıyla hedef hücrelere ulaşarak hücre içi birçok organelde antioksidan etkilerini gösterdiği bilinmektedir (129).

Melatoninin daha önce gösterilmiş bir diğer etkisi ise hücre zarlarını stabilize edici özelliğidir. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda, melatoninin sepsiste artmış oksidatif hasarda koruyucu etkileri olduğu gösterilmiş olup, in vivo farmakolojik dozlarının eritrosit zarını lipid peroksidasyonundan koruduğu ve antioksidan savunma sistemindeki enzimlerin aktivitelerini artırdığı bildirilmiştir (130,131).

Yapılan bir çalışmada melatoninin selenitle oluşturulan katarakta etkisi araştırılmıştır. Melatonin uygulanan grupta lens opasifikasyonunun daha az izlendiği ve lens biyokimyasal analizlerinde de SOD ve katalazın (CAT) sadece selenit verilen gruba göre daha yüksek; MDA, protein karbonil ve ksantin oksidazın ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir (24). Bizim yapmış olduğumuz çalışmanın sonucunda da antioksidan özelliğe sahip olan melatoninin ratlarda selenitle oluşturulan kataraktı anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar lenslerin biyokimyasal analizleri ile de desteklenmiştir.

Serum TAS seviyelerinin melatonin seviyesi ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir. Beş gün boyunca saat 20:00 ile 05:00 arasında ışığa maruz bırakılan ratlarda melatonin sentezinin azalmasına bağlı olarak TAS seviyelerinin de düştüğü rapor edilmiştir (132). Bu çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamızda da melatonin uygulanan grupta ortalama TAS seviyeleri diğer gruplardan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş olup bu sonuç bize melatonin seviyelerinin TAS seviyeleri ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermiştir. Yapılan başka çalışmalarda melatoninin karaciğerin kimyasal, termal ve iskemi sonucu hasarlanmalarında antioksidan olarak koruyucu özelliği olduğu gösterilmiştir (133-137).

Bizim çalışmamızda olduğu gibi antioksidanların katarakt gelişimini önlemesine yönelik birçok toplum bazlı çalışma ve hayvan deneyi yapılmıştır. Bu çalışmalarda da lenslerin morfolojik muayenesi ve biyokimyasal analizleri değerlendirilmiştir. Kataraktın derecelendirilmesi ve sınıflandırılması, katarakt araştırmalarında, sebeplerini inceleyen çalışmalarda ve kataraktı önlediği düşünülen ilaçlarla ilgili deneysel çalışmalarda faydalıdır (138). Cylack ve arkadaşları lens opasiteleri sınıflama sistemi 2'yi geliştirmişlerdir (139). Bu sistem spesifik katarakt tiplerinin görme fonksiyonları üzerindeki etkilerini tanımlama da kolaylık sağlamıştır. Biz çalışmamızda katarakt araştırmalarında kolaylık sağlayan ve sık olarak kullanılan Hiraoka ve Clark'ın tanımladığı katarakt evrelemesini kullanmayı tercih ettik. Daha önce selenitle yapılan katarakt çalışmalarına uygun olarak, bizim çalışmamızda da selenit uygulanan ratlarda anlamlı bir şekilde katarakt gelişti. Melatonin grubunda katarakt gelişiminin, sham gruplarına göre anlamlı olarak daha az olduğu gözlemlendi. Ghrelin grubunun katarakt evresi ortalaması sham gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Ghrelin grubu ile karşılaştırıldığında melatonin grubunda katarakt gelişiminin anlamlı olarak daha az olduğu görüldü. Evreleme sonuçları melatoninin katarakt oluşumunu önlemede daha etkili olduğunu göstermiş olup bu durum lenslerin biyokimyasal analizleri ile desteklenmiştir. Melatonin grubu ile karşılaştırıldığında ghrelin grubunda katarakt oluşumunun anlamlı olarak daha fazla olması intraperitoneal uyguladığımız ghrelin dozunun lens dokusunda oksidatif hasarı önleyecek düzeye ulaşmadığını düşündürmektedir.

Oksidatif stres, organizmadaki birçok patolojik süreçte rol almaktadır. Serbest oksijen radikalleri antioksidan sistem tarafından etkisiz hale getirilerek bir denge oluşturulmakta ve oluşturulan bu dengenin korunamaması durumunda ise, doku hasarı gibi yapısal bozulmalar ortaya çıkmaktadır (140-143). Katarakt oluşumu gibi patolojik bir süreçte denge halinde olan oksidan/antioksidan mekanizma oksidan sistem lehine dönmektedir. Cui ve arkadaşları (39) in vitro olarak H₂O₂ yüksek konsantrasyonlarının lens opaklaşmasında etkili olduğunu göstermişlerdir. Bu nedenle serbest radikallerin oluşumunun önlenmesi veya oluşmuş serbest radikallerin temizlenmesi katarakt gelişimini önleyebilir veya geciktirebilir (39).

Serbest oksijen radikallerinin tepkimeleri ile oluşan ve lipid peroksidasyonu esnasında meydana gelen oldukça reaktif olan metabolik ürünlerinden biri malondialdehittir. Plazma MDA düzeyinin belirlenebilmesi, dokulardaki lipid peroksidasyonunun ve dolayısıyla oksidatif stresin hassas göstergelerinden birisidir (141,142). Peroksidasyonla oluşan MDA, DNA ve proteinlere çapraz bağlanarak bunların fonksiyon ve aktivitelerini değiştirebilmektedir. Çalışma gruplarındaki ratlardan alınan lens dokularındaki ortalama MDA düzeyleri değerlendirildiğinde, melatonin grubunda ortalama MDA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Ghrelin grubunda ise ortalama MDA seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Kontrol grubuna göre sham gruplarındaki MDA seviyelerinde anlamlı bir artış olduğu izlendi. Melatonin grubunda ise bu artışın sham ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük olduğu izlendi. Bu bulgular; melatoninin, antioksidan etkinlik gösterdiğini ve deneysel modelimizde uygulanan melatonin dozunun, maruz bırakılan selenite bağlı oksidatif hasarı azaltarak etki ettiğini göstermektedir. Melatonin ile serbest radikaller süpürülerek lipid peroksidasyonu engellenmiştir. Ortalama lens MDA seviyelerinin melatonin grubunda ghrelin grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunması, intraperitoneal olarak uyguladığımız ghrelin dozunun lens dokusundaki lipid peroksidasyonunu melatonin kadar engelleyemediğini göstermiştir. Bu durumun uygulanan dozun lens dokusunda yeterli konsantrasyona ulaşmamış olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Oksidatif stres ile artmış serbest oksijen radikallerinin hücre hasarlarındaki etkileri bilinmektedir. Bu ürünlerin detoksifikasyonunda glutatyonun önemli rolü vardır. Glutatyon, serbest radikaller ve peroksidlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidan hasara karşı korumakta ve protein yapısındaki -SH gruplarını indirgenmiş halde tutarak pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu engelleyerek etki göstermektedir (144,146). Lensin glutatyon konsantrasyonu yüksektir. İnsan ve deneysel katarakt tiplerinin tümünde glutatyon konsantrasyonunun azaldığı saptanmıştır. Glutatyonun hücre içi konsantrasyonunun azalması, lipid peroksidasyonuna ve birçok hücresel sistemin serbest radikaller tarafından hasara uğratılmasına yol açar (69). Çalışma gruplarındaki ratlardan alınan lens dokularındaki ortalama GSH seviyeleri; sham gruplarında kontrol grubuna göre

seviyelerine bakıldığında ise sham gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, melatonin grubunda bu oran sham ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ghrelin grubunda ise ortalama TOS seviyeleri sham gruplarına göre düşük bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Melatonin uygulanan grupta total antioksidan kapasitenin diğer gruplardan anlamlı olarak yüksek bulunması melatoninin antioksidan etkisini birçok farklı mekanizma üzerinden gerçekleştirdiğini göstermektedir. Lipofilik özelliği göz önüne alındığında kan-beyin engelini kolayca geçebilen melatoninin ghreline göre oküler dokularda daha yüksek konsantrasyonlara ulaştığını ve daha geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterdiğini düşünmekteyiz.

Nitrik oksit nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immün regülasyon gibi süreçlerde oksidatif biyolojik sinyal molekülü olarak görev yapan reaktif bir radikaldir. Sitoplazmadan ve plazma membranlarından kolayca diffüze olmaktadır. Ekstrasellüler alanda oksijen ve nitrojenle reaksiyona girerek “Nitrit” ve “Nitrat” anyonlarını oluşturmaktadır (147). İmmün sistem hücreleri enflamatuar süreç ile tetiklenen oksidatif patlama sırasında süperoksit anyonu ve nitrik oksit üretmektedirler. Bu koşullar altında $O_2^{\cdot-}$ ve NO birbiriyle reaksiyona girerek oksidatif olarak çok daha aktif olan Peroksinitrit anyonunu ($ONOO^-$) üretebilmektedirler. Peroksinitrit, DNA fragmentasyonuna ve lipid oksidasyonuna yol açan ve $\cdot OH$ radikallerine dönüşebilen güçlü bir oksidandır (103). Bizim çalışmamızda; lens dokusundaki ortalama total nitrit seviyeleri kontrol grubuna göre diğer gruplarda anlamlı olarak artarken, melatonin grubundaki artış sham ve ghrelin gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Katarakt patogenezinde rol oynayan oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikaller NO ile birleşerek güçlü oksidan özelliğe sahip olan peroksinitrite dönüşmektedir. Çalışmamızdaki sham ve ghrelin gruplarında NO seviyelerinin melatonin grubuna göre daha düşük bulunmasının, serbest oksijen radikalleri ve NO’nın etkileşimi sonucunda NO’nın ortadan kaldırılarak peroksinitrite dönüşümünden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Melatonin grubunda ise NO ile etkileşen serbest radikal oranının daha az olmasına bağlı olarak NO ortamdan uzaklaştırılamamış olup lens dokusunda NO miktarı yüksek miktarda ölçülmüştür. Ghrelin grubunda ise ortalama NO

seviyeleri sham gruplarına göre yüksek bulunurken istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

Bizim çalışmamızda olduğu gibi antioksidanların kataraktın gelişimini önlemesine yönelik birçok toplum bazlı ve hayvan deneyi yapılmıştır. Resveratrol, melatonin, asetil –L- karnitin, ellagic asit, soya fasülyesi, L- sistein, N-asetilsistein, ebselen ve soğan suyu olmak üzere birçok bileşik deneysel çalışmalarda selenitle indüklenen katarakt oluşumunu engellemede çalışılmıştır (24,39). Bu çalışmalarda da lenslerin morfolojik muayenesi ve biyokimyasal analizleri değerlendirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada resveratrolün selenitle oluşturulan katarakta etkisi araştırılmıştır. Resveratrol uygulanan grupta, sadece selenit enjeksiyonu yapılan gruba göre daha az lens opasifikasyonu tespit edilirken; lens dokusundaki biyokimyasal analizlerde GSH ve NO'nin sadece selenit verilen gruba göre daha yüksek MDA'nın ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Böylece resveratrolün selenite bağlı oluşturulan kataraktı önlemede etkili olduğu tespit edilmiştir (39).

Javadzadeh ve arkadaşları flavonoidlerden zengin bir bitki olan soğanın antikataraktöz etkisini araştırmışlardır. Soğan suyu verilen grubun selenite bağlı kataraktı %75 oranında engellediği ve sadece selenit verilen gruba göre biyokimyasal olarak lens GSH, SOD ve GPX seviyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (148).

Yapılan bir çalışmada melatoninin ratlarda selenitle katarakt oluşumu ve serum arilesteraz aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Melatoninin; selenitle katarakt oluşturulan ratlarda endojen antioksidan aktivite ile hem serum arilesteraz aktivite değerlerini, hem de katarakt insidansını azalttığını göstermişlerdir (149).

Shambhu ve arkadaşları yapmış oldukları deneysel bir çalışmada kafeinin selenitle oluşturulan katarakta etkisini araştırmışlardır. Rat lenslerinin morfolojik incelenmesinde kafein uygulanan grupta sadece selenit uygulanan gruba göre daha az lens opasifikasyonu geliştiği izlenmiştir. Lenslerin biyokimyasal analizlerinde kafein uygulanan grupta sadece selenit uygulanan gruba göre GSH ve ATP seviyelerinin daha yüksek olduğu izlenmiştir. Böylece kafeinin selenite bağlı oluşturulan kataraktı önlemede etkili olduğu tespit edilmiştir (150).

Vibin ve arkadaşları yapmış oldukları deneysel çalışmada; flavonoidlerden, fenolikasitlerden, karotenidler ve vitamin C'den zengin bir bitki olan brokoli

bitkisinin selenitle oluşturulan katarakt üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada brokoli bitkisinden elde edilen bitkisel fraksiyon ve kuersetin ratlara intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Brokoli verilen grupta, sadece selenit verilen gruba göre lens opasifikasyonunun daha az izlendiği ve biyokimyasal olarak GSH seviyesi daha yüksek iken lipid peroksidasyonun gösteren tiobarbitürik asitin ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir (151).

Aydemir ve arkadaşlarının yapmış olduğu deneysel bir çalışmada ebselenin selenitle oluşturulan katarakta etkisi araştırılmıştır. Selenitle birlikte ebselen uygulanan grupta, sadece selenit uygulanan gruba göre lens opasifikasyonunun daha az izlendiği ve lens biyokimyasal analizlerinde de GSH ve NO düzeylerinin selenit verilen gruba göre daha yüksek, MDA'nın ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Böylece ebselenin selenite bağlı oluşturulan kataraktı önlemede etkili olduğu tespit edilmiştir (152).

Bizim yapmış olduğumuz bu çalışmanın sonucunda antioksidan özelliğe sahip olan melatoninin ratlarda selenitle oluşturulan kataraktı anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır. Bu sonuçlar lenslerin biyokimyasal analizleri ile de desteklenmiştir. Melatoninin kataraktı önleyici antioksidan özelliği ile ilgili yapılan benzeri çalışmalardaki sonuçlar ile bizim çalışma sonuçlarımız paralellik göstermektedir. Çalışma sonuçları, ghrelinin kataraktı önlemede melatonin kadar etkili olmadığını göstermiştir. Bu duruma; intraperitoneal yoldan uygulanan ghrelinin dozunun etkin konsantrasyonda oküler geçiş için yeterli yoğunluk oluşturmamasının neden olabileceğini düşünmekteyiz. Ghrelin'in katarakt oluşumunu önlemede etkin olan dozunun saptanabilmesi için farklı dozlar ile yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Meyer D, Liebenberg P. Cataract etiology: a comprehensive review. Textbook of ophthalmology. Volume 3. 1st edition. New Delhi: Jaypee Brothers MP, 2002: 1587-1619.
2. Cataract Management Guideline Panel. Cataract in Adults: management of functional impairment. clinical practice guideline, Number 4. Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Health Care Policy and research. AHCPR Pub. No.93-0542; 1993.
3. Thylefors B, Negrel AD, Pararajasegaram R, Dadzie KY. Global data on blindness. Bull World Health Organ 1995; 73: 115-121.
4. West SK, Valmadrid CT. Epidemiology of risk factors for age related cataract. Surv Ophthalmol 1995; 39: 323-334.
5. Livingston PM, Carson CA, Taylor HR. The epidemiology of cataract: a review of the literature. Ophthalmic Epidemiol 1995; 2: 151-164.
6. Aydın P, Akova YA. Temel Göz Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi, 2001; 204-225.
7. Brzezinski A. Melatonin in humans. N Engl J Med 1997; 336: 186-195.
8. Ianas O, Olivescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. Rom J Endocrinol 1991; 29: 117-123.
9. Pakkula R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. J Pineal Res 1998; 24: 96-101.
10. Yamamoto HA, Tang HW. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. J Pineal Res 1996; 21: 108-113.
11. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature 1999; 402: 656-659.
12. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. Physiol Rev 2005; 85: 495-522.

13. Aydin S, Ozkan Y, Caylak E, Aydin S. Ghrelin and its biochemical functions. *Turkiye Klinikleri. J Med Sci* 2006; 26: 272-283.
14. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5992.
15. Tschöp M, Smiley D, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913.
16. 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.
17. Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Tomaszewska R, Stachura J, Konturek SJ, Konturek PC. Ghrelin attenuates the development of acute pancreatitis in rat. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54: 561-73.
18. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Therapeutic action of ghrelin in a tres model of colitis. *Gastroenterology.* 2006; 130: 1707-20.
19. Chen J, Liu X, Shu Q, Li S, Luo F. Ghrelin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through no pathway. *Med Sci Monit* 2008; 14: 141-146.
20. Granado M, Priego T, Martín AI, Villanúa MA, López-Calderón A. Anti-inflammatory effect of the ghrelin agonist growth hormone-releasing peptide-2 (GHRP-2) in arthritic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 288: 486-92.
21. Takeda R, Nishimatsu H, Suzuki E, et al. Ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006; 113-121.
22. Chung H, Kim E, Lee DH, Seo S, Ju S, Lee D, et al. Ghrelin inhibits apoptosis in hypothalamic neuronal cells during oxygen- glucose deprivation. *Endocrinology* 2007; 148: 148-159.
23. Zwirska-Korczala K, Adameczyk-Sowa M, Sowa P, Pilc K, Suchanek R, Pierzchala K, et al. Role of leptin, ghrelin, angiotensin 2 and orexins in 3T3 L1 preadipocyte cells proliferation and oxidative metabolism. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 53-64.
24. Yağci R, Aydin B, Mesut E. Use of melatonin to prevent selenite-induced cataract formation in rat eyes. *Current Eye Res* 2006; 31: 845-850.

25. Shearer TR, Ma H, Fukiage C, Azuma M. Selenite nuclear cataract: Review of the model. *Mol Vis* 1997; 3: 8.
26. Beebe DC. The lens. Kaufman PL, Alm A (editors). *Adler's Physiology of the eye*. St. Louis: Mosby, 2003; 117-158.
27. Kincaid MC. Pathology of Lens. Tasman W, Jaeger EA (Ed). *Duane's Ophthalmology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2007; 12: 232-251.
28. Kuszak JR, Brown HG. Embryology and anatomy of the lens. Albert DM, Jakobiec FA(eds). *Principles and practice of ophthalmology*. Philadelphia: Saunders, 1994: 82-96.
29. Forrester J, Dick A, McMenamin P, Lee W. Anatomy of the eye and orbit. Forrester JV, Dick AD, McMenamin P, Lee W (editors). *The eye: basic sciences in practice*. London: WB Saunders; 1996; 1-86.
30. Easty DL, Sparrow JM. *Oxford Textbook of Ophthalmology Vol.1*, New York: Oxford University Press, 1999.
31. Saude T. The internal ocular media. *Ocular anatomy and physiology*. Oxford: Blackwell Scientific, 1993: 36-52.
32. Seland JH. The lens capsule and zonulae. *Acta Ohthalmol*. 1992; 70: 7-12.
33. Olivero DK, Furcht LT. Type 4 collagen, laminin, and fibronectin promote the adhesion and migration of rabbit lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 34: 2825-2834.
34. Berman ER. Lens. Blakemore C (ed). *Biochemistry of the eye*. New York: Plenum Pres, 1991: 201-90.
35. Zigman S. Photochemical mechanism in cataract formation. In Duncan G (ed). *Mechanism of cataract formation in the human lens*. London: Academic Press; 1981: 117-149.
36. Snell RS, Lemp MA. The eyeball. In: *Clinical Anatomy Of The Eye*. Oxford: Blackwell Scientific 1989: 119-194.
37. Harding JJ, Crabbe MJC. The lens: development, proteins, metabolism, and cataract. Davson H (ed). *The eye*, Vol 1B, ed 3. London: Academic press; 1984: 207-492.

38. Kodor PF. Biochemistry of the lens: intermediary metabolism and sugar cataract formation. In: Albert DM, Jacobiec FA (eds). Principles and Practise of Ophthalmology. Basic sciences. Philadelphia: WB Saunders; 1994: 146-167.
39. Doganay S, Borazan M, Iraz M, Cigremis Y. The effect of resveratrol in experimental cataract model formed by sodium selenite. Curr Eye Res 2006; 31: 147-153.
40. Pau H, Graf P, Sies H. Glutathione levels in human lens; regional distribution in different form of cataract. Exp Eye Res 1990; 50: 17-20.
41. Lerman S. Lens transparency and aging. In: Regnault F, Hockwin O, Courtios Y, eds. Ageing of the lens. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical tre; 1980; 263-279.
42. Boulton M, Saxby LA. The Lens. Yanoff M, Duker JS, editors Ophthalmology. St. Louis, MO: Mosby, 2004; 4: 241-265.
43. Hiller R, Sperduto RD, Ederer F. Epidemiologic associations with cataract in the 1971-1972 National Health and Nutrition Examination Survey. Am J Epidemiol 1983; 118: 239.
44. Isaac NE, Walker AM, Jick H, Gorman M. Exposure to phenothiazine drugs and risk of cataract. Arch Ophthalmol 1991; 109: 256-260.
45. Leske MC, Wu SY, Hyman L, Sperduto R, Underwood B, Chylack LT, et al. Biochemical factors in the lens opacities casecontrolstudy. Arch Ophthalmol 1995; 113: 1113-1119.
46. Chitkara DK. Cataract Formation Mechanisms. In Yanoff M, Duker JS (editors). Ophthalmology. St Louis, MO: Mosby, 1999; 481-488.
47. Bochow TW, West SK, Azar A, Munoz B, Sommer A, Taylor HR. Ultraviolet light exposure and risk of posterior subcapsular cataracts. Arch Ophthalmol 1989; 107: 369-372.
48. Karel F. Lens ve hastalıkları, Bölüm 9, Temel Göz Hastalıkları, 1. Baskı, Aydın P, Akova A (eds), Ankara: Günes Tıp Kitabevleri, 2001; 191-193.
49. Packard R. Lens. Clinical Ophthalmology. Kanski JJ (Ed). Philadelphia: Butterworth Heinemann, 2007; 337-367.

50. Lattman J, Dodick JM, Medow NB. Lens and cataract. Mandava S, Sweeney T, Guyer DR (eds). *Color Atlas of Ophthalmology*. New York: Thieme. 1999; 218-238.
51. Tesser RA, Hess DB, Buckley EG. Pediatric cataracts and lens anomalies. Nelson LB, Olitsky SE (eds). *Harley's Pediatric Ophthalmology*. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 2005; 260-261.
52. Young RW. Age-related cataract. New York: Oxford University press; 1991: 102-105.
53. Burke JP, O'Keefe M, Bowell R, Naughten ER. Ophthalmic findings in classical galactosemia: a screened population. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1989; 26: 165-168.
54. Johns KJ. Diabetes and the lens. Ferman SS, eds. *Ocular problems in Diabetes Mellitus*. Boston: Blackwell; 1992: 221-244.
55. Kashima K, Trus B, Unser M. Aging studies on normal lens using the Scheimpflug slit lamp camera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 263-266.
56. Horwitz J. Proctor Lecture: The function of alpha-crystallin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 10-14.
57. Clark JI, Livesey JC, Steele JE. Phase separation inhibitors and lens transparency. *Optom Vis Sci* 1993; 70: 873.
58. Harding JJ. Case control studies and risk factors for cataract: discussion paper. *J R Soc Med* 1988; 81: 585-587.
59. Elman MJ, Miller MT, Matalon R. Galactokinase activity in patients with idiopathic cataracts. *Ophthalmology* 1986; 93: 210-215.
60. Mares-Perlman JA, Brady WE, Klein BE. Serum carotenoids and tocopherols and severity of nuclear and cortical opacities. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36: 276-288.
61. Dherani M, Murthy GVS, Gupta SK. Blood levels of vitamin C, carotenoids and retinol are inversely associated with cataract in a North Indian population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 3328-3335.

62. Clayman HM. Evolution and current status of cataract surgery. Albert DM (Ed.). Ophthalmic surgery: principles and techniques. 1 st edition. USA: Blackwell science inc, 1999: 250-256.
63. Drews RC. Two million intraocular lenses. Stark W, Terry AC, Maumenee AE (Eds.) Anterior segment surgery. 1 st edition. Baltimore: Williams and Wilkins, 1987: 15-9.
64. Clayman HM. İntraocular lenses. Albert DM (Ed). Ophthalmic surgery: principles and techniques. 1 st edition. USA: Blackwell science inc, 1999: 327-334.
65. Buratto L, Packard R. Komplikasyonlar. Buratto L (Ed), Özdamar A, Devranoğlu K (Çeviri editörleri). Fakoemülsifikasyon prensipleri ve teknikleri. İkinci baskı. İstanbul: AksuKitabevi, 2005; 669-678.
66. Ostadova I, Babicky A, Obenberger J. Cataract induced by administration of a single dose of sodium selenite to sucking rats. *Experientia* 1978; 34: 222-223.
67. Clark JI, Steele JE. Phase-serparation inhibitors and prevention of selenite cataract. *Proc Natl Acad USA* 1992; 89: 1720-1724.
68. Devi VG, Tres BN, Sasikala V. Isorhamnetin-3-glucoside alleviates oxidative tres and opacification in selenite cataract in vitro. *Toxicol In Vitro* 2010; 24: 1662-1669.
69. Elanchezhian R, Sakthivel M, Geraldine P. Evaluation of lenticular antioxidant and redox system components in the lenses of acetyl-L-carnitine treatment in BSO-induced glutathione deprivation. *Mol Vis*, 2009; 15: 1485-1491.
70. Kehrher JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993; 23: 21-48.
71. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988; 63: 381-389.
72. Adalı M, Inal Erden M, Akalın A, Efe B. Effects of propylthiouracil, propranolol, and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant status inhyperthyroid patients. *Clin Biochemistry* 1999; 32: 363–67.
73. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen MT. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 7915-22.

74. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
75. Bachschmid M, Schildknecht S, Ullrich V. Redox regulation of vascular prostanoid synthesis by the nitric oxide-superoxide system. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338: 536-542.
76. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
77. Zhang Q, Huang X. Induction of interleukin-6 by coal containing bioavailable iron is through both hydroxyl radical and ferryl species. *J Biosci* 2003; 28: 95-100.
78. Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat Res* 2003; 531: 81-92.
80. Meram İ, Aktaran Ş. Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv* 2002; 11: 299.
81. Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi* 2004; 14: 52-60.
82. Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya: 1995; 1-15.
83. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*, 2004; 13: 120-123.
84. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical chemistry*. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc, 1996; 765-777.
85. McCord JM, Edeas MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother* 2005; 59: 139-142.
86. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1287-1317.
87. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signal triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 995-1014.
88. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; 160: 1-40.

89. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası. 2. Baskı, Barış Kitabevi, 1993; 814.
90. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant function of vitamins. Vitamin E and C, betacarotene and other carotenoids. Ann N Y Acad Sci 1992; 669: 7-20.
91. Frei B, Stocker R, England L, Ames BN. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. Av Exp Med Biol. 1990; 264: 155-163.
92. Tadmouri GO, Başak AN. B-thalassemia. Turkey; a review of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects. Hemoglobin 2001; 25: 227-239.
93. Zwart De LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. Free Radic Biol Med 1999; 26: 202-226.
94. Burtis CA, Ashwood ER. Vitaminler. Aslan D (Eds). Klinik Kimyada Temel İlkeler. Ankara: Palme Yayınları, 2005: 548-550, 332-333, 578-601.
95. Nijveldt RJ, Noad E, Hoarn DEC, Boelens PG, Norren K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. Am J Clin Nutr 2001; 74: 418-425.
96. Knapen MFCM, Zusterzeel PLM, Peters WHM, Steegers EAP. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1999; 82: 171-184.
97. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Zanden J, Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. Environ Toxicol Pharmacol 2001; 10: 141-152.
98. Haklar G, Sirikçi O, Ozer NK, Yalçın A.S. Measurement of reactive oxygen species by chemiluminescence in diet-induced atherosclerosis: protective roles of vitamin E and probucol on different radical species. Int J Clin Lab Res 1998; 28: 122-126.
99. Griffiths HR, Moller L, Bartosz G, Bast A, Bertoni-Freddari C, et al. Biomarkers. Mol Aspects Med 2002; 23: 101-208.
100. Slater T. Free-radical mechanisms in tissue injury. Biochem J 1984; 222: 1-15.
101. Qanungo S, Sen A, Mukherjea M. Antioxidant status and lipid peroxidation in human fetoplacental unit. Clin Chim Acta 1999; 285: 1-12.

102. Kiely M, Morrissey PA, Cogan PF, Kearney PJ. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 861-4.
103. Channon KM, Guzik TJ. Mechanisms of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53: 515-24.
104. Chamberlain CG, Mansfield KJ, Cerra A. Nitric oxide, a survival factor of lens epithelial cells. *Mol Vis* 2008; 14: 983-991.
105. Örnek K, Karel F, Buyukbingol Z. May nitric oxide molecule have a role in the pathogenesis of human cataract? *Exp Eye Res* 2003; 76: 23-27.
106. Kayaalp OS. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 11. Baskı 2.Cilt Hacettepe-TAŞ 2004: 849-850.
107. Sigala F, Theocharis S, Sigalas K, Kyroudis MS, Papalabros E, Triantafyllou A, et al. Therapeutic value of melatonin in an experimental model of liver injury and regeneration. *J. Pineal Res* 2006; 40: 270-279.
108. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan DX. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neuroscience Biobehavioral Rev* 1993, 17: 347–57.
109. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stres. *Journal of Biomedical Science* 2000; 7: 444-58.
110. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi WB, Karbownik M, Calvo JR. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biol Signals Recept* 2000; 9: 137-59.
111. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2991.
112. 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.

113. 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.
114. Aydin S, Ozercan IH, Geckil H, Dagli F, Aydin S, Kumru S, et al. Ghrelin is present in human teeth. *J Biochem Mol Biol* 2007; 40: 368-372.
115. Ersahin M, Toklu HZ, Erzik C, Cetinel S, Akakin D, Velioglu-Ogünc A, et al. The anti-inflammatory and neuroprotective effects of ghrelin in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. *J Neurotrauma* 2010; 27:1143-55.
116. Gaskin FS, Farr SA, Banks WA, Kumar VB, Morley JE. Ghrelin- induced stress is dependent on nitric oxide. *Peptides* 2004; 24: 913- 918.
117. Hirako T, Clark JJ. Inhibition of lens opacification during the early stages of cataract formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:2550-2555.
118. World Health Organisation. Programme for the prevention of blindness and deafness. Global initiative for the elimination of avoidable blindness. (WHO/PBL/97.61). Geneva: WHO, 1998: 1-2.
119. Apple DJ, Ram J, Wang XH, Brown S. Cataract surgery in the developing world. *Saudi J Ophthalmol* 1995; 9: 2-15.
120. Isaacs R, Ram J, Apple DJ. Cataract blindness in the developing world: is there a solution? *J Agromed* 1996; 3: 7-21.
121. Van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 2004; 25: 426–457.
122. Gaskin FS, Farr SA, Banks WA, Kumar VB, Morley JE. Ghrelin- induced stress is dependent on nitric oxide. *Peptides* 2004; 24: 913- 918.
123. 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.

124. Katsanos A, Dastiridou A, Georgoulis 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.
125. Korf HW, Von Gall C, Stehle J. The circadian system and melatonin: lessons from rats and mice. *Chronobiol Intern* 2003; 20: 697-710.
126. Schibler Ueli. The daily rhythms of gens, cells and organs. *EMBO reports* 2005; 6: 9-13.
127. Reiter RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Braz J Med Biol Res* 1993; 26: 1141-55.
128. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; 17: 273-285.
129. Reiter RJ, Carneiro RG, Oh S. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Horm Metab Res* 1997; 29: 363-372.
130. Yerer MB, Yapislar H, Aydogan S, Yalcin O, Baskurt O. Lipid peroxidation and deformability of red blood cells in experimental sepsis in rats: the protective effects of melatonin. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 30: 77-82.
131. Aydogan S, Yerer MB, Yapislar H. In vitro effects of melatonin on the filtrability of erythrocytes in SNP-induced oxidative stres. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004; 30: 317-22.
132. Benot S, Molinero P, Soutto M, Goberna R, Guerrero JM. Circadian variations in the rat serum total antioxidant status: correlation with melatonin levels. *J Pineal Res* 1998; 25: 1-4.
133. Sener G, Sehirli AO, Satiroğlu H, Keyer-Uysal M, C Yeğen B. Melatonin improves oxidative organ damage in a rat model of thermal injury. *Burns* 2002; 28: 419-25.
134. Meki A-RMA, Hussein A. Melatonin reduces oxidative stres induced ochratoxin A in rat liver and kidney. *Comp Biochem Physiol Part C* 2001; 130: 305-313.
135. Sharma S, Rana SV. Melatonin inhibits benzene-induced lipid peroxidaton in rat liver. *Arh Hig Rada Toksikol* 2010; 61: 11-8.

136. Wang H, Wei W, Wang NP, Gri SY, Wu L, Sun WY, Xu SY. Melatonin ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stres. *Life Sci* 2005;77: 1902-1915.
137. Matura T, Nishida T, Togawa A, Horie S, Kusumoto C, Ohata S, et al. Mechanisms of protection by melatonin against acetamino pheninduced liver injury in mice. *J Pineal Res* 2006; 41: 211-9.
138. Harding JJ. Cataract epidemiology. *Curr Opin Ophthalmol* 1990; 1: 10-5.
139. Chylak MT, Leske MC, Mc Carthy D. Lens Opacities Classification System 2(LOCS 2) *Arch Ophthalmol* 1989; 107: 991-997.
140. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue damage. *Laboratory Investigation* 1982; 4: 412-426.
141. Kılınç K. Oksijen radikalleri: üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985; 10: 60-89.
142. Reilly PM, Schiller IIIJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
143. Özdemir G. Reaktif oksijen partikülleri (rop) (oksidan moleküller, serbest radikaller). Roche Bilimsel Eserler Serisi. 1993
144. Ambrosio G, Santoro G, Tritto I. Effects of ischemia and reperfusion on cardiac tolerance to oxidative stres. *Am J Physiol* 1992; 262: 23-30.
145. Mutoh H, Hiraishi H, Ota S. Protective role of intracellula glutathione against ethanol-induced damage in cultured rat gastric mucosal cells. *Gastroenterology* 1990; 98: 1452-1459.
146. Scherer NM, Deamer DW. Oxidative stres impairs the function of the sarcoplasmic reticulum by oxidation of sulphydryl groups in the Ca^{++} -ATPase. *Arch Biochem Biophys* 1986; 246: 589-601.
147. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 44-84.

148. Javadzadeh A, Ghorbanihaghjo A, Bonyadi S. Preventive effect of onion juice on selenite-induced experimental cataract. *Indian J Ophthalmol* 2009; 57: 185- 189.
149. Kılıç A, Selek S, Erel O. Effects of melatonin on serum arylesterase activity and cataract formation induced with selenite in rats. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2007; 5: 67-70.
150. Shambhu D. Varma, Kavita R. Hegde and Svitlana Kovtun. İnhibition of selenite-induced cataract by caffeine. *Acta Ophthalmol* 2010: 88: 245-249.
151. Vibin M, Priya SG, Sasikala V. Broccoli regulates protein alterations and cataractogenesis in selenite models. *Curr Eye Res* 2010; 35: 99-107.
152. Aydemir O, Güler M, Kaya M. Protective effects of ebselen on selenite-induced experimental cataract in rats. *J Cataract Refract Surg* 2012; 18. pii: S0886-3350(12)01137-6. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.07.022.

6. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 2009 yılında Eylül TUS sınavı sonrası Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Anabilim Dalı'nda ihtisas eğitime başladım.