



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

DENEYSEL METANOL İNTOKSİKASYONU OLUŞTURULAN SIÇANLARDA, STEROİD VE ERİTROPOİETİN TEDAVİLERİNİN OPTİK SİNİR ÜZERİNDEKİ HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Burcu ŞÜKÜR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Kemal YAR

ADANA-2020



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

**DENEYSEL METANOL İNTOKSİKASYONU
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA, STEROİD VE
ERİTROPOİETİN TEDAVİLERİNİN OPTİK SİNİR
ÜZERİNDEKİ HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Burcu ŞÜKÜR

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Kemal YAR**

ADANA-2020

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında büyük bir özveriyle ve anlayışla benden yardımlarını esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Kemal Yar'a

Yardım ve katkıları nedeniyle, ÇÜTF Histoloji Anabilim Dalı bölüm başkanı Prof. Dr. Sait Polat ve Arş. Gör. Dilek Şaker'e

Yardım ve katkıları nedeniyle, ÇÜTF Patoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Arbil Açıklan'a

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleriyle klinik ve cerrahi alanda gelişmemde yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım; Prof. Dr. Nihal Demircan, Prof. Dr. Meltem Yağmur, Prof. Dr. Altan Özcan, Prof. Dr. Elif Erdem, Doç. Dr. Selçuk Sızmaç, Doç. Dr. Ebru Esen, Yrd. Doç. Dr. Kemal Yar ve Yrd. Doç. Dr. İnan Harbiyeli'ye

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çok şey öğrendiğimiz, birbirimize destek olduğumuz, beraber büyük bir keyifle çalıştığımız çok sevgili asistan arkadaşlarıma, özellikle Arş. Gör. Astan İbayev, Arş. Gör. Mustafa Aksoy'a

Beraber çalıştığım, şimdi uzman olan Dr. Nuhkan Görkemli, Dr. Aynure Sarıyeva, Dr. Oğuzhan Oruz ve Dr. Kübra Gül Ölke'ye

Beraber çalışmaktan büyük keyif aldığım hemşire ve personel arkadaşlarıma

Bu günlere gelebilmem için maddi manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım babam Mustafa Çam, annem Semiha Çam, abim Burak Çam ve kadeşim Buray Çam'a

Yanında kendimi hep çok şanslı hissettiğim sevgili eşim İbrahim Şükür'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
RESİM LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Optik sinir anatomi ve fizyolojisi	3
2.1.1. İntraoküler kısım (Optik sinir başı)	4
2.1.1.1. Retina sinir lifi tabakası	4
2.1.1.2. Prelaminer bölge	5
2.1.1.3. Lamina kribrosa tabakası	5
2.1.1.4 Retrolaminer tabaka	5
2.1.2. İntraorbital kısım.....	5
2.1.3. İntrakanaliküler bölüm.....	5
2.1.4. İntrakraniyal bölüm.....	5
2.1.5. Optik sinirin mikrovasküler dolaşımı	5
2.1.5.1. Arteriyel dolaşım.....	5
2.1.5.2. Venöz dolaşım.....	6
2.1.6. İntraorbital kısmının beslenmesi.....	6
2.1.7. İntrakanaliküler kısmının beslenmesi	6
2.1.8. İntrakraniyal kısmının beslenmesi	6
2.2. Retina gangliyon hücre tabakası	7
2.2.1. W hücreleri	8
2.2.2. X hücreleri	8
2.2.3. Y hücreleri	8
2.3. Toksik optik nöropatiler.....	9
2.3.1. Anti-tüberküloz ilaçlara bağlı optik nöropati.....	10
2.3.2. Antiaritmik ilaçlara bağlı optik nöropati.....	11
2.3.3. Vigabatrine bağlı optik nöropati	11

2.3.4. Tütün ve alkol kullanımına bağlı optik nöropati	11
2.3.5. Metanole bağlı toksik optik nöropati	12
2.3.5.1. Metanol	12
2.3.5.2. Patofizyoloji	12
2.3.5.3. Klinik Özellikler	13
2.3.5.4. Tedavi.....	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	21
3.1. Deneysel aşama.....	21
3.2. Histopatolojik değerlendirme	22
3.2.1. Işık mikroskop yöntemleri	22
3.2.2. Elektron Mikroskop Yöntemleri	22
3.3. İstatistiksel analiz.....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. Işık mikroskobu bulguları	25
4.2. Elektron Mikroskobik Bulgular	27
4.2.1. Kontrol grubu (Grup 0).....	27
4.2.2. Deney grubu (Grup 1).....	31
4.2.3. Tedavi grubu 1 (Grup 2)	36
4.2.4. Tedavi grubu 2 (Grup 3)	41
4.3. İstatistiksel Analiz.....	46
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	61

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No:

Sayfa No:

Çizelge 1. Elektron mikroskopik doku takibinde dehidratasyon, şeffaflandırma ve immersiyon işlemi...	23
Çizelge 2. Gömme materyalinin hazırlanışı.	23
Çizelge 3. Elektron mikroskopik değerlendirme	45



ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No:</u>	<u>Sayfa No:</u>
Şekil 1. Optik sinirin bölümleri.....	3
Şekil 2. Retina sinir liflerinin optik diske girişi	4
Şekil 3. Optik sinir başı kan akımı	7
Şekil 4. Optik sinir kan akımı	7
Şekil 5. Metanolden, formaldehit ve formik asit oluşumu	13
Şekil 6. Kontrol grubuna ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Kontrol grubuna ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.	25
Şekil 7. Deney grubuna ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Deney grubuna ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.	26
Şekil 8. Tedavi grubu 1'e ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Tedavi grubu 1'e ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.	26
Şekil 9. Tedavi grubu 2'e ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Tedavi grubu 2'ye ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.	27
Şekil 10. Kontrol grubuna alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinin (a) etrafındaki miyelin kılıf (mk) ve akson içerisindeki nörotübül ve nörofilamanlar normal yapıda izlenmektedir. Sinir lifi (akson) demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar: 1 µm.	28
Şekil 11. Kontrol grubuna alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositde (Od), çekirdek (Ç) ve sitoplazmanın normal yapıda olduğu; miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfının (mk) normal yapısını koruduğu görülmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.	29
Şekil 12. Kontrol grubuna alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Akson (a) ve miyelin kılıf (mk) yapılarının normal olduğu görülmektedir. Sinir lifi (akson) demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.	30
Şekil 13. Kontrol grubuna alınan optik sinir dokusunun elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositde (Od) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerin normal yapıda oldukları gözlenmektedir. Miyelinli aksonlarda (a) bulunan oval şekilli mitokondriyonlar (m) ve çok sayıda nörofilamanlar izlenmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere (As) ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.	31

- Şekil 14.** Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositde (Od) çekirdekte (Ç) heterokromatin artışı ve sitoplazmada organel harabiyeti (*) izlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfta (mk) yapısal bozuklukların (oklar) varlığı görülmektedir. Akson demetleri arasında astrosit sitoplazmik uzantıları (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.32
- Şekil 15.** Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti ve ödem alanları (*) dikkati çekmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) içerisinde yer alan organellerde (ok başı) ve miyelin kılıfta (mk) yapısal bozuklukların (oklar) varlığı görülmektedir. Bar= 1µm.33
- Şekil 16.** Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinin (Ç) periferinde kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti (*), mitokondriyonlarda (m) genişleme ve krista harabiyeti izlenmektedir. Miyelin kılıfta (mk) yapısal bozuklukların varlığı (oklar) görülmektedir. Aksonlarda (a) büzüşme ve akson ile miyelin kılıf arasında geniş boşlukların oluştuğu (yıldız) dikkati çekmektedir. Bar= 1µm.34
- Şekil 17.** Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinde aksonlarda (a) büzüşme, akson ile miyelin kılıf arasında ayrılımlar (*) izlenmektedir. Miyelin kılıf lamellerinde (mk) ayrışma ve harabiyet (oklar) oluştuğu görülmektedir. Sinir lif demetlerinin aralarında kapiller damar (KD) ve içerisinde eritrosit (E) izlenmektedir. Bar= 1µm.35
- Şekil 18.** Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (OD) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti ve ödem alanları (*) izlenmektedir. Miyelin kılıfta (mk) yapısal dejenerasyon (oklar) ve akson (a) içerisinde yer alan organellerde (ok başı) yapısal bozukluklar izlenmektedir. Bar= 1µm.36
- Şekil 19.** Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapısını korumakla birlikte, bazı sinir liflerinde, akson içerisinde yer alan organellerde (ok başı) ve miyelin kılıfta hafif yapısal bozuklukların varlığı (oklar) dikkati çekmektedir. Bar= 1µm.37
- Şekil 20.** Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositde (Od) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerinin normal yapıda oldukları görülmektedir. Bazı aksonlarda (a) aksoplazmada yer alan mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti (ok başı) izlenmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1µm.38
- Şekil 21.** Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Optik siniri dıştan çevreleyen fibröz kılıf (FK) izlenmektedir. Oligodendrositin (Od) çekirdekte (Ç) kromatin artışı gözlenmekle birlikte sitoplazmik

- organellerin normal yapıda oldukları görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) genellikle normal yapısını koruduğu dikkati çekmektedir. Bar= 1µm.39
- Şekil 22.** Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinin bazılarında akson (a) ve miyelin kılıf (mk) yapısında hafif değişiklikler (oklar) gözlenmekle birlikte, liflerin çoğunlukla normal yapıda oldukları izlenmektedir. Akson demetleri arasında, astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) görülmektedir. Bar= 1µm.40
- Şekil 23.** Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde (Ç) heterokromatin artışı ve sitoplazmada başlıca mitokondrionlarda (*) yapısal bozukluklar gözlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta hafif yapısal değişiklikler (oklar) izlenmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) gösterilmiştir. Bar= 1µm.41
- Şekil 24.** Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı izlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde aksonlarda (a) organel harabiyeti (^) ve miyelin kılıfta yapısal bozukluklar (oklar) ile akson ile miyelin kılıf arasında boşlukların oluştuğu (*) görülmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1µm.42
- Şekil 25.** Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Optik siniri dıştan çevreleyen fibröz kılıf (FK) izlenmektedir. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde kromatin artışı ve sitoplazmada hafif derecede organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekmektedir. Miyelinli sinir liflerinde hafiften orta dereceye kadar değişen akson (a) ve miyelin kılıf (mk) değişiklikleri (oklar) görülmektedir. Bar= 1µm.43
- Şekil 26.** Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Sinir lifi demetlerinin periferinde yer alan astrositte (A) çekirdeğinde (Ç) heterokromatin artışı görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapısının bozulduğu (oklar) dikkati çekmektedir. Aksoplazmada yer alan mitokondrionlarda genişleme ve krista harabiyeti (ok başı) izlenmektedir. Kapiller damar (KD) ve içerisinde eritrosit (E) gösterilmiştir. Bar= 1µm.44
- Şekil 27.** Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Bazı miyelinli sinir liflerinde (a) miyelin kılıfta (mk) ciddi yapısal bozuklukların oluştuğu (oklar) ve miyelin kılıf lamellerinin birbirlerinden ayrıldıkları görülmektedir. Bazı liflerde aksoplazmada yer alan mitokondrionlarda genişleme ve krista harabiyeti (ok başı) görülmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.45
- Şekil 28.** Miyelinli akson sayısının değerlendirilmesi. ***P <0,0001, **P <0,001, *P <0,01.46

RESİM LİSTESİ

Resim No:

Sayfa No:

Resim 1. Metanole bağı TON'lu bir olgunun hiperemik disk görünümü.....	15
Resim 2. Metanole bağı TON'lu bir olgunun soluk disk görünümü	15
Resim 3. Göz enükleasyon işlemi	22



KISALTMALAR LİSTESİ

ADH	: Alkol dehidrogenaz
ATP	: Adenozin trifosfat
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
EPO	: Eritropoietin
GABA	: Gama aminobütirik asit
GFAP	: Glial fibriler asidik protein
HE	: Hematoksilen eosin
İV	: İntravenöz
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MTX	: Metotreksat
PSA	: Posteriyor siliyer arter
RAPD	: Rölatif afferent pupiller defekt
RGH	: Retina gangliyon hücreleri
SSS	: Santral sinir sistemi
TON	: Toksik optik nöropati
TM	: Toluidin mavisi

ÖZET

Deneyisel Metanol İntoksikasyonu Oluşturulan Sıçanlarda, Steroid ve Eritropoietin Tedavilerinin Optik Sinir Üzerindeki Histopatolojik Etkilerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Sıçanlarda deneyisel olarak oluşturduğumuz metanol intoksikasyonu tablosunda eritropoietinin histopatolojik etkilerini değerlendirip, bunu steroid tedavisinin etkileri ile karşılaştırmayı amaçladık.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda 40 adet wistar albino sıçanın, 60 gözü kullanıldı. Her biri 10 sıçandan oluşan grup 0, 1, 2, 3 olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Grup 0 kontrol grubuydu, herhangi bir ajan verilmedi. Grup 1' e metanol, etanol, metotreksat verildi. Grup 2'ye, grup 1'den farklı olarak steroid tedavisi eklendi. Grup 3'e ise Grup 2'den farklı olarak rekombinat insan eritropoietin tedavisi eklendi. İki haftalık süre sonucunda sıçanların optik sinirleri diseke edildi ve histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular: Metilprednizolon alan grupta elektron mikroskopik incelenmesinde, miyelinli sinir liflerinin çoğunluğunda miyelin kılıf ile aksoplazmadaki mitokondriyon, nörotübül ve nörofilamanların normal yapılarını korudukları dikkati çekti. Grup 1'de ise birçok alanda miyelinli sinir liflerinde önemli dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği görüldü. Miyelinli aksonların sayısı, grup 1 ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmış bulundu. Eritropoietin ile tedavi edilen grupta görülen dejeneratif değişikliklerin, tedavi uygulanmayan grup 1'e kıyasla daha sınırlı olduğu görülse de, metilprednizolon verilen gruba göre bu değişikliklerin daha şiddetli olduğu görüldü. Hem eritropoietin ile tedavi edilen grupta ($p<0,01$), hem de metilprednizolon ile tedavi edilen grupta ($p<0,001$); grup 1 ile karşılaştırıldığında myelinli akson sayısının daha fazla olduğu görüldü.

Sonuçlar: Metilprednizolon ve eritropoietinin nöroprotektif etkisi, deneyisel çalışmamızda histopatolojik olarak etkin bulunmuştur. Ancak, metilprednizolon tedavisinin, eritropoietin tedavisine göre myelinli sinir liflerinin yapılarını ve myelinli akson sayısının daha fazla koruduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Metanol intoksikasyonu, toksik optik nöropati, eritropoietin, steroid, nöroproteksiyon

ABSTRACT

Evaluation of Histopathological Effects of Steroid and Erythropoietin Treatments on the Optic Nerve in Experimental Methanol Intoxication Rat

Purpose: We aimed to evaluate the histopathological effects of erythropoietin in methanol intoxication, which we experimentally created in rats, and compare it with the effects of steroid treatment.

Materials-Methods: We used 60 eyes of 40 rats in our study. We formed four groups, each containing 10 mice, groups 0, 1, 2, 3. Group 0 was the control group, no agent was given. Group 1 was given methanol, ethanol, methotrexate. Steroid treatment was added to group 2, which was different from group 1. Unlike Group 2, recombinant human erythropoietin treatment was added to Group 3. In the study, oral methanol was given to the rats one week after intraperitoneal methotrexate administration to groups 1, 2, 3. Oral ethanol was given 4 hours later following oral methanol. In addition to all these, the second group received high dose intraperitoneal methyl prednisolone for 3 days, and the third group received intraperitoneal recombinant human erythropoietin for 3 days. At the end of the two-week period, the optic nerves of the rats were dissected and examined histopathologically.

Results: In the electron microscopic examination of the methylprednisolone group, it was noted that the myelin sheath in the majority of myelinated nerve fibers and the mitochondria, neurotubules and neurofilaments in the axoplasm maintained their normal structures. It was observed that oligodendrocytes encircled the myelinated axons and generally maintained their normal thin structure. In the group 1, significant degenerative changes were observed in many areas of myelinated nerve fibers. It was noted that in oligodendrocytes there was an increase in heterochromatin in the nucleus and vacuolization in the cytoplasm. The number of myelinated axons was found to be significantly increased compared to the group 1. Although the degenerative changes seen in the group treated with erythropoietin were more limited compared to the untreated group 1, these changes were more severe than the group treated with methylprednisolone. Both in the erythropoietin-treated group ($p<0,01$) and in the methylprednisolone-treated group ($p<0,001$); It was seen that the number of axons with myelin was significantly higher compared to the experimental group.

Conclusions: The neuroprotective effect of methylprednisolone and erythropoietin was found histopathologically effective in our experimental study. However, it was observed that methylprednisolone treatment preserved the structures of myelinated nerve fibers and the number of myelinated axons more than erythropoietin treatment.

Key words: Methanol intoxication, toxic optic neuropathy, erythropoietin, steroid, neuroprotection

1. GİRİŞ AMAÇ

Metil alkole bağılı optik nöropati en sık görülen ve en iyi tanımlanmış toksik optik nöropati (TON) nedenidir (1). Prodüktif çağ erkeklerde görme kaybının önemli nedenlerinden biridir (1). Endonezya ve Tunus gibi gelişmekte olan ülkelerde metanol zehirlenmesinden kaynaklanan optik nöropati insidansı artmaktadır. Çalışmalar, üretken yaştaki erkeklerin metanol zehirlenmesinden kaynaklanan körlükten en fazla etkilenen populasyon olduğunu göstermektedir (1,2). Metil alkol, doza bağımlı olarak (≥ 2 mg/kg) metabolik asidoz, optik nöropati, solunum yetmezliği, dolaşım yetmezliği ve ölüme neden olmaktadır.

Metanol, odunun damıtılmasıyla elde edilen bir alkol çeşididir. Metanol renksiz ve son derece toksik bir organik çözücüdür. Endüstride solvent ve temizleyici olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Maliyeti düşürmek için, yasa dışı üretilen içkilerde kullanılmaktadır. Metanol zehirlenmesi, genellikle metanolün oral alımıyla oluşmaktadır. Bununla birlikte, metanolün yanlışlıkla ya da intihar amacıyla alımı sonrası da gelişebilir. Deri ya da inhalasyon yoluyla da metanol zehirlenmesi gelişebilir.

Metanolün kendisinden çok metabolitleri toksik etkiden sorumludurlar. Metanol gastrointestinal sistemden, solunum yollarından ve ciltten hızla emilir. Daha sonra karaciğerde alkol dehidrogenaz (ADH) tarafından formaldehit ve formik aside metabolize edilir. Formik asit mitokondrilerdeki sitokrom c oksidaz enzim aktivitesini inhibe ederek hücrel solunumu engeller ve metabolik asidozu artırır. Sinir sistemi, metanolün toksik etkilerine karşı savunmasızdır.

Metanol zehirlenmesinde bulgular, oral alımdan 12-24 saat sonra karın ağrısı, yorgunluk, bulantı-kusma ve görme kaybı ile ortaya çıkar. Bu latent dönem, metanolün toksik metabolitlerine yavaş metabolize olması ile ilgilidir. Metabolik asidoz ve santral sinir sistemi hasarı eşlik eden diğer bulgular arasındadır. Şiddetli durumlarda koma ve ölüm görülür.

Tanıda detaylı anamnez ve tam bir oftalmolojik muayene oldukça önemlidir. Metanol intoksikasyonunda görme şikayetleri, akut gelişen sisli ve lekeli görme, diplopi şeklindedir. Kliniğini diğer toksik nöropatilerden ayıran en önemli özelliği akut olmasıdır. Bilateral, ağrısız görme kaybı ve santral- santroçekal görme alanı defekti mevcuttur. Fundus muayenesinde, akut dönemde optik disk hiperemik ve ödemli

görünümündedir. Peripapiller sinir lifi ödemi ve optik diskte fizyolojik çukurluğun kaybı görülmektedir. Görme bozukluğu gangliyon hücre kaybına bağlıdır. Optik sinir ödemi geriledikten sonra yaklaşık 2 ay içinde optik atrofi gelişir ve görme keskinliği bu evreden sonra genellikle stabil seyreder. Pupilin dilate olması ve ışığa yanıt vermemesi kötü prognoz göstergesidir.

Metanol intoksikasyonunun tedavisi için etanol ya da fomepizol kullanılmaktadır. Fomepizol ve etanol, ADH'yı yarışmalı olarak inhibe eder, böylece metanolün metabolitlerine dönüşümü engellenir ve böbrek yoluyla elimine edilir. Bunun dışında destek tedavisi olarak metabolik asidozun düzeltilmesi, folik asit verilmesi, metanol ve metabolitlerinin atılımını arttırmak için hemodiyaliz uygulaması diğer tedavi seçenekleridir. Metanol toksisitesine bağlı optik nöropati tedavisinde, uygun ve etkili bir tedavi konusunda henüz bir fikir birliği sağlanamamıştır. Sıklıkla uygulanan steroid tedavisi ve vitamin desteğine rağmen etkin bir düzelme sağlanamamaktadır. Steroid tedavisi ve vitamin desteği için, farklı bireylerde farklı sonuçlar gözlenmiş ve terapötik bir mekanizma tanımlanamamıştır. Olgu düzeyinde bazı çalışmalarda ise rekombinat insan eritropoietininin (EPO) etkili olduğu savunulmaktadır (3, 4, 5). Biz de çalışmamızda, nöroprotektif bir ajan olarak kullanılmakta olan EPO'yu, deneysel olarak oluşturduğumuz metanole bağlı TON modelinde sistemik olarak uyguladık ve sistemik steroid etkileri ile karşılaştırdık.

Bu çalışmada wistar cinsi 40 albino sıçan, her grupta 10'ar sıçan olmak üzere 4 gruba ayrıldı. On adet sıçan kontrol grubu seçildi ve herhangi bir ajan verilmedi. Otuz sıçana folik asit seviyelerini düşürmek için intraperitoneal metotreksat (Methotrexate® 50mg/5ml, Koçak Farma, Türkiye) (0,3 mg/kg) uygulandı, 1 hafta sonra optik sinir hasarı yapabilecek dozda oral metanol (% 20'lik konsantrasyonda, 3g/kg) verildi (1). Sağkalımı sağlamak amacıyla, 4 saat sonra antidot olarak etanol (%20'lik konsantrasyonda, 0,5 g/kg) verildi (1). Bu 30 sıçanın 10'una 3 gün boyunca günde 1 kez intraperitoneal steroid (20-30 mg/kg), 10'una 3 gün boyunca günde 1 kez intraperitoneal rekombinat insan eritropoietini (Eprex®, 4000IU/0,4 ml, Janssen Cilag, İsviçre) (2500-5000 IU/kg) verildi. Yaklaşık 2 haftalık süreç sonunda optik sinir kesitleri histopatolojik olarak ışık mikroskopu ve elektron mikroskopu ile incelendi.

2. GENEL BİLGİLER

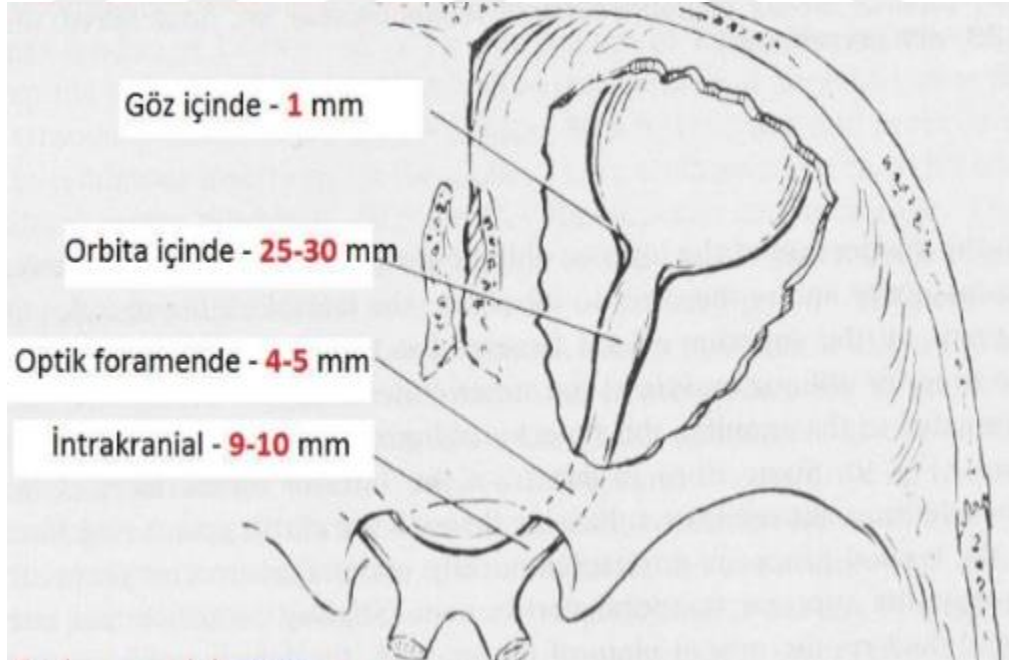
2.1. Optik sinir anatomi ve fizyolojisi

Optik sinir, retinanın gangliyon sinir lifi tabasındaki yaklaşık 1,2 milyon gangliyon hücre akson uzantısından oluşmaktadır. Bu aksonların optik diskten, kiazmaya kadar oluşturduğu bölüme optik sinir denir. Aksonlar, optik diskten yaklaşık 90 derecelik bir açı ile dönerek optik sinir başını meydana getirir.

Aksonlar optik kiyazmada çaprazlaşarak lateral genikulat cisme ulaşır ve oksipital kortekse kadar uzanır.

Optik sinir yaklaşık 45-50 mm uzunluğundadır ve 4 bölüm halinde incelenir.

1. İntraoküler kısım (1 mm)
2. İntraorbital kısım (25-30 mm)
3. İntrakanaliküler kısım (4-5 mm)
4. İntrakraniyal kısım (9-10mm) (Şekil 1)



Şekil 1. Optik sinirin bölümleri

2.1.1. İntraoküler kısım (Optik sinir başı)

Gangliyon hücre aksonları birleşerek optik diski meydana getirirler. Papilla veya optik disk olarak adlandırılır, fundus muayenesinde tek görülebilen kısımdır. Yaklaşık olarak ön- arka çapı 1mm, dikey çapı 1,8 mm, yatay çapı 1,7 mmdir. Merkezinde fizyolojik bir çukurluk bulunur.

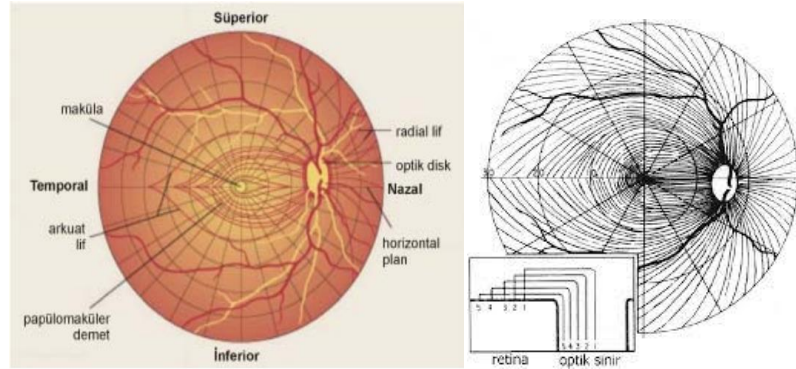
Optik disk 4 bölümde incelenir;

- Retina sinir lifi tabakası
- Prelaminer tabaka
- Lamine kribrosa tabakası
- Retrolaminer tabaka

2.1.1.1. Retina sinir lifi tabakası

Optik sinir başını örten en yüzeyel tabakadır.

Retinadan gelen miyelinsiz gangliyon hücre aksonları optik diske girerken, üstten gelen lifler üstten, alttan gelen lifler alttan, makuladan gelen lifler temporalden, nazaldan gelen lifler ise nazaldan optik diske girerler (Şekil 2).



Şekil 2. Retina sinir liflerinin optik diske girişi

2.1.1.2. Prelaminer bölge

Miyelinsiz optik sinir lifleri, astrositler ve glial uzantılardan oluşan; sinir liflerinin koroide giriş yaptığı bölgedir.

2.1.1.3. Lamina kribrosa tabakası

Beş yüz, 600 kadar pordan oluşan, kollojen, laminin, fibronektin ve elastinden zengin bir tabakadır. Optik sinir, bu tabakaya komşu skleradan kollajen uzantılar alır. Elastin sayesinde göz içi basınç artışlarına karşı optik sinir direnci dengelenir. Miyelinsiz sinir liflerinden oluşur.

2.1.1.4 Retrolaminer tabaka

Optik sinirin miyelin kılıf ile sarıldığı bölgedir.

2.1.2. İntraorbital kısım

Orbita apeksinden, optik kanala kadar uzanan, gevşek yapıda 25-30 mm uzunluğundaki optik sinir kısımdır. Bu gevşek yapı göz hareketlerine izin verir, travmaya, gerilmeye karşı siniri dayanıklı kılar ve 9 mm kadar propitozise olanak sağlar.

2.1.3. İntrakanaliküler bölüm

Sfenoid kemiğin küçük kanadındaki, optik kanalın içinde seyreden kısımdır. Yaklaşık 5 mm uzunluğunda olup dura, araknoid ve pia ile sarılıdır.

2.1.4. İntrakraniyal bölüm

Optik kanaldan sonraki bölümdür. Yaklaşık 5-16 mm uzunluğundadır. Kiazmaya geldiğinde nazal lifler çaprazlaşır, temporal lifler çaprazlaşmadan devam eder. Kiazmadan sonra lateral genikulat cisme, ardından primer kortekse uzanır.

2.1.5. Optik sinirin mikrovasküler dolaşımı

2.1.5.1. Arteriyel dolaşım

Optik sinirin büyük bir kısmı oftalmik arter dallarından kanlanır.

İntraoküler kısım

Retina sinir lifi tabakası: Temel olarak retinal arteriyollerden beslenir. Bunun dışında arka siliyer arterler ve silioretinal arterden köken alan arterler de beslenmeye katkıda bulunur.

Prelaminer tabaka: Peripapiller koroidden kaynaklanan sentripedal dallardan kanlanır.

Lamina kribrosa tabakası: Beslenmesi kısa posterior siliyer arterlerden (PSA) veya Zinn-Haller halkasından sağlanır. Zinn-Haller halkası, koroidal besleyici damarlardan, dört adet kısa PSA'lerden ve pial arteriyel ağdan oluşur (Şekil 3,4) (6).

Retrolaminer tabaka: Kısa arka siliyer arterler, koroid ve Zinn-Haller halkasından beslenir.

Optik sinir başının kanlanmasından esas sorumlu kısa arka siliyer arterlerdir. Koroid kaynaklı bu arterler, Zinn-Haller halkasını oluşturur. Optik sinir başı kan akımı sektöryel bir dağılım gösterir.

2.1.5.2. Venöz dolaşım

Optik sinir başının venöz drenajı santral retinal ven ve peripapiller koroidal venler aracılığıyla olur. Optik sinir başı dışında optik sinir, santral retinal ven ve orbital retinal venlere drene olur.

2.1.6. İntraorbital kısmın beslenmesi

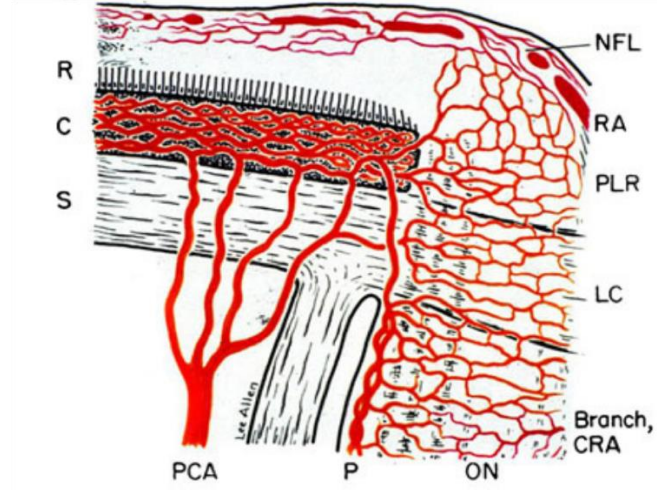
Kanlanması arka siliyer arterler yoluyla pial ağdan olur. Santral retinal arter dalları da kanlanmasına katkıda bulunur.

2.1.7. İntrakanaliküler kısmın beslenmesi

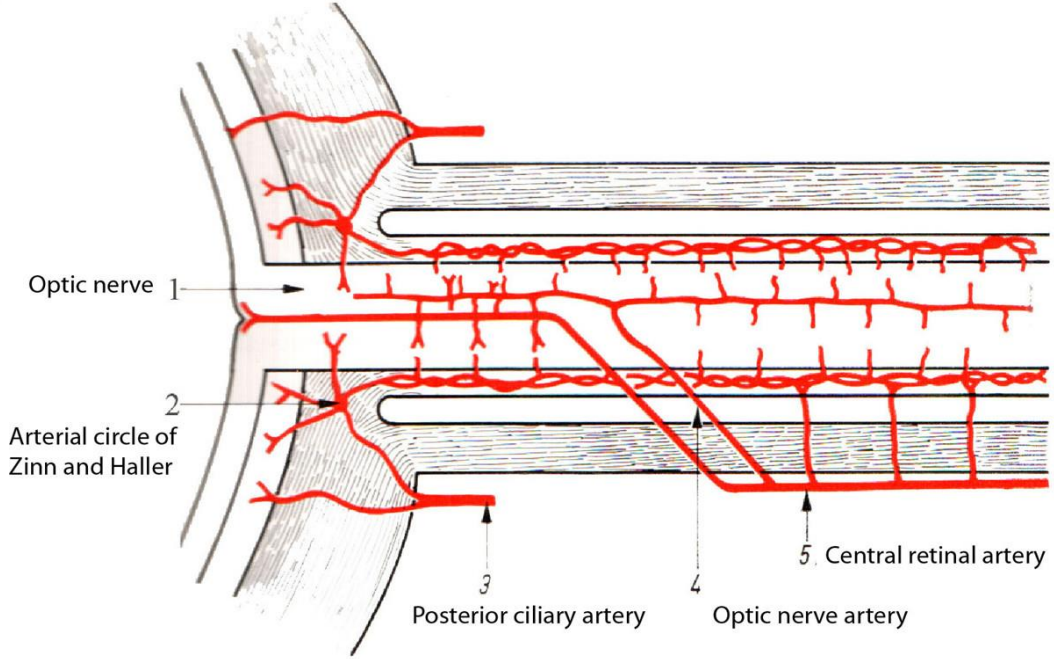
Kanlanması oftalmik arterin kollateral dalları, internal karotis arterden köken alan pial damarlar ve superior hipofizyal arterler ile olur.

2.1.8. İntrakraniyal kısmın beslenmesi

İnternal karotis arter, anterior serebral arter, superior hipofizyal arter ve anterior komünikan arter kanlanmasını sağlar.



Şekil 3. Optik sinir başı kan akımı



Şekil 4. Optik sinir kan akımı

2.2. Retina gangliyon hücre tabakası

Retina anatomik olarak üzere 10 tabakadan oluşmaktadır.

Dıştan içe sırasıyla;

- Retina pigment epiteli,
- Fotoresptör tabaka,
- Dış sınırlayıcı membran,

- Dış nükleer tabaka,
- Dış pleksiform tabaka,
- İç nükleer tabaka,
- İç pleksiform tabaka,
- Gangliyon hücre tabakası,
- Sinir lifi tabakası

Fotoreseptörler (rod ve koni hücreleri) üzerine düşen ışık enerjisini fotokimyasal reaksiyonla elektrik enerjisine çevirir. Koni hücreleri renkli ve keskin görme ile ilgili olup, kuvvetli ışık uyarısı ile uyarılırlar. Makulada sadece koni hücreleri bulunur. Bu hücrelerin fotopigmenti opsin'dir. Rod hücreleri ise renksiz görme ile ilgili olup, düşük şiddetli ışıktaki uyarılır. Rod hücrelerinin fotopigmenti rhodopsin'dir. Fotoreseptör hücreler görme yollarının birinci nöronu olan bipolar hücrelerle sinaps yaparlar. Bipolar hücreler ise görme yollarının ikinci nöronu olan ganglion hücreleri ile sinaps yaparlar. Ganglion hücrelerinden çıkan sinir lifleri papillada toplanarak optik siniri oluştururlar. Periferden makülaya doğru gangliyon tabaka sayısı artar, foveaya doğru tekrar azalır ve foveada ise tamamen kaybolur. Retina gangliyon hücre tabakasında, üç tip hücre vardır.

2.2.1. W hücreleri

Gangliyon hücrelerinin % 40'ını oluştururlar. Küçük çapta hücrelerdir ve yavaş ileti yaparlar (8 m/sn). Karanlıkta görme ve hareketi algılama için sinyaller taşırlar.

2.2.2. X hücreleri

P hücreleri olarak da bilinirler. Lateral genikulat cisimde, parvosellüler tabakada sinaps yaparlar. Gangliyon hücrelerinin % 55'ini oluştururlar. Orta boy hücrelerdir ve orta hızda ileti yaparlar. Renkli ve form görme sinyallerini taşırlar.

2.2.3. Y hücreleri

M hücreleri olarak da bilinirler. Lateral genikulat cisimde magnosellüler tabakada sinaps yaparlar. Büyük hücreler olup, gangliyon hücrelerinin % 5'ini oluştururlar. Görsel uyaranlardaki hızlı hareket ve ışık şiddetindeki değişmelere ait sinyalleri taşırlar.

2.3. Toksik optik nöropatiler

Optik sinir, ilaçlar (etambutol, izoniyazid, amiadoron), metaller (kurşun, cıva ve talyum), organik çözücüler (etilen glikol, tolüen), metanol gibi toksinlerden zarar görebilir. Bu bozukluk grubuna TON adı verilir. Cinsiyet ve ırklar arası fark beklenmemektedir. Toksik optik nöropati her yaş grubunda görülebilir.

Toksik optik nöropati, klinik olarak genellikle simetrik, progresif, bilateral görme kaybı, santral veya çekosantral skotom ve renk görme azalması ile karakterizedir. Rölatif afferent pupil defekti nadir görülür. Genellikle görme kaybı yavaş ilerlemektedir. Ancak metanole bağlı TON'da görsel şikayetler, diğer TON nedenlerine kıyasla akut gelişir.

Hastalığın başlarında, optik sinirler genellikle normal veya bazen biraz hiperemik görünür.

Toksik madde, özellikle papillomakular sinir lifi demetinde ganglion hücre aksonlarını hasarlamaktadır. Bu durum, başlangıçta, bilateral temporal optik disk solgunluğuna neden olabilir. Sonrasında optik diskin yaygın solgunluğu gelişebilmektedir.

Toksik optik nöropati dışlama tanısıdır. Bu nedenle, teşhis yaklaşımı için gerekli bir prosedür bulunmamaktadır.

Tedavi, toksik maddenin uzaklaştırılması, sigara ve alkol tüketimini bırakmayı içerir.

TON'a neden olan ajanlar;

- Etambutol
- İzoniyazid
- Amiadoron
- Digoksin
- Vigabatrin
- Toksik alkoller: Etilen glikol, metanol
- Tütün ve alkol kullanımı
- Linezolid
- Siprofloksasin
- Dapson

- İnterferon
- Tamoksifen
- Klorokin
- Disülfiram
- Antitümör Nekroz Faktörü Alfa Ajanlar

2.3.1. Anti-tüberküloz ilaçlara bağı optik nöropati

Etambutol ve izoniazid tüberküloz tedavisinde kullanılan optik sinir için toksik ilaçlardır. Etambutol, anti-tüberküloz ilaç kullanan hastaların % 1-5'inde optik nöropatiye neden olur (7).

Oküler toksisite doza ve süreye bağıdır. Görsel semptomlar, genellikle ilacın başlamasından 2-8 ay sonra başlar (8).

Etambutolün sitokrom oksidaz enzimi için gerekli olan çinkoyu bağlayarak toksik etki oluşturduğu düşünülmektedir (9).

Diskromatopsi, toksisitenin en erken belirtisi olabilir ve mavi-sarı renk değişiklikleri en yaygın olanıdır (7). VEP latanslarında gecikme gelişir. Merkezi skotomlar, bitemporal görme alanı defekti ve periferik görme alanında daralma da bildirilmiştir (10). Kontrast duyarlılık ölçümünün subklinik toksisitenin saptanmasında etkili olabilir.

Etambutolün, 25 mg /kg /gün veya daha fazla dozlarında TON riskinin daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür. Bu durumda, doz nispeten güvenli ve etkili olan 15 mg/kg/güne düşürülmelidir (11). Tedavisinde ilaç dozunun ayarlanmasının yanı sıra çinko takviyesi de yapılmalıdır. Bulguların ilerlemesi halinde, ilaç kesilmelidir. İlaç kesildikten sonra, genellikle hastalar iyileşir ve bu haftalar ile aylar sürebilir.

İzoniazid, TON'a neden olabilen başka bir antitüberküloz ilaçtır.

Bitemporal hemianopik skotomlar ve bilateral optik disk ödemi görülebilir.

Etambutol ile beraber kullanıldıklarında toksik etkisi daha fazla olmaktadır. İlaç kesilmesi ve pridoksin idamesi ile görsel fonksiyonlar düzelmektedir.

2.3.2. Antiaritmik ilaçlara bağı optik nöropati

Amiodaron, kardiyak aritmileri tedavi etmek için kullanılan bir ajandır. Çoklu kanal blokeridir (Na, K, Ca kanalları blokeri ve yarışmalı olmayan α/β bloker). Negatif inotrop, negatif kronotroptur. Sinoatriyal nod fonksiyonuna etki ederek, atriyoventriküler nod iletimini baskılayarak kalbi yavaşlatır.

Amiodaron ile ilişkili optik nöropatinin klinik özellikleri; giderek artan tek taraflı veya bilateral görme kaybı ve uzun süreli bilateral optik disk ödemidir (8).

En yaygın oküler semptom, ışıkların etrafındaki renkli halkalardır.

Yaygın oküler bulgular kornea mikrodepozitlerini ve lens opasitelerini içerir.

Toksik optik nöropatinin, amiodarona bağı olduğuna dair kanıtlar varsa, ilacın kesilmesi gerekir. Görsel semptomlar ve disk ödemi birkaç ay içinde yavaş yavaş düzelebilir (8).

Digoksin, kardiyak aritmileri ve kalp yetmezliğini tedavi etmek için kullanılan bir kardiyak glikozittir. Diskromatopsiye, görme bozukluklarına ve görme alanı bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir (12).

2.3.3. Vigabatrine bağı optik nöropati

Vigabatrin, infantil spazm gibi nöbetler için kullanılan antiepileptik bir ilaçtır. Gama aminobütirik asit (GABA) transaminaz enzimine doza bağı enzim inhibisyonu yapar ve böylece inhibe edici nörotransmitter olan GABA düzeylerinde artışa neden olur.

Vigabatrin ile ilişkili görme alanı kusurları geri dönüşümsüz olabilir (13). Görme alanı defektlerinin başlama zamanı, yaşa ve kullanım süresine bağıdır (13).

2.3.4. Tütün ve alkol kullanımına bağı optik nöropati

Tütün-alkole bağı TON, tütün alkol ambliyopisi olarak da adlandırılmaktadır. Bu hastaların çoğunda şiddetli beslenme yetersizliği vardır ve bu hastalarda beslenmeyle görsel açıdan iyileşme olduğu görülmüştür.

Alkolün direkt etki ile toksik optik nöropatiye neden olduğu düşünülmemektedir (14). Ancak alkolizm, beslenme yetersizliğinde bazı vitamin (tiamin) eksiklikleri yaparak optik nöropatiye neden olabilmektedir.

Hastalık genellikle orta yaşlı erkeklerde belirgin bir bilateral görme bozukluğu, simetrik çekosantral skotomlar, renkli görmenin bozulması ile karakterizedir. Optik sinirin görünümü genellikle normal olmakla birlikte, peripapiller dilate damarlar ve kanamalar görülebilir.

Sigara içmenin, B12 vitamini emilimini bozduğu bilinmektedir (15). Sigara dumanında bulunan ve metabolize edilmeyen siyanürün hidroksikobalamin ile siyanokobalamine dönüştürülmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

2.3.5. Metanole bağlı toksik optik nöropati

2.3.5.1. Metanol

Metanol (CH_3OH), en basit yapılı alkoldür.

Geçmişte odunun damıtılması ile elde edildiğinden odun alkolü de denir (14). Günümüzde metanol, karbonmonoksit ve hidrojenden yüksek basınç altında, yüksek sıcaklıklarda üretilir. Metanol, etil alkol gibi hafif tatlı keskin bir kokuya sahip renksiz oldukça uçucu bir sıvıdır. Su ile tamamen karışır. Metanol, endüstriyel kullanımlar sırasında ve doğal olarak volkanik gazlar, bitki örtüsü ve mikrobiyal ajanlardan çevreye salınır. Endüstride boya inceltici, teksir makine sıvısı, antifriz, cam temizleyici gibi maddelerin yapımında kullanılır. Kimyasallar yapmak, otomotiv ve havacılık yakıtlarından su çıkarmak için, boyalar ve plastikler için bir çözücü olarak ve çok çeşitli ürünlerde bir bileşen olarak kullanılır.

Gelişmekte olan ülkelerde, yasadışı olarak üretilen alkol içerikli ürünlerin tüketimi, metanol intoksikasyonun önemli bir nedenidir. Akut zehirlenmeler bilerek ya da yanlışlıkla içki olarak kullanılması sonucu oluşurken, kronik zehirlenmeler, işyerlerinde buharının inhale edilmesi sonucu oluşur. Giysilere bol miktarda bulaşmış olan metil alkolün deri yolu ile alınması da mümkündür. Ülkemizde yapılan bir çalışmada, metil alkol intoksikasyonu sonucu meydana gelen 124 ölüm olgusundan, 14 olguda metil alkol zehirlenmesine neden olan etkenin kolonya olduğu saptanmıştır (16).

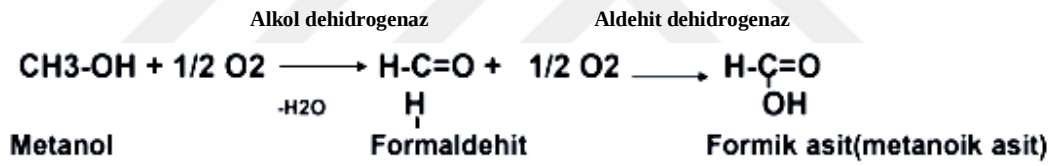
2.3.5.2. Patofizyoloji

Metanol gastrointestinal sistemden, solunum yollarından ve ciltten hızla emilir. Kanda 30-60 dakika sonra maksimum doza ulaşır. Metanol oldukça toksik bir ajandır.

On ml kadar metanol, optik sinirleri hasarı yaparak kalıcı körlüğe sebep olur. Otuz ml kadarı ise ölümcüldür (17). Ortalama letal doz ise 100 ml'dir (1-2 mg/kg) (18).

Metanol iki mekanizma ile toksik olabilir. İlk olarak, metanol etanol zehirlenmesi gibi merkezi sinir sistemini baskılayarak toksisite gösterebilir. İkinci olarak, metanol formik aside metabolize olarak, formik asit üzerinden toksisiteye neden olabilir.

Karaciğere gelen metil alkol önce, ADH enzim aracılığı ile yavaş olarak formaldehite ve ardından aldehit dehidrogenaz enzimi ile formik aside dönüştürülür (Şekil 5). Bu dönüşüm etanole oranla 5-10 kere daha yavaş oluşur. Bu nedenle klinik bulgular yaklaşık 12-24 saat kadar sonraya ortaya çıkar. Metanole bağlı toksisitenin büyük çoğunluğundan formik asit sorumludur. Formik asit, mitokondriyal sitokrom c oksidazı inhibe eder, hücresel seviyede hipoksiye ve metabolik asidoza sebep olur (19). Asidoz sonucu retinada sinir harabiyeti ve buna bağlı olarak körlük ve daha ileri safhada koma ve ölüm meydana gelebilmektedir.



Şekil 5. Metanolden, formaldehit ve formik asit oluşumu

Tedavisi esas olarak bu toksik metabolitlerin oluşmasını engellenmesine yöneliktir. Etanol ve fomepizol, ADH'nın metanol üzerine olan etkisini yarışmalı inhibisyon ile baskılar. Metanol, toksik metabolitlere dönüşüm yerine böbrekler ile vücuttan atılır.

2.3.5.3. Klinik Özellikler

Metanol zehirlenmesinin klinik bulguları, santral sinir sistemi depresyonu, metabolik asidoz, görme bozuklukları ve gastrointestinal sistem bulguları ile karakterizedir.

Koma, nöbet ve ciddi metabolik asidoz kötü prognoz göstergesidir (20). Formik asit sitokrom C'yi inhibe ederek, oksidatif solunumu baskılar. Anaerobik metabolizma

aktive olur ve laktik asidoz gelişir. Erken dönemde asidozun kaynağı formik asit iken, geç dönemde ise laktik asittir.

Metanol intoksikasyonunun, ilk belirtileri bulantı ve kusma gibi gastrointestinal semptomlarıdır. Metanol, gastrointestinal sistemi tahriş edici bir ajandır. Bu nedenle bulantı- kusmaya, iştahsızlık ve karın ağrısına yol açabilir. Bunun dışında pankreatit de görülebilir.

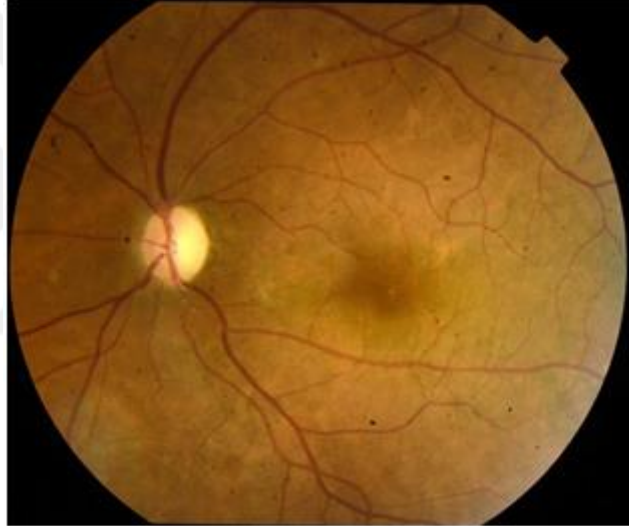
Metanol, toksik optik nöropatinin en yaygın olarak bilinen nedenidir. Formik asit, optik sinir içinde birikerek mitokondriyal hasar ve oksidatif metabolizmanın baskılanması ile görsel semptomlara, hiperemi, optik disk ödemi ve optik sinir atrofisine neden olduğu düşünülmektedir (21). Metanol zehirlenmesinde, görsel semptomlar tanıyı koymaya yardımcı olur, böylece uygun tedavinin erken başlamasına yol açar. Prognoz en çok serum metanol konsantrasyonlarından ziyade asidozun şiddeti ile ilişkilidir.

Göz semptomları hastaların yarısında görülür. Göz hasarı, serum metanol seviyesinin 20 mg/dL üzerinde olması ile ilişkilidir. Metanol alımından 12-24 saat sonra bulanık görme, fotofobi, görme bozuklukları (kar fırtınası görüntüsü), santral skotom, ışığa yetersiz pupiller yanıt, totale yakın görme kaybı gibi görme şikayetleri gelişebilir. Metanole bağlı TON'da görsel şikayetler, diğer TON nedenlerine kıyasla akut gelişir.

Görme semptomlarının olması tam bir oftalmolojik muayene gerektirir. Metanol zehirlenmesinin erken döneminde, fundus muayenesinde optik diskler hiperemik görülür (Resim 1). Bunun dışında papilödem, optik diskte fizyolojik çukurluk kaybı, retina ödemi, retinal hemorajiler ve optik atrofiye ilerleme görülebilir (Resim 2). Metanole bağlı TON'da görme bozuklukluğunun düzelmesi ile ilgili sonuçlar değişkenlik gösterir. Sanaei- Zadeh ve arkadaşları, metanol zehirlenmesi nedeniyle bulanık ve kar fırtınası görme şikayetleri olan hastalarının tümünde görmenin tam olarak düzeldiğini göstermiştir (3).



Resim 1. Metanole bağı TON'lu bir olgunun hiperemik disk görünümü



Resim 2. Metanole bağı TON'lu bir olgunun soluk disk görünümü

Naraqi ve arkadaşları, metanole bağı bilateral görme bozukluğu ile taburcu edilen sekiz hastada görme değişikliği olmadığını ve yaklaşık 3 ay sonra hepsinde optik atrofi geliştiğini göstermiştir (22). Naraqi ve arkadaşları, kalıcı görme bozukluğu insidansının metabolik asidoz düzeyi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (22).

Metanol intoksikasyonunda görülen nörolojik belirtiler baş ağrısı, baş dönmesi ve nöbetlerdir. Formik asit, bazal gangliyonlarda birikir ve nekroza neden olur. Hastalarda parkinsonizm, distoni ve hipokinezi gibi ekstrapiramidal bulgulara neden olabilir. Beyin parankimindeki hasara bağı olarak nöbet görülebilir. Görüntülemelerde bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tercih edilir.

Metanol zehirlenmesinde en karakteristik görüntüleme bulgusu bilateral putaminal nekrozdur.

Metanol intoksikasyonunda prognozu belirleyen, metanolün düzeyinden ziyade metabolik asidoz düzeyidir. Yüksek düzeydeki asidozda kalp kası baskılanır ve kardiyak aritmi, kalp yetmezliği, bradikardi, hipotansiyon gelişebilir. Kardiyak yetmezliğe bağlı pulmoner ödem, takipne, nefes darlığı görülebilmektedir. Metanol zehirlenmesinde en sık ölüm sebebi solunum arrestidir (20).

Metanol intoksikasyonu tanısı; anamnez, klinik bulgular, laboratuvar testleri ve görüntüleme yöntemleri yardımıyla konur. Anamnezde şüpheli alkol tüketimi, kolonya içilmesi, otomotiv sanayide çalışma gibi öyküsünün olması, metanol zehirlenmesini akla getirmelidir. Klinik bulgulara, bulantı- kusma, karın ağrısı, bulanık görme, baş ağrısı, baş dönmesi gibi bulgular metanol zehirlenmesini düşündürür. Nedeni bilinmeyen tüm anyon açıklı metabolik asidozu olan hastalarda metanol zehirlenmesi düşünülmelidir (20).

Laboratuvar testi olarak;

- Sıvı veya gaz kromatografisi (> 20 mg/dl) ile serum metanol seviyesi ölçümü
- Serum etanol seviyesinin ölçümü
- Arteriyel kan gazı
- Anyon açığı
- Laktik asit
- Serum osmolalitesi
- Serum elektrolitleri
- Tam kan sayımı
- Biyokimya
- Kalsiyum, fosfat, Magnezyum düzeyi
- Amilaz, lipaz
- Kan şekeri tayini
- Tam idrar tetkiki bakılmalıdır.

Serum metanol seviyesi 20 mg/dL'nin üzerinde olması tanı koydurucudur. Ayrıca erken dönemde formik asidin birikimine, geç dönemde ise laktik asit birikimine bağlı olarak artmış anyon açıklı metabolik asidoz görülür.

Santral sinir sistemi hasarı şüphelenilen hastalardan BT ve MRG istenmelidir. Manyetik rezonans görüntüleme, lezyonların tespitinde daha etkilidir. Metanol zehirlenmesi olan hastalarda beyin BT ve MRG ile görüntülenmesinde; putamen, globus pallidum ve bazal gangliyonlarda bilateral nekroz, beyin ödemi, subaraknoid kanama ve intraserebral kanamalar görülebilmektedir (23).

2.3.5.4. Tedavi

Metanol, gastrointestinal sistem tarafından hızlıca emilir. Bu nedenle metanol intoksikasyonunda gastrik lavajın faydası yoktur ve aktif kömür verilmesi gerekli değildir.

Metanol intoksikasyonu tedavisinde amaç; hava yolu devamlılığının sağlanması, elektrolit bozukluğunun ve asidozun düzeltilmesi, yeterli hidrasyon yapılması, toksik metabolitlerin oluşmasının engellenmesi, metanolün ve toksik metabolitlerinin kandan temizlenmesinin artırılmasıdır (20).

Bikarbonat tedavisi: Metabolik asidoz varsa bikarbonat infüzyonu yapılmalıdır. Bikarbonat göz bulgularını azaltabilir. Ek olarak bikarbonat aktif formik asit miktarının azaltılmasına yardım eder. PH <7,20 olası mutlak bikarbonat tedavi endikasyondur ve pH: 7,45-7,50 arasında tutulmaya çalışılır.

Antidot tedavisi: Formik asit oluşumunu ve birikimini engellemek için antidot tedavisi verilir. Bu antidotlar yarışmalı inhibisyon ile aynı metanol gibi ADH tarafından metabolize edilirler. Alkol dehidrogenazın afinitesi her iki antidot (etanol ve fomepizol) için de metanolden daha yüksektir.

Metanol intoksikasyonunda antidot ile tedavi endikasyonları;

- Metanol serum seviyesi ≥ 20 mg/dL olması
- Metanol alım öyküsü olanlarda osmolal gap >10 mOsm/l olması
- Metanol alım şüphesi olanlarda aşağıdaki 3 kriterden 2 sinin olması:
 - Arterial pH $<7,3$
 - Serum bikarbonat <20 mmol/ L
 - Osmolal gap >10 mOsm/L

Antidot tedavisi, kan metanol düzeyi 20mg/dl altına ininceye, semptomlar gerileyene ve metabolik asidoz düzelene kadar devam edilmelidir.

Fomepizol, metanolün metabolizmasını geciktirmek için uygulanır. Fomepizolün, ADH'a affinitesi etanolden daha yüksektir, yan etkisi minimaldir (hipoglisemi ve sedasyon yapmaz), etanol gibi serum seviyesi takibi gerekmez, yoğun bakım yatışı genellikle gerekli değildir. Ancak etanole göre pahalı, ulaşılması zor, raf ömrü kısadır. 15 mg/kg yükleme dozu intravenöz (İV), takiben her 12 saatte bir 10 mg/kg ek dozlar uygulanır. Tedavi 48 saatden uzun sürerse 12 saatlik ek dozlar 15 mg/kg 'ye çıkılır. Hemodiyaliz yapılan hastalarda 15 mg yükleme yapılmalı takiben 1-1,5 mg/kg saat infüzyon ya da her 4 saatte bir yükleme doz tekrarlanmalıdır.

Etanol, metanol tedavisi için geleneksel antidottur. Etanol, fomepizole kıyasla daha ucuz ve ulaşılması kolaydır. Ancak etanol, SSS depresyonu, hipoglisemi, hepatotoksisite, solunum depresyonu ve mekanik ventilasyon ihtiyacına neden olabilir. Tedavi süresince yoğun bakım yatışı gerektirir. Etanol kullanımında hasta nörolojik ve solunum depresyonu açısından takip edilmelidir. Serum etanol düzeyi ve kan glukoz takibi gerektirir. İntravenöz yükleme dozu; 800 mg/kg, İV idame dozu; 100mg/kg/saat, oral yükleme dozu; % 40'lık etanolden 1,5- 2 ml/kg, oral idame dozu; % 40'lık etanolden 0,2-0,5 ml/kg/saattir. Serum etanol düzeyi 1-2 saat aralıklarla takip edilmelidir. Hemodiyaliz yapılan hastalarda etanol idame dozu iki katına çıkılmalıdır.

Kofaktör tedavisi: Yüksek dozda folik asit ya da folinik asit, formik asitin karbondioksit ve suya dönüşümünü kolaylaştırabilir. Metanol zehirlenmesinde 50 mg folik ya da folinik asit her 6 saatte bir İV verilmelidir.

Hemodiyaliz tedavisi: Metanol ve metabolitlerini hızlı bir şekilde kandan uzaklaştırır, böylece antidot tedavisinin süresini kısaltır ve hastanede kalış süresini azaltır (18). Hemodiyaliz, derin asidozu, görme bozukluğu, hemodinamik bozukluğu ya da böbrek yetmezliği olan hastalarda acil olarak uygulanması gerekebilir.

Metanol zehirlenmesinde hemodiyaliz endikasyonları;

1. Şiddetli metanol zehirlenmesi bulgularından en az birinin olması;
 - Koma
 - Nöbet
 - Yeni gelişen görme defekti

- Metabolik asidoz (Kan pH $\leq 7,15$ ve/veya yeterli destek ve antidot tedavisine rağmen dirençli metabolik asidoz)
 - Serum anyon açığı > 24 mmol/L varlığı
2. Serum metanol düzeyi;
- Fomepizol tedavisi verilenlerde 70 mg/dL $>$ veya 21,8 mmol/L
 - Etanol tedavisi verilenlerde 60 mg/dL $>$ veya 18,7 mmol/L
 - Antidot yokluğunda 50 mg/dL $>$ veya 15,6 mmol/L
3. Böbrek fonksiyonu bozukluğu

Metanol'e bağlı TON tedavisi: Metanol'e bağlı TON tedavisi açısından etkinliği kanıtlanmış bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır.

- a. **Sistemik kortikosteroidler:** Steroidlerin, kapiller ağ geçirgenliği azaltarak optik disk ödemi azalttığı düşünülmektedir (24). Böylece optik sinir başındaki kapiller damarların, sinir aksonlarına yaptığı baskı azalır ve hasar gören aksonlar fonksiyonlarını geri kazanırlar. Hayreh ve arkadaşlarının çalışmasında, metanole bağlı TON'da, optik sinirdeki retrolaminar akson ve astrositlerin sitoplazmalarındaki şişmeden kaynaklı bir nöropati olduğu gösterilmiştir (6). Retrolaminar demiyelinizan optik nöropati, metanol intoksikasyonunda erken bir morfolojik bulgudur (25). Abrishami ve arkadaşlarının çalışmasında, steroid tedavisinin, demiyelinizasyon sürecini inhibe ettiği gösterilmiştir (25). Ancak, tedaviye erken başlamak oldukça önemlidir, çünkü Fujihara ve arkadaşlarının çalışmasında, 6 gün sonra uygulanan steroid tedavisinin etkisiz olduğu gösterilmiştir (26).
- b. **Eritropoietin:** Eritropoietin, kemik iliğindeki eritroid progenitörlerin apoptozunu önleyerek kırmızı kan hücresi farklılaşmasını uyaran bir glikoproteindir. Eritropoietin, son zamanlarda metanol kaynaklı optik nöropatide iyi bir terapötik seçenek olarak sunulmuştur. Eritropoietinin, SSS'de nöroprotektif ve nörorejeneratif özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (27). Non-arteritik anterior iskemik optik nöropati ve travmatik optik nöropatisi olan

hastalarda kullanıldığında görmede iyileşme olduğunu gösterilmiştir (28, 29). Bahr ve arkadaşları, EPO'nun, retina gangliyon hücrelerinde (RGH), apoptozisde azalma ve sağkalımda artmaya neden olduğunu saptamışlar (30). Optik nöritte, EPO ile tedavi edilen grupta, optik koherens tomografide retinal sinir lifi tabakasının önemli ölçüde korunduğu tespit edilmiş (31). Pakravan ve arkadaşları, metanol'e bağlı TON'lu 2 hastanın EPO uygulanmasına dramatik bir yanıt verdiğini raporlamışlar. Farzad ve arkadaşları, İV EPO'nun, metanole bağlı TON'u olan hastalarda görme keskinliğini iyileştirdiğini ve bu bozukluk için umut verici bir tedavi olabileceğini vurgulamışlardır (32). Zamani ve arkadaşları ise, EPO'nun metanol'e bağlı TON'da koruyucu etkisi, müdahalenin başlangıcında etkili olabileceğini ancak uzun süreli takipte bu etkinin geçici olabileceğini iddia etmişlerdir (33).

- c. **Terapötik fotobiyomodülasyon:** Kızıla yakın ışık ile fotobiyomodülasyonun mitokondriyal aktiviteyi arttırdığı ve sitokrom oksidaz aktivitesinin uyarılmasıyla in vitro hücre sağkalımını arttırdığı gösterilmiştir (34, 35). Eells ve arkadaşları, ışık yayan diyot demetlerini kullanılarak kızıla yakın aralıktaki (630-1.000 nm) ışıkla fotobiyomodülasyon tedavisinin, metanol intoksikasyonu olan sıçanların retinasındaki rod ve koni aracılı fonksiyonlarda önemli bir iyileşme olduğunu göstermişler (36). Ayrıca bu tedavinin retinayı, formik asidin neden olduğu histopatolojik değişikliklerden koruduğunu da saptamışlar (36).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deneysel aşama

Çalışmamızda 250-350 gram ağırlığında, 2 aylık 40 adet Wistar cinsi albino sıçanın 60 gözü kullanılmıştır. Çalışma Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne uygun olarak yapılmıştır.

Çalışma, biyoistatistik ana bilim dalı ile en az sayıda hayvan sayısı belirlenerek tasarlandı. Kırk adet sıçanın her biri 10 sıçandan oluşan grup 0, 1, 2, 3 olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Grup 0 kontrol grubuydu, herhangi bir ajan verilmedi. Grup 1'e metanol, etanol, metotreksat verildi. Grup 2'e, grup 1'den farklı olarak steroid tedavisi eklendi. Grup 3'e ise Grup 1'den farklı olarak rekombinat insan EPO tedavisi eklendi. Sıçanlar folik asit açısından zengin türlerdir, metanol intoksikasyonuna duyarlılığı düşüktür (37). Folik asit antagonisti olan metotreksat, sıçanı metanol toksisitesine duyarlı hale getirmektedir. Çalışmada ilk olarak grup 1, 2, 3'teki sıçanlara, 0,3 mg/kg dozunda intraperitoneal metotreksat (Methotrexate® 50mg/5ml, Koçak Farma, Türkiye) verildi. Bir hafta sonra aynı gruplara % 20 lik konsatrasyonda 3g /kg dozunda oral metanol verildi (1). Sağkalımı sağlamak amacıyla, oral metanolün verilmesi ardından 4 saat sonra % 20 lik konsatrasyonda 0,5 g/kg dozunda oral etanol verildi (1). Ertesi gün, 2. gruba tüm bunlara ek olarak 3 gün boyunca günde 1 kez 20-30 mg/kg dozunda intraperitoneal metil prednizolon, 3. gruba ise 3 gün boyunca günde 1 kez 2500-5000 IU/kg dozunda intraperitoneal rekombinat insan EPO'su (Eprex®, 4000IU/0,4 ml, Janssen Cilag, İsviçre) verildi.

İntramuskuler 10 mg/kg ksilazin ve 10 mg/kg ketamin ile anestezi uygulandı. İki haftalık sürecin sonunda 40 adet sıçanın, 60 gözü anestezi altında enükle edildi.



Resim 3. Göz enükleasyon işlemi

Enükleasyon işleminden sonra 40 adet sıçanın 60 gözüne optik sinir diseksiyonu yapıldı. Diseksiyon işleminden sonra her gruptan 5'er sıçan olacak şekilde 20 adet optik sinir elektron mikroskopisi için Histoloji Ana Bilim Dalı'nda, tüm sıçanlardan 40 adet optik sinir de ışık mikroskopisi için Patoloji Ana Bilim Dalı'nda incelendi. Enükleasyon işlemi sonrasında sıçanlara, ksilazin ve ketamin anestezisi altında ötenazi yapıldı.

3.2. Histopatolojik değerlendirme

3.2.1. Işık mikroskop yöntemleri

Işık mikroskopik değerlendirmesi için alınan doku örnekleri, % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiş sinir dokuları uygun doku tespit ve takip işlemlerinden sonra kesit yönü dik olacak pozisyonda parafin bloklara alındı. Formaldehit solüsyonunda tespit parafin bloklardan hazırlanan 5 mikron kalınlığındaki kesitler lamlara alınarak otomatik boyama cihazında, hematoksilin eosin (HE) boyandı. Hematoksilin eosin boyalı lamalar ışık mikroskopunda (Olympus BX46) hücresellik, vakuolar dejenerasyon gibi iskemik değişiklikler bakımından değerlendirildi. Ayrıca histokimyasal yöntem ile toluidin mavisi boyası uygulandı.

3.2.2. Elektron Mikroskop Yöntemleri

Elektron mikroskopik doku analizi için Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış, % 5'lik glutaraldehit solüsyonuna alınan optik sinir doku örnekleri, 1 saatin sonunda 1 mm³'lük parçalara ayrıldı. Ayrılan doku parçaları tekrar % 5'lik glutaraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat süresince tespit edildi. İlk tespit işleminden sonra dokular

Millionig fosfat tamponunda 2 kez 10’ar dakika süreyle yıkandı. Ardından ikinci tespit işlemine tabi tutuldu. Millionig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 1’lik osmium tetraoksit solüsyonu ile 2 saatlik tespitten sonra dokular tekrar Millionig fosfat tamponu ile 2 kez 10’ar dakika süreyle yıkandı. Daha sonra dokular, Çizelge 1’de belirtilen sıraya göre derecesi giderek artan etil alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.

Çizelge 1. Elektron mikroskobik doku takibinde dehidratasyon, şeffaflandırma ve immersiyon işlemi.

%50’lik etil alkol	+4°C’de	15 dakika
%70’lik etil alkol	+4°C’de	15 dakika
%86’lik etil alkol	+4°C’de	15 dakika
%96’lik etil alkol	+4°C’de	15 dakika
%100’lük etil alkol	+4°C’de	15 dakika
%100’lük etil alkol	+4°C’de	15 dakika
%100’lük etil alkol	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit	Oda sıcaklığında	15 dakika
Propilen Oksit+ Gömme materyali	Oda sıcaklığında	30 dakika
Propilen Oksit+ Gömme materyali	Oda sıcaklığında	30 dakika

Bu işlemlerden sonra optik sinir doku parçaları Çizelge 2’de belirtilen şekilde hazırlanan rezin içerisine alındı ve 1 gece boyunca rotatorda döndürülerek karıştırıldı, böylece rezinin doku parçaları içerisine daha iyi nüfuz etmesi sağlandı.

Çizelge 2. Gömme materyalinin hazırlanışı.

Araldehit (CY 212)	20 ml
Sertleştirici (HY 964)	20 ml
Hızlandırıcı (DY 064)	0,6 ml
Plastikleştirici-Dibütil Fitalat	1ml

Ertesi gün rotatordan alınan doku parçaları, taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak beem kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat polimerize edildi. Daha sonra bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Ultracut S ultramikrotomu ile 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve doku bloklarında uygun alanların seçimi yapıldı. Belirlenen alanlardan ultramikrotom ile 50 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridler üzerine alındı ve boyama işlemine geçildi. Yüzde 70'lik etil alkolde hazırlanan doymuş uranil asetat ile Reynolds'un kurşun nitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler JEOL-JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu (Japonya) ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

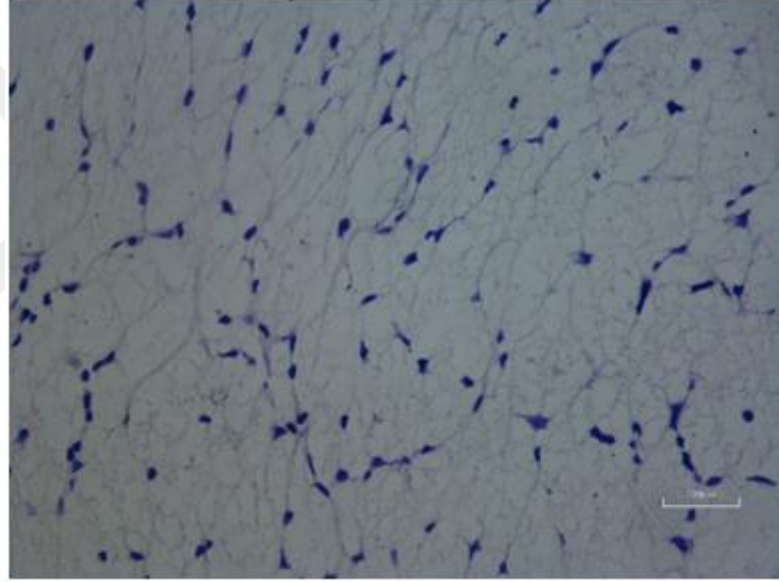
3.3. İstatistiksel analiz

Aksonal dejenerasyonu kantitatif olarak değerlendirmek için transmisyon elektron mikroskopta 16.000'lik büyütmede rastgele seçilen 6 alanda miyelinli akson sayımı yapıldı. Bu sisteme göre, 'Student's t-test' testi kullanılarak gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirildi. 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

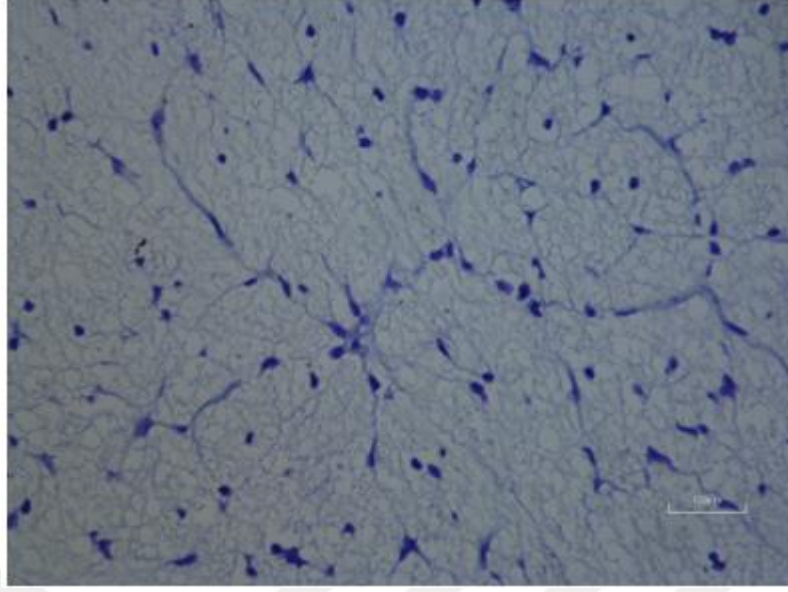
4. BULGULAR

4.1. Işıık mikroskobu bulguları

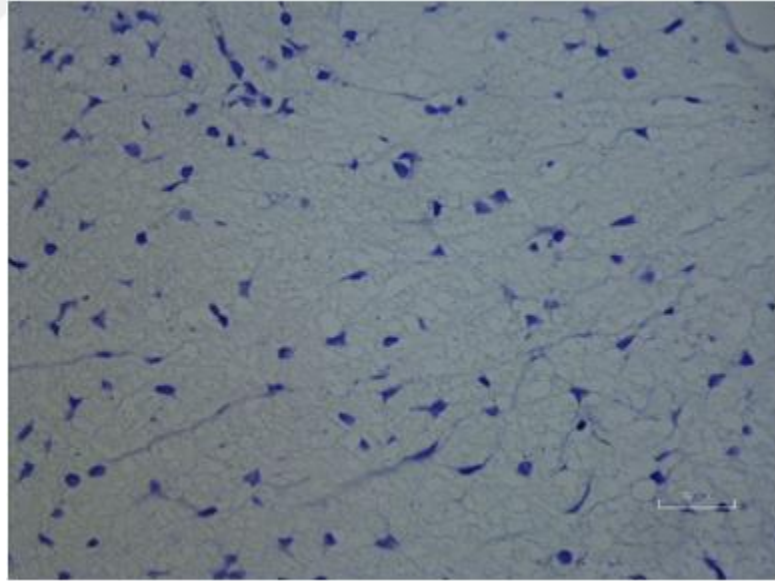
Kontrol grubuna ait hematoksilen eozin (HE) ve toluidin mavisi (TM) boyalı sinir kesitlerinin incelenmesinde, homojen boyanma saptandı. Grup 1, 2, 3 ‘e ait TM kesitlerin incelemesinde ışıık mikroskobik düzeyde saptanabilir belirgin myelin kaybı bulgusu (HE, TM ile soluk boyanma) görülmedi. Gruplar arasında gerek HE boyalı kesitlerde, gerekse TM boyalı kesitlerde ışıık mikroskopik olarak anlamlı değişiklik saptanmamıştır (Şekil 6, 7, 8 ve 9).



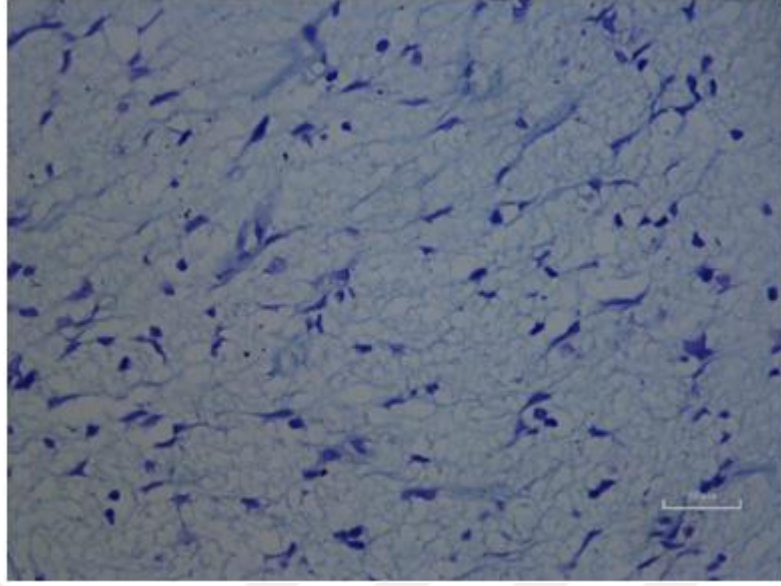
Şekil 6. Kontrol grubuna ait TM boyalı sinir kesitinin ışıık mikroskobik görünümü. Kontrol grubuna ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.



Şekil 7. Deney grubuna ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Deney grubuna ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.



Şekil 8. Tedavi grubu 1'e ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Tedavi grubu 1'e ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.

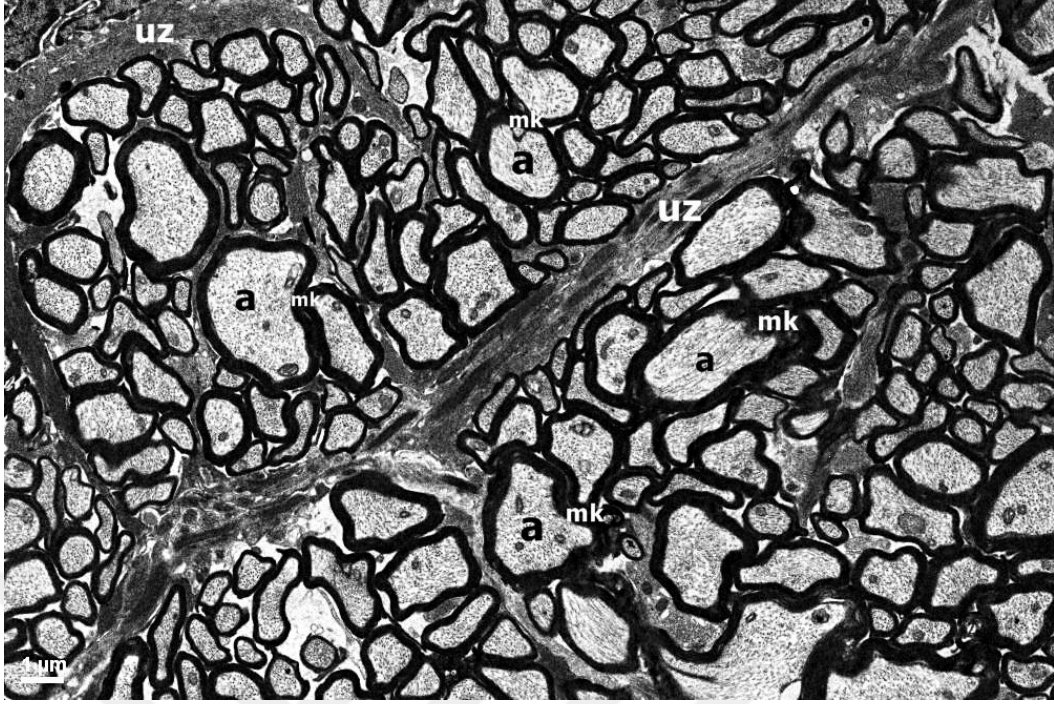


Şekil 9. Tedavi grubu 2’ e ait TM boyalı sinir kesitinin ışık mikroskopik görünümü. Tedavi grubu 2’ ye ait TM boyalı sinir kesiti incelemesinde homojen boyanma saptandı, belirgin bir myelin kaybı bulgusu görülmedi.

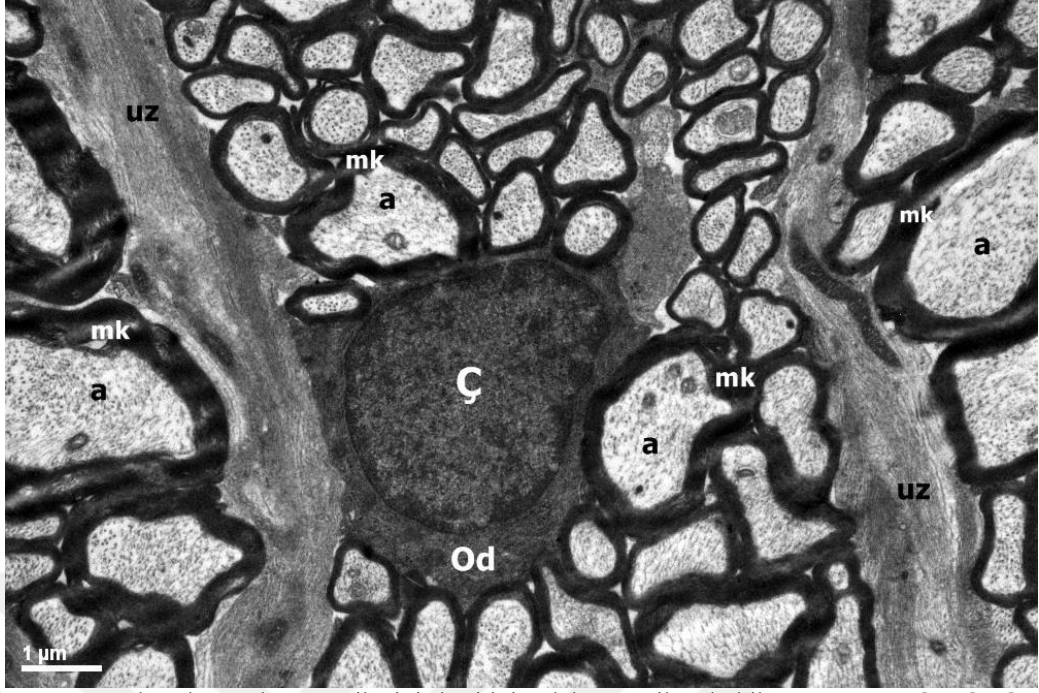
4.2. Elektron Mikroskopik Bulgular

4.2.1. Kontrol grubu (Grup 0)

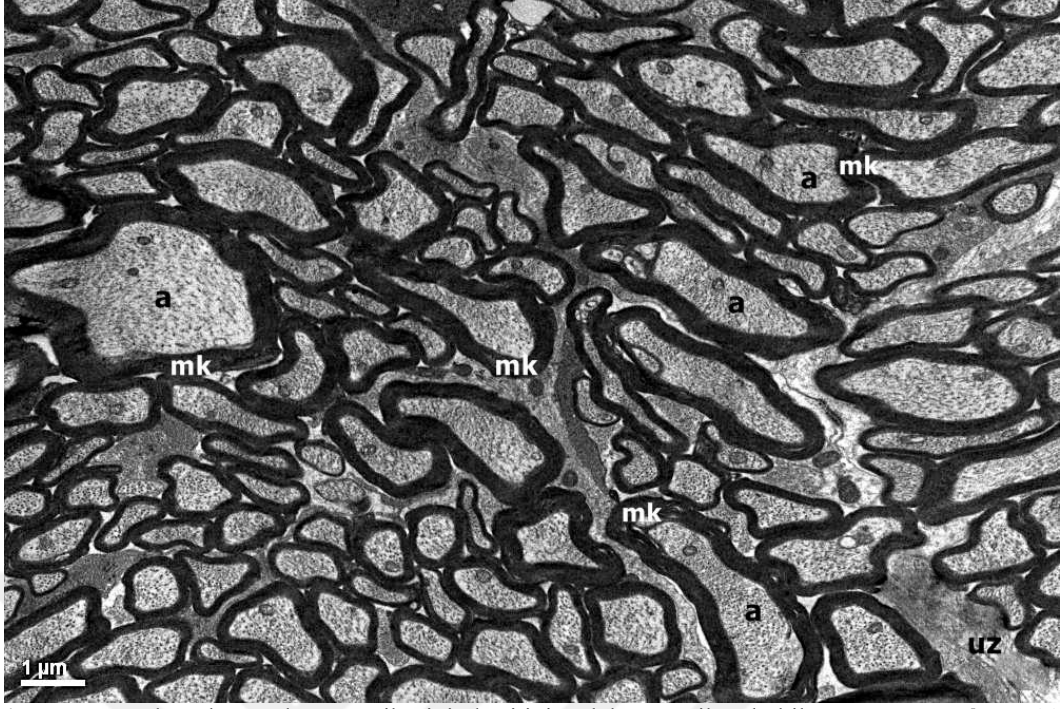
Herhangi bir müdahale yapılmayan ve tamamen sağlam olan kontrol grubuna ait optik sinirin elektron mikroskopik incelenmesinde, optik sinirin, beyin meninkslerinin uzantısı olan fibröz bir kılıf ile çevrili olduğu ve çeşitli büyüklüklerde çok sayıda aksondan oluştuğu görüldü. Bağ dokusu yapısında olan fibröz kılıftan uzanan septumların astrosit uzantıları ile birlikte sinir lifleri arasında yer aldığı izlendi. Demetler halinde bir araya gelen değişik çaplardaki sinir liflerinin oligodendrositler tarafından çevrelenmiş olduğu görüldü. Oligodendrositlerde çekirdek ve sitoplazmik organellerinin normal ince yapılarını koruduğu tespit edildi. Oligodendrosit sitoplazmasıyla yakın ilişkili miyelin kılıfla sarılı çok sayıda miyelinli aksonların normal yapıda olduğu dikkati çekti. Miyelinli aksonlarda yerleşik, koyu boyanan oval şekilli mitokondriyonlar ve çok sayıda nörofilaman ve nörotübüller izlendi. Sinir lif demetlerinin aralarında devamlı tip kapillerlerin varlığı gözlemlendi. Kapillerlerin normal yapıda olduğu görüldü (Şekil 10, 11, 12 ve 13).



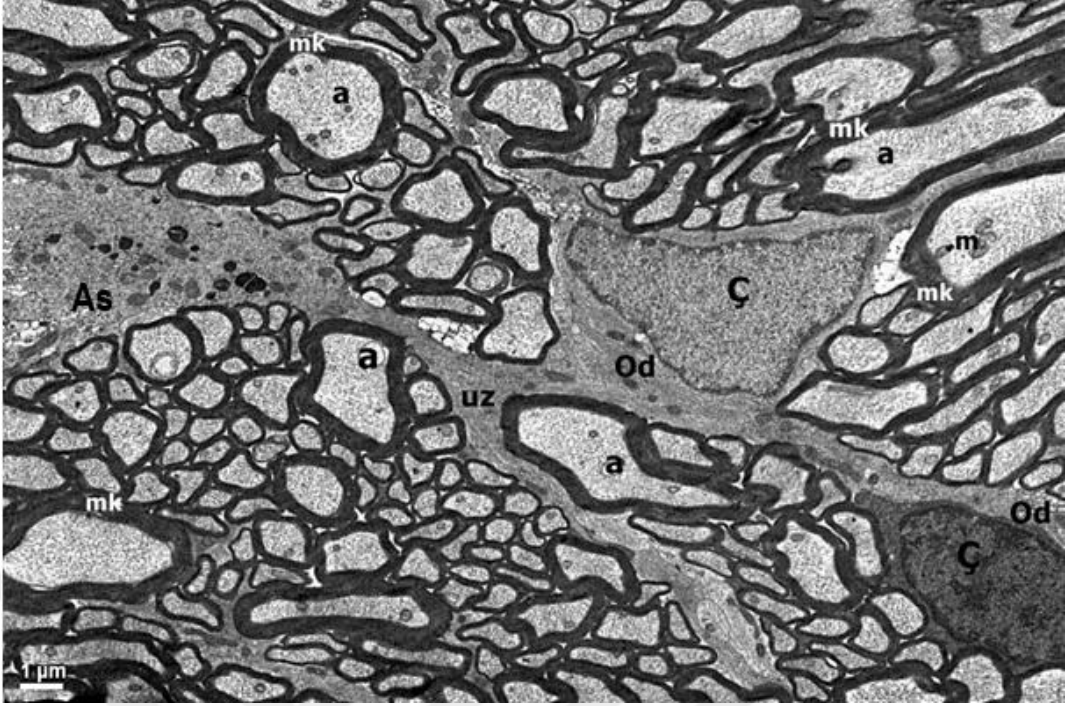
Şekil 10. Kontrol grubuna alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinin (a) etrafındaki miyelin kılıf (mk) ve akson içerisindeki nörotübül ve nörofilamanlar normal yapıda izlenmektedir. Sinir lifi (akson) demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar: 1 μ m.



Şekil 11. Kontrol grubuna alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositte (Od), çekirdek (Ç) ve sitoplazmanın normal yapıda olduğu; miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfının (mk) normal yapısını koruduğu görülmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.



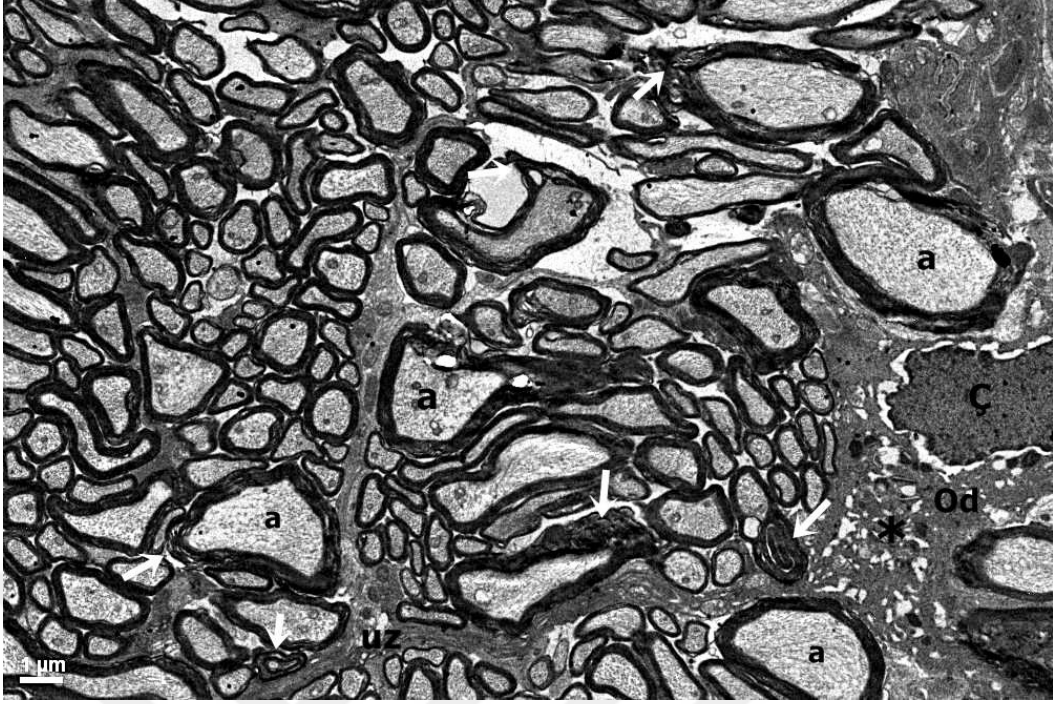
Şekil 12. Kontrol grubuna alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Akson (a) ve miyelin kılıf (mk) yapılarının normal olduğu görülmektedir. Sinir lifi (akson) demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 μ m.



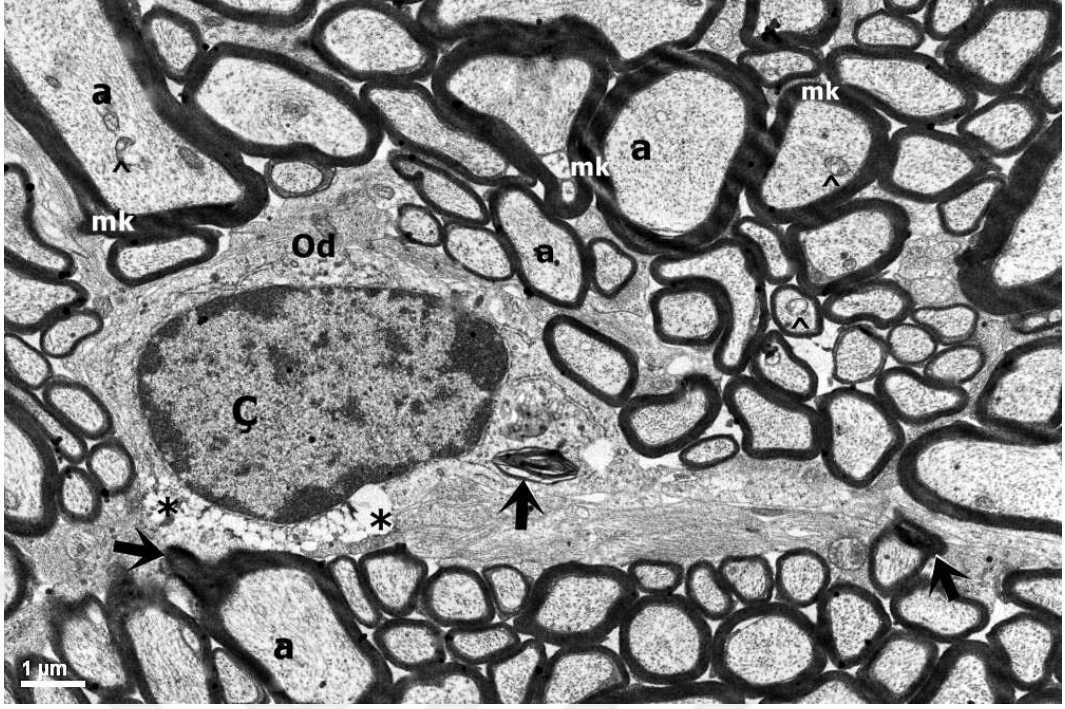
Şekil 13. Kontrol grubuna alınan optik sinir dokusunun elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositte (Od) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerin normal yapıda oldukları gözlenmektedir. Miyelinli aksonlarda (a) bulunan oval şekilli mitokondriyonlar (m) ve çok sayıda nörofilamanlar izlenmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere (As) ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.

4.2.2. Deney grubu (Grup 1)

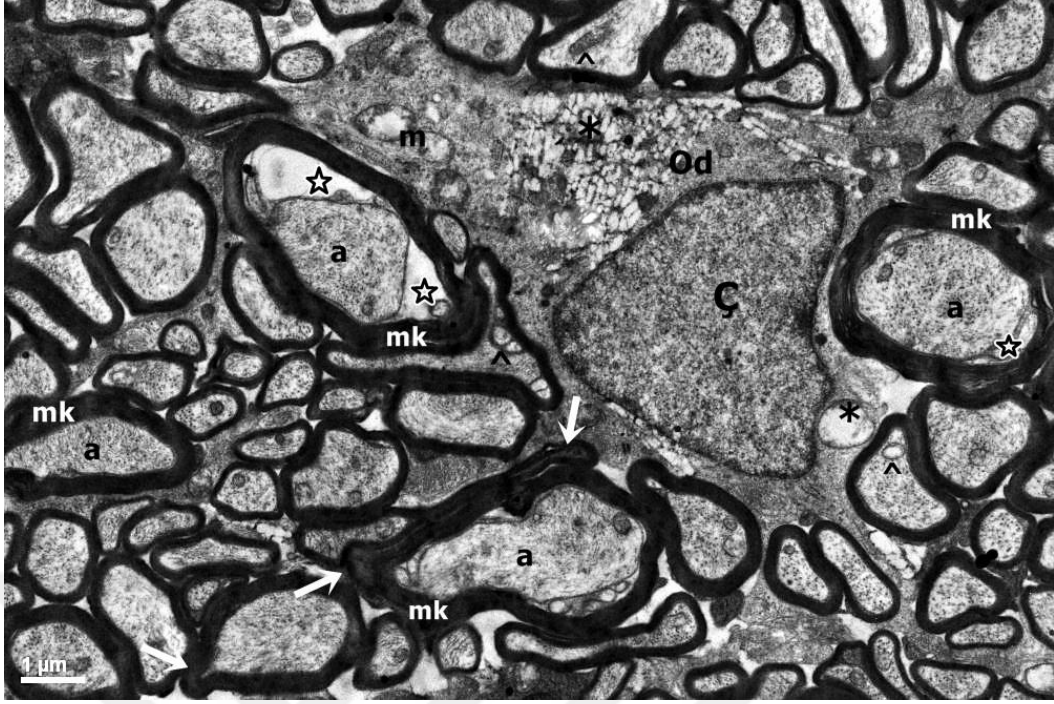
Metanol ve etanol verilip hiçbir tedavi uygulanmayan deney grubuna ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde, birçok alanda miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği görüldü. Miyelin kılıfın lamellar yapısının bozulduğu, bazı alanlarda, miyelin kılıf lamellerinin birbirinden ayrılmış olduğu izlendi. Bazı sinir liflerinde miyelin kılıfın akson içerisine doğru invajine olduğu gözlemlendi. Ayrıca, miyelinli sinir liflerinde, akson ile miyelin kılıf arasında vakuollerin meydana geldiği, akson içerisinde yer alan organellerde dejeneratif değişikliklerin olduğu dikkati çekti. Aksoplazmadaki nörotübül ve nörofilamanların dağılımında bozulma, mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti izlendi. Oligodendrositlerde çekirdekte heterokromatin birikimi, sitoplazmada vakuolizasyon ve organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekti. (Şekil 14, 15, 16, 17 ve 18).



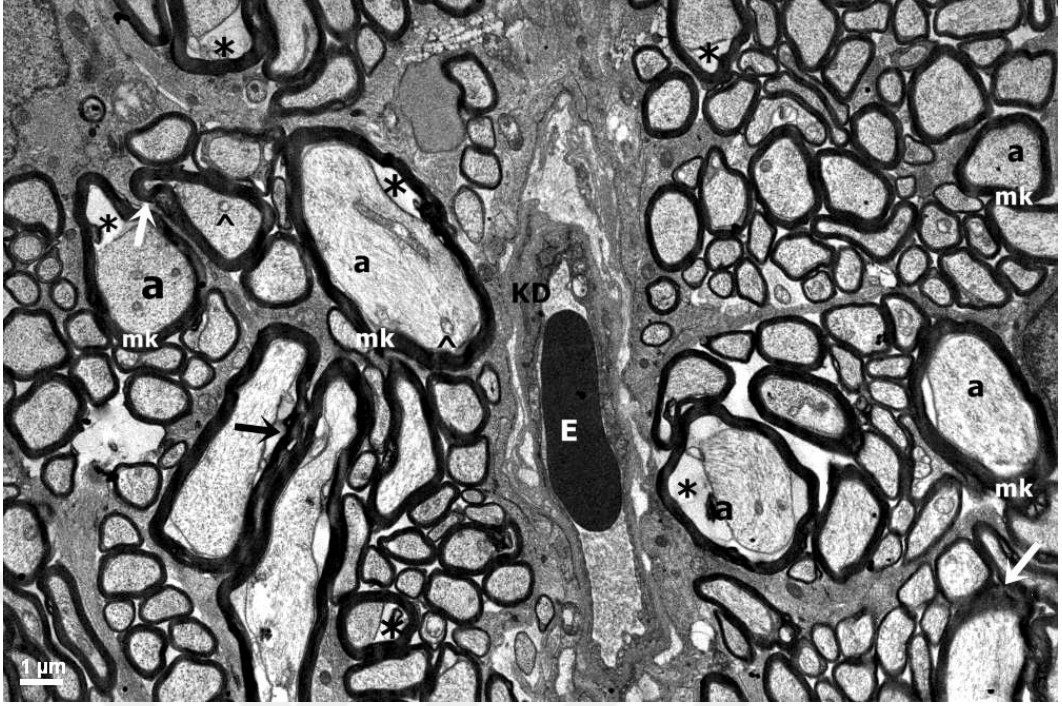
Şekil 14. Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositte (Od) çekirdekte (Ç) heterokromatin artışı ve sitoplazmada organel harabiyeti (*) izlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfta (mk) yapısal bozuklukların (oklar) varlığı görülmektedir. Akson demetleri arasında astrosit sitoplazmik uzantıları (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.



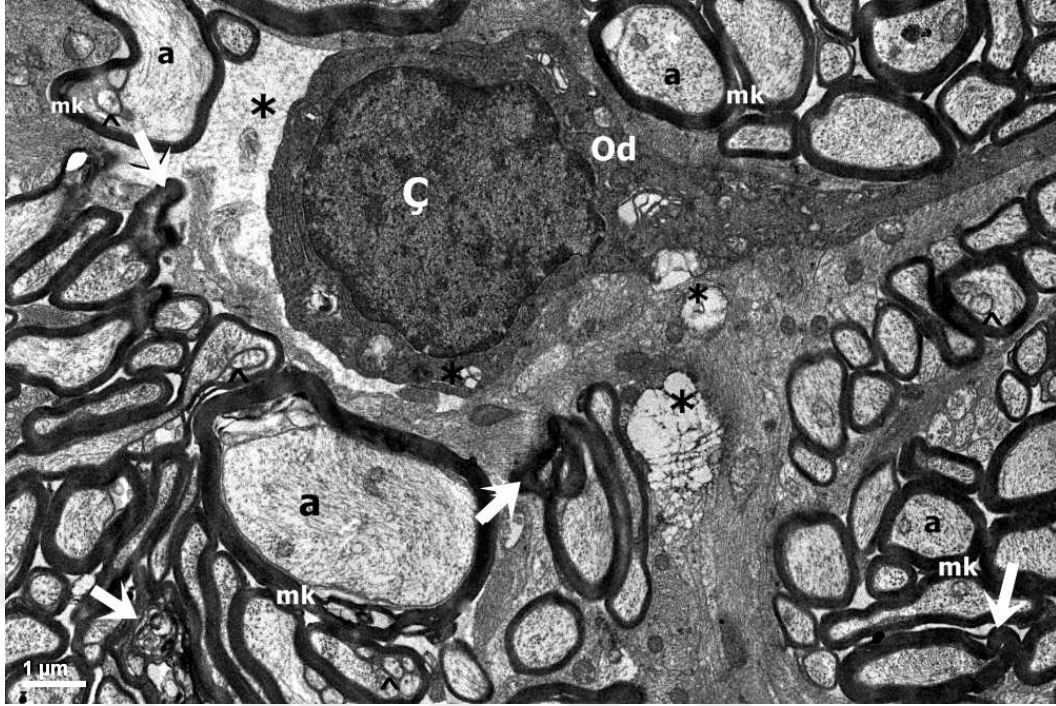
Şekil 15. Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti ve ödem alanları (*) dikkati çekmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) içerisinde yer alan organellerde (ok başı) ve miyelin kılıfta (mk) yapısal bozuklukların (oklar) varlığı görülmektedir. Bar= 1µm.



Şekil 16. Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinin (Ç) periferinde kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti (*), mitokondriyonlarda (m) genişleme ve krista harabiyeti izlenmektedir. Miyelin kılıfta (mk) yapısal bozuklukların varlığı (oklar) görülmektedir. Aksonlarda (a) büzüşme ve akson ile miyelin kılıf arasında geniş boşlukların oluştuğu (yıldız) dikkati çekmektedir. Bar= 1µm.



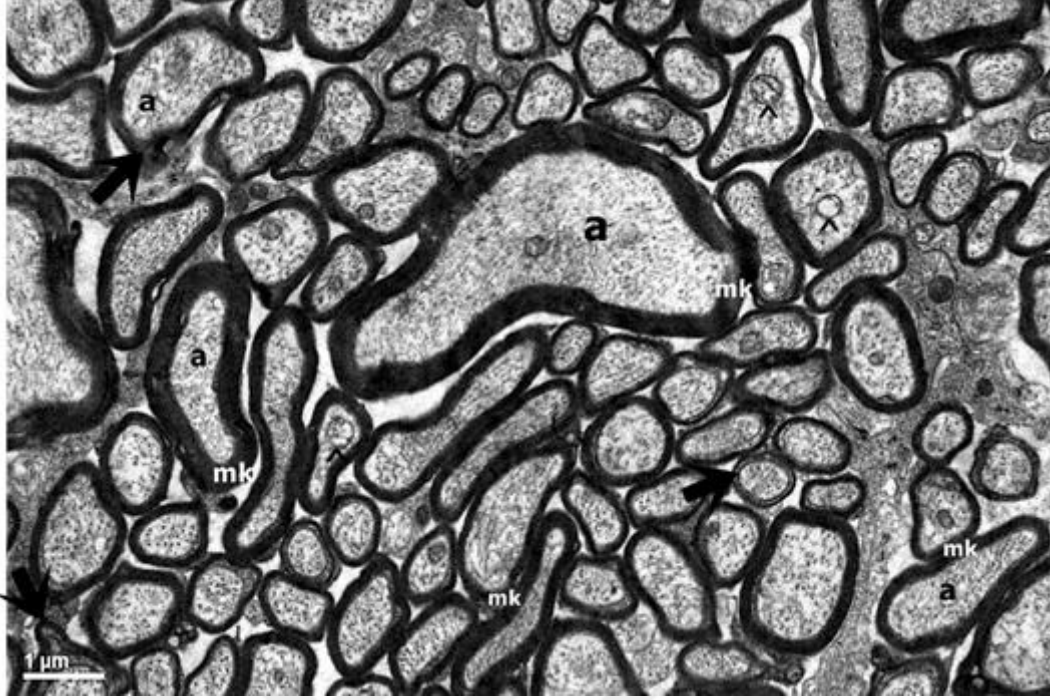
Şekil 17. Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinde aksonlarda (a) büzüşme, akson ile miyelin kılıf arasında ayrılmalar (*) izlenmektedir. Miyelin kılıf lamellerinde (mk) ayrışma ve harabiyet (oklar) olduğu görülmektedir. Sinir lif demetlerinin aralarında kapiller damar (KD) ve içerisinde eritrosit (E) izlenmektedir. Bar= 1µm.



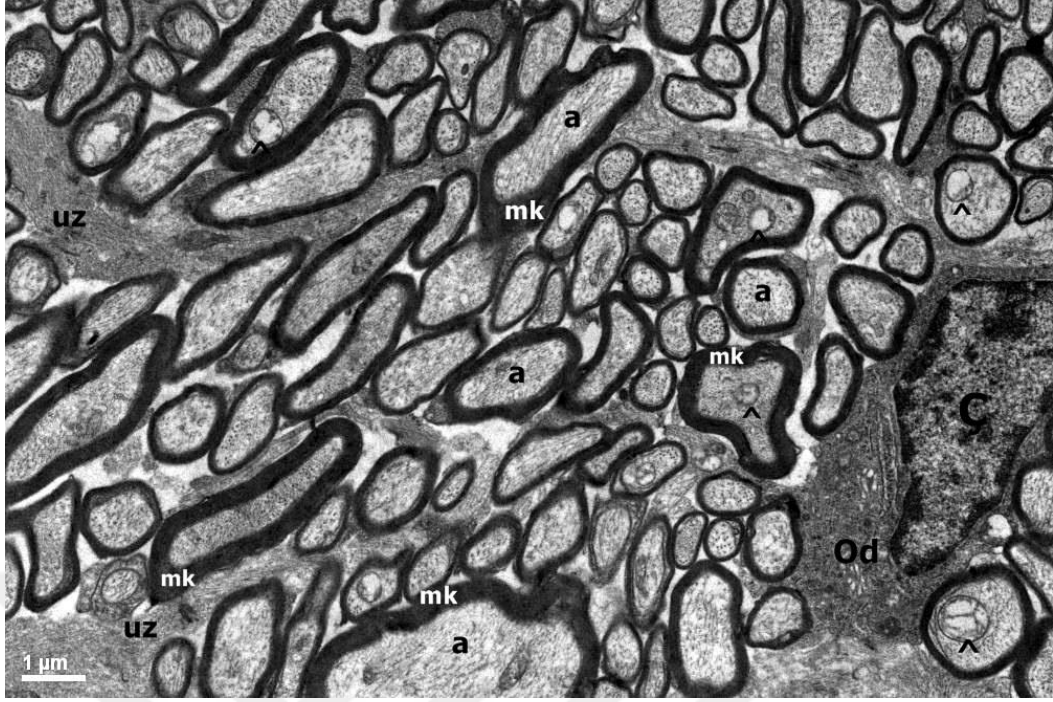
Şekil 18. Deney grubundan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (OD) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı, sitoplazmada organel harabiyeti ve ödem alanları (*) izlenmektedir. Miyelin kılıfta (mk) yapısal dejenerasyon (oklar) ve akson (a) içerisinde yer alan organellerde (ok başı) yapısal bozukluklar izlenmektedir. Bar= 1µm.

4.2.3. Tedavi grubu 1 (Grup 2)

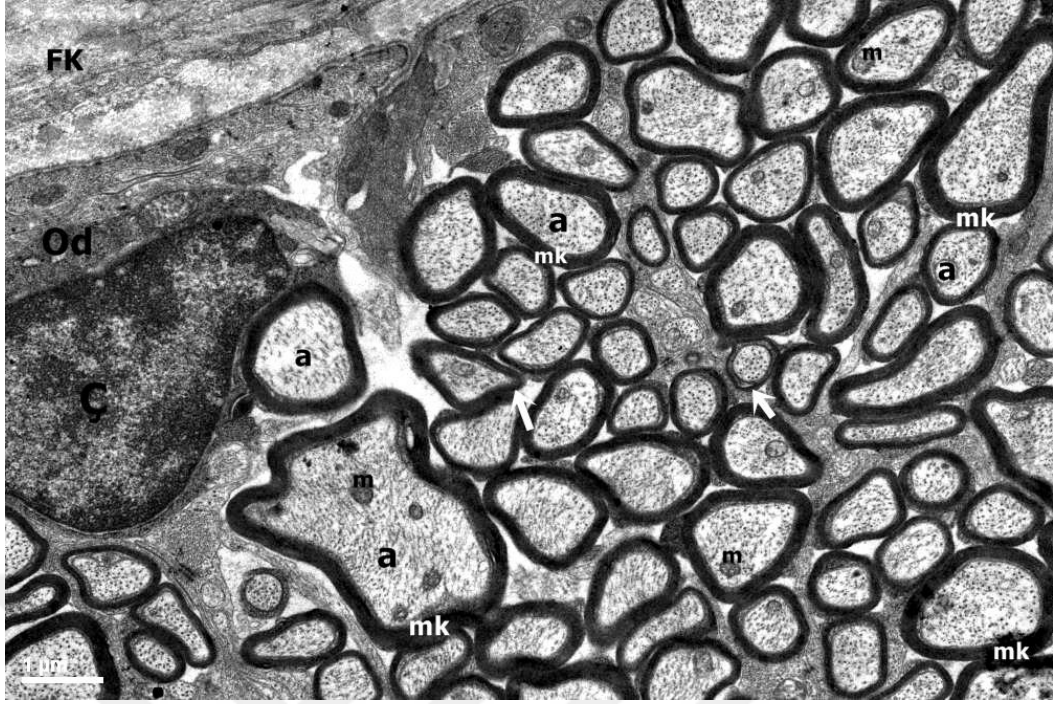
Metanol ve etanol verildikten sonra metilprednizolon uygulanan bu gruba ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde bazı miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta hafif dejeneratif değişiklikler izlenmekle birlikte, miyelinli sinir lifinin çoğunluğunda miyelin kılıf ile akson sitoplazmasındaki mitokondriyon, nörotübül ve nörofilamanların normal yapılarını korudukları dikkati çekti. Glia hücrelerinin genellikle sferikal veya ovoid bir çekirdeğe ve çekirdeği çevreleyen perinükleer ince bir sitoplazmaya sahip oldukları görüldü. Oligodendrositlerde bazı alanlarda çekirdekte heterokromatin artışı ve sitoplazmik organellerde fokal dejeneratif değişiklikler izlense de, genel olarak bu hücrelerin normal ince yapılarını korudukları görüldü. Deney grubuna oranla, metilprednizolon verilen grupta ultrastrüktürel değişikliklerin azaldığı ve yapısal bütünlüğün çoğunlukla korunduğu dikkati çekti (Şekil 19, 20, 21, 22 ve 23).



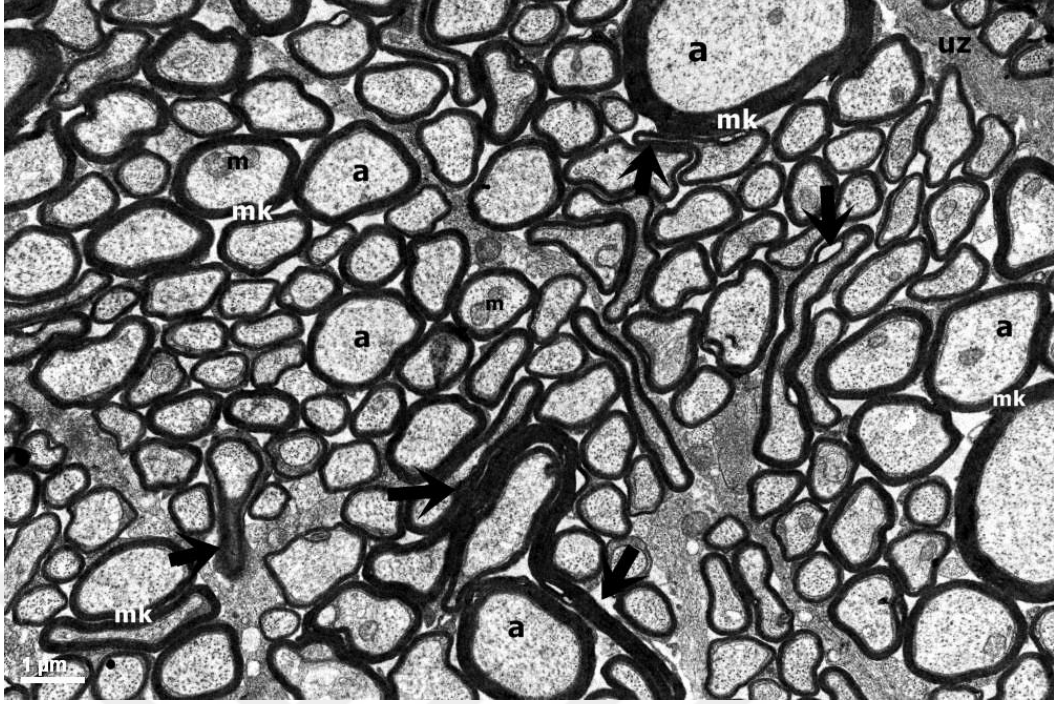
Şekil 19. Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapısını korumakla birlikte, bazı sinir liflerinde, akson içerisinde yer alan organellerde (ok başı) ve miyelin kılıfta hafif yapısal bozuklukların varlığı (oklar) dikkati çekmektedir. Bar= 1µm.



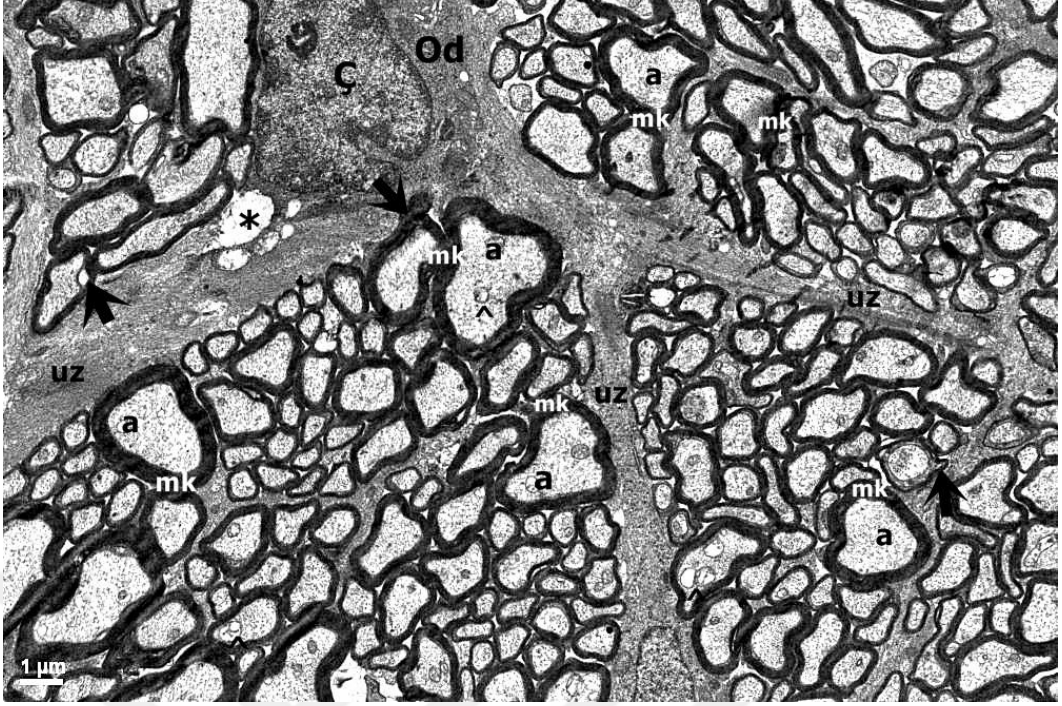
Şekil 20. Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrositte (Od) çekirdek (Ç) ve sitoplazmik organellerinin normal yapıda oldukları görülmektedir. Bazı aksonlarda (a) aksoplazmada yer alan mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti (ok başı) izlenmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1µm.



Şekil 21. Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Optik siniri dıştan çevreleyen fibröz kılıf (FK) izlenmektedir. Oligodentrositin (Od) çekirdekte (Ç) kromatin artışı gözlenmekle birlikte sitoplazmik organellerin normal yapıda oldukları görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) genellikle normal yapısını koruduğu dikkati çekmektedir. Bar= 1µm.



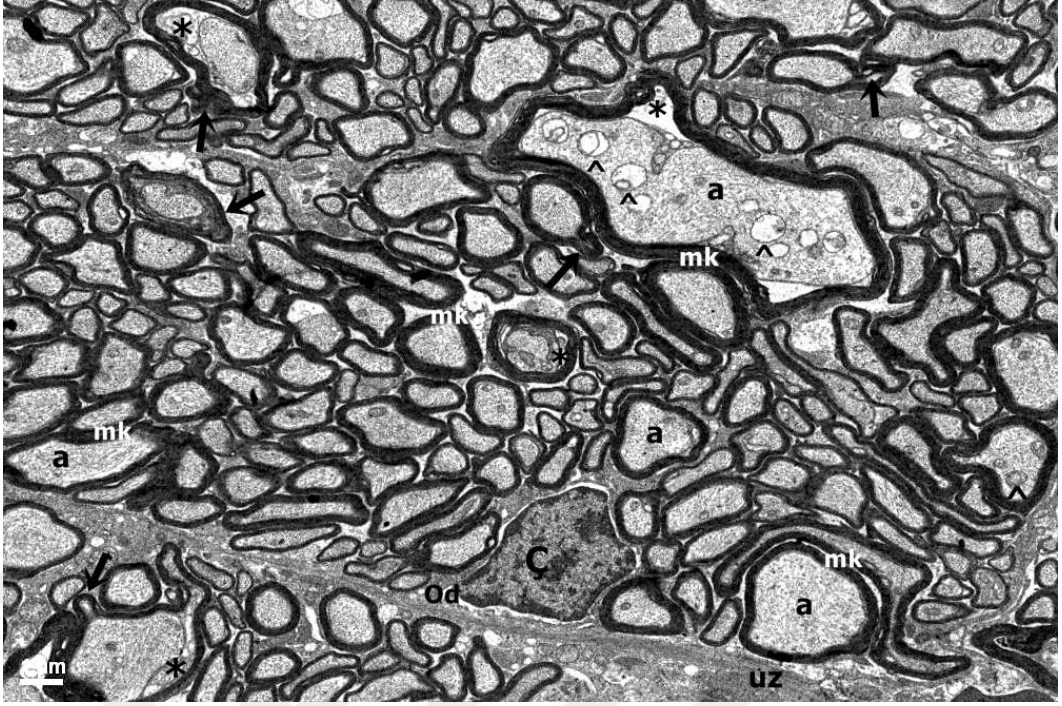
Şekil 22. Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Miyelinli sinir liflerinin bazılarında akson (a) ve miyelin kılıf (mk) yapısında hafif değişiklikler (oklar) gözlenmekle birlikte, liflerin çoğunlukla normal yapıda oldukları izlenmektedir. Akson demetleri arasında, astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) görülmektedir. Bar= 1µm.



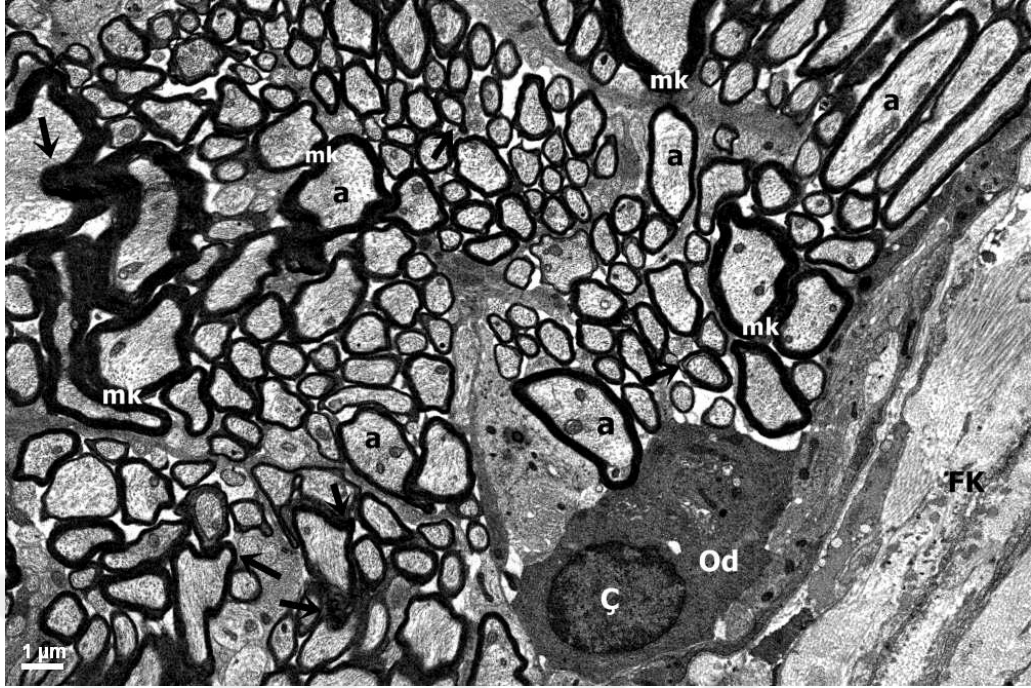
Şekil 23. Metilprednizolon verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde (Ç) heterokromatin artışı ve sitoplazmada başlıca mitokondriyonlarda (*) yapısal bozukluklar gözlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta hafif yapısal değişiklikler (oklar) izlenmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) gösterilmiştir. Bar= 1µm.

4.2.4. Tedavi grubu 2 (Grup 3)

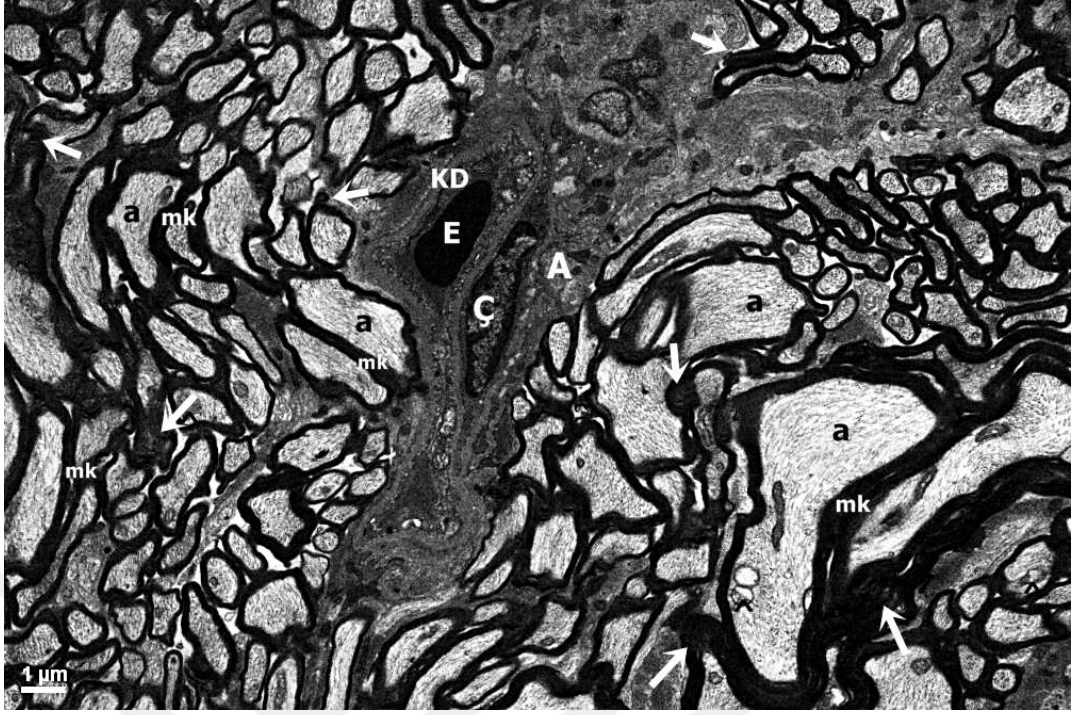
Metanol ve etanol verildikten sonra EPO uygulanan bu gruba ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde glia hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmik organellerde önemli yapısal değişiklikler görüldü. Glia hücrelerinin çekirdeklerinde kromatin artışı, sitoplazmalarında organel harabiyeti ve sitoplazmik vakuolizasyonların olduğu gözlemlendi. Miyelinli sinir liflerinde hafiften orta dereceye kadar değişen, akson ve miyelin kılıfı içeren yapısal değişikliklerin olduğu dikkati çekti. Sıklıkla fokal miyelin kılıf hasarı ile miyelin lamellerinde normal düzenlenmenin bozulması tespit edildi. Miyelinli sinir liflerinde, aksonlarda büzüşme, bazı alanlarda aksoplazmada mitokondriyonlarda belirgin olmak üzere organel harabiyetinin olduğu dikkati çekti. Her ne kadar bu grupta görülen dejeneratif değişikliklerin, tedavi uygulanmayan deney grubuna kıyasla daha sınırlı olduğu görülse de, metilprednizolon verilen gruba göre bu değişikliklerin daha şiddetli seyrettiği dikkati çekti. (Şekil 24, 25, 26 ve 27).



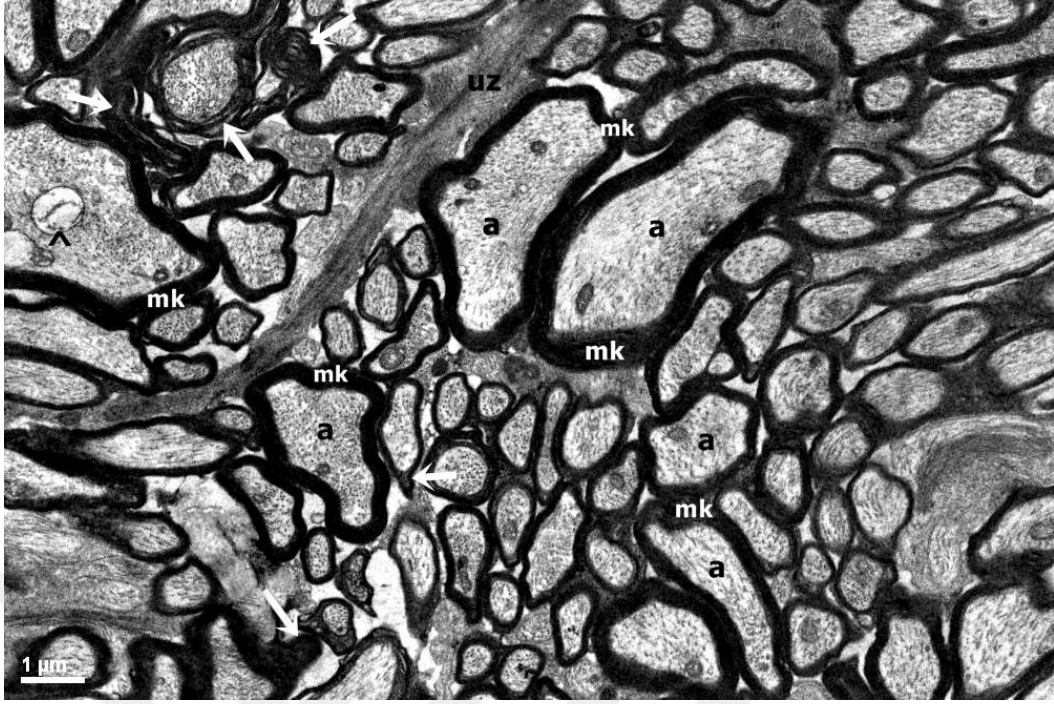
Şekil 24. Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde (Ç) kromatin artışı izlenmektedir. Miyelinli sinir liflerinde aksonlarda (a) organel harabiyeti (^) ve miyelin kılıfta yapısal bozukluklar (oklar) ile akson ile miyelin kılıf arasında boşlukların oluştuğu (*) görülmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1µm.



Şekil 25. Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Optik siniri dıştan çevreleyen fibröz kılıf (FK) izlenmektedir. Oligodendrosit (Od) çekirdeğinde kromatin artışı ve sitoplazmada hafif derecede organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekmektedir. Miyelinli sinir liflerinde hafiften orta dereceye kadar değişen akson (a) ve miyelin kılıf (mk) değişiklikleri (oklar) görülmektedir. Bar= 1µm.



Şekil 26. Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Sinir lifi demetlerinin periferinde yer alan astrositte (A) çekirdeğinde (Ç) heterokromatin artışı görülmektedir. Miyelinli sinir liflerinde akson (a) ve miyelin kılıfın (mk) normal yapısının bozulduğu (oklar) dikkati çekmektedir. Aksoplazmada yer alan mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti (ok başı) izlenmektedir. Kapiller damar (KD) ve içerisinde eritrosit (E) gösterilmiştir. Bar= 1µm.



Şekil 27. Eritropoietin verilen gruptan alınan optik sinir kesitinin elektron mikroskopik görünümü. Bazı miyelinli sinir liflerinde (a) miyelin kılıfta (mk) ciddi yapısal bozuklukların olduğu (oklar) ve miyelin kılıf lamellerinin birbirlerinden ayrıldıkları görülmektedir. Bazı liflerde aksoplazmada yer alan mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti (ok başı) görülmektedir. Akson demetleri arasında astrositlere ait sitoplazmik uzantılar (uz) izlenmektedir. Bar= 1 µm.

Çizelge 3. Elektron mikroskopik değerlendirme

	Kontrol grubu (Grup 0)	Deney grubu (Grup 1)	Tedavi grubu 1 (Grup 2)	Tedavi grubu 2 (Grup 3)
Mikroskobik Değerlendirme	-	+++	+	++

Normal histolojik yapı: -

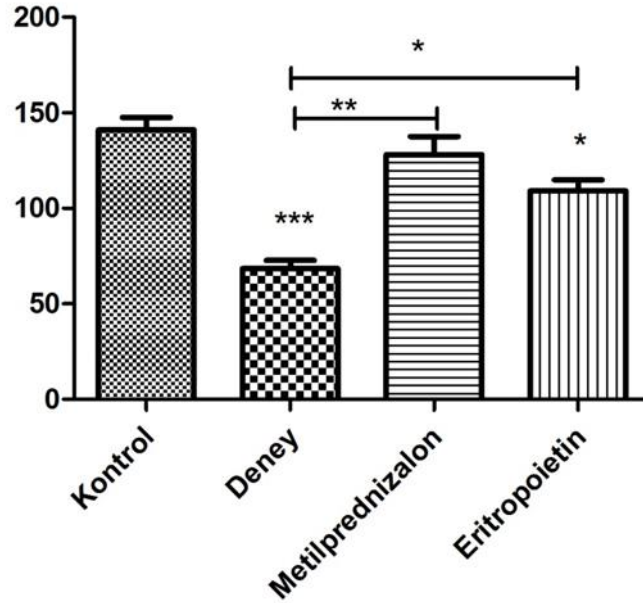
Ödematöz, kavitasyon alanları ve miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfın lamellar yapılarında ayrışma: +

Ödematöz kavitasyon alanları, miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfın lamellar yapılarında ayrışma ve miyelin kılıfın aksonal zona doğru yaptığı invajinasyonlar ve aksonal harabiyet ile glia hücrelerinde hafif dejenerasyon: ++

Ödematöz kavitasyon alanları, miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfın lamellar yapılarında ayrışma ve miyelin kılıfın aksonal zona doğru yaptığı invajinasyonlar ve

aksonal dejenerasyon ile glia hücre çekirdeğinde kromatin artışı ve sitoplazmada organel harabiyeti: +++

4.3. İstatistiksel Analiz



Şekil 28. Miyelinli akson sayısının değerlendirilmesi. ***P < 0,0001, **P < 0,001, *P < 0,01.

Akson sayısı bakımından yapılan istatistiksel analizler; deney grubunda, miyelinli akson sayısının kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin şekilde azaldığını ortaya koydu ($p < 0,0001$). Eritropoietinle tedavi edilen grupta miyelinli akson sayısının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu izlendi ($p < 0,01$). Metilprednizolonla tedavi edilen grup ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Miyelinli aksonların sayısı, metilprednizolonla tedavi edilen grupta deney grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır ($p < 0,001$). Eritropoietin ile tedavi edilen grupta myelinli akson sayısı, deney grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak artmıştır ($p < 0,01$).

5. TARTIŞMA

Metanol, toksik optik nöropatinin en yaygın olarak bilinen nedenidir.

Metanol, karaciğerdeki ADH enzimi tarafından formaldehit ile formik aside metabolize edilir.

Metanole bağlı TON'un, metanolün metaboliti olan formik asidin doğrudan toksik etkilerine bağlı olduğu gösterilmiştir (38). Hücre içi formik asit, sitokrom oksidaz enzimini bloke ederek adenosin trifosfat (ATP) oluşumunu engeller ve hücresel hipoksiye neden olur (39, 40). Adenosin trifosfatın tükenmesiyle, Na-K ATPaz pompasının aktivitesi azalır, aksiyon potansiyellerinin iletimi kesintiye uğrar. Bu durum aksoplazmik staza ve son olarak optik disk ödemeine neden olur. Mitokondri ve sitokrom oksidaz rezervleri düşük olan optik sinir lifleri, formik asit toksisitesine karşı daha duyarlıdır. Optik sinir başı ve retrolaminar bölgesi formik asitten etkilenen başlıca bölgelerdir. Optik disk ödemi ise optik sinirin merkezi nekrozu ve akson hasarı nedeniyle oluşur (41). Metabolik asidoz ise, hücrelere formik asit difüzyonunu kolaylaştırabilir ve böylece toksisiteyi artırabilir.

Hayreh ve arkadaşları, metanole bağlı optik nöropatinin, optik sinirdeki aksonların ve retrolaminar astrositlerin sitoplazmasının şişmesinden kaynaklandığını göstermiştir (6).

Günümüzde metanole bağlı TON tedavisinde henüz standart bir tedavi yoktur. Ancak başta sistemik kortikosteroidler olmak üzere farklı tedaviler uygulanmaktadır. Metanole bağlı TON'da sistemik yüksek doz steroid rolünü desteklemek için randomize klinik çalışma veya belirlenmiş bir kılavuz yoktur. Ancak, hasta sayısının az olduğu vaka serilerinde yüksek doz İV metilprednizolon tedavisinin etkili olabileceği bildirilmiştir (25, 26).

Metanol toksisitesi miyelin kılıfının hasar görmesine, bu da aksonal ödeme neden olur. Esnek olmayan lamina kribrosa nedeniyle aksoplazmik akım durur, aksonal hasara neden olur (38). Sistemik steroidler teorik olarak optik sinir başı ödemi azaltarak aksonal hasarı azaltır. Optik disk ödemi azaltmak amacıyla anterior iskemik optik nöropati, travmatik optik nöropati, akut papilödem, tiroid oftalmopati gibi çeşitli optik nöropatilerde yüksek doz steroid kullanılmaktadır (28, 29, 42).

Abrishami ve arkadaşları; metanole bağı TON'lu 6 hastaya 3 gün boyunca yüksek doz metil prednizolon ve oral prednizolon tedavisi uygulamışlar. Hastalarda tedavi sonrası 3. ayda istatistiksel olarak anlamlı görme artışı olduğu ve retinal atrofi gelişmediği göstermişler (25).

Sobh ve arkadaşları, metanole bağı TON'lu 4 hastasına 3 gün boyunca yüksek doz IV steroid uygulaması ardından, 4 hastanın hepsinde görme durumunun düzeldiğini bildirmiştir (4).

Steroid başlama zamanı, ideal etki için önemli olabilir. Fujihara ve arkadaşları tarafından bildirilen metanole bağı TON vakasında, metanolün oral alımından 6 gün sonra verilen metil prednizolonun etkili olmadığını göstermiş (26).

Biz de çalışmamızda, deneysel olarak metanole bağı TON oluşturduğumuz sıçanlara, sistemik olarak yüksek doz steroid uyguladık. Sistemik steroidin, optik sinir kesitlerinde histopatolojik düzeyde belirgin değişiklikler oluşturduğunu tespit ettik. Bu grupta, optik sinir kesitlerinde bazı miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta hafif dejeneratif değişiklikler izlense de miyelinli sinir lifinin çoğunluğunda miyelin kılıf ile akson sitoplazmasındaki mitokondriyon, nörotübül ve nörofilamanların normal yapılarını korudukları görüldü. Glia hücrelerinin genellikle sferikal veya ovoid bir çekirdeğe ve çekirdeği çevreleyen perinükleer ince bir sitoplazmaya sahip oldukları görüldü. Oligodendrositlerde bazı alanlarda çekirdekte heterokromatin artışı ve sitoplazmik organellerde fokal dejeneratif değişiklikler izlense de, genel olarak bu hücrelerin normal ince yapılarını korudukları görüldü. Deney grubu ile karşılaştırıldığında, metilprednizolon verilen grupta ultrastrüktürel değişikliklerin azaldığı ve yapısal bütünlüğün çoğunlukla korunduğu görülmekteydi. Deney grubunda ($p<0,0001$) ve EPO ile tedavi edilen grupta ($p<0,01$) miyelinli akson sayısının, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin şekilde azaldığı görülmüştür. Metilprednizolonla tedavi edilen grup ile kontrol grubu; myelinli akson sayısı açısından karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$). Bu sonuç, sistemik metilprednizolon tedavisinin, akson sayısını hiçbir ajan verilmeyen kontrol grubu kadar koruduğunu göstermektedir. Miyelinli akson sayısının metilprednizolonla tedavi edilen grupta, deney grubuna göre önemli ölçüde daha fazla olduğu görüldü ($p<0,001$, $<0,05$). Bu sonuç bize erken dönemde verilen steroidin bir önceki çalışmayı destekler şekilde faydalı olduğunu göstermektedir.

Eritropoietin, kemik iliğindeki eritroid progenitörlerin apoptozunu önleyerek kırmızı kan hücresi farklılaşmasını uyaran bir glikoproteindir (4). Eritropoietinin kırmızı kan hücreleri üzerindeki etkilerinin dışında, başka etkileri olduğu da bilinmektedir. Eritropoietinin beyindeki nörorejeneratif, proanjiyojenik, antienflamatuar, antioksidatif ve antiapoptotik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (43). Bu etkiler, P13K / Akt, STAT-5 veya MAPK / ERK gibi bir veya daha fazla sinyal iletim yolunun aktivasyonundan kaynaklanabilir (44, 45). Eritropoietinin hem optik sinir hem de retinal sağkalım üzerinde çoklu etkileri olduğu görülmektedir.

Beyin hasarı olan hayvan modellerinde yapılan araştırmalar, in vivo EPO aracılı nöroproteksiyonu kanıtlamıştır (46). Nöroproteksiyon için EPO doz aralığı (1000-3000 U/kg), anemi (<500 IU/kg) tedavisinde kullanılan aralığın çok üzerindedir (47).

Hayvan çalışmaları, nörodejenerasyonun nörotrofinler tarafından da düzenlendiğini göstermektedir. Eritropoietin, iskemi, travma, epilepsi ve multipl sklerozda nörotrofin benzeri özelliklere sahiptir ve sistematik olarak uygulanabilir (48, 49).

Sun Y. ve arkadaşları, deneysel olarak iskemik beyin hasarı oluşturdukları sıçanlarda, işlemiden 24 saat sonra EPO tedavisi uygulamış. Hipoksi ve iskeminin neden olduğu inflammatuar hücrelerinin, hasarlı bölgeye akışını ve proenflamatuar sitokinlerin üretimini azalttığını göstermiştir (50).

İskemik beyin hasarı ve miyokard enfarktüsü olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalar, iskemik nöral ve miyokardiyal hasarın azaltılmasında İV EPO uygulamasının güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir (51).

Diem ve arkadaşları, optik nöriti olan hastalarda EPO tedavisi uygulama sonrası, optik koherens tomografide retinal sinir lifi tabakasının önemli ölçüde korunduğunu tespit etmiştir (31).

Junk ve arkadaşları, deneysel olarak retinal iskemi oluşturdukları sıçanlarda, retinal iskemiden önce ve hemen sonra sistemik EPO tedavisi uygulamışlar. Eritropoietinin iskemik retinadaki; histopatolojik hasarı azalttığını ve elektroretinografi ile değerlendirilen fonksiyonel iyileşmeyi arttırdığını göstermiştir (51).

Weishaupt ve ark. (52) ile King ve ark. (53), EPO'nun optik sinirine aksotomi yapılan sıçanlarda, RGH'ler üzerinde doğrudan nöroprotektif ve nöro-rejeneratif etki yapabileceğini göstermiştir.

Eritropoietinin, arteritik olmayan ön iskemik optik nöropati (NAAİON) ve travmatik optik nöropatisi olan hastalarda görmeyi iyileştirdiği gösterilmiştir (28, 29). Moderres ve arkadaşları, NAAİON olan hastalarda intravitreal EPO enjeksiyonu sonrası, gözleri % 64,5 ve % 54,8'inin görme keskinliğinde sırasıyla enjeksiyondan 3 ve 6 ay sonra üç sıra veya daha fazla iyileşme olduğunu bildirmiştir (28). Kashkouli ve arkadaşları, travmatik optik nöropatisi olan hastalarda, sistemik EPO tedavisi sonrası, EPO grubunda görme keskinliğindeki artışın, kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (29).

Eritropoietin, TON patofizyolojisinde birden fazla mekanizma ile etki edebilir. İlk olarak, EPO'nun RGH'leri üzerinde önemli anti-apoptotik aktivitesi vardır (50, 52, 53). İkinci olarak, EPO, antioksidan (51) ve antiinflamatuvar etki ile (50) optik disk ödemi ve kompartman sendromu insidansını ve / veya ciddiyetini azaltabilir (50). Üçüncü olarak, EPO, aksonal rejenerasyonu destekleyebilir (50).

Pakravan ve Sanjari, metanol kaynaklı TON olan iki vakaya sistemik EPO tedavisi uygulamışlar. Tedavi öncesi görme keskinliği persepsiyon negatif olan 2 hastada; EPO tedavisiyle görme keskinliğinde dramatik bir artış olduğunu saptamışlar (5). Pakravan ve arkadaşları, bir diğer çalışmada, metanole bağlı TON'lu 11 hastaya sadece konvansiyonel tedavi, 11 hastaya ise konvansiyel tedavi ile birlikte EPO tedavisi vermişler. Bu iki grubun, görme sonuçlarını karşılaştırdıklarında; EPO alan grupta, kontrol grubuna göre; en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde istatistiksel olarak anlamlı yapısal ve fonksiyonel gelişmeler göstermiştir (54). Pakravan'ın iki çalışmada da EPO uygulaması sonrası anlamlı yanıtlar alınsa da, bu çalışmaların takip süreleri oldukça kısaydı.

Zamani ve arkadaşlarının çalışmasında ise; görsel sonuçlar açısından, EPO tedavisi alanlar ve almayanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış. Bu çalışmanın ortalama takip süresi Pakravan'ın çalışmalarındakinden daha uzundu. Çalışmada, EPO alan 10 hastanın 3'ünde, görme bozuklukları önce düzeldiğini, ancak taburcu olduktan yaklaşık 1-2 ay sonra tekrar kötüleştiğini bildirmişler (33). Bu durum, EPO'nun bu hastalarda geçici bir etkiye sahip olduğunu düşündürmüştür.

Biz de çalışmamızda, deneysel olarak metanole bağlı TON oluşturulan sıçanlara, intraperitoneal EPO uyguladık. Eritropoietinin, optik sinir kesitlerinde histopatolojik düzeyde belirgin değişiklikler oluşturduğunu tespit ettik. Bu gruba ait optik sinir

kesitlerinde, glia hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmik organellerde önemli yapısal değişiklikler görüldü. Glia hücrelerinin çekirdeklerinde kromatin artışı, sitoplazmalarında organel harabiyeti ve sitoplazmik vakuolizasyonların olduğu gözlemlendi. Miyelinli sinir liflerinde hafiften orta dereceye kadar değişen, akson ve miyelin kılıfı içeren yapısal değişikliklerin olduğu dikkati çekti. Sıklıkla fokal miyelin kılıf hasarı ile miyelin lamellerinde normal düzenlenmenin bozulduğu tespit edildi. Miyelinli sinir liflerinde, aksonlarda büzüşme, bazı alanlarda aksoplazmada mitokondriyonlarda belirgin olmak üzere organel harabiyetinin olduğu dikkati çekti. Her ne kadar bu grupta görülen dejeneratif değişikliklerin, tedavi uygulanmayan deney grubuna kıyasla daha sınırlı olduğu görülse de, metilprednizolon verilen gruba göre bu değişikliklerin daha şiddetli seyrettiği dikkati çekti. Miyelinli aksonların sayısının, EPO ile tedavi edilen grupta, deney grubuna göre daha fazla olduğu görüldü ($p<0,01$). Ancak metilprednizolonla tedavi edilen gruptaki miyelinli aksonların sayısı ($p<0,001$), EPO ile tedavi edilen gruba ($p<0,01$) göre daha fazlaydı.

Metanol ve etanol verilip hiçbir tedavi uygulanmayan deney grubuna ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde, birçok alanda miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği görüldü. Miyelin kılıfın lamellar yapısının bozulduğu, bazı alanlarda, miyelin kılıf lamellerinin birbirinden ayrılmış olduğu izlendi. Bazı sinir liflerinde miyelin kılıfın akson içerisine doğru invajine olduğu gözlemlendi. Miyelinli sinir liflerinde, akson ile miyelin kılıf arasında vakuollerin meydana geldiği, akson içerisinde yer alan organellerde dejeneratif değişikliklerin olduğu dikkati çekti. Aksoplazmadaki nörotübül ve nörofilamanların dağılımında bozulma, mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti izlendi. Oligodendrositlerde çekirdekte heterokromatin birikimi, sitoplazmada vakuolizasyon ve organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekti. Bu bilgiler ışığında EPO tedavisinin metanole bağlı TON'de RGH'nin sağ kalımını önemli ölçüde arttırdığı, astrositlerdeki oksidatif stresi baskılayarak glial aktivasyonu engellediği, sinir hücrelerinin normal ince yapılarının korunmasına katkı sağladığı fikrine varıldı. Ancak, sistemik steroidin optik sinir kesitleri üzerinde, EPO'dan daha etkili değişikliklere neden olduğunu saptadık.

Araştırmanın kısıtlayıcı yönleri; maliyet nedeniyle apoptozis moleküllerinin araştırılamaması, oluşturulan iskeminin sübjektif muayene ile değerlendirilmesi, çalışmada steroid ve EPO tedavisinin birlikte verildiği bir grubun olmamasıdır. Benzer

alışmalar ve daha fazla örnek sayısı ile yapılacak alışmalar, EPO ve steroid tedavisinin metanole bağlı TON zerindeki sonuçlarının desteklemesinin faydalı olacağı dşnld. Yine EPO ve steroid tedavisinin birlikte uygulandığı grubu içeren yeni çalışmalar, metanole bağlı TON tedavisinde, tek bağına EPO'nun kombine EPO ve metilprednizolon tedavisinden daha fazla veya daha az etkiye sahip olup olmadığını netleştirecektir.

Sonuç olarak, çalışmamızda nöroprotektif bir ajan olan EPO'nin etkilerini, metilprednizolon tedavisiyle karşılaştırdık. Eritropoietin ile tedavi edilen grupta görülen dejeneratif değişikliklerin, tedavi uygulanmayan deney grubuna kıyasla daha sınırlı olduğu görülse de, metilprednizolon verilen gruba göre bu değişikliklerin daha şiddetli olduğu görüldü. Hem EPO ile tedavi edilen grupta ($p<0,01$), hem de metilprednizolon ile tedavi edilen grupta ($p<0,001$); deney grubuna göre myelinli akson sayısının önemli ölçüde daha fazla olduğu görüldü. Bu çalışmada, sıçanlarda oluşturulan deneysel metanole bağlı TON tablosunda, metilprednizolon tedavisinin, EPO tedavisine göre myelinli sinir liflerinin yapılarını ve myelinli akson sayısının daha fazla koruduğu görüldü. Steroidin bu etkisinin, erken dönemde verilmesine bağlı olabileceği dşnld. Bu deneysel çalışma, metilprednizolon gibi EPO'nun da metanole bağlı TON'da alternatif bir tedavi olabileceğini göstermiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çukurova Üniversitesi Sağlık Birimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yaptığımız çalışmamızda sıçanlarda oluşturduğumuz deneysel metanol intokasyonu tablosunda steroid ve eritropoietin tedavilerinin optik sinir üzerindeki etkilerini histopatolojik olarak elektron ve ışık mikroskopisinde inceledik. Kırk adet sıçanın, 60 gözü; kontrol, deney, tedavi 1 ve 2 olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

1. Herhangi bir müdahale yapılmayan ve tamamen sağlam olan kontrol grubuna ait optik sinirin elektron mikroskopik incelenmesinde;
 - a) Optik sinirin, beyin meninkslerinin uzantısı olan fibröz bir kılıf ile çevrili olduğu ve fibröz kılıftan uzanan septumların astrosit uzantıları ile birlikte sinir lifleri arasında yer aldığı izlendi.
 - b) Demetler halinde bir araya gelen değişik çaplardaki sinir liflerinin oligodendrositler tarafından çevrelenmiş olduğu görüldü.
 - c) Oligodendrositlerde çekirdek ve sitoplazmik organellerin normal ince yapılarını koruduğu tespit edildi.
 - d) Miyelinli aksonlarda, koyu boyanan oval şekilli mitokondriyonlar ve çok sayıda nörofilaman ve nörotübüller izlendi.
 - e) Miyelinli aksonlarda miyelin kılıfın normal konsantrik lamellar yapısını koruduğu izlendi.
 - f) Sinir lif demetlerinin aralarında devamlı tip kapillerlerin varlığı gözlemlendi. Kapillerin normal yapıda olduğu görüldü
2. Metanol ve etanol verilip hiçbir tedavi uygulanmayan deney grubuna ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde,
 - a) Birçok alanda miyelinli sinir liflerinde, miyelin kılıfta dejeneratif değişikliklerin meydana geldiği görüldü.
 - b) Miyelin kılıfın lamellar yapısının bozulduğu, bazı alanlarda, miyelin kılıf lamellerinin birbirinden ayrılmış olduğu izlendi.
 - c) Bazı sinir liflerinde miyelin kılıfın akson içerisine doğru invajine olduğu gözlemlendi.

- d) Miyelinli sinir liflerinde, akson ile miyelin kılıf arasında vakuollerin meydana geldiği, akson içerisinde yer alan organellerde dejeneratif değişikliklerin olduğu dikkati çekti.
 - e) Aksoplazmadaki nörotübül ve nörofilamanların dağılımında bozulma, mitokondriyonlarda genişleme ve krista harabiyeti izlendi.
 - f) Oligodendrositlerde çekirdekte heterokromatin birikimi, sitoplazmada vakuolizasyon ve organel harabiyetlerinin varlığı dikkati çekti.
3. Metanol ve etanol verildikten sonra metilprednizolon uygulanan bu gruba ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde;
- a) Bazı miyelinli sinir liflerinde miyelin kılıfta hafif dejeneratif değişiklikler izlenmekle birlikte, miyelinli sinir lifinin çoğunluğunda miyelin kılıf ile akson sitoplazmasındaki mitokondriyon, nörotübül ve nörofilamanların normal yapılarını korudukları dikkati çekti.
 - b) Glia hücrelerinin genellikle sferikal veya ovoid bir çekirdeğe ve çekirdeği çevreleyen perinükleer ince bir sitoplazmaya sahip oldukları görüldü.
 - c) Oligodendrositlerde bazı alanlarda çekirdekte heterokromatin artışı ve sitoplazmik organellerde fokal dejeneratif değişiklikler izlense de, genel olarak bu hücrelerin normal ince yapılarını korudukları görüldü.
 - d) Deney grubuna oranla, metilprednizolon verilen grupta ultrastrüktürel değişikliklerin azaldığı ve yapısal bütünlüğün çoğunlukla korunduğu dikkati çekti.
4. Metanol ve etanol verildikten sonra EPO uygulanan bu gruba ait optik sinir kesitlerinin elektron mikroskopik incelenmesinde
- a) Glia hücrelerinde çekirdek ve sitoplazmik organellerde önemli yapısal değişiklikler görüldü.
 - b) Glia hücrelerinin çekirdeklerinde kromatin artışı, sitoplazmalarında organel harabiyeti ve sitoplazmik vakuolizasyonların olduğu gözlemlendi.
 - c) Miyelinli sinir liflerinde hafiften orta dereceye kadar değişen, akson ve miyelin kılıfı içeren yapısal değişikliklerin olduğu dikkati çekti.
 - d) Sıklıkla fokal miyelin kılıf hasarı ile miyelin lamellerinde normal düzenlenmenin bozulması tespit edildi.

- e) Miyelinli sinir liflerinde, aksonlarda b z   me, bazı alanlarda aksoplazmada mitokondriyonlarda belirgin olmak üzere organel harabiyetinin olu  tu   dikkati çekti.
 - f) Her ne kadar bu grupta görülen dejeneratif değişikliklerin, tedavi uygulanmayan deney grubuna kıyasla daha sınırlı olduğu görülse de, metilprednizolon verilen gruba göre bu değişikliklerin daha şiddetli seyrettiği dikkati çekti.
5. Toluidin mavisi (TM) boyalı sinir kesitlerinin incelenmesinde;
- a) Kontrol grubunda homojen boyanma saptandı.
 - b) Deney grubuna ait TM kesitlerin incelemesinde ışık mikroskopik düzeyde saptanabilir belirgin myelin kaybı bulgusu (TM ile soluk boyanma) görülmedi.
 - c) Tedavi grubuna ait TM kesitlerde kontrol gruba benzer şekilde homojen boyanma saptandı.
 - d) Her dört grupta da ışık mikroskopik düzeyde myelinizasyonda farklılık görülmedi.
6. Hem EPO ($p<0,001$), hem de metilprednizolon ile tedavi edilen grupta ($p<0,0001$); deney grubu ile kar ıla tırıldı ında myelinli akson sayısının istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla olduğu görüldü.

KAYNAKLAR

1. Setiohadji B, Irfani I, et all. The Superoxide dismutase mimetic TEMPOL and its effect on retinal ganglion cells in experimental methanol-intoxicated rats. *Ophthalmol Ther.*2018; 7: 167– 172.
2. Rotenstreich Y, Assia EI, Kesler A. Late treatment of methanol blindness. *BJO.* 1997; 81: 416– 7.
3. Sanaei-Zadeh H, Zamani N, Shadnia S. Outcomes of visual disturbances after methanol poisoning. *Clinical Toxicology.* 2011; 49: 102– 107.
4. Sobh MA, el-Tantawy AE, et all. Effect of treatment of anaemia with erythropoietin on neuromuscular function in patients on long term haemodialysis. *Scand J Urol Nephrol.* 1992; 26: 65– 69.
5. Pakravan M, Sanjari N. Erythropoietin treatment for methanol optic neuropathy. *J Neuroophthalmol.* 2012; 32: 325- 8.
6. Hayreh SS, et all. Ischemic optic neuropathy. *Progress in retinal and eye research.* 2009; 28: 34- 62.
7. Polak BC, Leys M, et all. Blue-yellow colour vision changes as early symptoms of ethambutol oculotoxicity. *Ophthalmologica.* 1985; 191: 223- 6.
8. Pradeep Sharma and Reena Sharma. *Indian J ophthalmol.* 2011; 59: 137-141.
9. Orssaud C, Roche O, Dufier J. Nutritional optic neuropathies. *Journal of the neurological sciences.* 2007; 262: 158- 64.
10. Phillips PH, et all. Toxic and deficiency optic neuropathies. *Clinical Neuro-ophthalmology.* 2005; 59: 455- 6.
11. Chai SJ, Foroozan R, et all. Decreased retinal nerve fibre layer thickness detected by optical coherence tomography in patients with ethambutol-induced optic neuropathy. *BJO.* 2007; 91: 895- 7.
12. Anat Kesler, MD, and Pazit Pianka, MD. Toxic Optic Neuropathy. *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 2003; 3: 410- 414.
13. Kedar S, Ghate D, et all. Visualfields in neuro-ophthalmology. *Indian JOphthalmol.* 2011; 59: 103- 109.
14. González-Quevedo A, Santiesteban-Freixas R, et all. Cuban Epidemic Neuropathy: Insights into the Toxic-Nutritional Hypothesis through International Collaboration. *MEDICC review.* 2018; 20: 27- 32.
15. Behbehani R, Sergott RC, Savino PJ. Tobacco-alcohol amblyopia: a maculopathy. *Br J Ophthalmol.* 2005; 89: 1543- 4.
16. Turla A, Okboy N, Koç S. Ölümle Sonuçlanan Metil Alkol (Metanol) Zehirlenmeleri. *Adli Tıp Dergisi.* 2001; 15 (1): 37- 44.

17. Vale A, et al. Methanol. *Medicine j. mpmed.* 2007; 35 (12): 633– 4.
18. "Methanol Poisoning Overview". Antizol. Retrieved 4/ 10/ 11.
19. Schep LJ, Slaughter RJ, et al. A seaman with blindness and confusion. *BMJ.* 2009; 339: 29-39.
20. Tintinalli JE, Kelen GD, et al. *Emergency Medicine A Comprehensive Study Guide Textbook.* 2011; 7: 1222- 1230.
21. Fraunfelder FW, Sadun AA, Wood T. Update on ethambutol optic neuropathy. *Expert Opin Drug Saf.* 2006; 5: 615– 618.
22. Naraqi S, Dethlefs RF, et al. An outbreak of acute methyl alcohol intoxication. *Aust N Z J Med.* 1979; 9: 65– 98.
23. Baydın A, Akar H, et al. Metanol zehirlenmesinde bilateral putaminal nekroz ve ani körlük. *Yoğun Bakım Dergisi.* 2010; 9 (3): 168- 72.
24. Foulds WS, et al. Visual disturbances in systemic disorders: optic neuropathy and systemic disease. *Trans Ophthalmol Soc UK.* 1970; 89: 125-146.
25. Abrishami M, Khalifeh M, et al. Therapeutic effects of high-dose intravenous prednisolone in methanol-induced toxic optic neuropathy. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics.* 2011; 27: 261-263.
26. Fujihara, M., Kikuchi, M., Kurimoto, Y. Methanol-induced retinal toxicity patient examined by optical coherence tomography. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2006; 50: 239– 241.
27. Brines ML, Chezzi P, Keenan S. Erythropoietin crosses the blood-brain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci.* 2000; 97: 10526– 10531.
28. Modarres M, Ghasemi Falavarjani KH, et al. Intravitreal erythropoietin injection for the treatment of non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy. *BJO.* 2011; 95: 992– 995.
29. Kashkouli MB, Pakdel F, et al. Erythropoietin, a novel treatment for traumatic optic neuropathy. *Arch ClinExpOphthalmol* 2011; 249: 731– 736.
30. Bähr LD, et al. Effect of erythropoietin axotomy–induced apoptosis in rat retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004; 45: 1514– 1522.
31. Diem R, Molnar F, et al. Treatment of optic neuritis with erythropoietin (TONE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial-study protocol. *BMJ.* 2016; 6: 946-956.
32. Farzad P, et al. Erythropoietin in treatment of methanol optic neuropathy. *J Neuro-Ophthalmol.* 2018; 38: 167-171.
33. Zamani N, Hassanian H, et al. Evaluation of the effect of erythropoietin+ corticosteroid versus corticosteroid alone in methanol-induced optic nerve neuropathy. *Cutaneous and Ocular Toxicology.* 2017; 14: 186-190.

34. Yu W., Naim J. O., Lanzafame R. J. Effects of photostimulation on wound healing in diabetic mice. *Lasers Surg. Med.* 1997; 20: 56– 63.
35. Sommer A, Pinheiro A, et al. Effects of low-power light therapy on wound healing: laser and LED. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 2001; 19: 27– 33.
36. Eells T, Henry M, et al. Therapeutic photobiomodulation for methanol-induced retinal toxicity. *Pnas.* 2003; 100 (6): 3439– 3444.
37. El-Bakary A, El-Dakrory S, et al. Ranitidine as an alcohol dehydrogenase inhibitor in acute methanol toxicity in rats. *Hum Exp Toxic.* 2010; 29 (2): 93- 101.
38. Barceloux DG, Bond GR, et al. American Academy of Clinical Toxicology practice guidelines on the treatment of methanol poisoning. *Journal of toxicology Clinical toxicology.* 2002; 40 (4): 415-46.
39. Martin-Amat G, Tephly TR, et al. Methyl alcohol poisoning. II. Development of a model for ocular toxicity in methyl alcohol poisoning using the rhesus monkey. *Arch Ophthalmol.* 1977; 95: 1847-1850.
40. Seme MT, Summerfelt P, et al. Differential recovery of retinal function after mitochondrial inhibition by methanol intoxication. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2001; 42: 834– 841.
41. Marti HH, et al. Erythropoietin and the hypoxic brain. *J Exp Biol.* 2004; 207: 3233-3242.
42. Kinori M, Ben-Bassat I, Wasserzug Y, Chetrit A, HunaBaron R. Visual outcome of mega-dose intravenous corticosteroid treatment in non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy – retrospective analysis. *BMC Ophthalmol* 2014; 14: 62-67.
43. Feng Q, et al. Beyond erythropoiesis: the anti-inflammatory effects of erythropoietin. *Cardiovasc Res.* 2006; 71: 615– 617.
44. Katavetin P, Tungsanga K, et al. Antioxidative effects of erythropoietin. *Kidney Int Suppl.* 2007; 72: 10-15.
45. McKellar MJ, Hidajat RR, Elder MJ. Acute ocular methanol toxicity: clinical and electrophysiological features. *Aust N Z J Ophthalmol.* 1997; 25: 225-230.
46. Fisher JW, et al. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med.* 2003; 228: 1– 14.
47. Sharpe JA, Hostovsky M, et al. Methanol optic neuropathy: a histopathological study. *Neurology.* 1982; 32: 1093-1100.
48. Yamasaki M, Mishima HK, et al. Neuroprotective effects of erythropoietin on glutamate and nitric oxide toxicity in primary cultured retinal ganglion cells. *Brain Res.* 2005; 1050: 15-26.
49. Villa P, Bigini P, et al. Erythropoietin selectively attenuates cytokin production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med.* 2003; 198: 971-975.

50. Sun Y, Calvert JW, et al. Neonatal hypoxia/ischemia is associated with decreased inflammatory mediators after erythropoietin administration. *Stroke*. 2005; 36: 1672–1678.
51. Junk AK, Mammis A, et al. Erythropoietin administration protects retinal neurons from acute ischemia-reperfusion injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99: 10659–10664.
52. Weishaupt JH, Rohde G, Et al. Effect of erythropoietin axotomy-induced apoptosis in rat retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004; 45: 1514– 522.
53. King CE, Rodger J, et al. Erythropoietin is both neuroprotective and neuroregenerative following optic nerve transection. *Exp Neurol*. 2007; 205: 48-55.
54. Pakravan M, Esfandiari H, et al. Erythropoietin as an adjunctive treatment for methanol-induced toxic optic neuropathy. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2016; 42: 633- 639.

