

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

**N-METİL N-NİTRÖZÜRE İLE OLUŞTURULAN RETİNİTİS
PİGMENTOSA MODELİNE EDARAVON VE ELLAJİK ASİT'İN
ANTİOKSİDAN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Esra SORGUCU**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Orhan AYDEMİR**

**ELAZIĞ
2018**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Ülkü Çeliker

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Orhan AYDEMİR

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Sınavı Jüri Üyeleri

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

TEŞEKKÜR

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

Özellikle tez çalışmama katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Orhan AYDEMİR'e ve birlikte çalıştığımız Dr. Öğr. Üyesi Gökhan ARTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Tuncay KULOĞLU, Prof. Dr. Süleyman AYDIN'a ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

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

Beni bugünlere yetiştiren ve her an yanımda olduklarını bildiğim anne ve babama; uzakta da olsalar desteklerini her zaman hissettiğim kardeşlerime; her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyip, her an yardımına koşan eşimin ailesine; hayatıma girdiği günden beri hüznümü, sevincimi, derdimi paylaşan ve hiçbir konuda desteğini esirgemeyen sevgili eşim Ömer Faruk'a; bu süreçte her an birlikte olduğumuz, varlığıyla bana güç ve mutluluk veren, henüz dünyaya gelmemiş sevgili oğluma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Retina	3
1.1.1.1. İç Limitan Membran	4
1.1.1.2. Sinir Lifleri Tabakası	4
1.1.1.3. Gangliyon Hücreleri Tabakası	5
1.1.1.4. İç Pleksiform Tabaka	5
1.1.1.5. İç Nükleer Tabaka	5
1.1.1.6. Dış Pleksiform Tabaka	6
1.1.1.7. Dış Nükleer Tabaka	7
1.1.1.8. Dış Limitan Membran	7
1.1.1.9. Fotoresptör Hücre Tabakası	7
1.1.1.10. Retina Pigment Epiteli (RPE)	10
1.1.2. Retinanın Kanlanması	13
1.1.2.1. Retinal Arteriyel Dolaşım	13
1.1.2.1.1. Santral Retinal Arter	13
1.1.2.1.2. Siliyoretinal Arter	14
1.1.2.1.3. Retinal Arteriyoller	14
1.1.2.1.4. Retinal Kapiller Yatak	15
1.1.2.2. Retinal Venöz Drenaj	16
1.1.2.3. Retinal Avasküler Alanlar	17
1.1.3. Kan – Retina Bariyeri	18
1.1.4. Görmenin Fotokimyası	18

1.1.4.1. Rodopsin	19
1.1.4.2. Rodopsin Parçalanması	20
1.1.4.3. Rodopsin Yeniden Sentezi	21
1.1.4.4. Fototransdüksiyon Kaskadı	22
1.1.4.5. Işık Yanıtının Sonlandırılması	23
1.1.4.6. Konlar Tarafından Renkli Görmenin Fotokimyası	24
1.1.5. Kalıtsal Retina Dejenerasyonlarının Sınıflandırılması	24
1.1.5.1. Merkezi Retina (Makula) Dejenerasyonları	24
1.1.5.2. Periferik Retina Dejenerasyonları, Retinitis pigmentosa (RP)	25
1.1.5.2.1. Epidemiyoloji ve Patogenez	25
1.1.5.2.2. Klinik Özellikler	25
1.1.5.2.3. RP’de Sınıflandırma	27
1.1.5.2.3.1. Otozomal Dominant Retinitis Pigmentosa (ODRP)	28
1.1.5.2.3.2. Otozomal Resesif Retinitis Pigmentosa (ORRP)	28
1.1.5.2.3.3. X’e Bağlı Geçiş Gösteren Retinitis Pigmentosa (XLRP)	28
1.1.5.2.3.4. Digenik Retinitis Pigmentosa	29
1.1.5.2.3.5. Sendromik Retinitis Pigmentosa	29
1.1.5.3. Retinitis Pigmentosa (RP)’da Fotoresptör Hücre Ölümüne Yol Açan Mekanizmalar	33
1.1.6. Apoptozis	34
1.1.6.1. Apoptozun Düzenlenmesi	35
1.1.6.1.1. Bcl-2 Ailesi	35
1.1.6.1.2. P53	36
1.1.6.1.3. FAS (APO-1 veya CD95)	36
1.1.6.1.4. Kaspazlar	36
1.1.6.2. Apoptoz Mekanizması	36
1.1.6.2.1. İntrinsik Yol	37
1.1.6.2.2. Ekstrinsik Yol	38
1.1.7. Oksidatif Stres ve Retinitis Pigmentosa	39
1.1.8. Retinitis Pigmentosa Tedavisi	42
1.1.8.1. Transplantasyon	43
1.1.8.1.1. Fotoresptör ve RPE Hücre Transplantasyonu	43

1.1.8.1.2. RPE Hücre Transplantasyonu	43
1.1.8.1.3. Kök Hücre Transplantasyonu	43
1.1.8.2. Elektronik Protezler	44
1.1.8.2.1. Retinal İmplantlar	44
1.1.8.2.2. Kortikal İmplantlar	45
1.1.8.3. Gen Tedavisi	45
1.1.8.4. Farmakolojik Tedavi	46
1.1.8.4.1. Nörotropik Faktörler	46
1.1.8.4.2. Retinaya İlaç Ulaşımı ve Enkapsüle Hücre Teknolojisi	46
1.1.9. Antioksidan Savunma Sistemleri	47
1.1.9.1. Antioksidanlar	47
1.1.9.2. Enzimler	48
1.1.9.2.1. Sitokrom oksidaz	48
1.1.9.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD)	48
1.1.9.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	49
1.1.9.2.4. Katalaz	49
1.1.9.3. Enzim Olmayanlar	49
1.1.9.3.1. Karotenler (A Vitamini)	49
1.1.9.3.2. Askorbik Asit (C Vitamini)	50
1.1.9.3.3. E Vitamini	50
1.1.9.3.4. Flavonoidler	51
1.1.9.3.5. Glutasyon (GSH)	51
1.1.9.3.6 Ellajik asit	51
1.1.9.3.6.1. Ellajik Asiti'n Kimyasal Yapısı	51
1.1.9.3.6.2. Ellajik Asit'in Biyolojik Aktivitesi	52
1.1.9.3.6.3. Ellajik Asit'in Etki Mekanizması	52
1.1.9.3.7. Edaravon	53
1.1.9.3.7.1. Edaravon'un Kimyasal Yapısı	53
1.1.9.3.7.2. Edaravon'un Biyolojik Aktivitesi	54
1.1.9.3.7.3. Edaravon'un Etki Mekanizması	54
1.1.10. Deneysel Retinitis Pigmentosa Modelleri	55
1.1.10.1. Herediter Hayvan Modelleri	55

1.1.10.2. Transgenik Hayvan Modelleri	55
1.1.10.3. İndüklenebilir Hayvan Modelleri	56
1.1.10.3.1. Işıkla indüklenen Hayvan Modeli	56
1.1.10.3.2. N-Metil N-Nitrözüre (MNU) ile İndüklenen Hayvan Modeli	56
1.1.10.3.3. Diğer modeller	57
2. GEREÇ VE YÖNTEM	58
2.1. Retinitis Pigmentosa Oluşturulması	58
2.2. Gruplandırma	58
2.3. Göz Dokularının Alınması	59
2.4. TUNEL Boyama İle Apoptotik Hücre Taraması	59
2.5. Rodopsin İmmunohistokimya Boyanması	61
2.6. Bax- Bcl 2 Değerlerinin Ölçümü	61
2.7. İstatistiksel Analiz	62
3. BULGULAR	63
3.1. TUNEL Boyama Sonuçları	63
3.2. Retinal Hematoksilen-Eozin ile Boyanma Sonuçları	64
3.2.1. Dış Nükleer Tabaka Kalınlık Ölçümleri	64
3.2.2. Dış Nükleer Tabaka/ Total Retinal Kalınlık Oranı	68
3.3. Retinal Rodopsin Boyanma Sonuçları	70
3.4. Elisa Sonuçları	76
3.4.1. Bcl 2 Düzeyleri	76
3.4.2. Bax Düzeyleri	79
3.4.3. Bax / Bcl 2 oranı	80
4. TARTIŞMA	83
5. KAYNAKLAR	95
6. ÖZGEÇMİŞ	115

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. TUNEL Boyama Prosedürü	60
Tablo 2. Apoptotik İndeks (%)	64
Tablo 3. Dış Nükleer Tabaka Kalınlığı (µm)	68
Tablo 4. DNT/Total Retinal Kalınlık Yüzdesi (%)	70
Tablo 5. Rodopsin İmmünreaktivitesi	76
Tablo 6. Bcl 2 Düzeyleri (pg/mg)	78
Tablo 7. Bax Düzeyleri (pg/mg)	79
Tablo 8. Bax/Bcl 2 Oranı	81

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Gözün anatomik yapısı	2
Şekil 2.	Retina tabakaları	4
Şekil 3.	Retinal hücrelerin yerleşimi	6
Şekil 4.	Fotoreseptör hücrelerin bölümleri	8
Şekil 5.	Fotoreseptör hücrelerin şematik gösterimi	8
Şekil 6.	Rod ve kon hücreleri	9
Şekil 7.	Rod ve kon hücrelerin karşılaştırılması	10
Şekil 8.	Retina pigment epitelinin fizyolojik görevlerinin şematik olarak gösterilmesi	12
Şekil 9.	Santral retinal arterin optik sinir içindeki seyri	14
Şekil 10.	Retinal damar yapısının şematik resmi	16
Şekil 11.	a: Fundus fotoğrafı. Retinal venlerin üst ve alt gövdeleri oluşturarak (oklar) optik diske girişi b: Şematik çizim. Üst ve alt gövdelerin optik sinir içinde birleşerek santral retinal veni oluşturması	17
Şekil 12.	Sığır rodopsininin kristal yapısı	19
Şekil 13.	Rod dış segmenti ve rodopsin molekülünün yerleşimi	20
Şekil 14.	Retinoid transformasyonu ve klasik intraretinal görme siklusu	21
Şekil 15.	Görme siklus yolağı	22
Şekil 16.	Fototransdüksiyon kaskadı	23
Şekil 17.	Kon hücre tiplerinin dalga boyları	24
Şekil 18.	a) Tipik RP: Retina midperiferinde kemik korpüskülü hiperpigmentasyonu b) Tipik RP: Pigment epitel değişiklikleri c) RP: Pigment epitelde granülerite ve değişiklikler d) RP’de öküz gözü makulopatisi, incelmış damarlar	27
Şekil 19.	Usher sendromunda yaygın RPE atrofisi	30
Şekil 20.	İnstrinsik Yol	38
Şekil 21.	Ekstrinsik Yol	39
Şekil 22.	Ellajik Asit kimyasal yapısı	52
Şekil 23.	Edaravon kimyasal yapısı	53
Şekil 24.	Edaravon etki mekanizması	55
Şekil 25.	MNU yapısı	56

Şekil 26. Gruplara göre apoptotik indeks yüzdelerinin karşılaştırılması	64
Şekil 27. Kontrol grubu Hematoksilen-Eozin boyanması	65
Şekil 28. Sham 1 Hematoksilen-Eozin boyanması	65
Şekil 29. Ellajik asit 3.gün Hematoksilen-Eozin boyanması	66
Şekil 30. Edaravon 7.gün Hematoksilen-Eozin boyanması	67
Şekil 34. Kontrol grubu rodopsin boyanması	71
Şekil 35. Sham 1 rodopsin boyanması	72
Şekil 36. Sham 2 rodopsin boyanması	73
Şekil 37. Ellajik asit 3.gün rodopsin boyanması	74
Şekil 38. Edaravon 7.gün rodopsin boyanması	74
Şekil 39. Ellajik asit 7.gün rodopsin boyanması	75
Şekil 40. Gruplara Göre Rodopsin İmmünreaktivitelerinin Karşılaştırılması	76

ÖZET

Retinitis pigmentosa, çocukluk çağında başlayıp körlükle sonuçlanabilen, en sık görülen hereditör retina distrofisidir. Bu çalışmada N-Metil-N-Nitrozüre (MNU) ile oluşturulan deneysel Retinitis pigmentosa modelinde antioksidan özelliği bilinen Edaravon ve Ellajik asit'in fotoreseptör hücre apoptozisinden koruyucu etkisini biyokimyasal ve histopatolojik yöntemlerle araştırmak amaçlanmıştır.

Çalışmada 49 adet Sprague Dawley türü rat randomize olarak yedi eşit gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu olarak belirlenen birinci gruba tıbbi ve cerrahi müdahale yapılmamıştır. Diğer gruplardaki ratlara intraperitoneal MNU enjeksiyonu yapılarak fotoreseptör hücre apoptozisi indüklenmiştir. Sham grubu olarak belirlenen ikinci ve üçüncü grup intraperitoneal PBS, dördüncü ve beşinci grup intraperitoneal Edaravon, altıncı ve yedinci grup intraperitoneal Ellajik asit ile tedavi edilmiştir. Birinci, ikinci, dördüncü ve altıncı gruplardaki ratlar 3.gün; üçüncü, beşinci ve yedinci gruplardaki ratlar ise 7.gün dekapite edilmiştir. Gözler enükle edilerek, retina dokuları alınmıştır. Sağ gözlerden alınan retinal doku örneklerinde TUNEL boyama ile apoptotik indeks ölçümü, H&E boyama ile retinal kalınlık ölçümü yapılmış ve immünohistokimyasal boyama ile rodopsin immünreaktivitelerine bakılmış; sol gözlerden alınan retinal doku örneklerinde ise ELISA yöntemiyle Bax ve Bcl 2 analizleri yapılmıştır.

Sham gruplarında kontrol grubuna göre ortalama Bax değerleri yüksek, Bcl 2 değerleri düşük, apoptotik indeks yüzdeleri yüksek, rodopsin immünreaktiviteleri düşük ve dış nükleer tabakadaki ortalama kalınlık ölçümleri düşük saptanmış ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Sham 2 grubuna göre sham 1 grubunda ortalama Bax değeri yüksek, Bcl 2 değeri düşük, TUNEL boyamayla ortalama apoptotik indeks yüzdesi yüksek ve ortalama dış nükleer tabaka kalınlığı düşük saptanmış ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu şekilde MNU indüksiyonuyla RP modeli oluşturulmuştur.

Edaravon ve Ellajik asit grupları 3.gün sonunda sham grubuyla kıyaslandığında, ortalama Bcl 2 değerleri yüksek, Bax değerleri düşük, apoptotik indeks yüzdeleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Edaravon grubunda 3.gün ve 7.gün sonunda rodopsin immünreaktivitesi, dış nükleer tabaka kalınlığı, dış nükleer tabaka/ total retinal kalınlık oranı sham gruplarına göre anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ellajik asit grubunda ise 3.gün ve 7.gün

sonunda rodopsin imm nreaktiviteleri, dış nükleer tabaka kalınlıkları, dış nükleer tabaka/ total retinal kalınlık oranları sham gruplarına göre yüksek bulunmuş olup, bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Deneysel RP modelinde fotoreseptör hücre apoptozisini önleyici etkileri saptanan bu ajanların insanlarda olası etkilerinin ortaya konulabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: N-Metil-N-Nitrözüre, deneysel retinitis pigmentosa, Edaravon, Ellajik asit



ABSTRACT

THE ANTIOKSIDANT EFFECT OF EDARAVONE AND ELLAJIC ACID ON N- METHYL-N-NITROSOUREA INDUCED RETINITIS PIGMENTOSA MODEL

Retinitis pigmentosa, which may begin in childhood and result in blindness, is the most common hereditary retinal dystrophy. In this study, it was aimed to search protective effects of Edaravon and Ellajic acid on photoreceptor cell apoptosis through biochemical and histological methods and within the scope of experimental retinitis pigmentosa model induced with N-Methyl-N-Nitrosurea.

At the beginning of the study 49 Spraque Dawley rats were divided into seven equal groups randomly. The first group is designated as control group and no surgery or medical treatment was performed to the rats within this group. For rats included in the other groups, photoreceptor cell apoptosis was induced by injecting intraperitoneal N-Methyl-N-Nitrosurase. Within the aspect of performed treatment to other groups that designated as sham groups; the second and third groups were treated with intraperitoneal PBS, the fourth and fifth groups were treated with intraperitoneal Edaravon, the sixth and seventh groups were treated with intraperitoneal Ellajic acid. The first, second, fourth and sixth groups were decapitated on the 3rd day whereas the third, fifth and seventh groups were on the 7th day. The eyes were enucleated and retinal tissue was removed. For the retinal tissue samples that were taken from right eyes; apoptotic index measurement was made by TUNEL staining, retinal thickness measurement was made by H&E staining and rodopsin immunoreactivity was examined by immunohistochemical staining whereas for the retinal tissue samples of left eyes; Bax and Bcl 2 analyzes were performed by applying ELISA methodology.

According to the comparison made between sham group and control group, it was seen that the sham group had higher mean Bax values, lower Bcl 2 values, higher percentage of apoptotic index, lower rhodopsin immunoreactivity and a statistically significant thinning at the outer nuclear layer ($p < 0.05$). On the other hand, the comparison made between Sham 1 and Sham 2 groups lead to the conclusion that Sham 1 group, based on mean values, had higher Bax values, lower

Bcl 2 values, higher percentage of apoptotic index (measured by TUNEL staining) and statistically significant thinning at the outer nuclear layers ($p < 0.05$).

When Edaravone and Ellajic acid groups were compared to sham group at the end of 3rd day based on mean values, Bcl 2 values were high, Bax values were low and percentage of apoptotic index measured by TUNEL staining was found as statistically low ($p < 0.05$). Rodopsin immunoreactivity, outer nuclear layer thickness, outer nuclear layer / total retinal thickness ratio were found significantly higher in the Edaravone group than the sham groups at the end of 3rd and 7th days ($p < 0.05$). For the Ellajic acid group, at the end of 3rd and 7th days, rodopsin immunoreactivity, outer nuclear layer thickness, outer nuclear layer / total retinal thickness ratio were found to be higher than sham groups but it wasn't statistically significant ($p > 0.05$). Edaravone and Ellajic acid may be a therapeutic agent for RP patient. Further studies are needed to demonstrate the possible effects of these agents in humans, which detect inhibitory effects of photoreceptor cell apoptosis in the experimental RP model.

Key Words: N-Methyl-N-Nitrosurea, experimental retinitis pigmentosa, Edaravone, Ellajic acid, apoptosis

KISALTMALAR

CACD	: Merkezi Areolar Koroidal Distrofi
CD	: Kon Dejenerasyonu
c GMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CRD	: Kon- Rod Dejenerasyonu
CRX	: Kon- Rod Homeobox
DNT	: Dış Nükleer Tabaka
ELM	: Eksternal Limitan Membran
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERG	: Elektoretinogram
FSCN2	: Faskin Proteini
GDP	: Guanozin Difosfat
GER	: Granüllü Endoplazmik Retikulum
GHT	: Gangliyon Hücre Tabakası
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Redukte Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
GSSG-red	: Glutasyon Reduktaz
GTP	: Guanozin Trifosfat
GUCA1B	: Guanil Siklaz Aktivator Proteinler
H2O2	: Hidrojen Peroksit
HRD	: Herediter Retina Disrtrofileri
IAP	: Apoptoz İnhibitor Protein
ILM	: İnternal Limitan Membran
IMPDH1	: İnozin Monofosfat Dehidrogenaz-1
INL	: Internal Limitan Layer
IPL	: Internal Plexiform Layer
İNT	: İç Nükleer Tabaka
İPT	: İç Pleksiform Tabaka
MD	: Makuler Dejenerasyon
MNU	: N-Metil N-Nitrözüre

OA	: Oftalmik Arter
ODCRD	: Otozomal Dominant Kon- Rod Dejenerasyonu
ODRP	: Otozomal Dominant Retinitis Pigmentosa
ONL	: Outer Nucleer Layer
OPL	: Outer Plexiform Layer
ORRP	: Otozomal Dominant Retinitis Pigmentosa
PDE	: Fosfodiesteraz
PERİFERİN/RDS	: Peripherin/ Retinal Degeneration Slow
PRP	: Trombositler Zengin Plazma
RGH	: Retinal Gangliyon Hücreler
RLBP- 1	: Retinaldehit Bağlayıcı Protein
ROM- 1	: Rod Dış Segment Membran Protein
RP	: Retinitis pigmentosa
RP- 1	: Retinitis pigmentosa-1
RPE	: Retina Pigment Epiteli
SRA	: Santral Retinal Arter
SRV	: Santral Retinal Ven
TGF-s	: Transforming Growth Factor- s
TGF-β	: Transforming Growth Factor- Beta
TNF	: Tümör Nekrotizan Faktör
TUNEL	: Terminal Deoxyribonucleotidyl Transferase-Mediated dUTP-Biotin End Labeling
USH2A	: Usher Sendromu-2A
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
XBRP	: X'e Bağlı Geçiş Gösteren Retinitis Pigmentosa

1. GİRİŞ

Retina distrofileri geri dönüşümü olmayan fotoreseptör hasarı ile giden, kalıtsal ve genetiği karmaşık bir grup hastalıktan oluşmaktadır (1, 2).

Tüm dünyada, körlük ve az görme nedenleri araştırıldığında, erişkin hastalarda katarakt, glokom ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu; çocukluk çağında retina hastalıkları, özellikle Hereditör Retina Distrofileri (HRD) önemli bir yer tutmaktadır (3-8). Hereditör göz hastalıklarının önemli bir bölümünü oluşturan retina dejenerasyonları, Retinitis pigmentosa'dan (RP) maküler dejenerasyonlara kadar uzanan geniş bir spektrum çizer. Retinitis pigmentosa, retinadaki fotoreseptör hücreleri ve retina pigment epiteline ait genlerde meydana gelen mutasyonlara bağlı olarak söz konusu hücrelerde fonksiyon kaybı ve apoptozis yoluyla ölüme yol açtığı bilinen kalıtsal dejeneratif bir retinal hastalıktır. RP'de esas sorun rod fotoreseptörlerin kaybıdır ve bu hücreler midperiferde yoğun olarak bulunduğu için periferik görme ve gece görme yetersizliği meydana gelir (9-11).

Zaman içinde kon hücre hasarıyla beraber santral görme de bozulur (12). Nörodejeneratif hastalıklarda (Parkinson, Alzheimer hastalığı) olduğu gibi RP hastalarında da ortak patolojik süreç apoptozistir (13, 14). Çeşitli farklı genler rol alsada ortak yolak oksidatif stres sonucu rod fotoreseptör hücrelerin apoptotik ölümüdür (15). Rod fotoreseptör hücreler retinada sayıca en çok bulunan, metabolik aktiviteleri en yüksek ve en çok oksijen tüketen hücrelerdir. Rod hücre ölümü ile oksijen tüketiminde azalma sonucu oksijen seviyesinde artış olmaktadır. Dış retinal katlarda oksijen seviyesindeki artışın rod ve kon fotoreseptör hücre ölümüne yol açtığı saptanmıştır (16, 17). Yavaş ve ilerleyici bir şekilde gerçekleşen oksidatif stresin de kon fotoreseptör hücre ölüm nedenlerinden biri olarak saptanmıştır. Yapılan çeşitli hayvan çalışmalarda antioksidan tedavinin rod ve kon hücre devamlılığını sağlamadaki yararı gösterilmiştir (18, 19).

Ellajik asit fındık, ahududu, nar, ceviz, üzüm, kuş üzümü ve birçok meyvede bulunan bir polifenolik bileşiktir. Ellajik asitin antioksidan (20), antitumör (21), anti-enflamatuvar (22), oksijen ve hidroksil radikallerini temizleyici ve lipid peroksidasyonu inhibe edici özellikleri vardır (23, 24).

Edaravon yarı ömrü 5.4 dakika olan serbest radikal tutucudur. Antioksidatif, antiapoptotik, anti-enflamatuvar, oksijen ve hidroksil radikallerini temizleyici, lipid

peroksidasyonu inhibe edici ve nöroprotektif özellikleri vardır (25, 26). Deneysel hayvan modellerinde serebral iske-mi-reperfüzyon hasarında koruyucu bulunmuştur. Beyin, böbrek, karaciğer ve retinada serbest radikal hasarından koruyucu özelliği deneysel çalışmalarla kanıtlanmıştır. Yapılan bir çalışmada N -Metil N-Nitrözüre (MNU)'ye bağlı oluşturulan retinal dejenerasyon modelinde Edaravon'un koruyucu etkisi gösterilmiştir (27). Ellajik asit'in retinal dejenerasyon üzerindeki etkisine yönelik herhangi bir çalışma literatürde mevcut değildir.

Deneysel Retinitis pigmentosa oluşturulmasında en çok kullanılan modellerden biri MNU ile oluşturulan retinal dejenerasyon modelidir. Bu model hızlı bir şekilde dejenarasyon oluşturma-sı ve kolay uygulanabilir olması açısından araştırmacılara önemli kolaylıklar sunmaktadır (28).

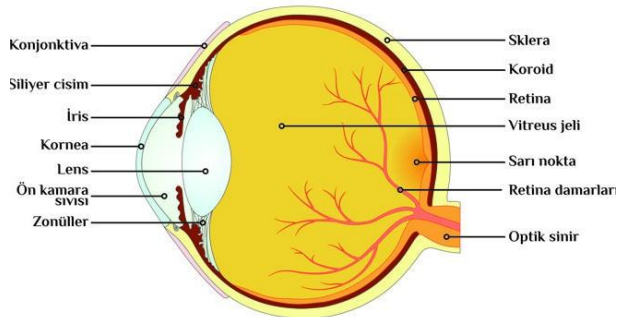
Bu çalışmamızda ratlarda intraperitoneal N -Metil N-Nitrözüre ile Retinitis pigmentosa modeli oluşturularak antioksidan ajanlar olan Ellajik asit ve Edaravon'un retinal dejenerasyon üzerindeki biyokimyasal, moleküler ve histopatolojik etkilerini araştırmayı amaçladık.

1.1. Genel Bilgiler

Göz, kompleks ve iyi gelişmiş fotosensitif bir organdır. Yaklaşık 24 mm çapında olup, kafatası içinde koruyucu kemik olan orbitalar içine yerleşmiştir.

Göz, küresel şekli koruyan dayanıklı fibröz bir yapıdan, görüntüyü odaklayan bir mercek sisteminden ve görüntüyü toplayan ve merkezi sinir sistemi ileten fotosensitif hücrelerden oluşur.

Gözün tabakaları sırası ile: Dış tabaka (tunica fibrosa): Sklera ve kornea, Orta tabaka (tunica vasculosa): Koroid, silyer cisim, iris, İç tabaka (tunica nervosa): Retina'dır.

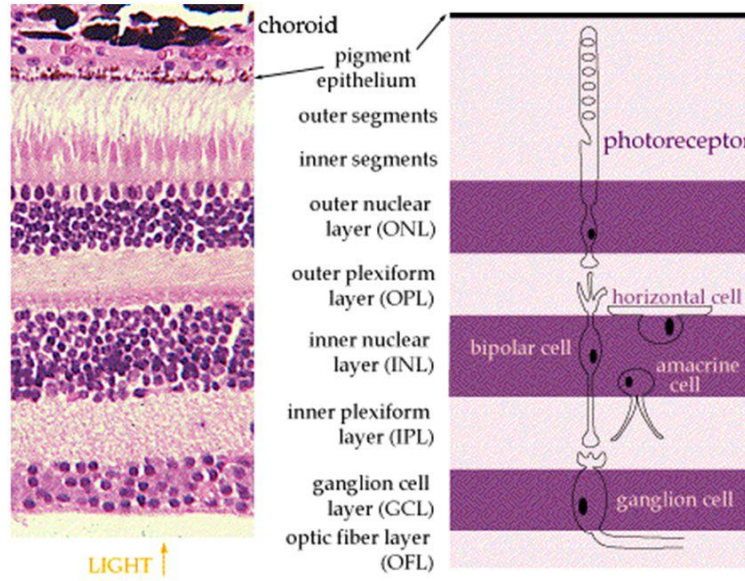


Şekil 1. Gözün anatomik yapısı

1.1.1. Retina

Retina gözün en iç tabakasıdır ve embriyolojik olarak optik vezikülün distal kısmında nöroektodermden gelişir. İki katmanı vardır: Dıştaki katman retina pigment epiteli (RPE) ve içteki katman ise nöral retinadır. Nöral tabaka ile RPE arasında ‘subretinal alan’ olarak isimlendirilen potansiyel fizyolojik boşluk vardır. Nöral retina ve RPE sadece optik disk ve ora serratada sıkı yapışıklık gösterir. Diğer bölgelerde yapışıklık zayıftır. Retina, vorteks venlerinin skleraya girdiği yerde meydana gelen daire ile santral (posterior) ve periferik (anterior) olmak üzere iki kısma ayrılır. Anatomik ekvator bu dairenin iki disk çapı önünde yer alır. Periferik retina, ekvatoryal bölge ve ora serrata olmak üzere iki farklı bölge olarak incelenir. Ekvatoryal bölge ortalama dört disk çapı genişlikte olup, bunun yarısı anatomik ekvatorun arkasında yer alır. Ora serrata ise ekvatoryal bölgenin daha periferinde yer alan yaklaşık üç disk çapı genişliğindedir. Retina periferde ince olup arka pole doğru kalınlaşır. Periferde yaklaşık 0.1 mm, midperiferde 0.14 mm ve makülanın periferinde 0.23 mm kalınlıktadır. Foveanın merkezinde ince olup yaklaşık 0.1 mm'dir. Optik sinirle birleştiği yer ise en kalın bölgeyi oluşturur. Nörosensöryel retina kalınlığı 100 ile 300 mikron arası değişen retina içten (vitreustan) dışa (koroid tarafına) doğru şu tabakalardan oluşur (Şekil 2):

- 1-İç limitan membran
- 2-Sinir lifi tabakası
- 3-Gangliyon hücreleri tabakası
- 4-İç pleksiform tabaka
- 5-İç nükleer tabaka (bipolar, horizontal ve amakrin hücre nükleusları)
- 6-Dış pleksiform tabaka
- 7-Dış nükleer tabaka (fotoresptörlerin çekirdekleri)
- 8-Dış limitan membran
- 9-Rod ve kon iç ve dış segmentleri



Şekil 2. Retina tabakaları

1.1.1.1. İç Limitan Membran

Retinanın en iç katı olan iç limitan membran, retinayı vitreustan ayırır. Retinanın iç yüzeyinde Müller hücrelerinin hyaloid membranına bağlantıları ile oluşur. Vitreus ile temas halinde olan iç yüzünün düzgün olmasına karşılık, dış yüzü Müller hücrelerinin uçlarından ötürü pürüklüdür. Yazarların bir kısmına göre gerçek bir zardır. Diğerlerine göre de Müller hücrelerinin uçları tarafından oluşturulmuştur. OD kenarında astroglial hücrelerin bazal laminası olarak devam eder ve Elschnig membranı olarak adlandırılır. İLM; incelendiği vitre bazı ya da fovea gibi bölgelerde vitreal kortekse sıkı bağlantılar içerir.

1.1.1.2. Sinir Lifleri Tabakası

Korpus genikulatum lateralede sonlanan 1,2 milyon dolayındaki gangliyon hücresi miyelinsiz aksonları, sinir lifleri katını oluşturur. Burada ayrıca retina arter ve venleri, astrositler, mikrogliyal hücreler ile oligodendrositler de vardır. Retina beslenmesinde rolü olan astrosit, mikrogliya ve oligodendrositler retinanın arter, ven ve kapillerleri çevresinde kümelenmiştir. Bu küçük yuvarlak alanda fotoreseptör bulunmaz ve retinanın kör noktası olarak adlandırılır. Optik sinir sklerayı geçerken miyelinle kılıflanır (29).

1.1.1.3. Gangliyon Hücreleri Tabakası

Gangliyon hücrelerinin gövdelerinin bulunduğu tabakadır. Bu nöronların aksonları sinir lifi tabakasına geçerek optik siniri oluşturur. W, X ve Y hücreleri olarak belirtilen üç ayrı gangliyon hücresi grubu vardır. Bunların her biri farklı bir işleve sahiptir. W Hücreleri, tüm gangliyon hücrelerinin yaklaşık %40'ını oluşturur. 10 mikrometreden daha düşük çaplıdır. Retinada geniş alanları vardır. Çünkü dendritleri genişçe yayılır. Küçük bipolar hücreler ve amakrin hücreler yolu ile rod hücrelerinden uyarı aldıkları için doğrusal hareketleri saptamada ve karanlık koşullar altında görmemizde önemli olan hücrelerdir. X Hücreleri, tüm gangliyon hücrelerinin yaklaşık %55'ini oluşturur. Çapları 10 -15 mikrometre arasında değişir. Retinada dar alanları vardır çünkü dendritleri genişçe yayılmaz. En az bir kon hücresinden uyarı aldığı için görsel resimlerin iletiminden ve renkli görmeden sorumlu hücrelerdir. Y hücreleri, tüm gangliyon hücrelerinin yaklaşık %5'ni oluşturur. Çapları 35 mikrometreyi bulabilir. Retinada geniş alanları vardır çünkü dendritleri genişçe yayılır. Görsel resimdeki hızlı hareket ya da ışık şiddetindeki ani değişimlere amakrin hücreler gibi yanıt verirler.

1.1.1.4. İç Pleksiform Tabaka

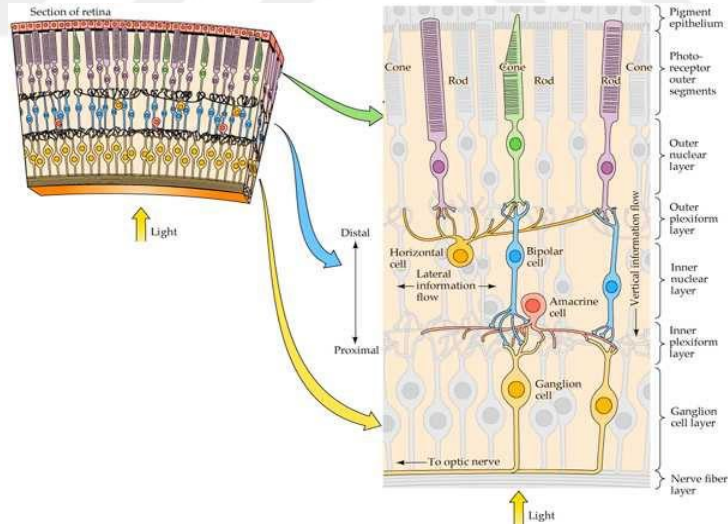
Bipolar hücrelerin aksonları ile gangliyon hücrelerinin dendritleri arasındaki aksodendritik sinapsların bulunduğu tabakadır (30).

1.1.1.5. İç Nükleer Tabaka

Bipolar, amakrin, horizontal ve Müller hücrelerinin çekirdekleri bulunur (Şekil 3). Horizontal hücreler, fotoreseptör ve bipolar hücreler arasındaki sinaptik alanlarla sinaps yaparlar. İletiyi yatay olarak aktarırlar. Sinaptik aktivitenin düzenlenmesinde rol alırlar. Amakrin hücreler, bu tabakanın alt sınırına yerleşmiştir. 30 kadar farklı işlevi olan amakrin hücre tipi tanımlanmıştır. Armut biçimli gövdeleri bulunur ve tüm dendritleri tek noktadan çıkar ve bipolar hücreler ile retinal gangliyon hücreleri (RGH) arasındaki sinaps kompleksi üzerinde sonlanır. Bu sinapstan kaynaklanan nöronal bilgiyi interpleksiform hücrelere ileterek feedback rol oynarlar. Bipolar hücreler iki kutuplu yapılarıyla rod ve konlardan aldıkları iletiyi iç pleksiform tabakada (İPT) RGH'ye iletirler. Rodlar için özel ve tek tip bipolar hücre

tipi mevcuttur ve her rod bipolar hücresi santral retinada 40-50; periferde ise 15-20 rod sferülü ile bağlantılıdır. Tüm bu rod bipolar hücreleri 'on (açık)' ileti hücresidir. Kon bipolar hücreleri ise 'on' ve 'off' ileti tipiyle 2 ana gruba ayrılır. 'On' ileti taşıyan kon bipolar hücreleri İPT'nin iç katmanlarında, 'off' ileti taşıyanlar ise İPT'nin dış katmanlarında gangliyon hücreleriyle sinaps yaparlar. Kon bipolar hücreleri ise yapısal olarak diffüz bipolar ve midget bipolar hücreler olarak iki gruba ayrılmışlardır. Diffüz olanlar birden fazla konla ilişkili iken midget tipi bipolar hücreler yalnızca birer konla bağlantılıdır.

Hücreler, sinyalleri fotoreseptör ve horizontal hücrelerden, gangliyon hücreleri ve amakrin hücrelerle sinaps yaptıkları iç pleksiform tabakaya iletirler. Müller hücreleri, vitröz cisimden rod ve konların iç segmentleri ile oluşturdukları zonula adherense (dış limitan membran) kadar uzanan nöroglial hücrelerdir. Sitoplazmalarında glikojen ve enerji metabolizması ile ilgili birçok enzim içerirler. Böylece, nöral retina için destekleyici, koruyucu ve besleyici glial hücreler olarak tanımlanırlar. Fotoreseptör dış segment fagozitozisi, görme pigmentlerinin yeniden dönüşümü ve antioksidan fonksiyonlarının varlığı da bilinmektedir.



Şekil 3. Retinal hücrelerin yerleşimi

1.1.1.6. Dış Pleksiform Tabaka

Fotoreseptör hücrelerle diğer bipolar nöronlar, horizontal ve amakrin hücrelerin dentritleri arasındaki aksodendritik sinapsların yer aldığı tabakadır (31).

1.1.1.7. Dış Nükleer Tabaka

Fotoreseptörlerin çekirdek ve sitoplazmalarının bulunduğu bölgedir. Histolojik kesitlerde rod nükleusları küçük, yuvarlak ve konların nükleuslarından daha koyu boyanır (31).

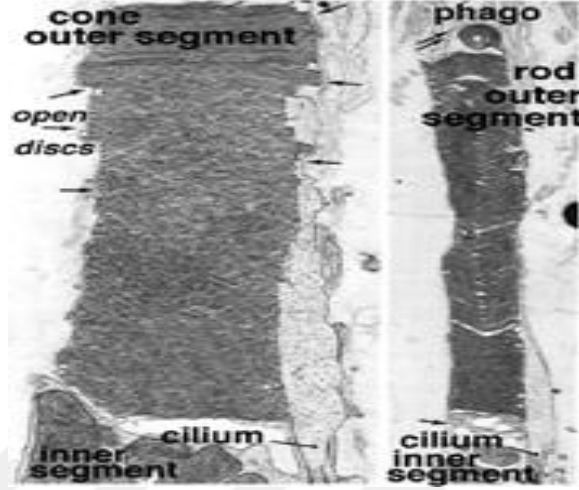
1.1.1.8. Dış Limitan Membran

Fotoreseptörlerin iç segmentleriyle Müller destek hücrelerinin dış uzantılarının aralarındaki bağlantılardan oluşmuştur. Gerçek bir membran değildir. Kon ve rodların dış ve iç segmentlerinin arasından geçer. Periferik retinada bu membran ora serrata pigment epiteli ile birleşir.

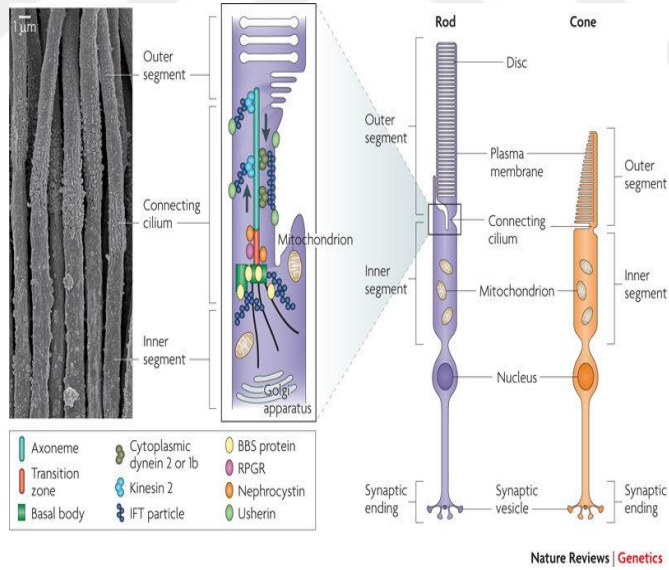
1.1.1.9. Fotoreseptör Hücre Tabakası

Fotoreseptör hücreleri gözün kırıcı ortamı tarafından yönlendirilen görüntüyü nöral sinyallere çevirerek görme olayını başlatan özelleşmiş hücrelerdir. Retinada konlar ve rodlar olmak üzere iki tip fotoreseptör hücresi vardır. Tüm retinada yaklaşık 7 milyon kon, 130 milyon rod bulunmaktadır. Rodlar foveanın 350 mikron çaplı merkezi bölümünde bulunmaz. Foveanın 20 derecelik çevresindeki anüler bölgede en yüksek yoğunluğa ulaşırlar. Periferik retinaya doğru gidildikçe rod sayısında azalma olur. Kon yoğunluğu ise foveada en yüksek düzeydedir. Rodlar loş ışıktaki görmeden (skotopik görme) sorumludur ve tek bir foton ile bile uyarılabilirler. Konlar ise rodlara göre ışığa 100 kat daha az hassas olup yüksek ışık yoğunluğuna kolay adapte olmaları nedeniyle parlak ışıktaki görmeden (fotopik görme) sorumludurlar. Konların ışığa cevabı rodlara göre çok daha hızlıdır ve yüksek ışık yoğunluğunda bile saturasyona uğramazlar. Konlar, horizontal ve bipolar hücrelerle olduğu kadar; diğer rodlar ve konlarla da sinaps yaparlar. Merkezden periferiye doğru gidildikçe kon sayısında hızlı bir düşüş gözlenir. Rodlar ise alacakaranlıkta ve karanlıkta görmeden sorumludurlar. Bir rod hücresinde ortalama 6.000 – 10.000 adet disk bulunur. Bir rod hücresi iki horizontal veya bir ile daha çok sayıda bipolar hücre dentriti ile sinaps yapma yeteneğindedir. Retinanın merkezinde hiç rod hücresi bulunmazken; konlar, en yüksek konsantrasyona sahiptir. Kon ve rod hücrelerinin dış segmentleri mukopolisakkarid bir örtüyle kaplıdır ve pigment epiteli ile temas halindedir (32).

Şekil 4 ve 5 bir fotoreseptörün esas bileşenlerini göstermektedir. Şekil 6’da gösterildiği gibi konların dış bölümü koni biçimindedir. Genel olarak rodlar konlardan daha dar ve uzundur. Bir fotoreseptör hücresi, dış segment, iç segment, çekirdek ve sinaptik gövde olmak üzere dört kısımdan oluşur.



Şekil 4. Fotoreseptör hücrelerin bölümleri

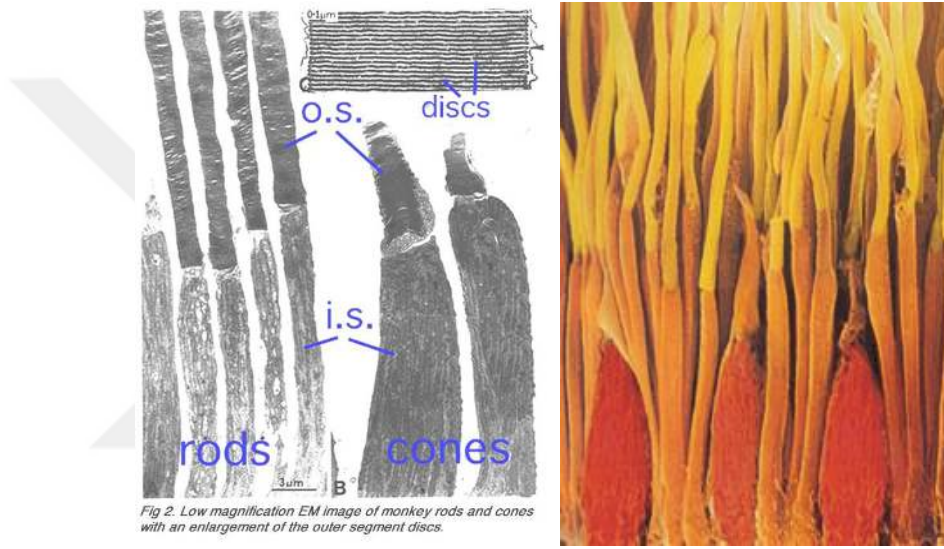


Şekil 5. Fotoreseptör hücrelerin şematik gösterimi

Dış Segment: Dendritik son kısım olup, yassı, membranöz, hücrenin eksenine dik lameller bulunur. Her lamel, plazma membranının invajinasyonu ile oluşur. Membranlar rodlarda ışık duyarlı pigment olan rodopsin, konlarda benzer başka bir fotokimyasal bileşene yerini bırakır.

İç Segment: Modifiye bir bağlayıcı sap (cilium) ile dış segmente bağlıdır. Bu alana yakın glikojen, SER, poliribozom GER, mitokondri içerir. Bu organellerde görme için fotoreseptör hücrelerin ihtiyaç duydukları enerji ve protein üretimi gerçekleşir, dış segmente iletilir. Burada dış segmentin apeksinden koparak pigment hücrelerine iner ve fagosit edilir (33).

Sinaptik Gövde: Kon ya da rod fotoreseptör hücresinden sonraki sinir hücreleri olan horizontal ve bipolar hücreler ile bağlantısını sağlayan bölümdür ve görme zincirindeki bir sonraki aşamayı temsil eder.



Şekil 6. Rod ve kon hücreleri

Konlarda, her bir disk gerçekte katlanmış hücre zarından oluşmuştur. Bu rodlerde hücre tabanına yakın bölümler için geçerlidir. Bununla beraber rod hücrelerinde tepeye doğru, diskler zardan ayrılırlar ve tümüyle hücrenin içerisinde uzanan yassı çantacıklar halindedirler. Rodopsin ve renk pigmentleri konjuge proteinlerdir. Disklerin zarına transmembran proteinleri şeklinde katılırlar. Disklerdeki bu ışığa duyarlı pigmentlerin konsantrasyonları yüksektir, sadece pigmentler tüm fotoreseptör hücre kütlelerinin %40 kadarını oluştururlar (31).

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

564 nm (kırmızı) ışığa duyarlı pigment içeren L konlar,
533 nm (yeşil) dalga boyuna duyarlı M konlar,
437 nm (mavi) dalga boyuna duyarlı S konlar.

Santral foveada sadece kırmızı ve yeşil konlar bulunurken, rodlar ve mavi konlar hiç bulunmaz. Rodlar perifoveal alanda yoğunlaşırken kon yoğunluğu en fazla foveal bölgede bulunur (yaklaşık 160.000/mm²). Rodlar ve konların iç segmentleriyle MH'nin apikal yüzeyleri arasında bulunan intermediyer bağlantılardan (zonula adherenes) oluşan eksternal limitan membran (ELM) da bu tabakadadır.

Özellik adı	Rodlar	Konlar
Işığa duyarlılık	Yüksek	Düşük
Fotopigment miktarı	Yüksek	Düşük
Amplifikasyon özelliği	Yüksek	Düşük
Satürasyon	Gün ışığında satüre	Yoğun ışıktaki satüre
Duyarlılık	Noktasal ışığa duyarlı	Eksensel ışığa duyarlı
Işığa yanıt süresi	Yavaş	Hızlı

Şekil 7. Rod ve kon hücrelerin karşılaştırılması

1.1.1.10. Retina Pigment Epiteli (RPE)

Retina pigment epiteli (RPE) tek sıralı hücre tabakası olup 4- 6 milyon hücre ihtiva eder. Bu hücreler koroidin Bruch membranına yapışık, küboid yapıda, melanin pigmenti içeren hücrelerdir. Hücreler arasında zonula okludens denen sıkı bağlantılar vardır. Bu özelliğiyle ışığın koroide geçmesini engeller. Bu bağlantılar suyun ve iyonların serbest geçişini engellediğinden sıvının subretinal alana pompalanması için metabolik enerji kullanılır (34).

Hücreler arasındaki bağlantıların çok sıkı olması, retina damarlarıyla birlikte, göz ve dolaşım arasındaki maddenin kontrolsüz ulaşımının önlemesi nedeniyle pigment epiteli ikinci kan – retina bariyerini oluşturur. RPE, retinayı oksidatif strese koruyan antioksidanları yüksek konsantrasyonlarda (örneğin süperoksit dismutaz için, katalaz, lutein ve zeaksantin) içerir. RPE'ye renginden dolayı ismini veren; melanozom adı verilen sitoplazmik granüllerde bulunan melanin pigmentidir. Melanin pigmenti yaşla birlikte lizozomlarla birleşerek yıkılabilir. Bu nedenle yaşlı insanlarda fundus tipik olarak daha az pigmente olarak görülür (35). Melanin

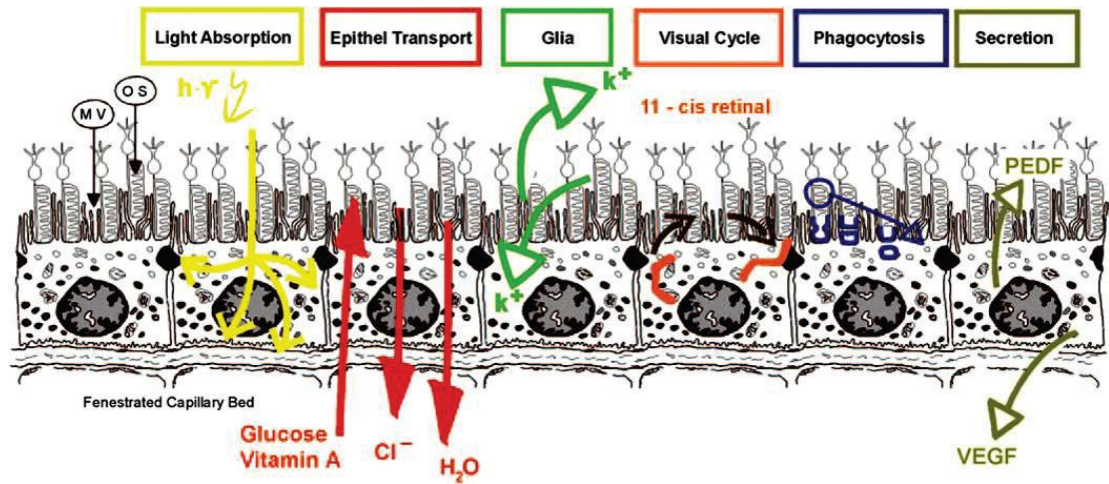
pigmentinin gözdeki rolü tartışmalıdır. Melanin pigmenti dağılan ışığı absorbe eder ve göz içinde minimal olarak dağılmasını sağlar ve bunun birtakım teorik optik faydaları vardır. Melanin pigmenti ayrıca serbest radikalleri stabilize eder ve toksinleri bağlar. Diğer major RPE pigmenti lipofuksindir. Lipofuksin RPE içinde yaşlandıkça yavaş yavaş birikir. Lipofuksinin, RPE tarafından sindirilen, ışık veya oksidasyon nedeniyle hasarlanmış dış segmente ait membran lipidlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (36). Yaşlanmayla birlikte gelişen madde birikimi sürdükçe RPE tabakasının epitelı yıkılabilir, RPE atrofi, koroidal neovaskülarizasyon oluşabilir (35).

Retina Pigment Epitelı hücreleri arasında, retinanın farklı bölgelerinde şekil ve boyut farklılıkları görölmektedir. Maküla bölgesindeki hücreler daha küçük çapta iken (10 -14 mikron), periferde hücreler düz ve daha geniş çaptadır. (60 mikron) (36). Pigment epitelı bol miktarda mitokondri, Granüllü Endoplazmik Retikulum (GER), düz Endoplazmik Retikulum (SER), Golgi ve bazal katlantılar içerir. En belirgin özellikleri; sentezleyip apikal plazmada depoladıkları melanin granüllerinin bolluğudur. Fotoreseptör hücrelerinin yoğunluğu retinanın farklı bölgelerinde değişiklik göstermekle birlikte, ortalama her bir RPE hücresine karşılık 45 adet fotoreseptör hücresi bulunur (37). Pigment epitelı, fotoreseptörlerin fonksiyonunu idame ettirmesindeki yaşamsal dokudur. Fotoreseptör hücrelerin dış segmentlerini oluşturan diskler, tabanda sürekli yenilenir, dışta pigment epiteline doğru kayarak ilerler ve uçta düşerek pigment epitelı tarafından fagosite edilir. Fotoreseptör hücre artıkları, retina pigmentinden koryokapiller ağa geçerek kan dolaşımı yoluyla atılır. Herhangi bir nedenle koroide geçemeyen ve pigment epitelinde biriken artık maddeler lipofuksin pigmentleri şeklinde görülebilir (38).

Yapılan çalışmalarda fotoreseptör hücrelerin özellikle rodların beslenmesinde RPE'nin önemi vurgulanmaktadır. Pigment epitelı, koryokapiller ağdaki oksijeni fotoreseptörlere aktarır, görme pigmentini depolar ve fotoreseptörlerin tekrar yapılanmalarını sağlar. Ayrıca RPE fotoreseptör hücrelerinden retinal geri dönüşüm gösterir ki bu görsel döngünün devamı için gereklidir. Işık stimölasyonu fotoreseptör içindeki tüm-trans-retinal'in 11-cis-retinal'e dönüşmesine neden olur ve bu hafif bir elektrik sinyaline dönüştürölmesi için gereklidir. Işıkla uyarılması 11-cis-retinale neden olan fotoreseptördeki tüm-trans-retinalin dönüştürölmesi ve bir elektrik

sinyaline dönüştürebilecek ışık için gereklidir. RPE; FGF, TGF- β , IGFR, CNTF, PDGF ve PEDF gibi büyüme faktörlerinin çok sayıda salgılanması komşu dokuların yapı ve hücrel farklılaşmanın korunmasını sağlar ve RPE fonksiyonları, fotoreseptörler için fiziksel bir destek sağlar. Son olarak, metabolik olarak oldukça aktif fotoreseptör saçar ve ışık etkisi altında dış segment zarlarını yeniler. Dış segmentleri oksitlenmiş ve hasarlı fotoreseptörler ile dolu bu membranlar, bozulmuş veya RPE tarafından geri kazanılmış olarak fagosit edilir (39).

Pigment epitelindeki melanin, ışığın koroide ve göz dışına geçmesini engellemesi yanında, fotoreseptörlerde gerçekleşen fotokimyasal reaksiyonlar sonucu açığa çıkan ısıyı emerek termostat görevi de yapar. Pigment epiteli, retina altı oluşan sıvıları emmesi, fotokimyasal reaksiyonlar ve metabolik aktiviteleri nedeniyle nörosensoriyel retina yapışık kalır (40). Bu yapışıklıkta pigment epitelinin iç yüzündeki mikrovillozitelere, fotoreseptörlerin dış segmentlerini sarmasının da rolü vardır (25). RPE'nin görevleri kısaca özetlenecek olursa; yayılan ışığın absorpsiyonu, subretinal boşlukta sıvı ve besin kontrolü (dış kan-retina bariyerinin oluşturulması), görme pigmentlerinin rejenerasyonu ve sentezi, büyüme faktörleri ve diğer metabolitlerin sentezi, retinal adhezyonun sürdürülmesi, fagositöz ve fotoreseptör artıklarının sindirilmesi, elektriksel homeostaz, hasar veya cerrahi sonrası rejenerasyon ve onarım şeklinde sıralanabilir (41).



Şekil 8. Retina pigment epitelinin fizyolojik görevlerinin şematik olarak gösterilmesi

1.1.2. Retinanın Kanlanması

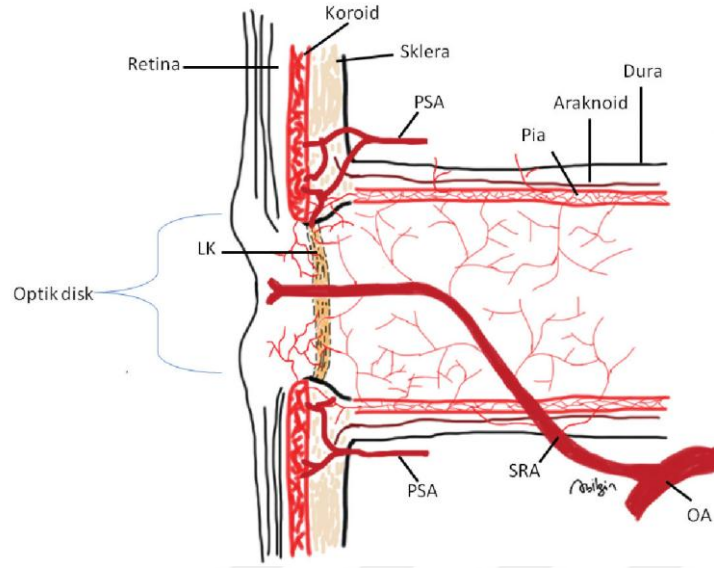
Retinal kan dolaşımı iki ayrı kaynaktan gelir: retinal ve üveal (koroidal). Retinal damarlar, retinanın iç nükleer katmanını iç kısmına kadar beslerken, koroidal dolaşım, retinanın yaklaşık %80'ini oluşturan, 130 mikron kalınlığındaki dış katmanları besler (42).

1.1.2.1. Retinal Arteriyel Dolaşım

Retinanın ana arteriyel beslenmesini *santral retinal arter* (SRA) sağlar. Bazı gözlerde, siliyoretinal arter, genellikle makülanın bir kısmını besleyerek, dolaşıma destek sağlar (42).

1.1.2.1.1. Santral Retinal Arter

Santral retinal arter oftalmik arterin (OA) genellikle ilk dalıdır; bağımsız bir dal olabildiği gibi posterior siliyer arterlerden biriyle ortak bir dal da oluşturabilir. Oftalmik arter, internal karotid arterin bir dalıdır ve verdiği siliyer arterler ile koroidal dolaşımın oluşmasını sağlar (43). Santral retinal arter OA'den ayrıldıktan sonra optik sinirin (OS) altında seyrederek ve globa yaklaşık 10-15 mm uzaklıkta, dura ve araknoidi penetre ederek glob içine kadar OS'in merkezinde, santral retinal ven (SRV) ile beraber ilerler (44). Bu esnada, çoğunlukla OS'in pliyal damarlarıyla anastomoz yapan, çok sayıda dal verir. Optik sinir başında, SRA genellikle alt ve üst dala ayrılır, daha sonra her biri bir retinal kadranı besleyen dallarını verir (Şekil 9). Optik disk içinde SRA'nın lümeni yaklaşık 200 mikron çapındadır (45, 46).



Şekil 9. Santral retinal arterin optik sinir içindeki seyri (42)

1.1.2.1.2. Siliyoretinal Arter

Siliyoretinal arter genellikle posterior siliyer arterin direkt dalıdır, bazen peripapiller koroidden de çıkabilir. Retinaya genellikle optik diskin temporalinden girer. Oftalmoskopik verilere dayanıldığında, farklı yazarlar siliyoretinal arter varlığını %6 ile %25 arasında bildirmişlerdir (47). Fundus floresein anjiyografide (FFA) siliyoretinal arterin, retinal arteriyel dolaşım başlamadan önce, koroidal dolum ile eş zamanlı dolduğu görülebilir. Bir FFA çalışmasında, siliyoretinal arterin bir gözde birden fazla sayıda görülme oranı %32, her iki gözde de bulunma oranı ise %15 olarak bildirilmiştir (48).

Siliyoretinal arterin boyut, sayı ve dağılımında birçok varyasyon vardır. Makülanın küçük bir kısmını besleyebildiği gibi, maküla dışındaki retinanın geniş bir alanını da besleyebilir.

1.1.2.1.3. Retinal Arteriyoller

Vücuttaki diğer arterlerden farklı olarak, retinal arterlerde internal elastik lamina ve devamlı düz kas katmanı bulunmaz. Bu yüzden retinal arterler anatomik olarak arteriyol olarak sınıflandırılır ve adlandırılır. İntraluminal çapın, en geniş olduğu optik disk çıkışında dahi, yaklaşık 100 mikron olması da bu sınıflandırmayı destekleyen bir özelliktir. Santral retinal arter, retinal kadran dallarını verdikten

sonra, periferik retinada üçüncü ve dördüncü bifürkasyonlardan sonra prekapiller (terminal) arteriyoller olarak sonlanır. Retinal arteriyol bifürkasyonları dikotomik veya dik açı şeklinde dal verir.

Retinada inter-arteriyel veya arteriyovenöz anastomozlar bulunmaz. Bu özellik retinal arteriyel sistemi bir son-arteriyel sistem (end-arterial system) yapar. Retinal vasküler düzende varyasyon var olduğundan her gözün vasküler düzeni farklıdır. Bu farklı damar yapısının kişinin tanınmasında, tıpkı parmak izi gibi kullanılabileceği söylenmektedir (44).

1.1.2.1.4. Retinal Kapiller Yatak

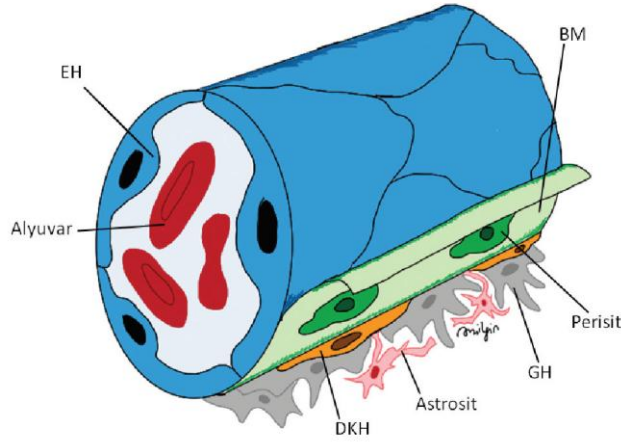
Her terminal arteriyol yaklaşık 10-20 adet kapiller pleksus ile sonlanır. Bu kapillerlerin çapı 15-20 mikron civarındadır ve çoğunlukla göz dibi muayenesinde görülmezler. Kapillerler besleyici arteriyol ile venüllerin arasında yer alır. Retinal arteriyel ve venöz sistemler bu kapiller yatak yoluyla bağlantı sağlar. Retina içinde kapiller pleksuslar ana olarak iki katmanda yerleşir:

1. Sinir lifi ve gangliyon hücre katmanı,
2. İç nükleer tabaka katmanı.

Kapiller pleksus katmanlarının sayısı retinanın tamamında aynı değildir; optik disk etrafında üç-dört, maküla etrafında üç, periferik retinada ise tek kat olarak bulunabilir (44, 49).

Peripapiller kapiller yatak diğer kapiller tabakalardan daha yüzeyeldir, radyal olarak organize olmuş uzun ve düz kapillerlerden meydana gelmiştir ve bu kapillerler arasında anastomoz nadir olarak görülür. Peripapiller retinal arteriyollerden beslenirler ve optik diskin retinal venül veya venlerine drene olurlar. Sinir lifi tabakasında iskemiye sekonder gelişen atılmış pamuk manzarası sıklıkla radyal peripapiller kapiller yatak bölgesinde geliştiğinden, patogeneizde bu pleksusun rolü olduğu düşünülür. Kronik optik disk ödeminde bu damarlar dilate olur, mikroanevrizmalar ve hemoraji gelişimine sebep olur (44). Retinal kapiller duvarın en iç kısmında, ardışık olarak sıkı bağlarla (zonüla okludens) birbirine bağlanarak iç kan retina bariyerini oluşturan endotel hücreleri bulunur. Endotel hücreleri vazoaktif moleküllerin salgılanması ile retinal kan akımının otoregülasyonunda aktif görev

alırlar. Endotel hücrelerinin ve perisitlerin bazal membranları ortaktır. Perisitler bazal membran içinde dağınık olarak yerleşmişlerdir (46, 50, 51) (Şekil 10).



Şekil 10. Retinal damar yapısının şematik resmi

Endotel hücreleri ve perisitlerin bazal membranı ortaktır (şekilde katlanmış olarak resmedilmiştir) ve perisitler bazal membran içinde dağınık olarak yerleşirler.

Retinal damarlardaki perisit oranı, beyin damarları da dâhil olmak üzere, vücudun diğer damarlarından çok daha fazladır: her endotel hücresine bir perisit düşer. Diyabetik retinopatide perisitlerin sayıca azalmasının mikroanevrizma oluşumuyla bağlantılı olduğu ve retinopati patogenezinde önemli bir basamak teşkil ettiği düşünülür. Perisitlerde, vazoaaktif maddeler için reseptörler bulunması ve kontraktıl proteinlerin eksprese olması (kontraktıl özellikleri olması) nedeniyle otoregülasyonda rol oynadıkları tahmin edilmektedir (44, 50).

1.1.2.2. Retinal Venöz Drenaj

Retinal terminal arteriyollerden gelen kan, retinal kapiller yatağı doldurduktan sonra post-kapiller retinal venüller tarafından drene edilir. Retinal venüller, sırasıyla retinal ven dallarına ve son olarak Santral Retinal Ven (SRV)'e boşalır (Şekil 11). Santral retinal venin çapı yaklaşık 300 mikrondur. Retinal venlerin ve retinal arteriyollerin çapları arasında, venler lehine, sıklıkla 3/2 oranı vardır.

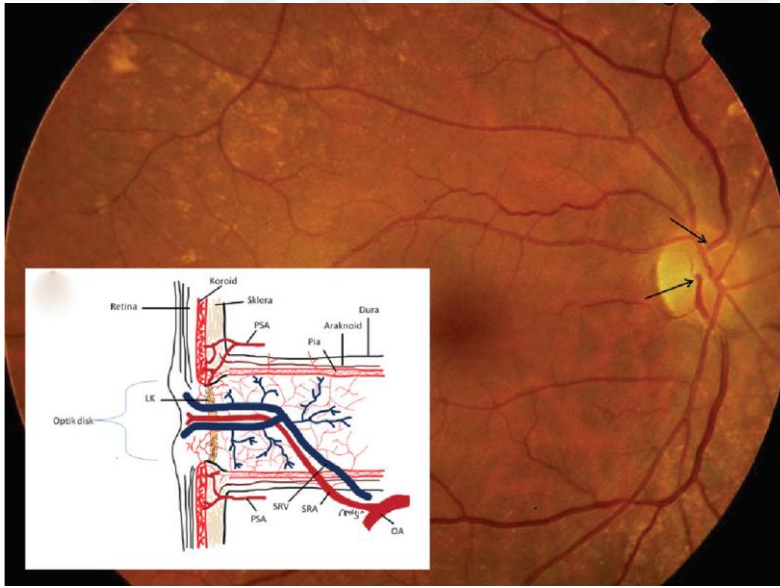
Merkezi retinada retinal ven ve arteriyol dalları yakın komşulukta seyrederken, perifer retinada bu durum söz konusu değildir. Çaprazlama yerlerinde,

arteriyol ve venler yakın temas halindedir; bazal membran belli noktalarda ortaktır ve damarları çevreleyen ortak fibröz bir kılıf mevcuttur (44, 50).

Yaşlılık ve hipertansiyon gibi sebeplerle arteriyollerde skleroz gelişmesiyle birlikte, çaprazlama noktalarında venöz lümende distorsiyon ve akım düzensizlikleri oluşabilir. Bu düzensizlikler ven trombozu ve oklüzyonuyla sonuçlanabilir.

Yapılan bir çalışmada, arter-ven çaprazlama noktalarında arterin %68 oranında venin üzerinden (daha yüzeysel) geçtiği bildirilmiştir.

Optik sinir içinde SRV, SRA'ın temporalinde ilerler. Bu bölgede damarlar ortak bir fibröz kılıf içindedir. Santral retinal ven globun yaklaşık 10mm posteriorunda, optik sinirin alt yarısından optik sinir dura ve araknoidini penetre ederek dışarı çıkar. Santral retinal ven süperior oftalmik vene ya da direkt olarak kavernöz sinüse drene olur.



Şekil 11. a: Fundus fotoğrafı. Retinal venlerin üst ve alt gövdeleri oluşturarak (oklar) optik diske girişi b: Şematik çizim. Üst ve alt gövdelerin optik sinir içinde birleşerek santral retinal veni oluşturması

1.1.2.3. Retinal Avasküler Alanlar

Retinanın belirli bölgelerinde fizyolojik damarsız alanlar mevcuttur:

1. Foveal avasküler zon (FAZ)
2. Retinal arteriyollerin etrafı

3. Ora serratanın etrafındaki yaklaşık 1.5 mm'lik retinal alan.

Ekstrem periferdeki retina ve FAZ'un beslenmesi koroidal dolaşımla sağlanırken, retinal arteriyollerin etrafındaki avasküler alan, arteriyollerden sızan oksijen ile beslenir.

1.1.3. Kan – Retina Bariyeri

Kan-retina bariyeri, retina kan damarları ve RPE tarafından oluşturulur. Bariyer fonksiyonu; endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarca oluşturulur ve hücre zarından büyük molekül (serum proteinleri gibi) ve partiküllerin geçişini önler. Retinal dokuyu sistemik dolaşımdan ayıran iki bariyer vardır:

1) Dış bariyer: RPE hücreleri arasındaki sıkı bağlantı komplekslerinden meydana gelir (koroidal kapillerler fenestralıdır).

2) İç bariyer: Retinal kapillerlerde bulunan endotelyal hücreler arasındaki sıkı bağlantılarca oluşturulur.

İç kan retina bariyeri birbirine sıkı bağlantılarla bağlı tek sıralı endotel hücreleri, bu hücelere bitişik astrosit, Müller hücreleri, perisitler ve diferansiye olmuş nöronlardan oluşur. Müller hücreleri ve astrositler veya diğer adıyla glial hücreler, sıkı bağlantıları ve tight-junction proteinlerinin sentezini indüklemeleriyle düşük sıvı geçirgenliğine sahip bir alan oluştururlar ve bu şekilde bariyer görevinde yer alırlar. Glial hücreler, vasküler endotel tarafından sağlanan, bariyeri güçlendiren (örneğin glial hücre kökenli nörotrofik faktör ve neurturin) veya zayıflatan "Transforming growth factor seta (TGF-s), Tumor nekrotizan factor (TNF)" gibi faktörleri salgılayabilir (51, 52).

Endotelyal hücrelerin bariyer fonksiyonlarını kontrol eden en önemli moleküllerden biri, vasküler permeabilite faktörü olarak da adlandırılan vasküler endotelyal growth faktor (VEGF) dur. VEGF, RPE hücreleri tarafından üretilir, koroidal vasküler endotelin yüksek geçirgen ve pencereci karakterini desteklemek için RPE hücrelerinin bazal (koroidal) tarafından salgılanır.

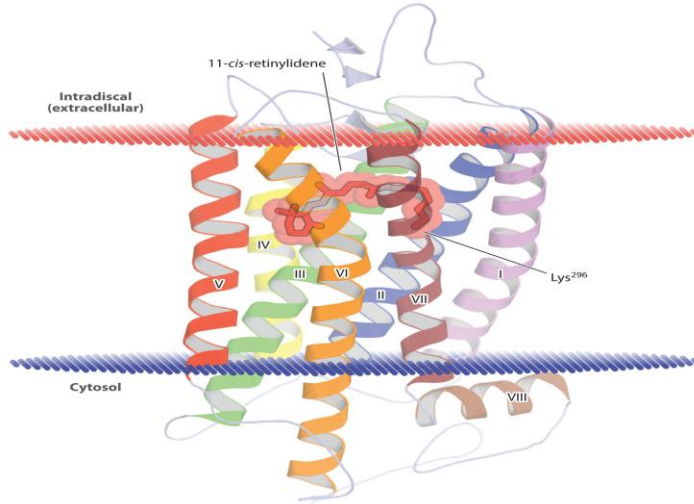
1.1.4. Görmenin Fotokimyası

Işığın görmeye dönüşmesi, retinadaki fotoreseptör hücrelerinin dış segmentlerindeki fotokimyasal reaksiyonların fotoelektriksel akıma dönüşerek bipolar ve gangliyon hücrelerinden geçmesi ve optik sinir yoluyla oksipital kortekse

ulaşmasıyla gerçekleşir. Rodlardaki kimyasal madde rodopsindir. Konlardaki ise, kon pigmentleridir ve bileşimleri rodopsinden çok az farklıdır. Genel olarak iodopsin olarak adlandırılırlar (52).

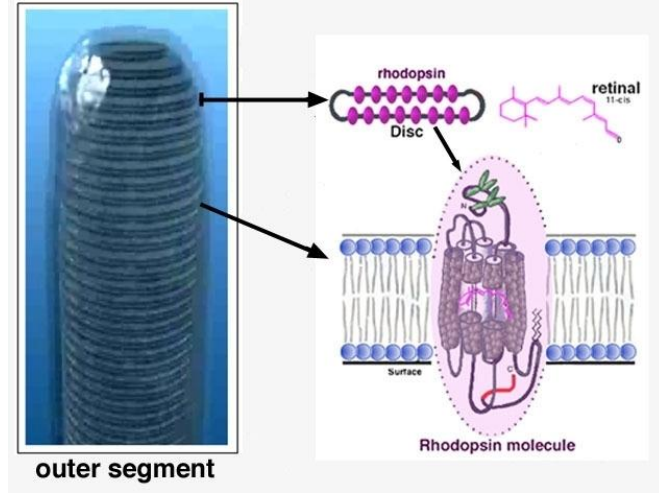
1.1.4.1. Rodopsin

Rodların iç segmentinde sentezlenen rodopsin 38 kilo dalton ağırlığında olup, veziküller içerisinde oligosakkaritler ve yağ asitleri ile modifikasyona uğrar. Silyum bağlı taşıma ile dış segmentteki disklerle yerleşir (Şekil 6). Rodopsin yedi transmembran geçişli G reseptör protein ailesinin bir üyesi olup 348 aminoasit içerir. Rodopsinin amino terminal ucu dış segmentte intradiskal ya da lümenal bölgede iken; karboksi terminal kısım sitoplazmik bölgededir. 11-cis retinal opsinin lizin birimi ile schift baz bağlanımı ile bağlanarak rodopsini oluşturur (şekil 12) (52).



Şekil 12. Sığır rodopsininin kristal yapısı

Rodopsin rod hücrelerinde yaklaşık %40 konsantrasyonda bulunur. Bu madde skotopsin (opsin formu) proteini ile karotenoid pigment retinalin bir kombinasyonudur. 11- cis retinal adını alan retinal rodopsin sentezlemek üzere skotopsin ile birleşebilen yegane retinal formudur (53).

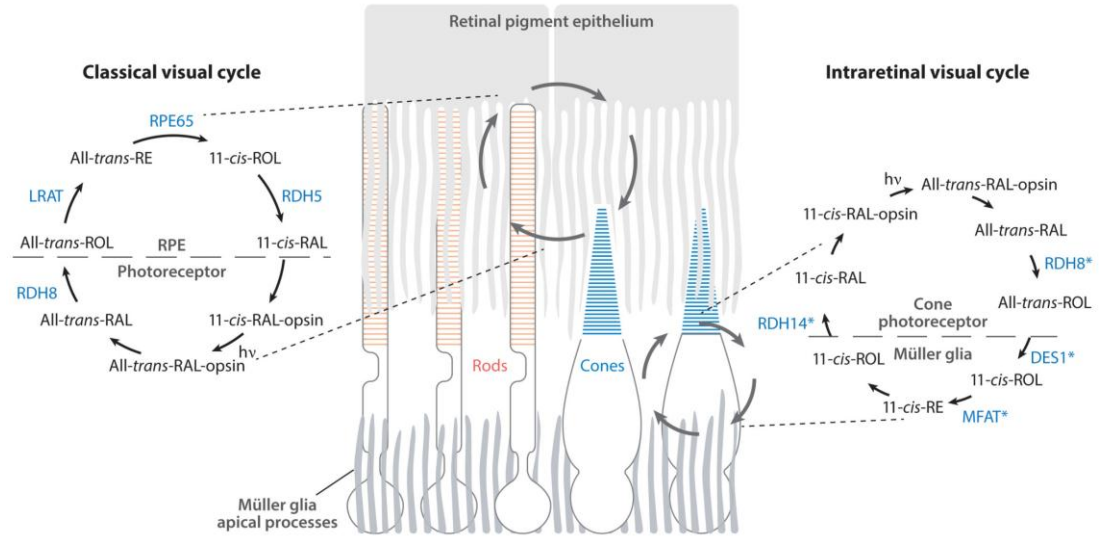


Şekil 13. Rod dış segmenti ve rodopsin molekülünün yerleşimi

1.1.4.2. Rodopsin Parçalanması

Işık enerjisi, rodopsin tarafından soğurulduğunda, saniyenin trilyonda biri kadar bir süre içinde parçalanmaya başlar. Bunun nedeni rodopsinin retinal bölümündeki elektronların ışıkla aktive olmalarıdır. Böylece ‘cis form’ kararlı ‘trans forma’ dönüşür. ‘Cis’ ile ‘trans form’ aynı kimyasal yapıya sahiptir fakat uzaydaki yerleşimleri farklıdır. ‘Trans form’ açılı bir molekülden ziyade düz bir moleküldür. Üç boyutlu yönelimi artık skotopsin proteini üzerindeki reaktif bölgelere uymadığı için skotopsinden uzağa çekilmeye başlar. O an oluşan ürün hep trans retinal ve skotopsinin kısmen parçalanmış bir ürünü olan batorodopsindir. Batorodopsin son derece kararsız bir bileşiktir ve nanosaniyeler içerisinde lumirodopsine dönüşür. Bu daha sonra mikrosaniyeler içerisinde metarodopsin I’e, sonra yaklaşık bir milisaniye içinde metarodopsin II’ye ve sonuçta çok daha yavaş bir biçimde tamamen parçalanmış ürünler olan skotopsin ve hep trans retinale dönüşür (54).

Işık enerjisini kimyasal enerjiye, kimyasal enerjiyi görme işleminde kullanılmak üzere elektrik enerjisine çeviren bu kaskadın ana sorumlusu rodopsinin aktive formu olan metarodopsin II dir.



Şekil 14. Retinoid transformasyonu ve klasik intraretinal görme siklusu

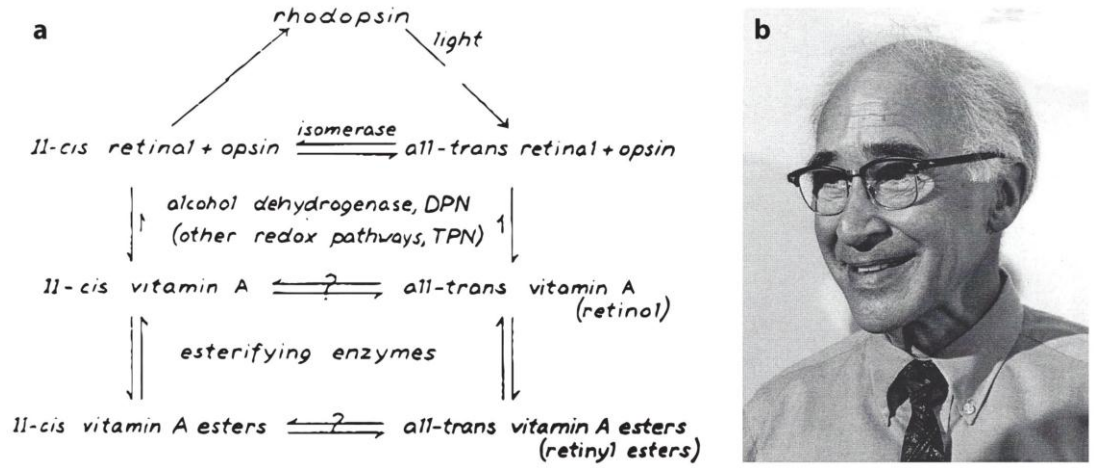
1.1.4.3. Rodopsin Yeniden Sentezi

Vitamin A türevlerinin hayati önemi vardır. Retinal (retinaldehit) ve retinoller, vitamin A türevleridir. Hep trans retinal'in 11 cis retinal'e dönüşümü iki şekilde olabilir;

1- Direkt retinal izomeraz enziminin katalizlediği reaksiyon ile hep trans retinal 11 cis retinal'e dönüşür. Enerji gerektiren bir basamaktır.

2- Önce hep trans retinal, hep trans retinol'e daha sonra izomeraz enzimi ile 11 cis retinol'e dönüşür. Ardından 11 cis retinol, 11 cis retinale dönüşür. 11 cis retinal bir kez oluşunca rodopsini yeniden oluşturmak üzere birleşir.

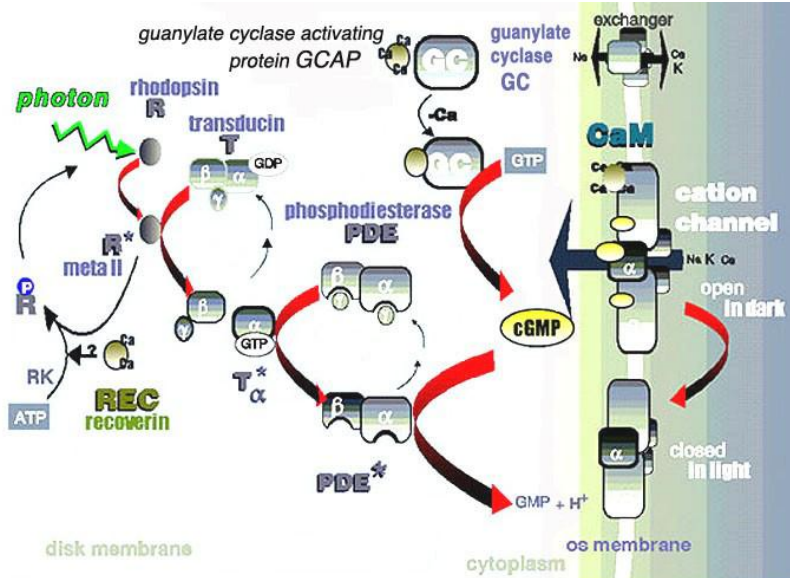
A vitamini hem rod hücrelerinin sitoplazmalarında hem de retina pigment epiteli tabakasında bulunur. Böylece A vitamini gereksinimi duyulduğunda, yeni retinal'in yapılmasını sağlayacak şekilde depolanır. Öte yandan, retinal bu hücrelerde fazla bulunduğunda, fazla miktarı A vitaminine geri dönüştürülür. Bu karşılıklı dönüşüm farklı ışık şiddetlerine retinanın uzun süreli adaptasyonunda özellikle önemlidir.



Şekil 15. Görme siklus yolağı (53)

1.1.4.4. Fototransdüksiyon Kaskadı

Işık, rod hücre disklerinde rodopsini aktifleyip metarodopsin II oluştuktan sonra transduksin proteinine bağlanıp aktive eder. Transduksin tıpkı rodopsin gibi G proteini reseptör ailesine ait bir proteindir ve kendisine bağlı Guanozin difosfat'ı (GDP) Guanozin trifosfat (GTP) ile değiştirebilir. Ayrıca transduksin Guanozin trifosfataz aktivitesine sahip olduğu için kendine bağlı GTP'yi GDP'ye yıkarak inaktive edebilir (19). Bu G proteini, ışığın reseptörü olan rodopsin ile ikinci mesajcı olan siklik Guanozin monofosfat (cGMP)'ın seviyesini regüle eden efektör enzim fosfodiesteraz arasında arabulucu olarak görev yapmaktadır (19). Metarodopsin II, transduksine bağlandığında GDP, GTP ile yer değiştirir ve disosiyasyon başlar. Sonuçta transduksin- α GTP, transduksin $\beta\gamma$ subunit ve rodopsin oluşur. Aktif olan transduksin- α GTP, cGMP fosfodiesterazı aktive eder. cGMP fosfodiesteraz 3'5' cGMP'yi 5' GMP'ye hidroliz eder. cGMP konsantrasyonu iki enzimle kontrol edilir. CGMP quanil siklaz ile GTP'den sentezlenir. cGMP fosfodiesteraz ile 5' GMP'ye yıkılır. CGMP fosfodiesteraz disk membranında periferik bir protein olarak yerleşmiştir. Karanlıkta çok hafif aktiftir. Bu yüzden cGMP miktarı yüksektir. Işıkla aktive edilince cGMP yıkılır ve konsantrasyonu düşer (19). Bir rodopsinin aktivasyonu her saniyede 105 molekül cGMP hidrolizine yol açar (Şekil 16). Aktive rodopsin disk membranına diffüze olur ve yüzlerce regülatör protein, transduksini aktive eder. Her bir transduksin bir fosfodiesterazı uyarır. Bir fosfodiesteraz, saniyede 103 cGMP'yi hidrolize edebilir (19).



Şekil 16. Fototransdüksiyon kaskadı (19)

cGMP’de azalma cGMP-kapılı kanalları kapatır. cGMP kanalın sitoplazmik yüzüne bağlanır. Kanalin aktivasyonu için en az 3 molekül birlikte bağlanmalıdır. Bunlar bulunan ilk siklik nükleotid bağımlı kanallardır ve retinal bipolar hücrelerde ve koku ile ilgili nöronlarda da bulunur. Işık uyarının yokluğunda cGMP-kapılı kanallar içe akım ile fotoreseptörün depolarizasyona meyletmesini sağlar. Işığa bağlı kapanma bu akımı azaltır. Bu yüzden hiperpolarizasyon oluşur (19). Karanlıkta rod dış segment plazma zarı Na^+ iyonlarına çok geçirgendir. Plazma zarında Na^+ konsantrasyonu gradienti mevcuttur. Bu gradient iç segmentin plazma zarında yerleşmiş Na^+ , K^+ ATPaz’ca sağlanmaktadır. Böylece karanlıkta Na^+ iyonları dış segment içine kolaylıkla akarlar. İç segmente diffüze olurlar ve ATPaz pompasıyla dışarı atılırlar.

Işık, dış segmentin plazma zarında Na kanallarını bloke eder. Neticede Na^+ akışı azalır ve zar iç kesimde daha negatif olur. Işıklanmış rod’un zar potansiyeli, K^+ denge potansiyeline doğru kayar. Işıklandırılmış disklerin yakınında ışıkla başlatılan hiperpolarizasyon sinaptik gövdeye plazma zarınca pasif şekilde geçirilir (19).

1.1.4.5. Işık Yanıtının Sonlandırılması

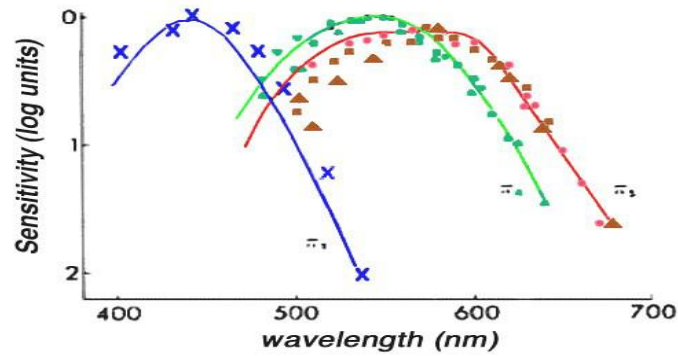
Işığın fotoreseptörde oluşturduğu yanıt, iki şekilde sonlandırılabilir:

1- Transduksin GTP’az aktivitesine sahip olduğu için kendine bağlı GTP’yi GDP’ye yıkarak inaktive edebilir.

2- Rodopsin bir kez aktive edilince özel proteinkinazlar rodopsin kinaz tarafından fosforilasyon için hedef haline gelirler. Fosforile rodopsin arrestin adlı özel regülatör protein ile etkileşerek, hızlı bir inaktivasyona neden olurlar. Sonuçta rodopsin, hep trans retinol'e dönüşür ve guanil siklaz, yeniden cGMP sentezleyerek hücreyi ışıktan önceki hale geçirir (57).

1.1.4.6. Konlar Tarafından Renkli Görmenin Fotokimyası

Konlardaki fotokimyasal olayların tamamı rodlardakine benzer şekilde oluşur. Tek farklılık protein kısmındaki opsinlerdedir. Konlardaki fotopsinler rodlardaki skotopsinden farklıdır. Tüm görme pigmentlerinin retinal bölümü rodlardaki ile aynıdır. Bu nedenle konların renge duyarlı pigmentleri, retinal ve fotopsinlerin birleşimleridir. Her bir kon hücresinde renk pigmentlerinin üç tipinden biri bulunur; böylece konlar seçici olarak mavi, yeşil ve kırmızı gibi renklere duyarlıdır. Bu renk pigmentleri sırası ile maviye duyarlı pigment, yeşile duyarlı pigment ve kırmızıya duyarlı pigmenttir. Üç tip kon hücresindeki bu üç tip pigmentin soğurma özellikleri sırası ile 437, 533 ve 570 nanometre ışık dalga boylarıdır (Şekil 17) (57).



Şekil 17. Kon hücre tiplerinin dalga boyları

1.1.5. Kalıtsal Retina Dejenerasyonlarının Sınıflandırılması

1.1.5.1. Merkezi Retina (Makula) Dejenerasyonları

Retinal dejenerasyonlar arasında kon-rod dejenerasyonu (CRD), kon dejenerasyonu (CD), makuler dejenerasyon (MD), yaşa bağlı makuler dejenerasyonlar, Stargardt hastalığı, Best vitelliform makuler distrofi, pattern

distrofi, Sorby fundus distrofisi, dominant drusen, merkezi areolar koroidal distrofi (CACD) sayılabilir.

1.1.5.2. Periferik Retina Dejenerasyonları, Retinitis pigmentosa (RP)

Intranöral retina dejenerasyonunun eşlik ettiği ailevi retina dejenerasyonu ilk olarak Donders tarafından 1855 yılında tanımlanmıştır (58).

1.1.5.2.1. Epidemiyoloji ve Patogenez

Retinitis pigmentosa (RP) erişkinlerde en sık görülen kalıtsal körlük nedenidir (59). Otozomal dominant resessif, X'e bağlı resessif, mitokondrial kalıtım şekilleri mevcuttur. Hastalığın dünyadaki prevalansı 1/5000 olarak bildirilmektedir. Moleküler araştırmaların gelişmesi ile, RP'nin en az 124 değişik gendeki moleküler defektlerden kaynaklandığı, yani heterojen bir genotipi olduğu anlaşılmıştır. Aynı mutasyonu gösteren hastalarda ise, fenotip olarak hastalık farklı bulgular gösterebilir. Hastalığın %20-25'i otozomal dominant, %15-20'si otozomal resessif, %5-10'u ise X'e bağlı geçiş paterni gösterirken, %40-50'sinde ailede hiçbir hastalık yoktur (60, 61).

1.1.5.2.2. Klinik Özellikler

Hastalar doğduklarında herhangi bir klinik belirti göstermezler. Bununla birlikte hayatlarının çeşitli dekatlarında semptomlar belirmeye başlar ve zamanla tam körlükle sonuçlanır. RP semptomlarına göre evrenecek olursa:

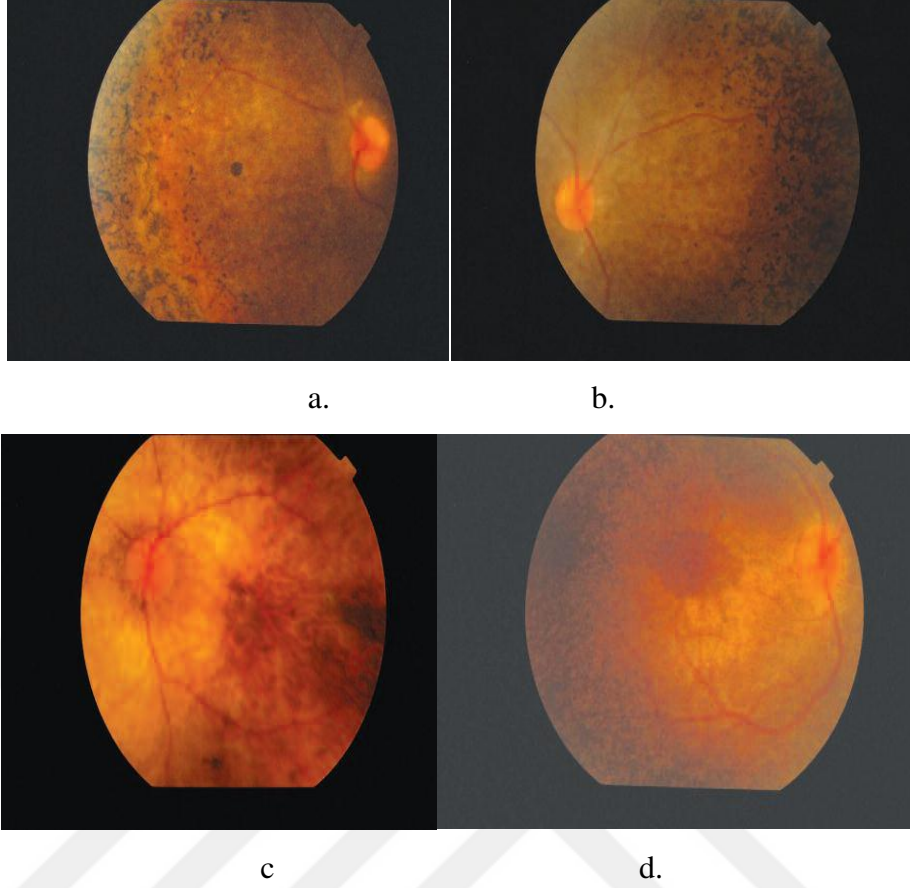
1- Erken evre: En erken ve başlıca bulgu gece körlüğüdür. Hastaların bazılarında yaşamın ilk yılında başlayıp ikinci dekada kadar öylece kalabilir. Orta şiddette gece körlüğü genellikle genç yetişkin dönemde mevcuttur ve diğer belirtiler de eşlik edebilir.

Karanlığa uyum azalmıştır. Karanlık merdiven boşlukları problem yaratır. Hastalar yaşamlarını normal olarak devam ettirirler. İyi aydınlatılmış caddelerde araba kullanabilirler. Esas problem sisli havalarda ve tozlu yollarda çıkar. Bu evrede tanı, aile hikayesi yoksa oldukça zordur. Kemik spikülleri; retina pigment epitelinde değişikliğe uğrayan hücrelerin meydana getirdiği pigmentlerdir. Görme keskinliği iyi, fundus muayenesi normaldir. Kemik spikülleri ya yoktur ya da nadirdir. Retinal

arterioller hafif zayıf ya da normaldir. Optik disk normaldir. Ayrıca renkli görmede aynı durumdadır. Elektoretinogram (ERG) bulguları sıklıkla normaldir.

2- Orta evre: Klinik çerçeve tamamlanmıştır. Gece körlüğü nedeni ile hastalar gece araba kullanamazlar ve karanlık yollarda yürüyemezler. Periferik görme bozulmuştur. Hastalarda sıklıkla yeşil ve mavi renk diskromatopsi görülür. Ek olarak hastalarda ışığa hassasiyet başlamıştır. Özellikle maküler ödem ve orta dereceli foveomaküler atrofi gibi maküler tutulum eşlik ediyorsa, görme keskinliğinde azalma söz konusudur. Subkortikal katarakt görülebilir. Fundus gözlemlendiğinde, orta ve uzak periferik retinada RPE ve rod fotoreseptör hücre atrofi ve incelme mevcuttur. Retina damarları incelmış ve optik disk orta derecede soluktur.

3- Geç evre: Periferik görme tamamen kaybolmuştur. Merkezi görme kon hücreleri korunduğu için tünel görüntüsü şeklinde görme mevcuttur. Hastaların birçoğunda rodlardan sonra kon hücreleri de atrofiye uğradığından zaman içerisinde tam körlük gelişmektedir. Fundusta maküler bölgede geniş ve yaygın pigment depositleri, optik diskte gliotik mumsu solukluk mevcuttur. Retina damarları atrofik ve incedir.



Şekil 18. a) Tipik RP: Retina midperiferinde kemik korpüskülü hiperpigmentasyonu b) Tipik RP: Pigment epitel değişiklikleri c) RP: Pigment epitelde granülarite ve değişiklikler d) RP’de öküzgözü makulopatisi, incelmış damarlar

1.1.5.2.3. RP’de Sınıflandırma

Retinitis pigmentosa’da üç temel kalıtım şekli tanımlanmıştır. Hastaların % 20- 25’inden otozomal dominant (ODRP), %15- 20’sinden otozomal resesif (ORRP) ve %15-10’undan X’e bağlı geçiş (XBRP) sorumlu iken; aile hikayesinin olmadığı ‘simplex’ ya da izole grup hastaların %40- 50’sini oluşturmaktadır. Hastalığın seyri hastadan hastaya hatta aynı ailenin değişik bireyleri arasında dahi farklılıklar gösterse de hastalığının seyrinin X’e bağlı formda en hızlı, dominant formda en yavaş ve resesif tipte orta şiddette olduğu kabul edilmektedir. Genel kanı X’e bağlı RP’li hastaların 30- 40’lı yaşlarda, ORRP ve izole vakaların 45- 60 yaşlarında ve ODRP’li hastaların ise 60 yaşlarında görmelerini tamamen kaybedecekleri yönündedir. Bununla beraber bu durum her zaman böyle gerçekleşmeyebilir (62).

1.1.5.2.3.1. Otozomal Dominant Retinitis Pigmentosa (ODRP)

Otozomal dominant RP nedeni olarak belirlenen ilk mutasyon rodopsin genine aittir. 1989'da 3q lokusundaki ADRP lokusu arasında sıkı bağlantı saptamışlardır (63). Rodopsin pigmenti geni de bu bölgede olduğu için, "aday gen yaklaşımı" ile 3q24 lokusundaki rodopsin geni sorumlu gen olarak belirlenmiştir. Dryja ve ark. 1990 yılında mutasyonu tanımlamışlardır (64). Rodopsin geninde kodon 23'te C>A değişimi ile, rodopsin proteinindeki 23. aminoasit olan prolin yerine histidin gelir. Günümüzde rodopsin geninde 60'tan fazla farklı mutasyon saptanmıştır (65). Bir çalışmada mutant rodopsinin dış fotoreseptör segmentlerine anormal transportu sonucu iç ve dış segment birleşimindeki veziküller içinde rodopsin birikimi nedeniyle hücre rejenerasyonunun engellendiği gösterilmiştir (66). Ayrıca, kromozom 6p lokusundaki periferin mutasyonları da sorumlu olarak tanımlanmıştır (67).

1.1.5.2.3.2. Otozomal Resesif Retinitis Pigmentosa (ORRP)

Otozomal resesif RP'de, rodopsin genindeki null mutasyon sonucu destrüktif olmayan defektif rodopsin kodlanır veya düzenleyici mekanizmalarla normal ekspresyon engellenir (68). Heterozigot bireyler klinikte normaldir. Ayrıca β -fosfodiesteraz gen mutasyonları da sorumlu olarak tanımlanmıştır (66).

1.1.5.2.3.3. X'e Bağlı Geçiş Gösteren Retinitis Pigmentosa (XLRP)

X'e Bağlı Geçiş Gösteren Retinitis Pigmentosa olguları, diğer RP hastaları arasında retina dejenerasyonunun en erken belirti vereni ve klinik olarak ağır olan formudur. İlk RP çalışmaları hastalığın X kromozomu ile geçişinin açık şekilde gözlendiği XL (X-bağlı geçiş) olarak tanımlanan aileler üzerine yoğunlaşmıştır. X geçişli kalıtım araştırmacılara bu kromozom üzerinde çalışacaklarına dair açık bir ipucu verir. X geçişli kalıtımın gözlendiği soy ağaçları incelendiğinde kadınların da hastalıktan etkilendiği, fakat etkilenmiş erkek birey sayısının daha fazla olduğu görülür.

Bu kalıtım tipinde hasta olan erkekler hastalıklarını erkek çocuklarına geçirmezler. Tipik Retinitis pigmentosa belirtileri gösterebilirler de ek olarak belirgin parafoveal atrofi eşlik eder (69).

X'e bağı RP için tanımlanan mutasyonlardan iki tanesi önem taşır. Xp11.3-p11.22 lokusundaki RP2 genindeki R120X mutasyonu erken başlangıçlı gece körlüğü, miyopi, ciddi görme alanı daralması ve görme keskinliği kaybı (70); Xp21.1 lokusundaki RP3 bölgesindeki RPGR (retinitis pigmentosa GTPaz regülör) geni mutasyonu ise geç başlangıçlı gece körlüğü ve hafif miyopi fenotipi gösterir (65).

1.1.5.2.3.4. Digenik Retinitis Pigmentosa

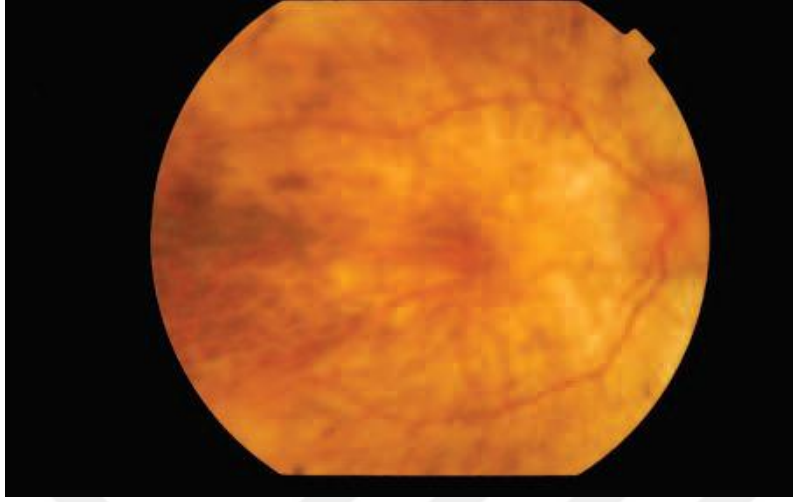
Araştırmacılar iki farklı gende birleşik heterozigot mutasyon taşıyan RP hastaları rapor etmişlerdir. Bu genler periferin/RDS ve ROM1 genleridir (55). ROM1 proteini periferin/RDS geni ile homologdur ve aynı yapısal role sahip olduğu düşünülmektedir. Periferin/RDS ile fonksiyonel bir dimer kompleksi yapar. Bu hastaların ebeveynleri ROM1 ya da periferin/RDS genlerinden birinde mutasyon taşıyıp hiçbir patoloji göstermez. Sadece bir gendeki mutasyon hastalık yaratmaz iken hem periferin geninde hem de ROM1 geninde mutasyon olması hastalığa neden olur. Ancak bu iki genin bazı mutant kopyaları da tek başına otozomal dominant RP'ye neden olabilir. Digenik patolojik retina dejenerasyonların gözlenmesi farklı allellerdeki mutasyonların kombinasyonu ile olduğundan tek gen bozukluklarından daha komplekstir (71).

1.1.5.2.3.5. Sendromik Retinitis Pigmentosa

1.1.5.2.3.5.1 Usher Sendromu

Usher sendromu işitme kaybı ile beraber ortaya çıkan RP'dir. RP olgularının %10'unda işitme kaybı olup, bunların çoğunluğu Usher sendromudur. İşitme kaybı olan çocukların %3-6'sı, işitme zorluğu olanların %3-6'sı Usher sendromudur. Yaklaşık 100 000 doğumda 4 oranında görülmektedir. Otozomal resesif geçişlidir. Aile hikayesi olmayan bir kişinin, işitme ve görme problemi yoksa sendromun taşıyıcısı olduğu bilinmemektedir. Tip 1'de, doğumdan başlayarak her iki kulakta derin bir işitme azlığı mevcuttur. 10 yaşından önce gece görme problemleri ortaya çıkar. Doğumdan itibaren denge problemi vardır. Tip 2'de, doğumdan başlayarak orta veya ileri derecede işitme kaybı, geç çocuklukta ortaya çıkan gece görme problemi vardır ve denge kaybı yoktur. Tip 3'te ise doğumda işitme normal olup, geç çocuklukta işitme problemi başlar. Gece görmesindeki sorunlar erken yetişkinlikte fark edilir ve denge normal veya normale yakındır. İleri hayatta denge problemi

gelişebilir. Şimdiye kadar bu sendroma sebep olabilen 11 genetik lokus ve 9 gen tanımlanmıştır (72, 73).



Şekil 19. Usher sendromunda yaygın RPE atrofisi

1.1.5.2.3.5.2. Karns-Sayre sendromu

Karns-Sayre sendromunda kronik ilerleyici eksternal oftalmopleji, göz kapağında ptozis, kalp bloğu, pigmenter retinopati mevcuttur ve 20 yaşından önce başlar. Bu sendrom mitokondrial DNA'da delesyon sonucu ortaya çıkar. Diğer bulguları ise serebellar ataksi, SSS'de protein miktarının artması (100 mg/dl'den fazla), myopati, distoni, endokrin bozukluklar, bilateral sensorinöral sağırılık, demans, katarakt ve proksimal renal tübüler asidoz olarak sayılabilir. Kalp iletim bloğu hayatı tehdit ettiği için, bu hastalarda mutlaka EKG ve kardiyolojik inceleme gereklidir.

1.1.5.2.3.5.3. Abetalipoproteinemi

(Bassen Konzweig sendromu, Akantositoz, Mikrozomal trigliserid transfer protein eksikliği, Apo lipoprotein B eksikliği)

Diyetteki yağ, kolesterol ve yağda emilen vitaminlerin (A, D, E, K) Emilimini etkileyen kalıtsal bir bozukluktur. Hastalarda yağ Emilimini sağlayan beta lipoproteinler yapılamaz. Belirti ve bulgular hayatın ilk birkaç ayında başlar. Gelişme bozukluğu, diyare, alyuvarlarda akantositoz adı verilen yıldıza benzer bir şekil alma, steatore adı verilen yağlı ve kötü kokulu ishal, geç çocuklukta sinir sisteminin tutulmasına bağlı ataksi ve RP ortaya çıkabilir. MTTP geninde ortaya

çıkan mutasyonlar sonucu görülür ve şimdiye kadar en az 33 mutasyon tanımlanmıştır. Bu gen, betalipoproteinlerin yapımında rol alan mikrozomal trigliserid transfer protein yapımı ile ilgilidir ve yokluğunda betalipoproteinlerin yapımı bozulur. Otozomal resesif geçişlidir. Tedavide, diyetle uzun zincirli yağ asidi trigliseridleri düşük olmalı, varsa anemi tedavi edilmelidir. Yüksek dozda A ve E vitaminleri ile tedavinin, retina dejenerasyonunu engellediği veya ilerlemesini önlediği bildirilmiştir (74).

1.1.5.2.3.5.4. Mukopolisakkaridozlar

Mukopolisakkaridozlarda, RP görünümünde retina dejenerasyonu, kornea bulanıklığı, glokom ortaya çıkabilir. Bu grup hastalık, lizozomal depo hastalıkları olarak sınıflandırılırlar. Bu hastalık gurubunda eksik veya bozuk enzim (bilinen 11 enzim mevcuttur), vücut hücrelerinde ve dokularında zararlı miktarlarda kompleks şeker moleküllerinin (glikozaminglikanlar) birikmesine yol açar (75).

Mukopolisakkaridozlar II (Hunter sendromu) anneden oğula geçerken diğerleri otozomal resessiftir. Birçok klinik özellikleri benzer ancak şiddetleri farklıdır. Doğumda belirti ve bulgulara rastlanmaz ancak zaman geçtikçe ve glikozaminglikanlar biriktikçe ortaya çıkar. Kemik, iskelet sistemi, bağ dokusu, organlar, sinir sistemi, tipine göre zeka fonksiyonları etkilenir. Gelişme ve davranış problemleri, işitme problemleri, hidrosefali, kaba bir yüz yapısı ve sistemlerin tutulum bulguları ile tanınır. Çok sayıda tipi vardır. MPS I'de 3 alt tip bulunur: MPS 1H (Hurler sendromu), MPS I S (Scheie sendromu), MPSI SH (Hurler-Scheie sendromu). Hurler sendromu en ağır olup, 10 yaşına kadar yaşam genelde sona erer. Bunların içinde Scheie en hafifi olup 5-10 yaşlarında tanı alır. Göz bulguları RP, bulanık kornea, glokom olup görmeyi ciddi etkiler. Yetişkinliğe kadar yaşayabilir. Hurler-Scheie sendromu 3-8 yaş arasında tanı alır. Geç çocukluk-erken yetişkinliğe kadar yaşayabilirler. Göz bulguları olarak bulanık kornealar belirgindir. MPS II (Hunter sendromu) anneden oğula geçer. İki alt tipi vardır. MPS II A'da diğer bulguların yanısıra RP görülür fakat kornea bulanıklığı yoktur. 2-4 yaş arasında tanınır ve 15 yaş civarına kadar yaşam sürebilir. MPS II B'de tanı 20'li yaşlarda konulur. Periferik görme kaybı ortaya çıkar. 50'li yaşlara kadar yaşayabilirler. MPS III'te (Sanfilippo sendromu) 2-6 yaşlar arasında tanınır. Şiddetli nörolojik ve diğer bulgular yanında RP mevcuttur. Tanı konulduktan sonraki 8-10 yıl içinde yaşam

sona erer. MPS IV (Morquio sendromu) te kornea bulanıklığı vardır. 1-3 yaşlarında tanınır, 20-30 yaşından önce yaşam son bulur. MPS VII (Sly sendromu) de, diğer bulguların yanısıra kornea bulanıklığı ve RP mevcut olup, genç erişkinliğe kadar yaşayabilir. Mukopolisakkaridozlarda tanı klinik muayene, enzim incelemeleri, idrar testi ile konulur. Taşıyıcı veya hasta fetuslar, amniosentez ve koryonik villus incelemesi ile tanınabilir. Tedavisi şimdilik bulunmamaktadır. Kornea problemleri için keratoplasti uygulanabilir. Virüsle taşınan gen tedavileri hayvan modellerinde uygulanmıştır (75).

1.1.5.2.3.5.5. Bardet-Biedl sendromu

Bardet-Biedl sendromunda polidaktili, gövdede yağlanma ve obesite, ciddi ve hayatı tehdit eden böbrek fonksiyon bozukluğu, genitoüriner malformasyonlar, kısa boy, hipogonadizm, zeka problemleri ve ilerleyici pigmenter retinopati mevcuttur. Otozomal resessif geçer. Bazı ailelerde fenotipin görülmesi için en az 3 mutasyonun gerektiği trialelik kalıtım tespit edilmiştir. Şimdiye kadar 12 civarında gen bulunmuştur. BBS1’de p.M390R mutasyonu olan hastaların (hastaların %18-32’si) ailelerindeki taşıyıcıları tespit etmek için tanı testi ve prenatal tanı testleri ve ultrasonografi yapılmaktadır. Görme kaybı 7-8 yaşlarında başlar ve 2. dekattan sonra ilerleyerek orta yaşlarda ciddi görme kaybı gelişir (75).

1.1.5.2.3.5.6. Nöronal Seroid Lipofusinoz

Nöronal seroid lipofusinozlarda, ataksi, demans, epilepsi nöbetleri, RP mevcuttur. Erken başlayan olgularda ilerleyici görme kaybı görülür. Klinik olarak başlama yaşı ve nörolojik semptomlarla görme kaybı arasındaki ilişki dikkate alınarak sınıflandırılırlar. İnfantil form 8-18 aylıkken başlar. Optik atrofi, makula ve periferde pigment değişiklikleri, düşük amplitüdlü veya hiç cevap alınmayan elektroretinografi (ERG) ve görsel uyarlı potansiyel ile karakterlidir. İnfantil şekiller Leber’in konjenital amarozi ile karışabilir (75).

Geç infantil form (Jansky-Bielschowsky hastalığı) 2-4 yaşlarda, juvenil form (Vogt-Spielmeyer Batten hastalığı) 4-8 yaşlarda başlar. Bu tiplerde başlıca makulada öküz gözü makulopatisi görünümü mevcut olup, Stargardt hastalığı gibi primer bir retina distrofisi ile karışabilir. Yetişkin formu ise Kufs sendromudur. Bu tipte genelde göz bulguları yoktur ancak iç retina ve retina pigment epitel tabakalarının

hasarlandığını gösteren elektrofizyolojik bulgular gözlemlenmiştir. Jüvenil form CLN3 geni ile yetişkin form CLN4 geni ile ilgilidir (75).

1.1.5.2.3.5.7. Refsum hastalığı

Refsum hastalığı otozomal resessif geçişli, RP ile beraber periferik polinevrit, ilerleyici parezi, ataksi ve başka serebellar bulgular, sinirsel sağırılık, anosmi, kuru cilt (iktiyozis), iskelet anormallikleri gösteren metabolik bir hastalıktır. Fitanik asit oksidaz enzimindeki bir eksiklik, fitanik asidin vücutta birikimine sebep olur. Tedavide fitanik asit içeren gıdaların alınmaması önerilir (75).

1.1.5.2.3.5.8. Esansiyel gyrate atrofi

Esansiyel gyrate atrofi, ornitin aminotransferaz eksikliğine bağlı ve primer olarak gözü etkileyen sistemik, metabolik bir bozukluktur. Gece körlüğü ve belirgin fundus görünümü ile tanı konulabilirse de bazen RP'yi taklit edebilir. Arjininsiz diyet önerilir (75).

1.1.5.3. Retinitis Pigmentosa (RP)'da Fotoreseptör Hücre Ölümüne Yol Açan Mekanizmalar

Birçok fotoreseptör hücre ile ilişkili gende meydana gelen mutasyonlar, hücrelerin fonksiyonunu ya da yapısal bütünlüklerini bozarak hücre ölümüne yol açar. RP'ye neden olan genetik bozukluk ve hücreye olan etkisi bilinse de öncelikle rodların daha sonrada konların nasıl ve hangi mekanizma ile öldükleri tam olarak bilinmemektedir.

Nörodejeneratif hastalıklardan Parkinson, Alzheimer hastalığında ve Down Sendromunda olduğu gibi Retinitis pigmentosa'daki ortak patolojik süreç apoptozistir.

İnsanlarda olduğu gibi değişik hayvan RP modellerinde de fotoreseptör hücre ölüm yolunun apoptozis olduğu gösterilmiştir. RP'deki asıl gizemli olay ise, genlerde oluşan mutasyonların ne şekilde apoptozise yol açtığıdır. Bulmacanın bir diğer parçası ise, merkezi görmeden sorumlu kon hücrelerin, rod hücrelerinin maruz kaldığı genetik defektten etkilenerek niçin apoptozise uğradığıdır.

RP'de retinadaki damarlarda daralmanın nedeninin retinadaki yüksek oksijen düzeylerinin olduğu (76), retinal damarların oksijen seviyesi yükseldiğinde

otoregülasyon sonucu daraldığı söylenilmiştir (77). RP'li fare modeliyle yapılan çalışmalarda, rod hücrelerinin ölümü sonrasında retinal damarlarda daralmanın yanı sıra, damarlarda regresyona neden olduğu böylece retinadaki vasküler yoğunluğun azaldığı gösterilmiştir (78). Membran stabilitesindeki bozukluk, anormal fototransduksiyon kaskad proteinleri, direkt hücre içi Ca^{++}/Na^{+} arasındaki sitotoksik dengesizlikler veya aşırı artmış cGMP seviyeleri, apoptozisle fotoreseptör hücre ölümüne neden olabilir. Başka olasılıklar içerisinde hücrenin metabolik aktivitesini durduran, membran bütünlüğünü bozan basit nekrotik işleyiş vardır ki serbest radikaller, çeşitli toksinler ve enflamatuvar ajanlar tarafından gerçekleştirilir.

RP'de ilave bir patolojik durumda daha önce bahsedildiği üzere retinal kan damarlarında zayıflama ve koryokapiller atrofiye neden olan retinal oksijenizasyon bozukluğudur. Ancak bu durumun hastalığın sebeplerinden biri mi, yoksa sonuçlarından biri mi olduğu tam olarak bilinmemektedir. Bununla beraber zayıf oksijenizasyonun myokardial iskemi ve felçlerde apoptozisi etkilediği bilinmektedir. RP'de azalmış retinal oksijenizasyonun kısır bir döngü şeklinde fotoreseptör hücre ölümüne katkıda bulunması aynı olasılıktır.

1.1.6. Apoptozis

Apoptoz mekanizması, uyarana ve hücre tipine göre farklılıklar göstermektedir. Hücre içi uyarılardan büyüme faktörleri, onkogenler ve tümör hücrelerini baskılayan genlerin (supresor) apoptozu etkilediği bilinmektedir. Bu uyarıların bazıları, büyüme faktörlerinin geri çekilmesi, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, TNF, TGF- β , Fas(CD95)/FasL(Fas Ligand) sisteminin aktive olması, DNA hasarı nedeniyle bir tümör supresor gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar, iskemi, glukokortikoidler ve reaktif oksijen radikalleri (hem mitokondri, hem plazma membranı, hem de genom üzerinde oluşturabileceği hasarlara bağlı olarak) olarak sayılabilmektedir.

Apoptozda hücreler tek tek etkilenir, hacimce küçülür, komşu hücrelerle temasını kaybederler. Mikrovillus gibi özel yüzey farklılaşmaları ve diğer hücrelerle olan bağlantı yapıları bozulur. Hücresel büzülmenin nedeni, Na^{+} , K^{+} , Cl^{-} taşıyıcı sisteminin durması nedeniyle, hücre içi ve dışı arasındaki sıvı hareketinin olmamasıdır. Elektron mikroskopunda gözlenen değişiklikler de, bu olay hızla

gerçekleşirken aynı anda hücrede değişik yüzey çıkıntıları ve kıvrıntıları oluşur. Bunların membranla çevrili olarak hücreden ayrılmasıyla “apoptotik cisimler” meydana gelir. Endoplazmik retikulum (ER) genişler, hücre zarı sağlamdır ve bütün önemli yapısal değişiklik çekirdekte başlayarak izlenir. Çekirdek zarının altında kromatin materyali yoğunlaşır ve kaba, büyük kümeler yapar. Buralarda nükleer porlar seçilemez. Çekirdek düzensizleşir ve ileri evrelerde nükleer parçalara bölünür. Çekirdekçiği genişler ve granülleri kaba kümeler halinde dağılır.

1.1.6.1. Apoptozun Düzenlenmesi

Genel olarak apoptozun düzenlenmesinde kalsiyum, seramid, Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar, sitokrom-c gibi proteinler ve mitokondriyonlar rol oynar. Apoptotik süreç boyunca hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur. Kalsiyum iyonları; endonükleaz, proteaz ve transglutaminaz aktivasyonunda, gen regülasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda rol alır.

1.1.6.1.1. Bcl-2 Ailesi

Bir hücrenin apoptoza eğilimli olup olmaması Bcl-2 ailesi genlerinin heterodimer ya da homodimer formuna bağlıdır. Bcl-2 ailesi birbirine zıt 2 gruptan oluşur;

- Proapoptotik üyeler
- Antiapoptotik üyeler

Hücrede proapoptotik proteinler fazla ise hücre apoptoza eğilimlidir. Antiapoptotik proteinler fazla ise hücre apoptoza daha az eğilimlidir (80). Proapoptotik üyeler Bad, Bax, Bid, BclXs, Bak, Bim, Puma ve Noxa'dır. Bu proteinler sitozolde yer alırlar. Sitokrom-c ve AIF (Apoptoz indükleyici faktör) salınımını artırarak apoptozu indüklerler. Antiapoptotik üyeler ise Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1'dir. Bu proteinler de mitokondriyon dışı membranında, endoplazmik retikulumda ve çekirdek zarında yer alırlar. Por oluşumunu sağlayıp iyon transportunu düzenlerler. Özellikle hücredeki Ca^{++} oranını kontrol ederler. Ayrıca kaspazların öncü formlarıyla AIF ve sitokrom-c salınımını bloke ederek apoptozu inhibe ederler (80-82).

1.1.6.1.2. P53

Hücrede DNA hasarı oluştuğunda hücre siklusunu G1 fazında durdurup hücreye DNA tamiri için zaman veren bir transkripsiyon faktörüdür. Hasar tamir edilemeyecek durumda ise Bax, Apaf-1 ve Fas yapımını artırıp Bcl-2 ve Bcl-xL'yi baskılar ve apoptozu indükler.

1.1.6.1.3. FAS (APO-1 veya CD95)

Yirmidört üyeli TNF reseptör ailesinin en iyi tanımlanmış üyesidir. Bağışıklık sisteminde hücre ölümünü kontrol eden Fas hücre reseptörü sitotoksik T hücreleri ve naturel killer hücreleri üzerinde bulunur. 43 kDa molekül ağırlığındaki Fas proteini hücre yüzeyinde kendi reseptörüne bağlanır ve reseptör trimerizasyonunu sağlar. Aktive olmuş reseptörler FADD reseptör molekülü ile birleşir. Bu şekilde; Fas reseptörünün karboksil ucuna (C) yakın 80 aminoasitlik bölgenin uyarılmasıyla prokaspazlar aktive olur ve apoptoz başlar. Fas ve TNF alfa dışında TRAIL ve TRAIL reseptörleri de benzer yolla apoptozu uyandırabilir (82, 83).

1.1.6.1.4. Kaspazlar

Kaspazlar, sistein proteazlardır ve aspartik asitten sonraki peptid bağıntı kırarlar. Hücrede inaktiftirler, ancak proteolitik olarak birbirlerini aktifleştirirler. 100 farklı hedef proteini keserek apoptozu neden olurlar. 3 tiptirler: I- Başlatıcı kaspazlar; (Kaspaz 2,8,9,10), II- Efektör kaspazlar (Kaspaz 3,6,7), III- İnflamatuar kaspazlar (Kaspaz 1,4,5,11,12,13,14). DNA tamiri ve replikasyonu için gerekli enzimleri inaktive ederler. Hücre iskeleti proteinlerini keserek hücre zarının tomurcuklanmasına neden olurlar (80-82).

Apoptoz aktive edildikten 1 saat ya da daha uzun bir süre sonra DNA'da tek iplikte bir çentikle başlayan çok karakteristik ve geri dönüşsüz bir parçalanma görülür.

1.1.6.2. Apoptoz Mekanizması

Apoptoz iki yolla gerçekleşir;

I- İntrinsik (Mitokondriyal) yol

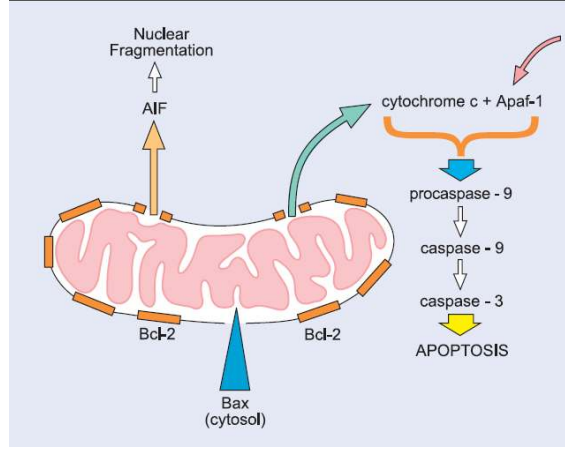
II- Ekstrinsik yol

Apoptozu tetikleyen hücre içi sinyaller; DNA hasarı, hücre içi Ca^{++} düzeyi artışı, pH azalışı, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları ve hipoksidir. Hücre dışı sinyaller ise büyüme ve üreme faktörlerinin yetersizliği, ölüm reseptörlerinin aktivasyonu (FAS – FAS ligand aracılığı ile apoptoz, TNF aracılığı ile apoptoz), sitotoksik T lenfosit ve dış etkenler (İskemi, toksinler, UV, kemoterapötik ilaçlar, radyasyon)’dır. Her 2 sinyal yolunda da kaspazlar görev almaktadır. Hücre içi sinyaller instrinsik apoptoz yolunu devreye sokarken, hücre dışı sinyaller ekstrinsik yol ile apoptozu indükler (84, 86).

1.1.6.2.1. İnstrinsik Yol

Hücre içi sinyallerle apoptotik uyarı alınmasından sonra proapoptotik proteinlerden Bid; bir antiapoptotik protein olan Bcl-2’yi inaktive eder, Bax ve Bak’ı aktifleştirir. Aktifleşen Bax ve Bak mitokondriyon membranında por oluşumunu indükleyip zar potansiyelini değiştirir (80). Böylelikle mitokondriyon membranındaki porlardan sitokrom-c, Smac (Second mitochondria-derived Activator of Caspase), Endo-G (Endonukleaz-G), Ca^{++} ve AIF (Apoptoz indükleyici faktör) salınımını uyarır. Sitokrom-C, oksidatif fosforilasyon için elektron taşır. SMAC, IAF (İnhibitör apoptotik faktör)’ü inhibe eder ve apoptozu hızlandırır. IAF’nin ortamda bulunması ise kaspaz-3 ve kaspaz-8 aktivasyonunu engeller. AIF, çekirdeğe transloke olur ve parçalara ayırır. ENDO-G de DNA’yı parçalar. Mitokondriyal porlardan salınan sitokrom-c, Apaf-1 (Apoptotik proteaz aktive eden faktör) ve ATP’nin katılmasıyla sitozolde Apoptozom denen bir kompleks oluşturur (80, 81, 83).

Apoptozom kaspaz 9’u keserek aktifleştirir. Kaspaz-9 da prokaspaz-3’ü aktif kaspaz-3 haline getirir. Aktif kaspaz-3 de ICAD (İnaktif kaspaz aktive edici DNaz) ‘ı inaktifleştirerek CAD (Kaspaz aktive edici DNaz)’ı serbestleştirir. CAD ise çekirdekte kromatin yoğunlaşmasına ve DNA’nın nukleozomal alt birimler halinde fragmente olmasına neden olur (80, 86, 88).



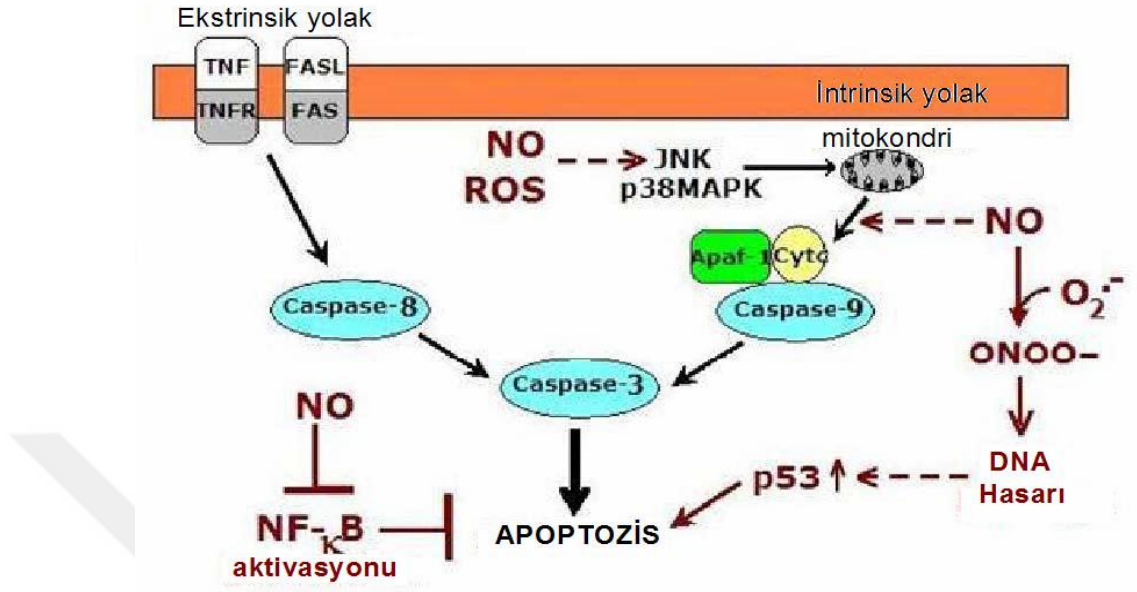
Şekil 20. İnstrinsik Yol

1.1.6.2.2. Ekstrinsik Yol

Hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerine (Fas, TNFR, DR5) ölüm sinyallerinin (FasL, TNF-alfa, TRAIL) bağlanmasıyla reseptörler trimerik yapı kazanır. Bu şekilde trimerik yapı kazanan reseptör; adaptör molekülleri ve prokaspazla birleşerek DISC (Death inducing signaling complex) adı verilen yapıyı oluşturur. Bu birleşmeden sonra inaktif durumdaki prokaspaz-8'in uzun ve kısa kolları kesilerek aktif kaspaz-8'in oluşması sağlanır. Aktif kaspaz-8 doğrudan ve dolaylı olmak üzere 2 yolla kaspaz-3'ü aktive eder. Ya direkt kaspaz-8 kaspaz-3'ü aktive eder ya da Bid'i keserek dolaylı olarak intrinsik mekanizmada kaspaz-9'u aktive ettikten sonra kaspaz-3'ü aktive eder. Her 2 yolla da aktive olan kaspaz-3 yine CAD aktivasyonu ile DNA fragmantasyonuna neden olur (80, 82, 83).

Ekstrinsik yollardan biriside sfingolipid yoludur. Sfingomyelin, hücre zarı yapı taşlarından biridir. Radyasyon, kemoterapi, ölüm reseptörleri ile aktive olan sfingomyelinaz, sfingomyelini seramid'e dönüştürür. Seramid ise 151 seramidaz ile sfingozine dönüşür. Sfingozin de Bid yapımını artırarak apoptozu tetikler (89). Ayrıca patojenle enfekte hücreler ve tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında etkili bir diğer yol ise Granzim-Perforin sistemidir. Perforinler ve Granzim B birer serin proteaz'dır. Sitotoksik T lenfositler ve Natural Killer hücrelerinin sitoplazmik salgı granülleri içinde bulunurlar. Sitotoksik T lenfositler hedef hücreye bağlandığında perforinler salınır. Perforinler hedef hücre üzerinde dairesel bir por oluştururlar. Bu perforin poru hücre içine Ca^{++} girişini artırır. Vezikülden Granzim

B'nin serbest kalmasını sağlar. Granzim B de kaspaz aktivasyonunun ardından DNA fragmentasyonu sonucu apoptoza neden olur (89).



Şekil 21. Ekstrinsik Yol

1.1.7. Oksidatif Stres ve Retinitis Pigmentosa

Fotoreseptör hücreler başta olmak üzere tüm retina hücreleri, oksijen tüketim seviyeleri oldukça yüksek ve metabolik olarak aktif hücrelerdir (90). Çeşitli hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda Retinitis pigmentosa'nın apoptozla ilişkisini, oksidatif stres sonucunda gerçekleştiği belirtilmiştir (91). Yine aynı çalışmalarda antioksidanların tedavideki yararı bildirilmiştir. Günümüzde retinada hücre ölümü ile ilgili oksidatif yollar tam olarak aydınlatılmamıştır. Yinele bazı çalışmalarda, oksidatif stres ya da hücrel redoks değişimleri apoptozun yaygın mediatörü olduğu bildirilmiştir (92).

Retina başta olmak üzere oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen metabolitleri (ROS) meydana gelmektedir. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROS oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir. ROS oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma sonucu hücrenin oksidatif strese karşı savunma hattı kırılmakta ve ölüme sürüklenmektedir (93). Oksidatif stres doğal bir süreçtir. Serbest

radikaller, hem indirgen hem yükseltgen olarak ve bazen de her iki etkiyi birlikte göstererek hücre hasarına neden olurlar.

Fotoreseptör hücreler oksijen tüketim seviyeleri oldukça yüksek metabolik olarak aktif hücrelerdir. Koroidal damarlar, rodların ölümünü takiben bozulmaya başlar, doku oksijen otoregülasyon için ayarlama yapamaz. Retinadaki oksijen seviyesi gittikçe artar (94). RP'nin karakteristik özelliklerinden biri de retinal damarlardaki daralmadır. Bu yüzden retina aşırı oksijenlenir (95). Retinal damarlar, daralma ve otoregülasyon yeteneğine sahiptir. RP'li farelerle yapılan çalışmalarda; rodların ölümünden sonra retinal damarlar, sadece daralmakla kalmayıp aynı zamanda geriler ve vasküler dansite azalır. Mitokondride aerobik solunumda kullanılan oksijenin %2- 5 'si serbest oksijen radikallerine (ROS) dönüştürülür. Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır (91).

Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller, süperoksit anyonu ve hidroksil radikalidir. Hidroksil radikali son derece yüksek aktif özellikte olduğundan meydana geldiği hücre bölümünden daha uzağa diffüzyona gerek kalmadan derhal olduğu yerde reaksiyona girer. Süperoksit radikali, hidroksil radikalinden daha az reaktif olduğu için açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak noktalara rahatlıkla diffüze olabilir. Ancak bu diffüzyon süperoksit dismutazın yüksek konsantrasyonu ile sınırlıdır. Hidrojenperoksit ise mitokondrial membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranından kolayca diffuze olarak toksik etkisini açığa çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde gösterebilir. Lipid peroksidasyonunda hidroksil radikalın daha etkili olduğu kabul edilmektedir (96).

Biyolojik hasarla karakterize radikal reaksiyonlar arasında en belirgin olanı lipid peroksidasyonudur. Hücre membranlarının oksijen radikallerine maruz kalması lipid peroksidasyon reaksiyonlarını uyarır. Peroksidasyona en duyarlı olanlar doymamış yağ asitleridir.

Biyolojik sistemlerde oksitleyici radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla hasar vermez asıl önemli olan, H₂O₂ kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Süperoksit radikali sulu çözeltilerde H₂O₂ oluşturmaktadır. Oksidatif stres birçok patolojik durum içerisinde gözlenir. Bu

durumlara örnek vermek gerekirse Amiyotrofik Lateral Skleroz (97), Down Sendromu (98), genetik hasara bağı antioksidan sistemde karışıklıklarla ilerleyen hastalıklardır. Norodejeneratif hastalıklarda (Parkinson, Alzheimer) hasarı, kronik oksidatif stres oluşturur (99).

Bunların dışında kon hücrelerinin yavaş ve progresif ölümünü açıklayacak olay ise oksidatif strestir. Rodlar, retinada konlardan çok daha fazla bulunan ve yüksek oksijen tüketen metabolik olarak aktif hücrelerdir. Koroidal damarlarda oksijen seviyesine göre otoregülasyon yoktur. Rodlar öldükçe retinadaki oksijen seviyelerinde artış olmaktadır.

Rodların kaybı diğer hücreleri de etkilemektedir. Bunun sonucunda da konlar ölmeye başlarlar. Rodların ölümü ile RP'deki en erken semptom olan gece körlüğü başlasa da konların ölümü ile asıl körlük başlar. Konların ölüm mekanizmaları en az rodlarındaki kadar esrarengizdir. Konlar hayatta kalmak için rodlara ihtiyaç duyarlar. Rodların ölümleri beraber konların ölümü kaçınılmazdır.

Konların rodların ölümünü takiben ölmelerinin olası nedenleri;

1- Rodların ölümünü ile açığa çıkan toksinlere bağı olarak konlar ölmektedir. (100).

2- Rodların ölümünü ile mikrogliya hücreleri aktive olup fotoreseptör tabakaya göç ederler. Salgıladıkları fagositik toksinler ve sahip oldukları oksidatif enzimler ile konları öldürürler (101).

3- Rodlar, konların hayatta kalabilmeleri için gerekli yaşamsal faktörleri salgırlar (102).

Fakat bu teoriler neden tüm rodların ölümünden uzun zaman geçtikten sonra konların öldüğünü ve bireyler arasındaki kon hücrelerinin ölüm zamanları arasındaki farklılıkların nedenini açıklamamaktadır. Bunların dışında kon hücrelerinin yavaş ve progresif ölümünü açıklayacak olay ise oksidatif strestir. Rodlar, retinada konlardan çok daha fazla bulunan ve yüksek oksijen tüketen metabolik olarak aktif hücrelerdir. Koroidal damarlarda oksijen seviyesine göre otoregülasyon yoktur. Rodlar öldükçe retinadaki oksijen seviyelerinde artış olmaktadır (103, 104). Antioksidan tedavinin kon hücre devamlılığını sağlamadaki yararı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (78).

1.1.8. Retinitis Pigmentosa Tedavisi

Oksidatif hasarın RP'de rol oynayabileceği ve antioksidan kullanımının yararları hayvan modellerinde gösterilmiştir. Luteinin bazı hastalarda yararlı olabileceği bildirilmiştir. Lutein, zeaxanthin, L-glutathione, alpha-lipoic asit gibi antioksidanların insan gözündeki etkisi tartışmalı olup, klinik araştırmalar planlanmaktadır (105).

Çok yüksek doz vitamin A palmitat (15.000IU/gün) kullanımının bir grup RP olgusunda, hastalığın ilerlemesini yılda %2 azalttığı bildirilmekle beraber, bu yüksek dozların zararları göz önünde bulundurulmalıdır. Az rastlanan ve TIMP-3 mutasyonu gösteren Sorsby fundus distrofisi böyle hastalara örnektir. RP'li bazı hayvan modellerinde A vitamini takviyesinin uygun olabileceği gösterilmiştir. Kullanan hasta varsa yıllık karaciğer enzimleri ve A vitamini düzeyi ölçülmelidir (106). Bir omega-3 poliansature yağ asidi ve antioksidan olan ve dış segment membranlarının önemli bir komponenti olan dokosaheksaenoik asit (DHA) kullanımının faydası ile ilgili çelişkili bilgiler mevcuttur ve bazı özel durumlarda faydalı olabildiği bildirilmiştir (107). Sonuç olarak antioksidan kullanımının teorik ve hayvan modellerindeki yararları insan gözü için de geçerli olursa, sebebe yönelik olmasa da RP tedavisinde önemli bir basamak oluşturabilir. Maküler ödem ile seyreden RP olgularında oral asetozolamid ödemi azaltarak görmeyi arttırmak açısından kullanılabilir (108). Topikal asetozolamid o kadar etkili değildir. Oral kullanımın yorgunluk, böbrek taşları, iştah kaybı, ellerde karıncalanma, anemi gibi yan etkileri kullanımını kısıtlamaktadır. Kortikosteroidler de RP'de ödemi azaltabilir, ancak daha çok çalışma gerekmektedir. İsoetretinoin, Sildenafil, E vitamini gibi ilaçlar ise RP hastalarına potansiyel olarak zararlı olabilirler (109, 110).

Gerektiğinde uygulanacak katarakt cerrahisi görmeyi arttırmakla beraber, postoperatif ödemi engellemek amacıyla perioperatif kortikosteroidler tavsiye edilmektedir (111). RP'nin özel bir mutasyon şeklinde (rodopsindeki Pro23His mutasyonu), ışık ile retina hasarı artmaktadır. UV emen gözlükler, özellikle mutasyon tipi RP'lerde tavsiye edilebilir ve kon dejeneresansları renklendirilmiş merceklerden yararlanabilirler.

1.1.8.1. Transplantasyon

1.1.8.1.1. Fotoreseptör ve RPE Hücre Transplantasyonu

Yıllar içinde transplantasyon teknolojilerinin gelişmesi ile hayvan modellerinde geliştirilen RP'lerde, fotoreseptör transplantasyonu ile alınan anatomik ve görsel başarılı sonuçlar insan çalışmalarına imkan vermiştir. 1997'de Kaplan ve ark., insanda transplantasyonun güvenli olduğunu gösterdikten sonra, Radtke ve ark., 1999'da 2 görmeyen hastada, subretinal boşluğa fetal retina tabakası transplantasyonu uygulamışlardır. Postoperatif 6. ayda bir miktar subjektif ve objektif gelişme bildirilmiştir. Bu tabaka naklinden sonra, retina hücre nakli üzerinde de çalışılmıştır. Bu çalışmalarda, pozitif bir etki görülmemekle beraber, nakledilen hücrelere tolerans yüksek olarak bulunmuştur. Radtke, son olarak RP'li insanlar üzerinde yaptığı klinik araştırmada transplantasyondan birkaç ay sonra görme artışı bildirmektedir (112).

1.1.8.1.2. RPE Hücre Transplantasyonu

Teorik olarak RPE hücre transplantasyonu, RP'de fotoreseptör hücre tabakasının yaşamını arttırmakta, ayrıca RPE65 mutasyonu gibi RPE'de primer lezyon olan durumlarda, defekti düzeltmek için gerekli hücreleri sağlamaktadır. Allograft RPE hücre transplantasyonundan bir süre sonra hücrel immünite ile reddedildiklerini göstermiştir. RCS rat modelinde, subratinal insan RPE transplantasyonlarını uygulamış ve iyi olarak değerlendirdikleri sonuçlar almışlardır. CNTF, BDNF, GDNF gibi trofik faktörleri oluşturan Schwann hücrelerini subretinal olarak nakletmişler, bir süre sonra fotoreseptörler üzerindeki pozitif yaşama etkisinin kaybolduğunu bulmuşlardır. Önemli soru, transplantlarda görülen bu pozitif cevapların hücrelerin kendine mi, yoksa cerrahi veya implantasyona bağlı tam veya kısmi nörotrofik etkilerine mi bağlı olduğudur ki, henüz açıklığa kavuşmamıştır (105).

1.1.8.1.3. Kök Hücre Transplantasyonu

Kök hücre tedavisi büyük bir potansiyel taşımaktadır. Klasik olarak embriyonik dokudan elde edilmekle beraber, RPE hücreleri, iris, Müller glial hücreler ve başka hücre tipleri fotoreseptör özellik ve fonksiyonunu geliştirmek

üzere yönlendirilebilir. Embriyonik retinadan elde edilen retina progenitor hücreleri, subretinal boşluğa verildiğinde, proliferer olur, yaşar, özel nöronal işaretleyiciler salgılar. RP hayvan modellerinde, erişkin retinaya nakledilen kök hücrelerindeki retinal progenitor hücrelerin rodopsin salgıladığını, tabakalar halinde organize olduğunu ve alıcı retinaya kısmen integre olduğunu bulunmuştur. Bu davranışta iç sinyallerin rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca yetişkin fare gözlerinde pigmentli silier kenarda, rod fotoreseptörleri, bipolar hücreler ve Müller hücrelerine kısmen diferansiye olabilen bir miktar kök hücre bulunmuştur. Göz harici kaynaklardan elde edilen hipokampus progenitor hücreleri, Müller hücreleri, memeli ve rat irisleri gibi dokular retina özellikleri gösterebilir. RP'li farelerde, yetişkin kemik iliği kök hücreleri kullanarak nöronları koruyabildiklerini görülmüştür. Ancak RP tedavisinde bu kadar büyük potansiyel taşıyan bu tedavide, hücrelerin çoğalma kapasitelerinin kontrol edilebilmesi, hücrelerin fonksiyonel fotoreseptör veya RPE hücrelerine mi, yoksa başka retina hücrelerine mi dönüştüğünün gösterilmesi gibi çözülmesi gereken problemler vardır.

1.1.8.2. Elektronik Protezler

1.1.8.2.1. Retinal İmplantlar

Retinitis pigmentosa'da fotoreseptörlerin tam veya kısmi kaybı olduğu durumlarda, bir kamera vasıtası ile alınan görüntülerin kalan hücreler tarafından beyne iletilmesi için fotoreseptör tabakasına yakın subretinal veya retina ganglion hücre tabakası tarafından epiretinal çipler yerleştirilmesi için çalışmalar yapılmıştır. Kamera göz dışı veya lens yerine yerleştirilebilir. 2004'te, Optobionics Co.'a ait yapay bir silikon retina mikroçipi retina altına yerleştirilmiş ve implanttan uzak bölgelerde görmede iyileşme görülmesini bu implantın nörotropik etkilerine bağlanmıştır. İmplant uygulanan hastalardaki subjektif görme artışının yapay silikon çip ile retinanın zayıf elektriksel stimülasyonu mu, yoksa ameliyat ile oluşturulan travma ve nörotropik faktörler sonucu mu ortaya çıktığı bilinmemektedir (113). 2005'te, önce hayvan deneyleri, sonra insanlarda epiretinal bir yaklaşımda bulunmuştur. Hastanın gözlüğüne yerleştirilen (ileride göz içine yerleştirilebilir) bir kamera, bir mikropressöre sinyal yollar, bu elektriğe çevrilerek kulak arkasındaki radyo alıcısına ve oradan retina üzerindeki çip biyoelektrotlara ulaşır. Görsel imajı

alan retina, kalan iç nöronları ile bunu beyne aktarır. Şu andaki çip 16 elektrotlu olup, 250 üzerinde elektrot planlanmaktadır. Büyük yazı okumak ve yüzleri tanımak için, 1000 elektrot gerektiği düşünülmektedir (114, 115).

Dünyada çip geliştirmekle uğraşan Japon, Avustralya, Belçika, Kore araştırma guruplarının yanında, Almanya'da Intelligent Medical Implants (IMI), Zrenner Implant GmbH ve yukarıda sayılan Amerikan firmaları ve araştırmacıları çiplerin insan üzerinde uygulanması ve klinik çalışmaları içeren aktif bir program yürütmektedir. Bu guruplar ayrıca suprakoroidal transretinal stimulasyon, elektrotlara yöneltilmiş nöronlar ve uygulanması düşünülen karbon nanotüp mikroeletrod dizini gibi yeni konular üzerinde çalışmaktadır. Bu klinik çalışmalar çiplerin uzun dönem güvenlik, etkinlik, stabilite, retinanın çipe reaksiyonu ve gelişebilecek dejeneratif değişiklikler konusunda henüz devam etmektedir (105).

1.1.8.2.2. Kortikal İmplantlar

1960 yıllarında başlayan çalışmalar, 2000 yılında insanlarda televizyon kamerasını vizüel kortekse bağlayan kortikal elektrodu, 1999'da kedilerde uygulanan Utah elektrot dizini ile devam etmiştir. 2003-2005 yıllarında eğitilmiş maymun modellerinde uygulanan implantların sensoriyel algılamalar oluşturduğu da tespit edilmiş olup çalışmalar devam etmektedir.

1.1.8.3. Gen Tedavisi

Basit gen mutasyonlarında ve fotoreseptörler henüz yaşarken erken uygulanan gen tedavisi RP'de uygun bir tedavi seçeneğidir. Gen kullanılarak yapılan farmakolojik tedaviler, örneğin nörotrofik ajanlar için kullanılan gen tedavisi de bir seçenektir. Geni taşımak için çoğunlukla adenoassociated virus/AAV), adenovirus (AV), lentivirus (LV) gibi modifiye bir virüs kullanılır. Virütik olmayan stratejiler de incelenmektedir. Gen tedavisi için resessif RP'de gen replasmanı (augmentation), otozomal dominant tiplerde zararlı gen ürününü ribozom kullanarak yok etmeyi amaçlayan ribozom gen tedavisi, nörotrofik bir faktörü retinaya ulaştırmak için özellikle bir gen ürününü ortadan kaldırmak istediğimiz otozomal dominant tiplerde gene dayalı farmakolojik tedavi uygulanabilir. Tedavi ile retinadaki dejeneratif işlemin yavaşlaması yanında görmede artış da sağlanabilir. İlk kez 1996'da rd fare modelinde gen tedavisinin etkisi gösterildikten sonra, 2001 yılında RPE 65

mutasyonu olan, Leber konjenital amaroğlu Briard köpeğinde, adeno associated virus (AAV) kullanarak subretinal gen tedavisi uygulanmış, RPE hücrelerinin %20'si fonksiyonel proteini eksprese etmiş ve ERG'de belirgin düzelme ortaya çıkmıştır (116).

Güvenlik çalışmaları 2006'da maymunlar üzerinde uygulanmıştır. Daha sonra insanlarla ilgili Faz 1 çalışmaları başlamıştır. Ancak RP'deki heterojenite sebebi ile gen tedavisi her mutasyona özel olarak yönlendirilmelidir. ABD'de ve İngiltere'de, Leber konjenital amaroğlu ve RPE65 subtipi olan 6 hastada RPE65 geni replasmanı uygulanmış, yan etki görülmemiş, ERG'de düzelme olmamakla beraber görme ve görsel fonksiyonlarda artış izlenmiştir. Gen tedavisi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (117, 118).

1.1.8.4. Farmakolojik Tedavi

1.1.8.4.1. Nörotropik Faktörler

Fotoreseptörlerin canlı olup iyi fonksiyon yapamadığı durumlarda (RPE65 mutasyonu olan Leber konjenital amaroğlu gibi), fotoreseptörlerin, diğer retinal nöronların ve RPE hücrelerinin yaşamını uzatmak ve fonksiyonuna yardımcı olmak için, farmakolojik tedavi uygulanabilir. 1990'da RCS ratlarında subretinal ve intravitreal basic fibroblast growth factor (bFGF) uygulamaları ile nörotrofik ajanların fotoreseptörlerin dejenerasyonunu geciktirdiği görülmüş, 28 civarında madde bulunmuş, bunların içinde silier nörotropik faktor (CNTF), Axokine (CNTF'nin aminoasit modifikasyonu), lösemi inhibitor factor, brain derived growth factor (BDGF), rod-derived cone viability factor (RdCVF), pigment epitel-derived growth factor (PEDF) önem arz etmiş ve deneysel hayvan modellerinde retina dejeneresanslarının gelişmesini yavaşlatmışlardır. Bu maddelerin kombinasyon halinde kullanılmaları ve protez implantları ile beraber uygulanmaları düşünülebilir (105).

1.1.8.4.2. Retinaya İlaç Ulaşımı ve Enkapsüle Hücre Teknolojisi

Retinaya labil peptid ve proteinlerin ulaşması için intravitreal enjeksiyon, kısa süreli ve aşırı yüksek dozda ilacın göz içine verilmesine sebep olur. Terapötik nörotropinlerin, intravitreal veya subretinal gen tedavisi ile retinaya ulaştırılmaları,

daha uzun süreli bir depo-kaynak işlevini görür. Skleral yama bu problemlerin bir kısmı için faydalı olabilir. Yeni taşıma sistemlerinden birisi, Neurotech isimli Amerikan firmasının tescilli Encapsulated Cell Technology (ECT) isimli küçük kapsülüdür. Bu kapsül vitreusa verilir, içinde canlı hücre vardır, kapsül membranı immun sistem komponentlerinin içeri girişini engeller ancak üzerindeki küçük porlar oksijen ve besleyici maddelerin içeri girişini sağlar. Retina dejeneresansı tedavisi için NTC 200 hücreleri ve CNTF geni birlikte kullanılarak CNTF proteini oluşturulur. Kapsülle beraber göz içine verilen bu protein, porlardan geçerek retinaya ulaşır. Bu protein ile ilgili olarak 10 kişi üzerinde yapılan Faz 1 çalışmaları güvenli olduğunu göstermiş, hatta bazı olgularda görme artışı tespit edilmiş ve Faz II, Faz III çalışmalar başlamıştır. Teorik olarak, CNTF tedavisi, çalışmalar istenilen sonucu verirse, RP'nın bazı fomlarında ve Usher, Stargardt, Leber konjenital amaroğu gibi nadir RP'lerde ilk yaygın uygulanan tedavi seçeneği olma yolundadır (119, 120).

1.1.9. Antioksidan Savunma Sistemleri

1.1.9.1. Antioksidanlar

Hücrelerdeki tepkimelerden, radyasyona kadar birçok kaynaktan serbest radikaller ortaya çıkmakta ve bu radikaller hücrelerde mutasyon veya ölüme neden olabilmektedirler. Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücre ve organellerdeki membranlarda lipit peroksidasyonunu başlatmakta, ayrıca mitokondrial hasara neden olan kalsiyumun hücreye akın etmesine neden olmaktadır (121).

Antioksidanlar, oksidanların zararlı etkilerini ortadan kaldıran veya sınırlayan organizmada bulunan bazı enzim ve bileşikler veya dışarıdan alınan maddelerdir. Dokulardaki yerleşimlerine göre intrasellüler ve ekstrasellüler olmak üzere iki grupta incelenmekte olup fonksiyonlarına göre radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve varolan radikallerin dokudaki etkilerini ortadan kaldıran (E vitamini, ubikinon, retinoik asit, β karoten, glutatyon, ürat) antioksidanlar olarak iki kategoride sınıflandırılırlar. Antioksidanlar etkilerini altı değişik mekanizma ile göstermektedirler (122):

1. Ortamdaki oksijen ile tepkimeye girerek lokal oksijen seviyesini düşürebilirler
2. Metal iyonlarını bağlayarak radikal oluşum reaksiyonlarını önleyebilirler

3. Süperoksit ve hidrojen peroksid gibi reaktif oksijen türlerini uzaklaştırabilirler

4. Hidroksil, alkoksil, peroksil radikallerini uzaklaştırabilirler ve peroksitleri alkol gibi nonradikal ürünlere dönüştürerek etkilerini azaltabilirler

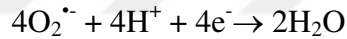
5. Başlamış olan oksidasyon zincirini kırabilirler. Serbest radikallerle reaksiyona girebilir ve yağ asidi zincirlerinden hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler

6. Membran lipidlerini etkileyerek peroksit oluşturabilen oksijeni baskılayabilirler (122).

1.1.9.2. Enzimler

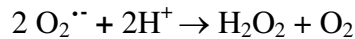
1.1.9.2.1. Sitokrom oksidaz

Mitokondrideki solunum zincirinin en son basamağında yer alan, bakır içeren bir transmembran proteindir ve yapısındaki demir iyonu tersinir olarak okside ve redükte olur. Bu enzim elektron taşıma sisteminde, süperoksit radikalının suya dönüşümünü de sağlamaktadır (123).



1.1.9.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD)

Serbest oksijen radikallerinin etkilerini azaltan birincil enzimdir. Süperoksit dismutaz, süperoksit molekülünün hidrojen peroksite ve suya dönüşümünü katalize eder (102,103)



Süperoksit dismutaz katalizörlük yaptığı bu reaksiyon ile süperoksitin hücrelere olan toksik etkilerini ortadan kaldırır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazla iken ekstrasellüler sıvılarda ise aktivitesi düşük olmaktadır (123).

1.1.9.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Sitozolda yer alan, merkezinde selenyumun yer aldığı tetramer yapılı bir bileşiktir (124). Fosfolipaz A₂ ile oluşan lipid hidroperoksidlerin yıkımını katalizleyerek membran lipitlerini ve hemoglobini oksidatif strese karşı korumaktadır. Glutasyon peroksidazın hidrojen peroksit ve hidroperoksitleri indirgemesi ortamda yeterli düzeyde glutasyon redüktaz ve NADPH mevcudiyetine bağlıdır. Glutasyon redüktaz, glutasyonunun okside formunu indirgemedi rol oynar. Glutasyon peroksidaz aktivitesindeki azalma şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır ki bu durum özellikle selenyum eksikliğinde belirginleşir. Vitamin E yetersizliği durumlarında membranları oksidatif strese karşı GSH-Px korumaktadır (126, 127)

1.1.9.2.4. Katalaz

Peroksizom, sitozol ve mitokondride bulunan bu enzim hem grubu içeren bir enzimdir ve süperoksit dismutaz ile oluşan hidrojen peroksiti su ve oksijene katalizörler. Ayrıca metil ve etil hidroperoksitin indirgenme reaksiyonlarında rol oynar. İnsan eritrositleri katalazdan zengin olup kandaki katalaz aktivitesi eritrositlerden kaynaklanmaktadır (126).

1.1.9.3. Enzim Olmayanlar

Lipid fazda bulunanlar: Vitamin E, karotenler, flavonoidler (128).

Sıvı fazda bulunanlar: Albumin, askorbik asit, bilirubin, ferritin, glutasyon, laktoferrin, melatonin, ürat ve sistein (128).

1.1.9.3.1. Karotenler (A Vitamini)

Karotenler başlıca narenciyeler olmak üzere yeşil sebze ve süt ürünlerinde bulunan son derece önemli non enzimatik antioksidandır. Retinol, retinal ve retinoik asit gibi çeşitleri vardır ama en etkili ve en yaygın türü β - karoten'dir (129).

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

- Flavinler ve porfirinler gibi triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama
- Singlet oksijeni baskılama
- Peroksit radikallerini temizleme

A vitamini immün sistemi güçlendirmekte, eksikliğinde kurugöz, konjonktival keratoz ve görme problemine neden olabilmektedir. A vitamininin antioksidan etki yanında hücre ve intrasellüler zar dayanıklılığının sağlanmasında, epitel dokunun bütünlüğünün sürdürülmesinde ve glikoprotein sentezinde de rolü olduğu bilinmektedir (129).

1.1.9.3.2. Askorbik Asit (C Vitamini)

Askorbik asit, yeşil sebze, meyve ve turuncgillerde bulunan suda eriyen esansiyel bir antioksidandır. Askorbik asit plazma ve hücre zarında bulunan major antioksidanlardan biridir. Güçlü bir indirgendir ve kollajen çapraz bağlarındaki lizin-prolin hidroksilasyonunu katalizleyerek kollajen sentezinde hayati rol oynar. Ferri demirin ferro demire indirgenmesinde de görev alır. Tokoferoller peroksidler ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerini redüklemektedir.

Askorbik asitin antioksidan olarak esas görevi lipit hidroperoksitlerinin oluşumunu engellemektir. Lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek lipidleri ve zarları oksidan hasara karşı korumaktadır (130).

1.1.9.3.3. E Vitamini

Tahıl, sebze ve süt ürünleri gibi geniş bir kaynak yelpazesi olan vitamin E en büyük yapılı vitamindir. Hepsi tokol türevi olan tokoferol ve tokotrienol türevlerini kapsayan bir vitamindir. Biyolojik olarak en yaygın ve en aktif E vitamini α -tokoferoldür. Güçlü bir antioksidan olarak, zarlarda bulunan fosfolipidlerin yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikallerin etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Yağda çözünen fakat suda çözünmeyen bu bileşikler oksijen bulunmayan ortamlarda asit ve ısıya dayanıklıdır (131).

Vitamin E LDL kolesterolü oksidasyona karşı korur, immün sistemi güçlendirir ve kolesterol yapımını azaltır. Tokoferoller, eşleşmemiş elektronlarla reaksiyona giren ve onları indirgeyebilen hidroksil grubu içermektedirler. Radikal reaksiyonları sırasında zincir kırıcı etkiye sahip olup glutatyon ve askorbik asit ile antioksidan etkileri artmaktadır (132, 133).

1.1.9.3.4. Flavonoidler

Lipidlerde çözünen antioksidan sınıfından olan flavonoidler bitkilerdeki kırmızı, mavi ve sarı renk pigmentlerini oluşturan flavan halkası içeren polifenollerdir. Portakal, limon, elma, karnabahar ve patatestte bulunurlar. Antioksidan, antiarteriyosklerotik, antienflamatuvar, antitümör, antitrombojenik, antiviral ve antiallerjik etkileri vardır. Flavonoidler flavonlar, flavonollar, flavanonlar, kateşinler, isoflavonlar ve antosiyanidinler olmak üzere altı sınıfa ayrılmaktadırlar ve sınıflama doymamışlık derecesi, hidroksil grubu sayısı ve üçlü karbon sayısının oksidasyon derecesine göre yapılmaktadır. Flavonoidler, lipid peroksidasyonunu serbest oksijen radikallerini bağlayarak ve radikal oluşturuvcu enzimleri inhibe ederek engellemektedirler. Flavonoidler tarafından temizlenebilen ve oluşumları inhibe edilebilen reaktif oksijen ürünleri; süperoksit anyonları, hidroksil radikali, alkol radikali, peroksil radikali ve perhidroksi radikalidir (134).

1.1.9.3.5. Glutasyon (GSH)

Glutasyon tripeptid (L- γ -glutamil-L-sisteinil-glisin) yapısında, oksidatif strese karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynayan antioksidan ve indirgeyici bir ajandır. Birçok dokuda üretilen glutasyon, redoks döngüsünde substrat olarak rol alır. Suda çözünebilen glutasyonun birçok metabolik görevi vardır (135).

Glutasyonun hücre içi düzeyi γ -glutamil transpeptidaz, glutasyon sentetaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktazı içeren enzim kompleksi tarafından dengede tutulmaktadır (136)

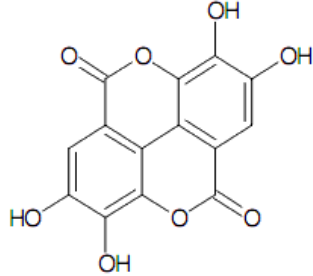
Redükte glutasyon çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenerek, okside glutatyon (GSSG) dönüşmektedir. Yükseltgenmiş glutatyonun tekrar indirgenmesi NADPH'ın da rol aldığı bir reaksiyonla olmakta ve bu şekilde dokularda GSSG/GSH oranı düşük tutulmaktadır (137).

1.1.9.3.6 Ellajik asit

1.1.9.3.6.1. Ellajik Asit'in Kimyasal Yapısı

Ellajik asit (EA), doğada birçok bitkide bulunan zayıf asitli bir polifenolik bileşiktir. Ellajik asit'in kimyasal yapısı hidrofilik kısmı temsil eden dört fenolik ve iki lakton gruplarından oluşmaktadır. Ellajik asit kimyasal yapısı nedeniyle ısıya

oldukça dayanıklıdır. Ellajik asitin suda çözünürlüğü düşüktür (138), metanol, etanol ve dimetil sülfoksitte ise iyi çözünmektedir (139). Şekil 22’de Ellajik asit’in kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 22. Ellajik Asit kimyasal yapısı

1.1.9.3.6.2. Ellajik Asit’in Biyolojik Aktivitesi

Birçok çalışma ellajik asidin antioksidan, antikanserojenik, antiöstrojenik ve antimutajenik etkilerinin bulunduğunu göstermektedir (140,141). Ellajik asit’in dokularda serbest radikal oluşumunu inhibe ettiği, varolan serbest radikalleri süpürdüğü ve DNA hasarını engelleyici fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Ellajik asit ayrıca lipidleri ve hücre zarını oksidasyona karşı koruyucudur. Ellajik asit’in suda çözünürlüğünün düşük olması, organik çözücülerde daha iyi çözünmesinden dolayı iyi bir lipofilik antioksidan gibi rol oynayabileceği düşünülmektedir (142, 143).

1.1.9.3.6.3. Ellajik Asit’in Etki Mekanizması

Ellajik asit, DNA’ya kanserojen maddelerin bağlanmasını engelleyerek, protoonkogenlerin inhibisyonunu ve kanserojen detoksifikasyonunu arttırarak ve kanserojenlerin reaktif formları ile kompleks oluşturarak etkisini göstermektedir. Ayrıca Ellajik asit polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), mikotoksinler ve nitrozaminlerin kanserojen etkilerini de inhibe etmektedir. Ellajik asit insan vücudunda östrojen reseptörünün alt tipleri olan ER α ve ER β yoluyla östrojenik ve antiöstrojenik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (143, 144).

Ellajik asit GİS’de kanserojen maddelerin emilini inhibe etmekte ve atılımını da arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda Ellajik asit’in prokanserojenlerin aktivasyonunu azalttığı ve sitokrom P450 miktarını düşürdüğü gözlenmiştir (145).

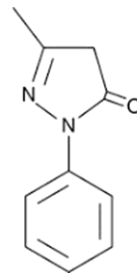
Çalışmalarda Ellajik asit'in DNA replikasyonunda, transkripsiyonunda, rekombinasyonda, hücre çoğalması ve farklılaşmasında önemli olan Topoizomera I ve II enzimlerinin çalışmasını önleyerek tümör hücresinin gelişimini engellediği de gösterilmiştir (146).

Polisiklik aromatik hidrokarbonların kanserojen etkilerinin inhibisyonunun fenolik asitler içerisinde en fazla Ellajik asit ile sağlandığı görülmüştür (145). Ayrıca Ellajik asit'in bir çeşit mikotoksin olan aflatoksinin DNA'ya bağlanmasını ve onun mutajen etkisini azaltıcı özelliği de mevcuttur (147). Kanser genetiğinde son derece önemli bir eşik olan mutasyon oluşumu ortamda yeterli mutajen oksidan varlığıyla kolaylıkla aşılabılır. Ellajik asit ise bu prosesi engelleyebilen kuvvetli bir antioksidandır (148). Yapılan bir çalışmada kataraktı önleyici etkisi olduğu da gösterilmiştir (149).

1.1.9.3.7. Edaravon

1.1.9.3.7.1. Edaravon'un Kimyasal Yapısı

Edaravon (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-one, MCI-186) hidrazin ve 3-oksopropiyonik asit esterlerinin kondansasyonu ile sentezlenmektedir. Amin, keto ve enol formları olmak üzere üç tatomerik forma sahiptir. Edaravon'un pKa değeri 7,0'dır. Edaravon'un yaklaşık %50'si fizyolojik pH'ta anyonik bir formda bulunur; bu form beyindeki ROS ile kuvvetli reaksiyona girebilir (150). Edaravon hem suda hem yağda etkinlik gösteren düşük moleköl ağırlıklı bir ajandır (151, 152). Bu şekilde hem vitamin C hem de vitamin E özelliklerine sahip olup, diğer serbest radikal kurtarıcılarının aksine kan beyin bariyerini kolaylıkla geçebilir. Bu özelliğinin nöroprotektif etkisinde önemli olduğu belirtilmiştir (26). Şekil 23'te Edaravon'un kimyasal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 23. Edaravon kimyasal yapısı

1.1.9.3.7.2. Edaravon'un Biyolojik Aktivitesi

Edaravon yarı ömrü 5.4 dakika olan serbest radikal tutucudur. Antioksidatif, antiapoptotik, nöroprotektif ve anti-enflamatuvar etkileri bildirilmiştir (25, 26).

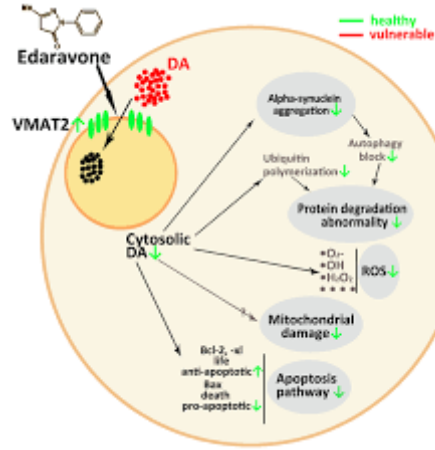
Edaravon, iskemik inme ve ALS gibi dejeneratif nörolojik bozukluklar gibi birçok serebral vasküler bozukluktan kaynaklanan nöronal hasar / ölüm ile yüksek oranda ilişkili olan serbest hidroksil radikallerini ve peroksinitrit radikallerini temizler (152). Nöroprotektif ve antioksidan etki gösterir. Serbest radikal oluşumu ve oksidatif strese karşı hücre zarı hasarı yoluyla lipid peroksidasyonunun kapsamını sınırlandırarak hastalığın ilerlemesini geciktirir (154). İskemik inme durumunda bölgesel kan akımı ve serebral ödemdeki azalmayı tersine çevirdiği belirtilmiştir (153).

1.9.3.7.3. Edaravon'un Etki Mekanizması

Nootropik ve nöroprotektif etkilerini, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek ve serbest radikalleri temizleyerek gösterir. Edaravon prostasiklin üretimini artırır, hidroksil radikallerini yakalayarak araşidonik asidin lipoksijenaz metabolizmasını azaltır ve allokstanın neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve aktif oksijen türlerini bastırır (26). Nöronlar, endotel hücreleri ve miyokard hücreleri de dahil olmak üzere çok çeşitli hücreleri hedefler.

Edaravon'un direkt olarak hidroksil radikalini kurtarıp, lipoksijenaz aktivitesini inhibe etmesi nedeniyle kardiyak iskemi reperfüzyon hasarını önlemede önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür. Birçok çalışmada Edaravon'un beyin ve karaciğer hasarında iskemi başladığı zamanda bile verilmesinin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş (155). Edaravon'un antioksidatif etkisinin olduğu ve apoptozisi azalttığı belirtilmiştir (151,154). Edaravon iskemi reperfüzyon beyin hasarında Bax/Bcl 2 bağımlı antiapoptotik mekanizmayla nöroprotektif etki gösterir (155). Deneysel retina dekolmanında Bcl 2 ekspresyonunu artırarak fotoreseptör hücre ölümünü düzenlediği gösterilmiştir (156). Edaravon'un antiapoptotik etkisini yanı sıra antienflamatuvar etkisi de bulunmaktadır (157).

Yapılan deneysel hayvan çalışmalarında, Retinitis pigmentosa modellerinde Edaravon'un oksidatif stresi azaltarak dış nükleer tabakadaki incelmeyi ve apoptoza uğrayan hücre sayısını azalttığı gösterilmiştir (27).



Şekil 24. Edaravon etki mekanizması

1.1.10. Deneysel Retinitis Pigmentosa Modelleri

1.1.10.1. Herediter Hayvan Modelleri

1951’de Brückner ve ark. bir fare türünde ciddi retinal dejenerasyon farkedip bunlara rd (retinal dejenerasyon) faresi adını vermişlerdir (158). Uzun dönemler OR RP çalışmalarında bu fareler kullanılmıştır. Sonraki çalışmalarda rod fotoreseptörlerin cGMP fosfodiesteraz genindeki nonsense mutasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (115, 160). İlerleyen yıllarda sadece kemirgenlerde değil kedi (161-163), köpek (164,165) ve tavuk (166, 167) gibi diğer hayvanlarda da herediter retinal defektler tanımlanmıştır. Diğer bir model olan rds (yavaş retinal dejenerasyon) faresi hem rod hem de kon fotoreseptör hücrelerinin yapısal proteini kodlayan rds / periferin genindeki bir ekleme mutasyonu taşır (168). Sonuç olarak, homozigot rds farelerindeki rod ve kon fotoreseptör dış bölümleri hiç gelişmez ve fotoreseptör çekirdekleri, postnatal 21. günde apoptoz sonucunda ölmeye başlar ve 12 aylıkken tüm dış nükleer tabakası (ONL) ortadan kalkar (169). İlginçtir ki, fotoreseptör hücre kaybı paterni, rds faresinde periferden merkeze doğruyken, rd farelerde merkezi retinada başlar ve periferde doğru ilerler.

1.1.10.2. Transgenik Hayvan Modelleri

1980’de Bhattacharya ve ark. X’e bağlı RP hatalarında hastalıktan sorumlu gen haritasını keşfetmişlerdir. İleriki yıllarda diğer kalıtsal RP tiplerinin gen haritalarındaki mutasyonlar tespit edilmiştir (170). İlk olarak rodopsin mutasyonu

(171, 172) sonraki yıllarda da fosfodiesteraz, 4 peripherin (173) ve rod outer segment protein 1 (ROM-1) (174) mutasyonları gibi birçok mutasyon tanımlanmıştır. 1981’de ilk defa tavşandaki globin genini fare embriyosuna transplante ederek transgenik hayvan oluşturmuşlardır (175).

RP’deki mutasyonların belirlenmesiyle birlikte transgenik hayvan modeli RP çalışmalarında da çok kullanılmış ve kullanılmakta olan bir modeldir. Fare ve ratların yanı sıra (176-178) domuzlardaki kon dağılımının insanlardaki dağılımına benzemesi nedeniyle domuzlarda da RP transgenik hayvan modeli çalışılmıştır (179).

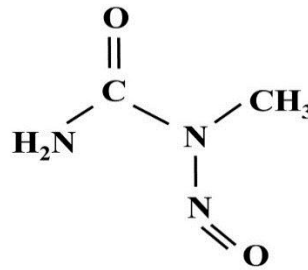
1.1.10.3. İndüklenebilir Hayvan Modelleri

1.1.10.3.1. Işıkla indüklenen Hayvan Modeli

1960'ların başlarında ilk olarak Werner Noëll ışığın kalıtsal retinal dejenerasyonuna etkisini araştırmış ve devam eden çalışmalarda ışığın görsel hücreler ve retina pigment epiteline hasar verdiğini ortaya koymuştur (180). Sonraki yıllarda yapılan transgenik mutasyonlarla da ışığa maruz kalmanın kalıtsal retinal dejenerasyonlu hastalarda fotoreseptör harabiyetini arttırdığı gösterilmiştir (181, 182)

Noëll, vahşi ratları ışığa maruz bırakarak ilk indüklenebilir hayvan modelini geliştirmiştir. Hayvanlara eksternal zarar verilerek model oluşturmanın avantajları mevcuttur. Hayvanlar retinal gelişme tamamlayıncaya kadar beklenebilir ve ışığın yoğunluğuna göre retinal hasarın boyutu ayarlanabilir (183,184). Bu yüzden araştırmalar için uygun bir model olarak görülmüştür (185).

1.1.10.3.2. N-Metil N-Nitrözüre (MNU) ile İndüklenen Hayvan Modeli



Şekil 25. MNU yapısı

N-Metil-N-Nitrözüre (MNU) ile oluşturulan hayvan modeli retinal dejenerasyon uzun zamandır yoğun olarak çalışılmaktadır. MNU guanin

metilasyonuna neden olan ve farklı tümörlerin oluşumunu tetikleyen alkilleyici bir ajandır (186, 187). Herald ve ark. MNU'nun fotoreseptör hücre kaybına neden olduğunu ortaya koymuştur (188). MNU ile retinal dejenerasyonda apoptozis indüklenip, kaspazların aktivasyonu ile fotoreseptör hasarı ortaya çıkmaktadır (189, 190). Aynı zamanda kaspaz bağımsız apoptozisin de mevcut olduğu gösterilmiştir (191). MNU'ya bağlı sadece fotoreseptör hücre ölümü olmakta, diğer retinal yapılar ve hücreler zarar görmemektedir (192). Yapılan çalışmalarda MNU etkisiyle dış nükleer tabakada dramatik incelmeye olduğu, diğer tabakalarda herhangi bir dejenerasyonun olmadığı gösterilmiştir (193). MNU verilen hayvanlarda RP benzeri etkiler görülmesinden ötürü, MNU ile indüklenmiş hayvan modeli, RP modeli için çalışılmış ve çalışılmaya devam edilen kolay uygulanabilir ve hızlı sonuç veren bir modeldir (194). Özellikle tüm vücutta var olup sadece fotoreseptörleri etkilediği için gen uçbirleştirme (gensplicing) mutasyonlarının neden olduğu RP tipleri için MNU modeli ideal model olarak düşünülmüştür (195).

1.1.10.3.3. Diğer modeller

Vitreusa demir implantasyonu ve intravitreal L-ornithine hidroklorid enjeksiyonu diğer indüklenebilir hayvan modellerindendir (185, 196).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde yetiştirilen 49 adet Sprague Dawley cinsi, ortalama 250 gram ağırlığında 6-8 haftalık ratlar kullanıldı. Ratlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde sirkadiyen ritme uygun olarak, 23 °C oda ısısında, kafesler içinde, sürekli serbest yem ve su verilmek suretiyle beslendi.

2.1. Retinitis Pigmentosa Oluşturulması

Ratlara intraperitoneal 60mg/kg MNU verilerek Retinitis pigmentosa modeli oluşturuldu.

2.2. Gruplandırma

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

Grup I (Kontrol grubu) (n=7); Herhangi bir işlem yapılmadı ve tedavi verilmedi. Yedinci günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup II (İndüksiyon grubu, Sham 1) (n=7); Bu gruptaki hayvanlara intraperitoneal 60 mg/kg N-Metil-N-Nitrözüre enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 30 dakika (dk) önce ve enjeksiyon sonrası günlük 100 mg/kg intraperitoneal PBS (Phosphate Buffered Saline pH 7.2) solüsyonu uygulandı. Üçüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi

Grup III (İndüksiyon grubu, Sham 2) (n=7); Bu gruptaki hayvanlara intraperitoneal 60 mg/kg N-Metil-N-Nitrözüre enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 30dk önce ve enjeksiyon sonrası günlük 100 mg/kg intraperitoneal PBS (Phosphate Buffered Saline pH 7.2) solüsyonu uygulandı. Yedinci günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup IV (İndüksiyon + Edaravon grubu) (n=7); Bu gruptaki hayvanlara intraperitoneal 60 mg/kg N-Metil-N-Nitrözüre enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 30dk önce, hemen sonra ve günlük 2x3 mg/kg intraperitoneal Edaravon enjeksiyonu uygulandı. Üçüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup V (İndüksiyon + Edaravon 2 grubu) (n=7); Bu gruptaki hayvanlara intraperitoneal 60 mg/kg N-Metil-N-Nitrözüre enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 30dk önce, hemen sonra ve günlük 2x3 mg/kg intraperitoneal Edaravon enjeksiyonu uygulandı. Yedinci günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup VI (İndüksiyon + Ellajik asit grubu) (n=7)

Bu gruptaki hayvanlara intraperitoneal 60 mg/kg N-Metil-N-Nitrözüre enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 30dk önce, hemen sonra ve günlük 1x200 mg/kg intraperitoneal Ellajik asit enjeksiyonu uygulandı. Üçüncü günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

Grup VII (İndüksiyon + Ellajik asit 2 grubu) (n=7)

Bu gruptaki hayvanlara intraperitoneal 60 mg/kg N-Metil-N-Nitrözüre enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyondan 30dk önce, hemen sonra ve günlük 1x200 mg/kg intraperitoneal Ellajik asit enjeksiyonu uygulandı. Yedinci günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi.

2.3. Göz Dokularının Alınması

Hayvanlara analjezi ve anestezi verilerek dekapite edildikten sonra gözler enükle edilmiştir. Posterior segmentten retinal tabaka diseksiyonu yapıldı ve sağ gözler ELISA yöntemiyle Bax ve Bcl 2 değerlerinin belirlenmesi için biyokimya laboratuvarına, sol gözler ise H&E boyama ile retinal tabakaların kalınlık ölçümü ve immunohistokimyasal olarak rodopsin boyanması için patoloji, apoptozisin TUNEL (terminal deoxyribonucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin end labeling) işaretleme tekniği ile boyanarak gösterilmesi için histoloji laboratuvarına gönderildi.

2.4. TUNEL Boyama İle Apoptotik Hücre Taraması

Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi.

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05%'lik proteinase K ile 10 dakika

inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37° C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Perosidaz ile 30 dakika muamele edildi. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler görüntülendi. Harris hematoksilen ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. TUNEL Boyama Prosedürü

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15 dakika
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1:500 d ilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (%3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) + Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3X5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5 dakika
22	Kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatma.	

2.5. Rodopsin İmmunohistokimya Boyanması

İmmünohistokimyasal boyama için retina ve OD'den geçen, dört mikron kalınlığında kesitler parafin bloklardan hazırlandı. Kesitler rodopsin kiti (LifeSpan BioSciences, Seattle, ABD, (1/500)) kullanılarak otomatik immünohistokimyasal boyanma cihazı (Ventana, Benchmark XT) yardımıyla boyandı. Preparatlar özel kapatma maddesi ile kapatılarak Olympus marka ışık mikroskopu ile randomize olarak incelendi. Aynı mikroskopun fotoğraf ataçmanı ile dokuların X40 büyütmede dijital fotoğrafları çekildi.

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. 'Histoskor = Yaygınlık x Şiddet' olarak hesaplandı.

2.6. Bax- Bcl 2 Değerlerinin Ölçümü

Rat retina doku supernatantlarında; B-Cell Leukemia/Lymphoma 2 (Bcl2) düzeyleri, (Rat Bcl2; Katalog no: SEA778Ra Cloud – Clone Corp., USA), Elisa yöntemiyle kit kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Rat Bcl2 elisa kitinin ölçüm aralığı: 78-5000 pg/mL, Intra-Assay: CV değeri <10%, Inter-Assay: CV değeri <12 % sensitivitesi 28 pg/mL idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazları (Awareness Technology Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları dilüsyon faktörü ile çarpılarak pg/mg olarak belirtildi.

Rat retina doku supernatantlarında; Bcl2 Associated X Protein (Bax) düzeyleri, (Rat Bax; Katalog no: SEB343Ra Cloud –Clone Corp., USA), Elisa yöntemiyle kit kataloglarında belirtilen çalışma prosedürlerine uygun olarak çalışıldı. Rat Bax elisa kitinin ölçüm aralığı: 12,5-800 pg/mL, Intra-Assay: CV değeri <10%, Inter-Assay: CV değeri <12 % sensitivitesi 4,8 pg/mL idi. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50(BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazları (Awareness Technology Instruments, USA) kullanıldı. Test sonuçları dilüsyon faktörü ile çarpılarak pg/mg olarak belirtildi.

2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 25,0 paket programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verildi. Her değişken için normallik ve varyansların eşitliği varsayımlarının sağlanıp sağlanmadığı test edildi. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) Testi kullanıldı, varyansların eşit olup olamama durumuna göre ise LSD ve Games Howell test istatistiklerinden yararlanılarak p değerinin 0.05'in altında olması anlamlı olarak kabul edildi.



3. BULGULAR

Deney süresince deneklerin genel görünüm ve hallerinde değişiklik gözlemlenmemiştir.

3.1. TUNEL Boyama Sonuçları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; diğer gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, diğer tüm gruplarda TUNEL boyama indeksi istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği sham 2 (PBS 7.gün)'de istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği Edaravon 3. günde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği Ellajik asit 3.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği Edaravon 7.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği Ellajik asit 7.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($p<0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde Edaravon 7.günde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Ellajik asit 3.gün ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde Ellajik asit 7.günde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde Ellajik asit 3.günde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 7.gün ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde Ellajik asit 7.günde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).

Tablo 2. Apoptotik İndeks (%)

Grup	Ort SD ± SD
Kontrol	0,57 ± 0,53
Sham 1 (PBS-3.gün)	6,85 ± 0,89 ^{a*}
Sham 2 (PBS-7.gün)	19,57 ± 1,61 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	1,71 ± 0,48 ^{a*b*}
Edaravon-7.gün	2,42 ± 0,78 ^{a*c*}
Ellajik Asit-3.gün	1,42 ± 0,53 ^{a*b*}
Ellajik Asit-7.gün	2,42 ± 1,13 ^{a*c*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1 (PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2 (PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında

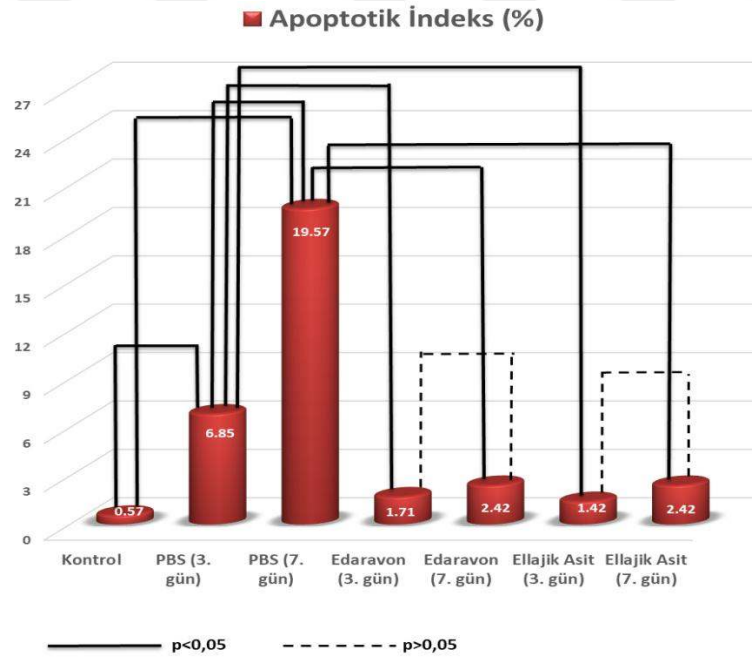
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

(*p<0.05)

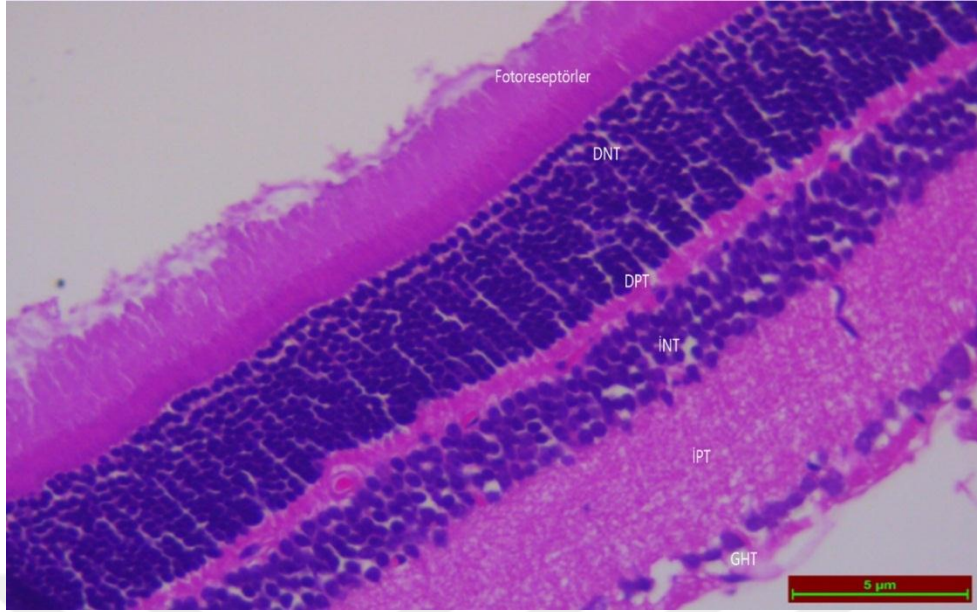


Şekil 26. Gruplara göre apoptotik indeks yüzdelerinin karşılaştırılması

3.2. Retinal Hematoksilen-Eozin ile Boyanma Sonuçları

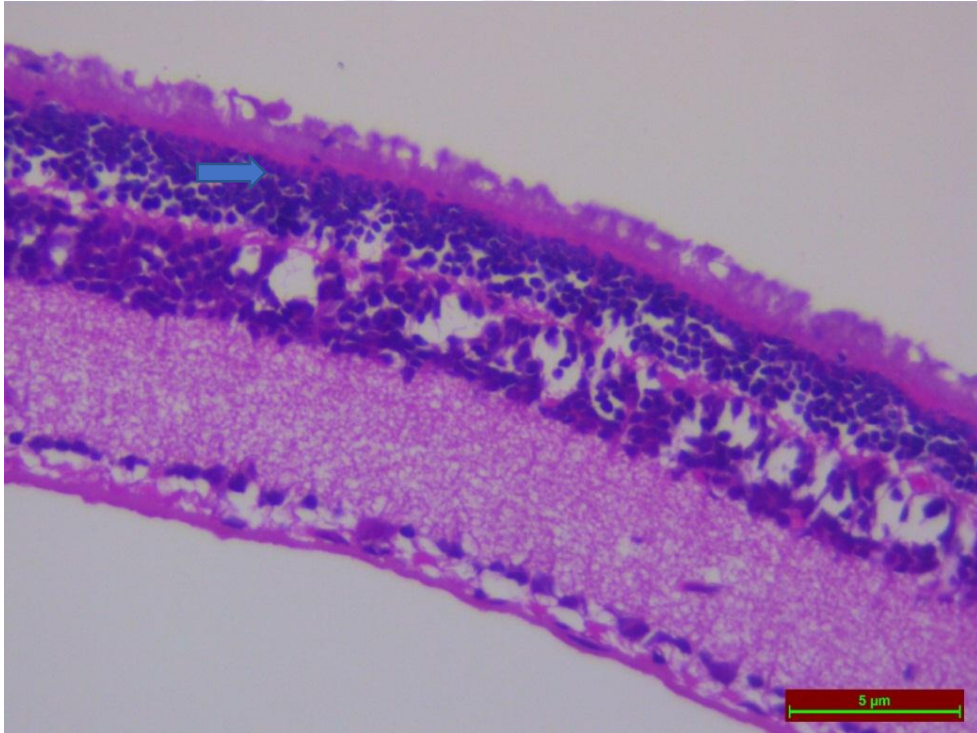
3.2.1. Dış Nükleer Tabaka Kalınlık Ölçümleri

Yapılan Hematoksilen – Eozin boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; retina dokusu kontrol grubunda normal görünümdeydi.



Şekil 27. Kontrol grubu Hematoksilen-Eozin boyanması

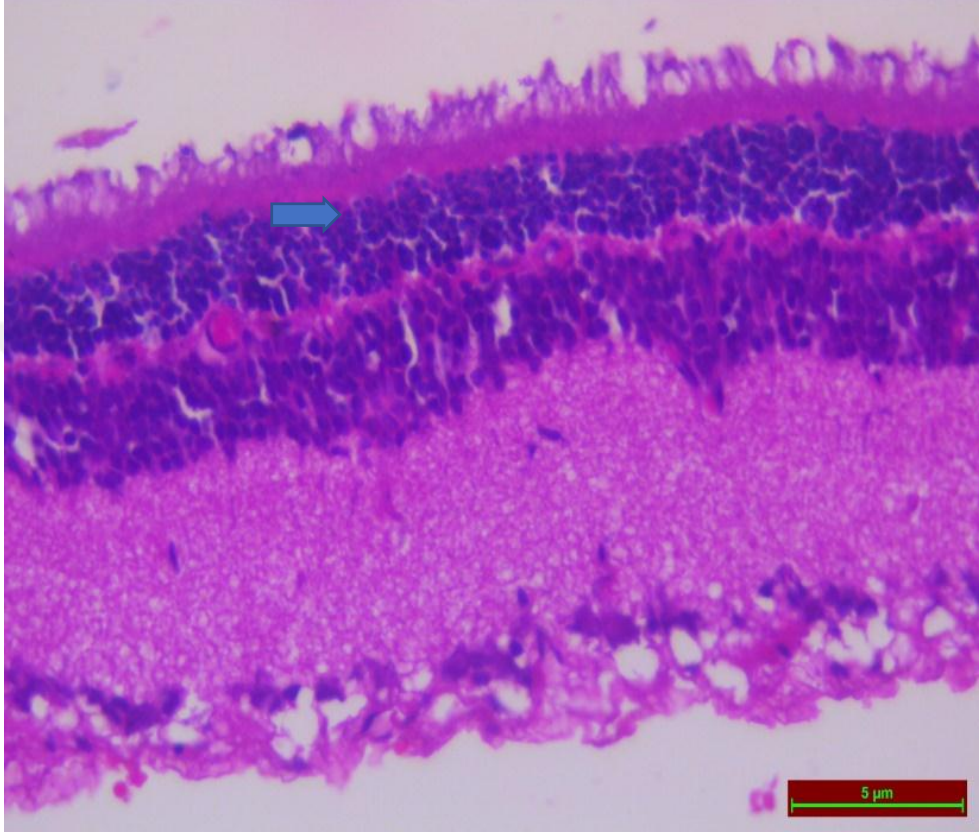
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda retinal dış nükleer tabaka kalınlığı istatistiksel anlamlı derecede incelmisti ($p<0.05$).



Şekil 28. Sham 1 Hematoksilen-Eozin boyanması

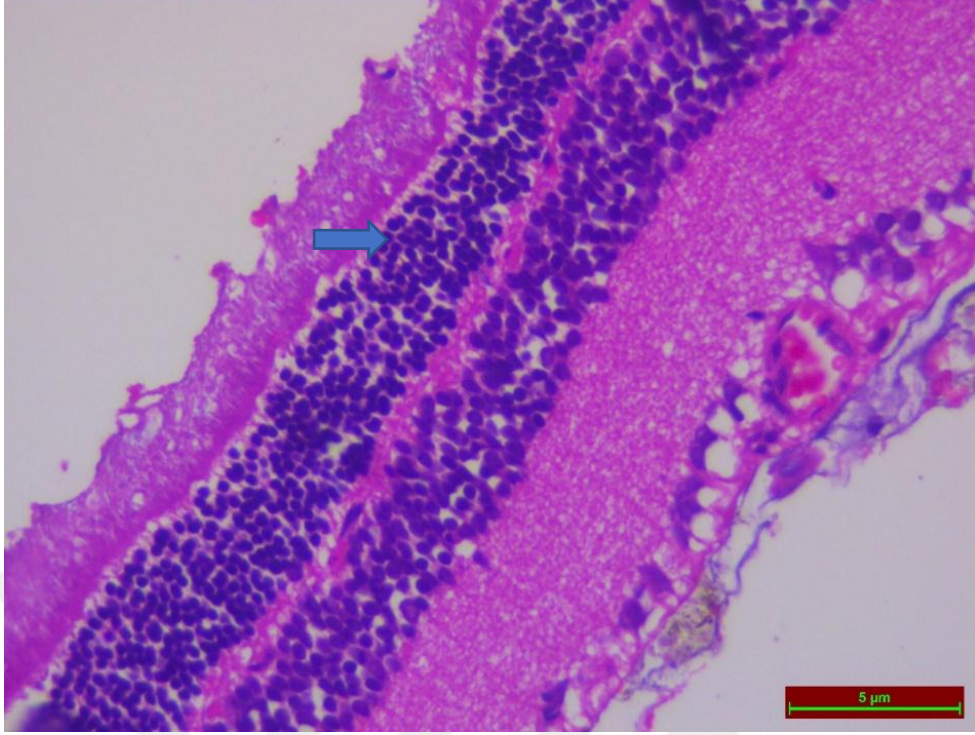
Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de retinal dış nükleer tabaka istatistiksel olarak anlamlı derecede incelmisti ($p<0.05$).

Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 3.günde dış nükleer tabaka istatistiksel olarak anlamlı derecede kalındı ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.günde dış nükleer tabaka kalınlığında artış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).



Şekil 29. Ellajik asit 3.gün Hematoksilen-Eozin boyanması

Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.günde dış nükleer tabaka istatistiksel olarak anlamlı derecede kalındı ($p<0.05$).



Şekil 30. Edaravon 7.gün Hematoksilen-Eozin boyanması

Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde dış nükleer tabaka kalınlığında artış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.günde dış nükleer tabaka kalınlığı istatistiksel olarak anlamlı derecede incelmisti ($p<0.05$). Ellajik asit 3.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde dış nükleer tabaka kalınlığı istatistiksel olarak anlamlı derecede incelmisti ($p<0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.günde dış nükleer tabaka kalınlığı istatistiksel olarak anlamlı derecede incelmisti ($p<0.05$). Edaravon 7.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde dış nükleer tabaka kalınlığı istatistiksel olarak anlamlı derecede incelmisti ($p<0.05$).

Tablo 3. Dış Nükleer Tabaka Kalınlığı (µm)

Grup	Ort SD	±	SD
Kontrol	48,84	±	2,08
Sham 1 (PBS-3.gün)	33,66	±	3,65 ^{a*}
Sham 2 (PBS-7.gün)	24,39	±	2,88 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	39,81	±	0,67 ^{a* b*}
Edaravon-7.gün	37,05	±	0,90 ^{a*c*d*}
Ellajik Asit-3.gün	35,22	±	2,87 ^{a*d*}
Ellajik Asit-7.gün	26,13	±	1,39 ^{a*c*f*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1 (PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2 (PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında

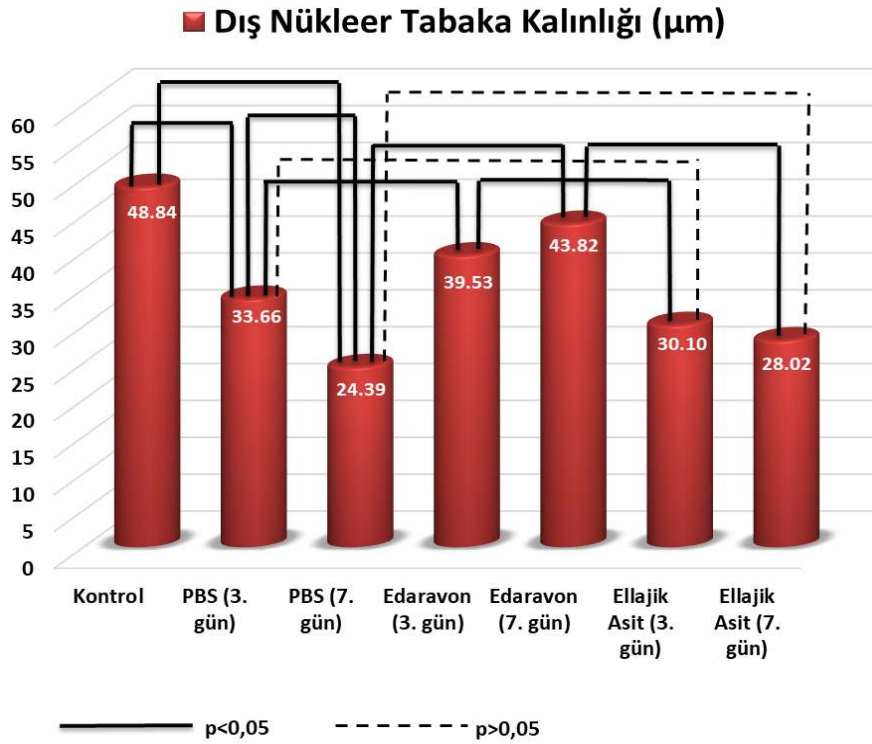
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

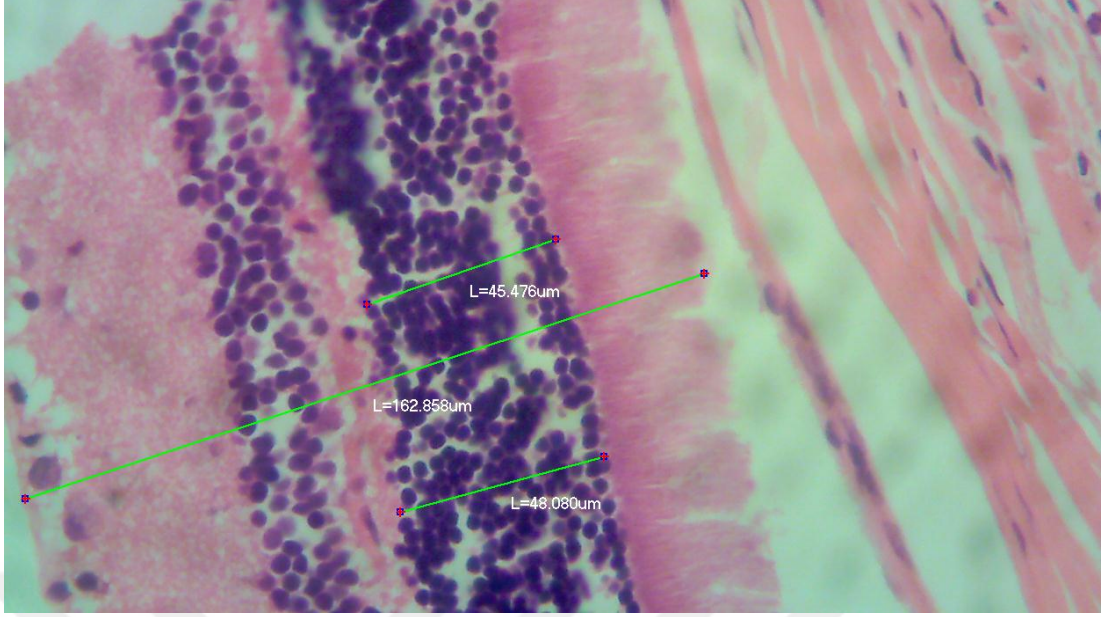
(*p<0.05)



Şekil 31. Gruplara Göre Dış Nükleer Tabaka Kalınlıklarının Karşılaştırılması

3.2.2. Dış Nükleer Tabaka/ Total Retinal Kalınlık Oranı

Yapılan Hematoksilen – Eozin (H&E) boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; dış nükleer tabaka kalınlığı (DNTK) / total retinal kalınlık(TRK) ölçümleri sonucunda; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplarda DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü (p<0.05).



Şekil 32. Dış Nükleer Tabaka/ Total Retinal Kalınlık Ölçümü

Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 3.günde DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.günde DNTK/TRK oranında artış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.günde DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde DNTK/TRK oranında artış olmasına rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.günde DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p<0.05$). Ellajik asit 3.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p<0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.günde DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p<0.05$). Edaravon 7.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde DNTK/TRK oranı istatistiksel olarak anlamlı düşüktü ($p<0.05$).

Tablo 4. DNT/Total Retinal Kalınlık Yüzdesi (%)

Grup	Ort SD	±	SD
Kontrol	%28,23	±	1,50
Sham 1 (PBS-3.gün)	%21,83	±	2,19 ^{a*}
Sham 2 (PBS-7.gün)	%15,55	±	1,97 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	%24,48	±	1,06 ^{a*b*}
Edaravon-7.gün	%23,39	±	3,23 ^{a*c*d*}
Ellajik Asit-3.gün	%22,01	±	2,18 ^{a*d*}
Ellajik Asit-7.gün	%17,43	±	1,38 ^{a*c*f*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1 (PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2 (PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında

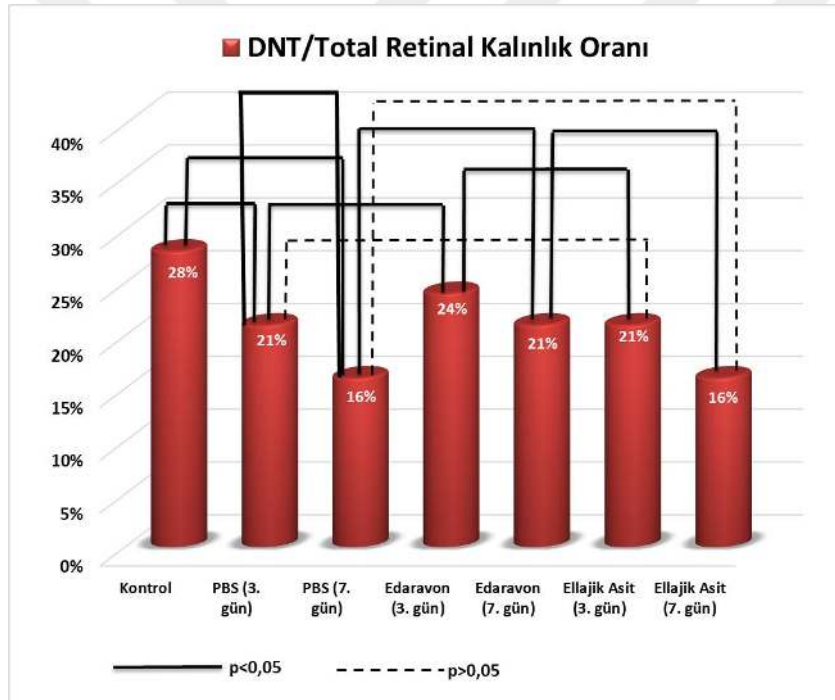
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

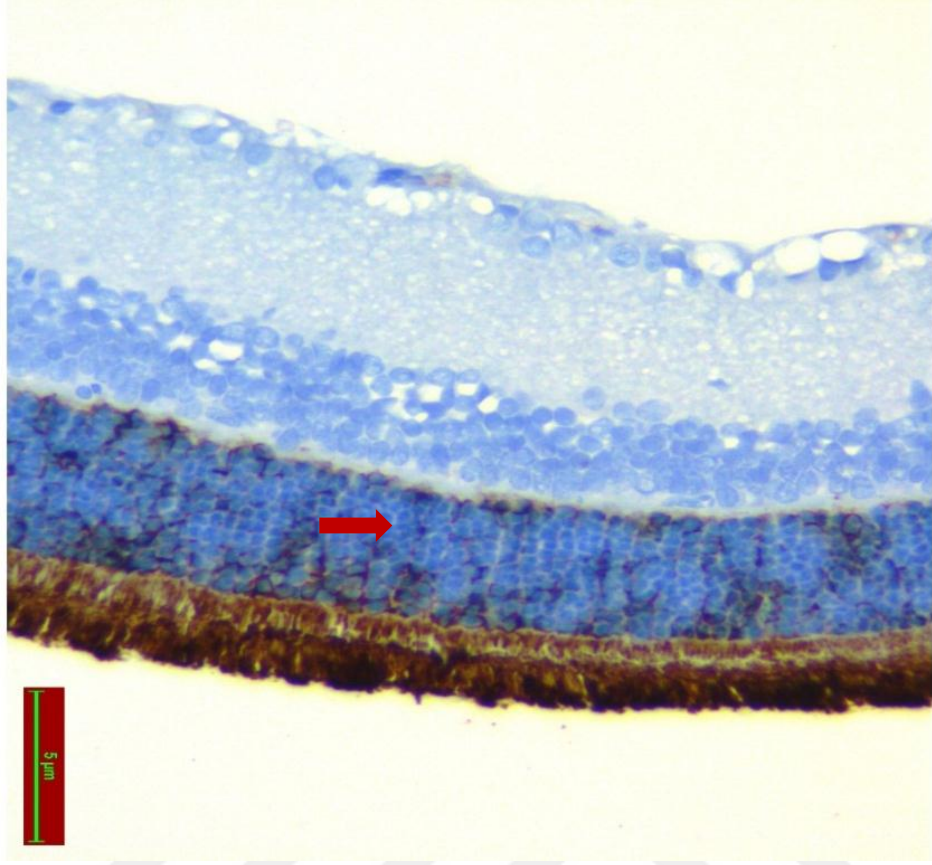
(*p<0.05)



Şekil 33. Gruplara Göre Dış Nükleer Tabaka/ Total Retinal Kalınlık Oranlarının Karşılaştırılması

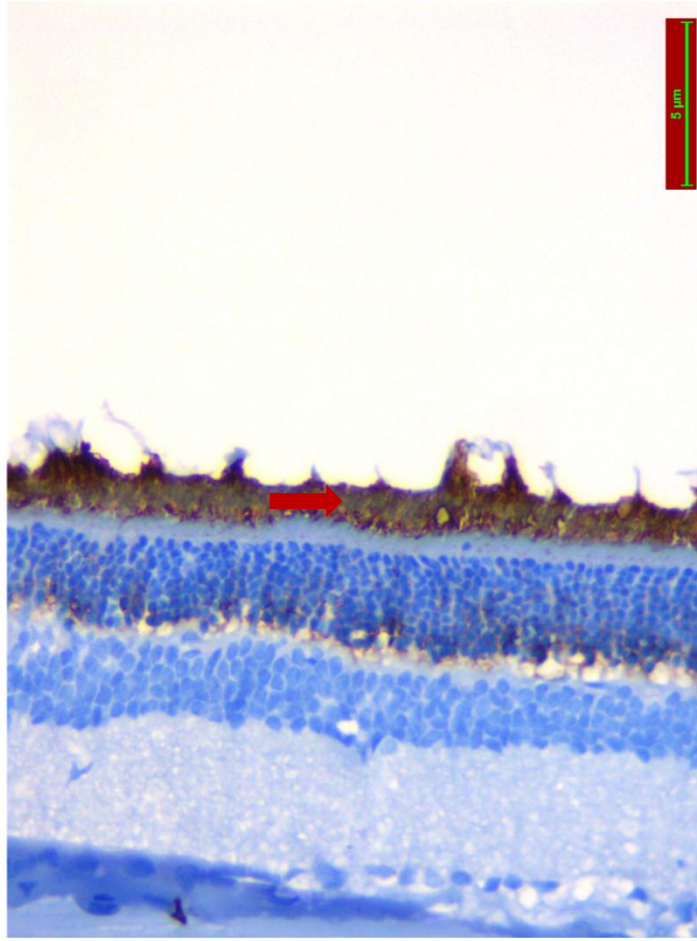
3.3. Retinal Rodopsin Boyanma Sonuçları

Rodopsin için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; rodopsin immünreaktivitesi kontrol grubunda fotoreseptör hücre tabakasında belirgin olarak izlenmiştir.



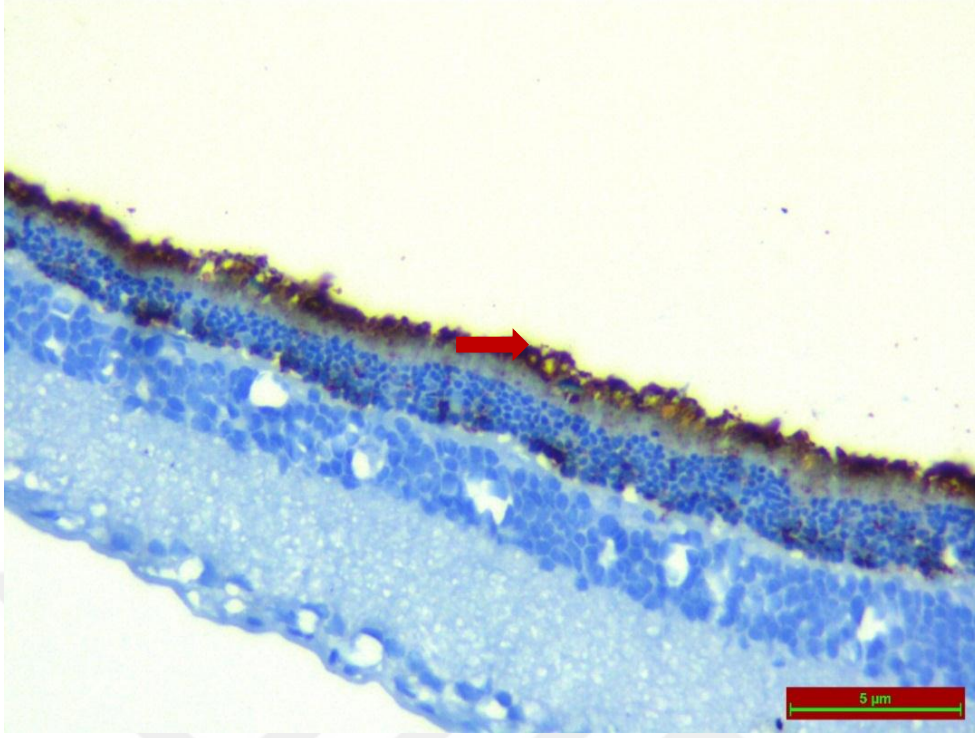
Şekil 34. Kontrol grubu rodopsin boyanması

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda rodopsin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$).



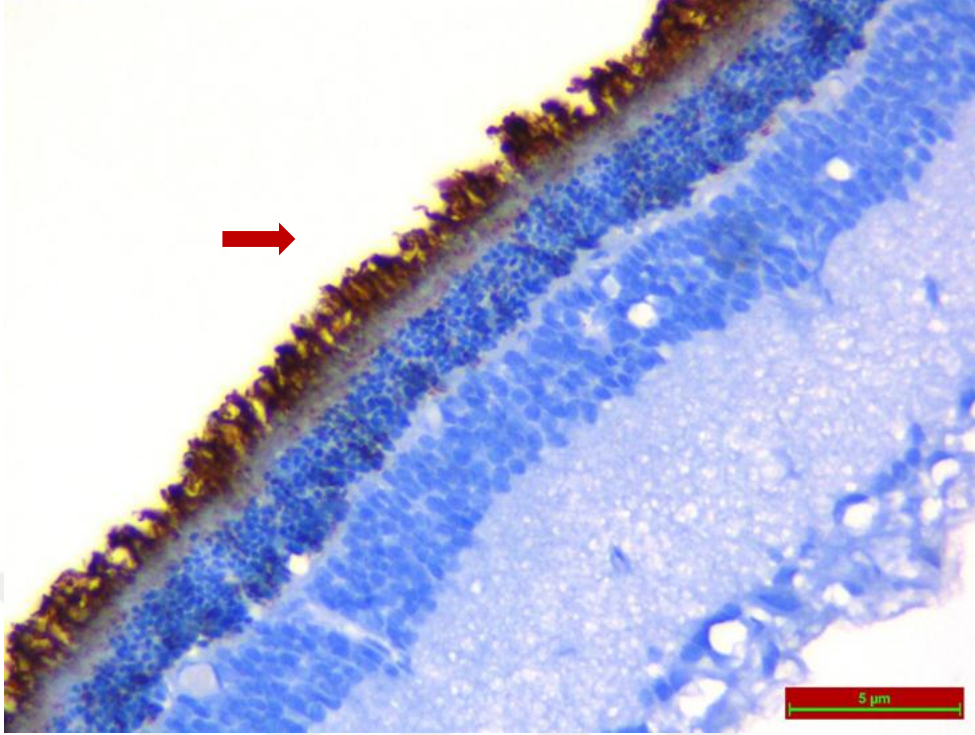
Şekil 35. Sham 1 rodopsin boyanması

Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de rodopsin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$).



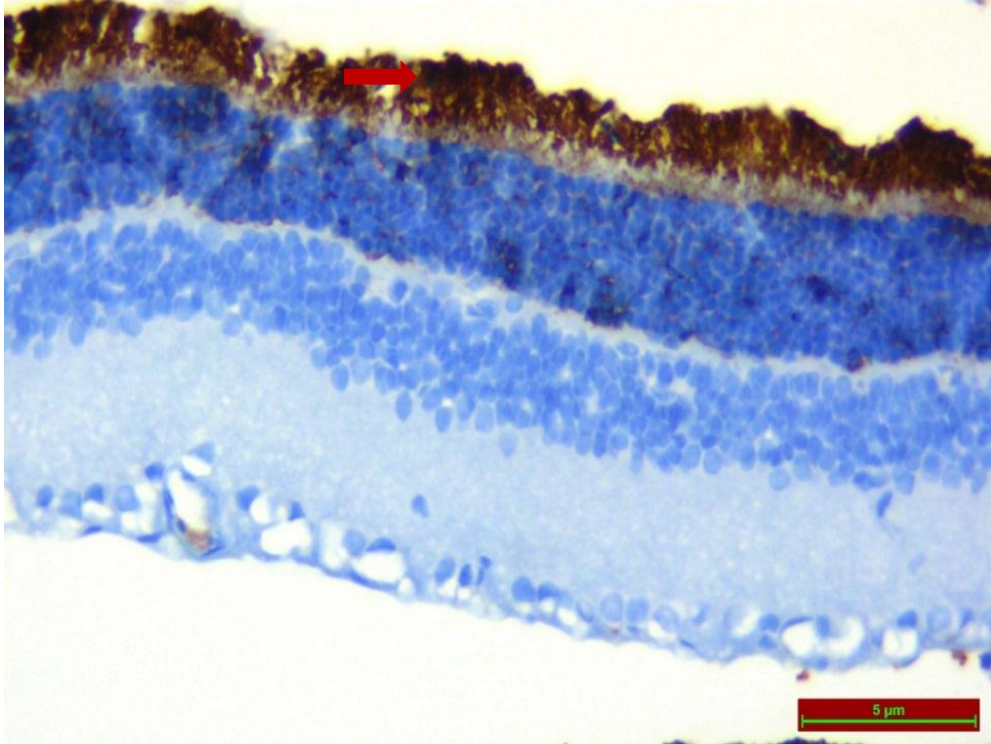
Şekil 36. Sham 2 rodopsin boyanması

Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 3.gün'de rodopsin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.gün'de rodopsin immünreaktivitesinde artış olmakla beraber, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).



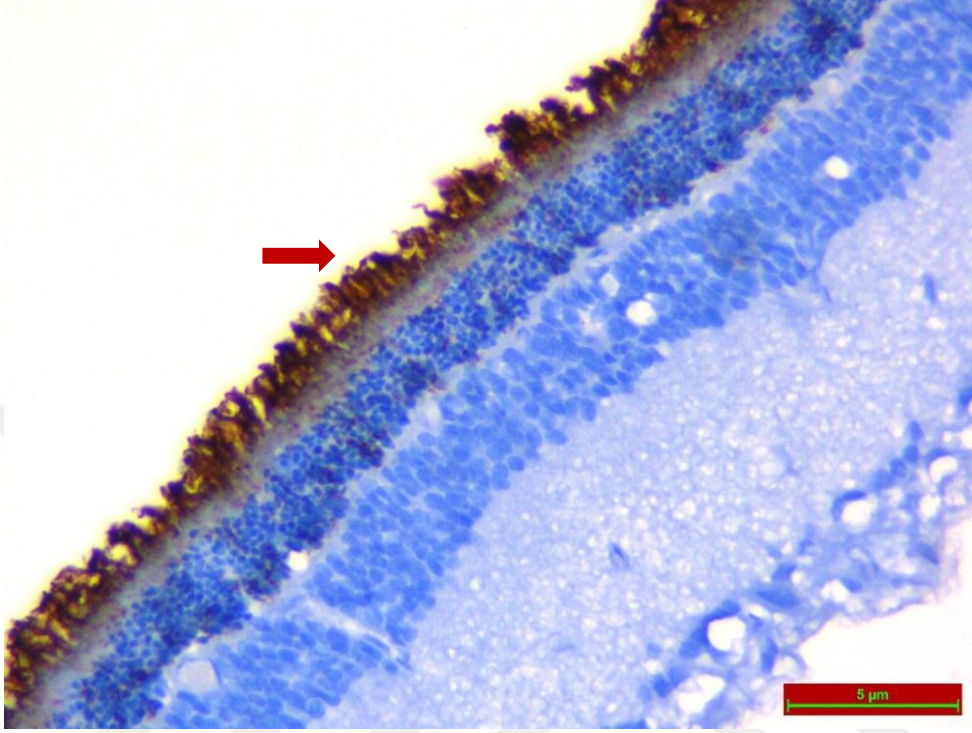
Şekil 37. Ellajik asit 3.gün rodopsin boyanması

Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.gün’de rodopsin immünreaktivitesi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$).



Şekil 38. Edaravon 7.gün rodopsin boyanması

Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.gün’de rodopsin immünreaktivitesinde artış olmakla beraber, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).



Şekil 39. Ellajik asit 7.gün rodopsin boyanması

Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesinde Edaravon 7.günde düşüş olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Ellajik asit 3.gün ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesi Ellajik asit 7.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Edaravon 3.gün ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesi Ellajik asit 3.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Edaravon 7.gün ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesi Ellajik asit 7.günde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$).

Tablo 5. Rodopsin İmmünreaktivitesi

Grup	Ort SD	±	SD
Kontrol	2,54	±	0,07
Sham 1 (PBS-3.gün)	1,47	±	0,11 ^{a*}
Sham 2 (PBS-7.gün)	1,27	±	0,25 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	1,94	±	0,605 ^{a*b*}
Edaravon-7.gün	1,75	±	0,293 ^{a*c*}
Ellajik Asit-3.gün	1,62	±	0,17 ^{a*d*}
Ellajik Asit-7.gün	1,29	±	0,066 ^{a*c*f*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1 (PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2 (PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında

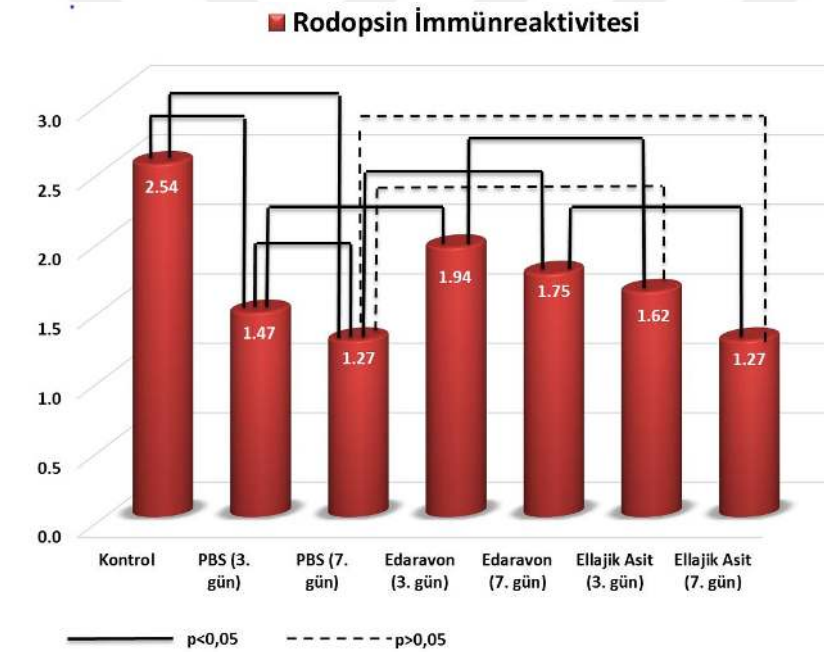
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

(*p<0.05)



Şekil 40. Gruplara Göre Rodopsin İmmünreaktivitelerinin Karşılaştırılması

3.4. Elisa Sonuçları

3.4.1. Bcl 2 Düzeyleri

Tabloda gösterildiği gibi gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda ortalama Bcl 2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de Bcl 2 ortalama değerleri istatistiksel

olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Söz konusu grupların ortalama Bcl 2 değerleri incelendiğinde 7. gün sonunda, 3. gün sonuna göre yarı yarıya bir düşüş olduğu görülmektedir. Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 3.gün'de ortalama Bcl 2 değerleri anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.gün'de ortalama Bcl 2 değerleri anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.gün'de ortalama Bcl 2 değerleri anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.gün'de ortalama Bcl 2 değerleri anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Edaravon 3.gün ile Edaravon 7.gün karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Ellajik asit 3.gün ile Ellajik asit 7.gün karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile Ellajik asit 3.gün karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 7.gün ile Ellajik asit 7.gün karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Sonuç olarak ilaçlar arasında ve uygulanan ilacın farklı günlerindeki ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ve Ellajik asit 3.gün ölçümlerinin Bcl 2 değerlerinin, 7. güne gelindiğinde her iki ilaçta da düşüş gösterdiği tespit edildi.

Tablo 6. Bcl 2 Düzeyleri (pg/mg)

Grup	Ort SD	±	SD
Kontrol	768,48	±	94,25
Sham 1 (PBS-3.gün)	469,38	±	91,20 ^{a*}
Sham 2 (PBS-7.gün)	293,55	±	61,49 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	607,50	±	106,45 ^{a*b*}
Edaravon-7.gün	516,21	±	133,18 ^{a*c*}
Ellajik Asit-3.gün	550,60	±	137,46 ^{a*b*}
Ellajik Asit-7.gün	531,54	±	102,28 ^{a*c*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1 (PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2 (PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında

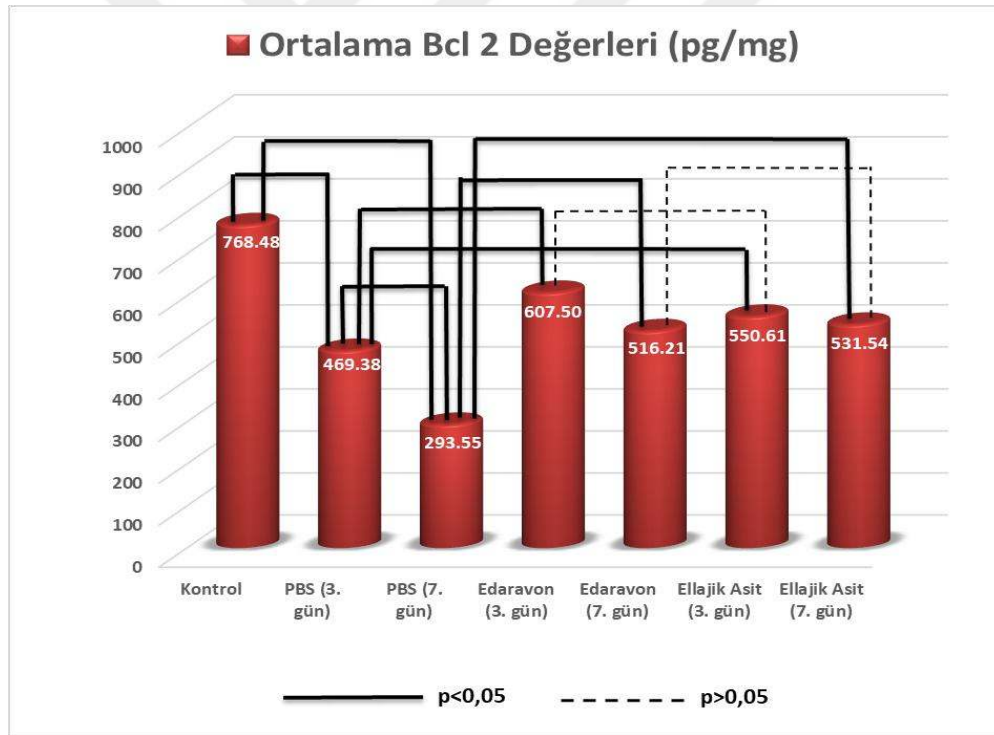
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

*(p<0.05).



Şekil 41. Gruplara göre Bcl 2 değerlerinin karşılaştırılması

3.4.2. Bax Düzeyleri

Tabloda gösterildiği gibi gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda ortalama Bax düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de ortalama Bax değeri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 3.gün'de ortalama Bax değeri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.gün'de ortalama Bax değeri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 7.günde ortalama Bax değerinde azalma olmakla birlikte, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Benzer şekilde sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 7.günde ortalama Bax değerinde azalma olmakla birlikte, bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile Edaravon 7.gün arasında Bax değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). Ellajik asit 3.gün ile Ellajik asit 7.gün arasında Bax değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile Ellajik asit 3.gün ile arasında Bax değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$). Edaravon 7.gün ile Ellajik asit 7.gün ile arasında Bax değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0.05$).

Tablo 7. Bax Düzeyleri (pg/mg)

Grup	Ort	SD	±	SD
Kontrol	25,05	±		3,68
Sham 1 (PBS-3.gün)	43,09	±		3,44 ^{a*}
Sham 2(PBS-7.gün)	60,10	±		13,14 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	35,27	±		2,58 ^{a*b*}
Edaravon-7.gün	41,36	±		4,43 ^{a*}
Ellajik Asit-3.gün	34,17	±		5,51 ^{a*b*}
Ellajik Asit-7.gün	48,18	±		15,27 ^{a*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1 (PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2 (PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında

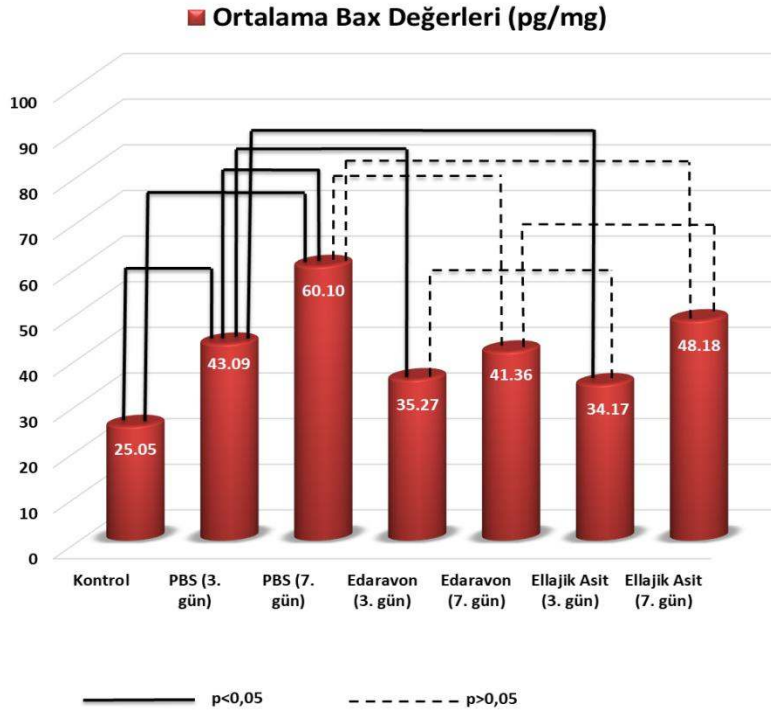
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

*($p<0.05$).



Şekil 42. Gruplara göre Bax değerlerinin karşılaştırılması

3.4.3. Bax / Bcl 2 oranı

Tabloda gösterildiği gibi gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda ortalama Bax / Bcl 2 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı Sham 2 (PBS 7.gün)'de istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı Edaravon 3.gün'de azalma olmakla birlikte bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı Ellajik asit 3.gün'de azalma olmakla birlikte bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı Edaravon 7.gün'de istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı Ellajik asit 7.gün'de istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p<0.05$). Edaravon 3.gün ve 7.gün karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ile Ellajik asit 3.gün karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Ellajik asit 3.gün ve 7.gün karşılaştırıldığında Bax/ Bcl 2 oranı

açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 7.gün ile Ellajik asit 7.gün karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). İlaçlar arasında ve uygulanan ilacın farklı günlerindeki ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Edaravon 3.gün ve Ellajik asit 3.gün ölçümlerinin Bax / Bcl 2 oranlarının, 7.güne gelindiğinde her iki ilaçta da artış gösterdiği tespit edildi.

Tablo 8. Bax / Bcl 2 Oranı

Grup	Ort	SD	±	SD
Kontrol	0,033	±		0,004
Sham 1(PBS-3.gün)	0,097	±		0,024 ^{a*}
Sham 2(PBS-7.gün)	0,207	±		0,027 ^{a*b*}
Edaravon-3.gün	0,060	±		0,011 ^{a*}
Edaravon-7.gün	0,089	±		0,034 ^{a*c*}
Ellajik Asit-3.gün	0,066	±		0,020 ^{a*}
Ellajik Asit-7.gün	0,094	±		0,037 ^{a*c*}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

^b Sham1(PBS 3.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

^c Sham2(PBS 7.gün)'e göre karşılaştırıldığında,

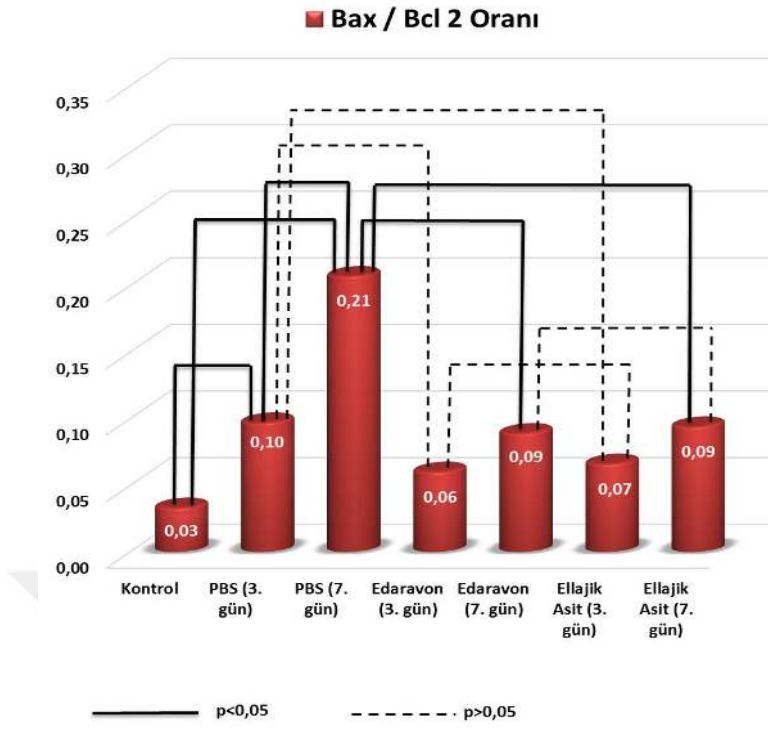
^d Edaravon 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^e Edaravon 7.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^f Ellajik asit 3.gün'e göre karşılaştırıldığında,

^g Ellajik asit 7.gün'e göre karşılaştırıldığında anlamlı farklılığı göstermektedir.

*($p<0.05$).



Şekil 43. Gruplara göre Bax/Bcl 2 oranının karşılaştırılması

4. TARTIŞMA

Retina distrofileri geri dönüşümü olmayan fotoreseptör hasarı ile giden, kalıtsal ve genetiği karmaşık bir grup hastalıktan oluşmaktadır (1,2). Tüm dünyada körlük ve az görme nedenleri araştırıldığında; erişkin hastalarda katarakt, glokom ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu; çocukluk çağında ise retina hastalıkları, özellikle herediter retina distrofileri (HRD) önemli bir yer tutmaktadır (3-8). Herediter göz hastalıklarının önemli bir bölümünü oluşturan retina dejenerasyonları, Retinitis pigmentosa'dan (RP) maküler dejenerasyonlara kadar uzanan geniş bir spektrum çizer.

Retinitis pigmentosa, en sık görülen herediter fundus distrofisidir (3). RP; retinadaki RPE ve rod fotoreseptör hücrelerine ait genlerde meydana gelen veya kalıtılan mutasyonlar sonucu, zaman içerisinde ilerleyici dejenerasyon ve fonksiyon kaybı ile giden heredoretinal hastalıktır. Bilateral ve simetrik olan RP'nin insidansı, 1: 3000- 1: 5000 arasındadır. Dolayısı ile bu hastalığın dünyada 1,5-2 milyon insanı, ülkemizde ise 15- 20 bin kişiyi etkilediği düşünülmektedir.

Hastalar doğduklarında herhangi bir klinik belirti göstermezler. Bununla birlikte hayatlarının çeşitli dekadlarında semptomlar belirmeye başlar ve zamanla tam körlükle sonuçlanır. Hastalığın erken evrelerindeki başlıca bulgu gece körlüğüdür. Karanlığa uyum azalmıştır, ışığa hassasiyet, yeşil ve mavi diskromatopsi, subkortikal katarakt, optik diskte gliotik mumsu solukluk, retina damarlarında atrofi mevcuttur. Periferel görme tamamen kaybolmuştur. Kon hücreleri korunduğu için, tünel görüntüsü şeklinde merkezi görme mevcuttur. Hastaların birçoğunda rodlardan sonra kon hücreleri de atrofiye uğradığından zaman içerisinde tam körlük gelişmektedir.

Retinitis pigmentosa'da üç temel kalıtım şekli tanımlanmıştır. Hastaların %20 – 25'inden otozomal dominant (ODRP), %15- 20'sinden otozomal resesif (ORRP) ve %15-10'undan X'e bağlı geçiş (XBRP) sorumlu iken; aile hikayesinin olmadığı 'simplex' ya da izole grup hastaların %40- 50'sini oluşturmaktadır (60,61). Hastalığın seyri hastadan hastaya hatta aynı ailenin değişik bireyleri arasında dahi farklılıklar gösterse de hastalığın seyrinin X'e bağlı formda en hızlı, dominant formda en yavaş ve resesif tipte orta şiddette olduğu kabul edilmektedir (62). RP

hastalığı, Usher sendromu veya Bardet-Biedl sendromu ile beraber ‘Sendromik RP’ klinik tablosunu oluşturur (72,75).

Genetik mutasyonların söz konusu olan hücrelere olan etkileri bilinse de hangi mekanizma veya mekanizmalarla hücrelerin ölümüne neden olduğu bilinmemektedir. Kalıtsal retina dejenerasyonlarının moleküler patolojisi ayrıntılı olarak incelenen güncel araştırma konularından biridir. Nörodejeneratif hastalıklardan Parkinson, Alzheimer hastalığı ve Down Sendromunda olduğu gibi Retinitis pigmentosada ortak patolojik süreç apoptozistir. İnsanlarda olduğu gibi değişik hayvan RP modellerinde de fotoreseptör hücre ölüm yolunun apoptozis olduğu gösterilmiştir. RP’deki asıl gizemli olay ise, genlerde oluşan mutasyonların ne şekilde apoptozise yol açtığıdır.

Bulmacanın bir diğer parçası ise merkezi görmeden sorumlu kon hücrelerin, rod hücrelerinin maruz kaldığı genetik defektten etkilenerek apoptozise uğrama nedenidir. Membran stabilitesindeki bozukluk, anormal fototransdüksiyon kaskad proteinleri, direkt hücre içi Ca^{++}/Na^{+} arasındaki sitotoksik dengesizlikler ve hücre içi cGMP seviyelerinin artması; rod ve kon hücrelerin ölümüne yol açan olasılıklardandır. Tüm bu olasılıklar muhtemelen fotoreseptör hücreleri, apoptozise sürükleyerek ölümüne neden olmaktadır. Retinanın oldukça yüksek bir metabolik hızı vardır ve ihtiyaç duyduğu enerji, oksijen varlığında sentez edilir (90). Retinadaki tüm hücrelerin bu nedenle hipoksiye karşı dirençleri düşüktür. Hücre içerisinde meydana gelen metabolik faaliyetler sonucu oluşan oksidatif stres etkileri RP’li hastalarda fazla bilinmemekle birlikte, hücreleri apoptozise sürükleyerek ölümüne neden oldukları düşünülmektedir. Rodların ölümüne yol açan diğer olası mekanizmalar arasında, hücrenin metabolik aktivitesini durduran, membran bütünlüğünü bozan basit nekrotik işleyiş vardır ki; serbest radikaller, çeşitli toksinler ve enflamatuvar ajanlar tarafından gerçekleştirilir. Retinada oksijen kullanımının doğal sonucu olarak reaktif oksijen metabolitleri (ROS) meydana gelmektedir. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROS oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir (207). ROS oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma sonucu hücrenin oksidatif strese karşı savunma hattı

kırılmakta ve hücreler ölüme sürüklenmektedir (93). Prooksidan/antioksidan dengesindeki bu değişimler doğal olarak antioksidanların hastalığın seyrini değiştirmekte etkili olabileceği fikrini düşündürmüştür. Çeşitli antioksidanlarla ilgili farklı birçok araştırma yapılmıştır (78).

Berson ve ark. (106) günlük 15,000 IU vitamin A palmitat'ın RP ve Usher sendromlu hastalarda etkisini araştırmışlardır. Vitamin A palmitat tedavisi alan grupta kontrol grubuna göre elektroretinogram (ERG) yanıtlarında zaman içinde daha az düşüş saptamışlardır. RP'li hastalarda günlük 15,000 IU vitamin A palmitat'ın hastalığın progresyonunu yavaşlatmada faydalı olacağını belirtmişlerdir.

Retinitis pigmentosa tedavisi için docosahexaenoic acid (DHA)'nın rolü de araştırılmıştır. Berson ve ark. RP'li hastalardan vitamin A palmitat tedavisine başlanılan hastalara eş zamanlı günlük 1200 mg DHA takviyesi vermişler ve hastalardaki retinal dejenerasyon oranını araştırmışlardır. Vitamin A palmitat tedavisi ile eş zamanlı günlük 1200 mg DHA takviyesi alan hastalarda, DHA takviyesi almayanlara göre daha az retinal dejenerasyon gözlemişlerdir. Hastaların görme alan duyarlılığında ve ERG yanıtlarında belirgin iyileşme saptanırken, bu faydaların iki yıldan fazla sürmediği tespit edilmiştir (107).

Berson ve ark.'nın yaptıkları diğer bir çalışmada sigara içmeyen ve vitamin A takviyesi alan RP'li hastalara lutein takviyesi vererek Humphrey Field Analyzer (HFA) 60-4 programı ile hastaları takip etmişlerdir. Çalışma sonucunda vitamin A tedavisi ile birlikte lutein takviyesinin RP'li hastalarda midperiferal görme alanı kaybını yavaşlattığını tespit etmişlerdir (200).

Berson ve ark. (201) vitamin A tedavisi yanında günlük düşük ve yüksek omega 3 diyetiyle beslenen RP'li hastaların 4-6 yıllık süre zarfında görme keskinliklerindeki değişimini değerlendirmişlerdir. Vitamin A tedavisi alan RP'li hastalarda yüksek omega 3 diyetinin görme keskinliğinde daha az düşüş sağladığını tespit etmişlerdir.

Pasantes-Morales ve ark. (202) taurin, diltiazem ve vitamin E birleşiminin RP'li hastaların görme alanı progresyonuna olan etkisini araştırmışlardır. 3 yıllık izlem sonrasında taurin, diltiazem ve vitamin E tedavisini alan hastaların plasebo grubuna göre görme alan kaybının daha az olduğunu tespit etmişlerdir. Bu etkinin,

fotoreseptörlerin serbest radikal hasarından korunmaları neticesiyle olduğunu belirtmişlerdir.

Lee ve ark. (203) deneysel RP modelinde oral N-acetylcystein (NAC)'ın kon hücrelerine olan etkisini araştırmışlardır. NAC verilen grupta kontrol grubuna göre kon hücre ölümünde azalma tespit etmişlerdir. Ayrıca oksidatif hasarın daha az olması nedeniyle kon hücre fonksiyonlarını korunduğunu da tespit etmişlerdir.

Kiuchi ve ark. (204) deneysel RP Modelinde Nikotinamid (vitamin B3, NAM)'ın MNU'nun indüklediği fotoreseptör hücre kaybına etkisini araştırmışlardır. NAM'ın doz bağımlı şekilde fotoreseptör hücre ölümünü baskıladığını tespit etmişlerdir.

Kiuchi ve ark. (205) deneysel RP modeliyle yaptıkları diğer bir çalışmada 1000 mg/kg NAM'ın rod ve kon hücreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. 1000 mg/kg NAM'ın rod ve kon hücrelerini MNU'ya bağlı oluşan hasardan koruduğu skotopik ve fotopik ERG sonuçlarıyla tespit etmişlerdir. 1000 mg/kg NAM ile fotoreseptör hücre kaybının baskılandığı yapısal ve fonksiyonel olarak tespit etmişlerdir.

Emoto ve ark. (206) deneysel RP modelinde bir antioksidan ajan olan Curcumin (zerdeçal sarısı)'ın rolünü araştırmışlardır. Günlük 200 mg/kg Curcumin'in fotoreseptör hücre kaybını baskıladığını tespit etmişlerdir. Curcumin'in RP başlangıç ve ilerleyişini yavaşlatmada faydalı olabileceğini belirtmişlerdir.

Komeima ve ark. (94) deneysel RP modelinde fotoreseptör hücreleri oksidatif hasardan maksimum korumak amaçlı antioksidan karışım (α tokoferol (200 mg/kg), askorbik asit (250 mg/kg), Mn (III)tetrakis (4- α benzoik asit), porfirin (10 mg/kg) ve α lipoik asit (100 mg/kg) tedavisinin etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda antioksidan karışımının kon hücrelerindeki oksidatif hasarı azalttığı ve kon hücre dansitesinde %50 artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Lin ve ark. (208) deneysel RP modelinde antioksidan özelliği de bulunan Chrysphanol'un fotoreseptör hücreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Chrysphanol'un nöroprotektif etkisiyle fotoreseptör hücre apoptozisini azaltıp, glial aktivasyonu inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. RP tedavisinde Chrysphanol'un terapötik amaçla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Emoto ve ark. (209) MNU ile oluşturulan RP modelinde yeşil çay ekstratının fotoreseptör hücreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yeşil çay ekstratının 'hem oksijenaz 1'i baskılayarak fotoreseptör hücre apoptozisini azalttığını tespit etmişlerdir. Bu etkinin yeşil çay ekstratının antioksidan etkisiyle olduğunu düşünmüşlerdir.

Imai ve ark. (199) ışıkla fotoreseptör hücre hasarı oluşturarak sistemik Edaravon'un fotoreseptör hücrelere etkisini değerlendirmişlerdir. Fotoreseptör hasarını; dış retinal kalınlık ölçümü ve ERG ile; retinal hücre hasarını ise TUNEL boyama ve 8-hidroksi-2-deoksiguanosin(8-OHdG) ekspresyonu ve mitojen-aktive protein kinazlar (MAPKs)'ların fosforilasyonunun immunhistokimyasal boyama ile değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, dış retinal kalınlıklar değerlendirildiğinde intraperitoneal 3 mg/kg Edaravon ve 1 mg/kg intravitreal Edaravon'un ışıkla indüklenen fotoreseptör hasarından koruyucu olduğunu, ERG sonuçlarındaysa intraperitoneal 3 mg/kg Edaravon'un retinal disfoksiyonu inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda intraperitoneal 3 mg/kg Edaravon'un TUNEL-pozitif hücre sayısını, 8-OHdG ve fosforile JNK'yı azalttığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular, ışığa bağlı retinal hasarda oksidatif stresin önemli rol oynadığını ve sistemik Edaravon'un fotoreseptör dejenerasyonunu yavaşlattığını göstermektedir.

Tsuruma ve ark. (27) MNU ile oluşturulan RP modelinde Edaravon'un etkisini araştırmışlardır. Edaravon'un dış nükleer tabakalarda incelmede azalma, TUNEL pozitif hücre sayısında ve oksidatif stres belirteçlerinde azalma tespit etmişlerdir.

Günümüzde çoğunlukla transgenik yöntemler, hereditör hayvan modelleri veya ışık, MNU, vitreusa demir implantasyonu ve intravitreal L-ornithin hidroklorid enjeksiyonu gibi ajanlarla indüklenen hayvan modelleri ile Retinitis pigmentosa modeli oluşturulmakta ve fotoreseptör hücre hasarını engelleyici etkisi bilinen ve fotoreseptör hasarından olası koruyucu etkileri olan ajanlar karşılaştırılmaktadır. MNU ile indüklenen RP modeli insan RP hastalığıyla birçok açıdan benzerlik göstermektedir. İlk olarak 1967 yılında Herrold (188) hamsterlara sistemik MNU uygulayarak retinal dejenerasyon oluşturmuştur. Sonrasında ratlarda Nakajima ve ark (214), diğer türlerde ise Yuge ve ark. (215) MNU'ya bağlı retinal dejenarasyonun apoptoza bağlı olduğunu göstermişlerdir.

MNU'ya bağılı apoptozis kaskadında MNU verildikten 12 saat sonra Bcl 2' nin azalmış olup, 24 saat sonra Bax' ın arttığı gösterilmiştir (216). Hastalık progresyonu hızlı olmakta ve fotoreseptör hücre apoptozu 7.gün sonunda sona ermektedir (28). MNU'nun verdiği hasar DNA ile etkileşime girerek reaksiyon ürünleri oluşturması ve bu ürünlerin fotoreseptör hücre çekirdeklerine bağlanmasından kaynaklandığı belirtilmiştir. Retinada sadece fotoreseptör hücrelere etki edip diğer hücreleri etkilememesi ve hızlı etkili olması nedeniyle MNU modeli RP için ideal bir modeldir.

Biz antioksidan özelliği bilinen Edaravon ve Ellajik asit'in, retinal oksidatif hasar ve fotoreseptör hücre kaybı üzerindeki etkisini tespit etmeyi amaçladığımız bu çalışmamızı, MNU ile indüklenen Retinitis pigmentosa modeli ile gerçekleştirdik. 6-8 haftalık Sprague-Dawley cinsi ratlarda, intraperitoneal 60 mg/kg MNU'nun 3.gün ve 7.gün sonunda fotoreseptör hücrelerde apoptoza yol açtığını gözlemledik. Edaravon, Ellajik asit ve MNU'nun doz ve uygulama şekillerini daha önceki çalışmalarda gösterilmiş olan etkin doz ve uygulama şekillerine göre gerçekleştirdik (27,199).

Ellajik asit ahududu başta olmak üzere birçok bitkide bulunan zayıf asidik yapılı antioksidan bir ajandır. Ellajik asit kanserojen maddelerin bağırsakta emilimini inhibe etmekte, ayrıca bağırsaktan atılımını arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda Ellajik asit'in prokanserojenlerin aktivasyonunu azalttığı ve sitokrom P450 miktarında da düşüşe neden olduğu gösterilmiştir. Ellajik asit'in DNA replikasyonunda, transkripsiyonunda, rekombinasyonunda, hücre çoğalması ve farklılaşmasında önemli rol oynayan Topoizomeras I ve II enzimlerinin çalışmasını önleyerek tümör hücresinin gelişimini engellediği de gösterilmiştir (210). Polisiklik aromatik hidrokarbonların kanserojen etkilerinin inhibisyonunun çalışıldığı bir çalışmada fenolik asitler içerisinde bu etkinin en fazla Ellajik asit'te olduğu görülmüştür (211). Ayrıca Ellajik asit'in bir çeşit mikotoksin olan aflatoksinin DNA'ya bağlanma ve mutajen etkisini azaltma etkileri mevcuttur (212). Kansere genetiğinde mutasyon oluşumu son derece önemli bir eşiktir, bu eşik ortamda yeterli mutajen oksidan varlığıyla kolaylıkla aşılabılır. Ellajik asit ise bu süreci engelleyebilen kuvvetli bir antioksidandır (213). Ellajik asit'in retinal dejenerasyonda kullanımına ait literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Edaravon yarı ömrü 5.4 dakika olan serbest radikal tutucudur. Antioksidatif, antiapoptotik, nöroprotektif ve anti-enflamatuvar etkileri bildirilmiştir (25,26). Edaravon, iskemik inme ve ALS gibi dejeneratif nörolojik bozukluklar gibi birçok serebral vasküler bozukluktan kaynaklanan, nöronal hasar / ölüm ile yüksek oranda ilişkili olan serbest hidroksil radikallerini ve peroksinitrit radikallerini temizler (152). Edaravon prostasiklin üretimini artırır, hidroksil radikallerini yakalayarak araşidonik asidin lipoksijenaz metabolizmasını azaltır ve allokstanın neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe eder (150,151). Edaravon iskemi reperfüzyon beyin hasarında Bax/Bcl 2 bağımlı antiapoptotik mekanizmayla nöroprotektif etki gösterir (155). Deneysel retina dekolmanında Bcl 2 ekspresyonunu arttırarak fotoreseptör hücre ölümünü düzenlediği gösterilmiştir (156).

Çalışmamızda sham gruplarında kontrol grubuna göre proapoptotik molekül olan Bax değerlerinin yüksekliği, antiapoptotik Bcl 2 değerlerinin düşüklüğü, Bax/Bcl 2 değerlerinin yüksekliği, TUNEL boyama sonuçlarında apoptotik indeks yüksekliği, H&E boyamada dış nükleer tabaka kalınlıkların azalması ve rodopsin boyamadaki rodopsin-immünreaktivitelerinin azalması MNU'nun apoptozis yoluyla retinal dejenerasyona yol açtığına göstergesidir ve literatür ile uyumludur. Bu değerlerin 7.gün sonunda (Grup 3, Sham 2) 3.güne (Grup 2, Sham 1) göre daha anlamlı olması MNU'nun etkisinin 7 güne kadar devam ettiğinin göstergesidir ve literatürle uyumludur. Sham gruplarında H&E boyamada dış nükleer tabaka kalınlıklarında azalma görülüp iç retinal tabakalarda değişiklik olmaması ve rodopsin immünreaktivitesinin azalması da MNU'nun sadece fotoreseptör hücrelere etki ettiğinin bir göstergesidir ve literatürle uyumludur. Tüm bu bulgular çalışmamızda RP modeli oluşturulduğunun bir göstergesidir.

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde Edaravon 3.gün ve Ellajik asit 3.günde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde Edaravon 7.gün ve Ellajik asit 7.günde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Edaravon ve Ellajik asit karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Bu sonuçlar her iki ilacın da sham gruplarına göre 3. ve 7.günlerde bu parametrelerde

istatistiksel olarak anlamlı koruma sağladığını ve ilaçlar arası etkinlik farkı olmadığını göstermiştir.

Hücrede proapoptotik proteinler fazla ise hücre apoptoza eğilimlidir. Antiapoptotik proteinler fazla ise hücre apoptoza daha az eğilimlidir (80). Proapoptotik üyeler Bad, Bax, Bid, BclXs, Bak, Bim, Puma ve Noxa'dır. Bu proteinler sitozolde yer alırlar. Sitokrom-c ve AİF (Apoptoz indükleyici faktör) salınımını artırarak apoptozu indüklerler. Antiapoptotik üyeler ise Bcl-2, Bcl-xL ve Mcl-1'dir. Bu proteinler de mitokondriyon dış membranında, endoplazmik retikulumda ve çekirdek zarında yer alırlar. Por oluşumunu sağlayıp iyon transportunu düzenlerler. Özellikle hücredeki Ca^{++} oranını kontrol ederler. Ayrıca kaspazların öncü formlarıyla AİF ve sitokrom-c salınımını bloke ederek apoptozu inhibe ederler (80, 81, 83).

Çalışmamızda bir antiapoptotik protein olan Bcl 2'nin ortalama değerleri karşılaştırıldığında, sham gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük değerler bulundu. Sham grubunda 7.gündeki ortalama Bcl 2 değeri 3.güne göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptandı. Edaravon 3.gün ve 7.gün sırasıyla sham 1 ve sham 2 ile karşılaştırıldığında hem 3.günde hem de 7.günde Edaravon grubunda ortalama Bcl 2 değeri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Benzer şekilde Ellajik asit 3.gün ve 7.gün sırasıyla sham 1 ve sham 2 ile karşılaştırıldığında hem 3.günde hem de 7.günde Ellajik asit grubunda ortalama Bcl 2 değeri istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu.

Edaravon ve Ellajik asit grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ortalama Bcl 2 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Bir proapoptotik protein olan Bax'ın ortalama değerleri karşılaştırıldığında, sham 1 ve sham 2 gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek değerler bulundu. Sham 2 grubunda ortalama Bax değerleri sham 1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı. Edaravon ve Ellajik asit grupları sham 1 grubu ile karşılaştırıldığında 3.günde Edaravon ve Ellajik asit grubunda ortalama Bax değeri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Ancak Edaravon ve Ellajik asit 7.gün grupları sham 2 ile karşılaştırıldığında ortalama Bax değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Edaravon ve Ellajik asit grupları kendi aralarında Bax değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Bax / Bcl 2 hücrelerin apoptoza olan eğilimini göstermektedir. Bizim çalışmamızda ortalama Bax / Bcl 2 oranı değerlendirildiğinde, sham 1 ve sham 2 gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek değerler bulundu. Edaravon ve Ellajik asit gruplarının Bax / Bcl 2 oranı sham 2 grubu ile karşılaştırıldığında 7.günde, Edaravon ve Ellajik asit grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu. Ancak Edaravon ve Ellajik asit 3.gün grupları sham 2 grubu ile karşılaştırıldığında Bax / Bcl 2 oranında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. 3. Ve 7.günde Edaravon ve Ellajik asit grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında Bax / Bcl 2 oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Retinitis pigmentosa'da fotoreseptör hasarı nedeniyle başta rod hücrelerinin, sonrasında da kon hücrelerinin apoptoza uğramasıyla dış nükleer tabakada progresif bir incelmeye olmaktadır. Bizim çalışmamızda Hematoksilen-Eozin boyama sonucunda, retina dokusu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 (PBS 3.gün) ve sham 2 (PBS 7.gün)'de retinal dış nükleer tabakada anlamlı incelmeye gözlemlendi. Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de dış nükleer tabakadaki anlamlı bir incelmeye saptandı. Sham 1 (PBS 3.gün) ve sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Edaravon 3.gün ve 7.günde dış nükleer tabaka kalınlığında anlamlı derecede artış izlendi. Fakat sham 1 (PBS 3.gün) ve sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3.gün ve 7.günde dış nükleer tabaka kalınlığında artış saptanmış olup bu artış anlamlı bulunmadı. Edaravon ve Ellajik asit karşılaştırıldığında, Edaravon 3.gün ve 7.gün dış retinal kalınlık oranlarında artış Ellajik asit 3.gün ve 7.güne göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Dış nükleer tabaka kalınlığı/ total retinal kalınlık ölçümlerinde Edaravon 3.gün ve 7.günde sham gruplarına göre anlamlı olarak artış saptanırken, Ellajik asit 3.gün ve 7.günde sham grubuna göre artış saptanmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Rod hücrelerinde 500 nm dalga boyuna duyarlı rodopsin denilen bir pigment bulunmaktadır, rodopsin aracılığıyla rodlar karanlıkta görmeden sorumludur. Rodopsin ve renk pigmentleri konjuge proteinlerdir. Disklerin zarına transmembran proteinleri şeklinde katılırlar. Disklerdeki bu ışığa duyarlı pigmentlerin konsantrasyonları yüksektir, sadece pigmentler tüm fotoreseptör hücre kütlelerinin %40 kadarını oluştururlar (31). Rod hücre oranının belirlemek için rodopsin

immünreaktivitesine baktığımız çalışmamızda; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesinde sham 1 (PBS 3.gün) ve sham 2 (PBS 7.gün)'de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi. Sham 1 (PBS 3.gün) ile karşılaştırıldığında sham 2 (PBS 7.gün)'de rodopsin immünreaktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma izlendi. Sham 1 (PBS 3.gün) ve sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesinde Edaravon 3.gün ve 7.günde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Sham 1(PBS 3.gün) ve sham 2 (PBS 7.gün) ile karşılaştırıldığında rodopsin immünreaktivitesinde Ellajik asit 3.gün ve 7.günde artış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Edaravon 3.gün ve 7.gün ile karşılaştırıldığında Ellajik asit 3. ve 7.günde rodopsin immünreaktivitesinde anlamlı bir azalma söz konusuydu. Bu sonuçlar; histopatolojik düzeyde Edaravon'un Ellajik asit'e göre RP'deki fotoreseptör hasarına karşı daha yüksek koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir.

MNU ile oluşturulan RP modelinde Edaravon ve Ellajik asit'in etkisini araştırdığımız bu çalışmada Edaravon'un sham grubuna göre fotoreseptör hücre ölümünü; TUNEL boyamada apoptotik indeks, ELISA incelemesinde Bax, Bcl 2 değerleri, H&E boyamadaki dış nükleer kalınlık ve immunhistokimyasal boyamada rodopsin immünreaktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını saptadık. Ellajik asit'in, TUNEL boyamada apoptotik indeksi, ELISA incelemesinde ortalama Bax değerini istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığını ve ortalama Bcl 2 değerini istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırdığını saptamamıza rağmen, H&E boyamadaki dış nükleer kalınlık ve immunhistokimyasal boyamada rodopsin immünreaktivitesi açısından sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptayamadık. Antioksidan özelliği daha önce kanıtlanmış olan Ellajik asit'in proapoptotik molekül olan Bax değerini düşürüp antiapoptotik molekül olan Bcl 2'yi yükseltmesine ve TUNEL boyamada apoptozisi inhibe etmesine rağmen retinal tabaka kalınlığında ve rodopsin immünreaktivitesinde anlamlı artış yapmaması Ellajik asit'in moleküler düzeyde etkisinin olup retinal tabaka kalınlığını etkileyecek derecede histopatolojik etkisinin olmamasından kaynaklanabilir. Edaravon'un Ellajik asit'te bulunmayan nöroprotektif özelliğinin olması, suda çözünürlüğünün yüksek olması ve kan beyin bariyerini kolaylıkla geçmesi Ellajik asit'e göre daha iyi koruma sağlamanın nedenleri olabilir. Ayrıca retinada daha önce Ellajik asit

çalışılmadığından daha yüksek dozlarda veya farklı uygulama yollarıyla daha iyi sonuçlar alınabilir.

Tsuruma ve ark'nın yaptıkları bir çalışmada 60mg/kg ip MNU ile oluşturulan RP modelinde, 0.1mg/kg iv ve 1mg/kg ip Edaravon'un fotoreseptör hücrelere etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 7.gün sonunda Edaravon verilen grupta dış nükleer tabakadaki incelme sham grubuna göre daha az tespit edilmiş, ayrıca TUNEL boyama yöntemiyle apoptoza uğrayan hücre sayısı sham grubuna göre düşük tespit edilmiştir (27). Bu bulgular Edaravon'un antioksidan sistemleri güçlendirerek ve apoptozisi inhibe ederek fotoreseptör hücre ölümünü yavaşlattığını ve böylelikle hastalığın progresyonunu yavaşlattığını göstermektedir. Biz de çalışmamızda 60 mg/kg MNU ile fotoreseptör hasarı oluşturduk. Tedavi için günlük 2x3 mg/kg ip Edaravon uyguladık. Edaravonun sistemik farklı şekilde kullanımı mevcut olup, uygulama yöntemleri farklı olmasına rağmen sonuçlarımız bu çalışma ile uyumluydu. Bizim çalışmamızda da 7.gün sonunda Edaravon uygulanan grupta TUNEL boyama ile apoptotik indeks karşılaştırıldığında sham grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ayrıca H&E boyama ile retinal kalınlık ölçümü yapıldığında Edaravon uygulanan grupta dış nükleer tabaka kalınlığı ve rodopsin immünreaktivitesi sham grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.

Imai ve ark. ışıkla fotoreseptör hücre hasarı oluşturarak sistemik Edaravon'un fotoreseptör hücrelere etkisini değerlendirdikleri çalışmada, dış retinal kalınlıkları değerlendirdiklerinde 5 günlük 2x3 mg/kg/gün intraperitoneal Edaravon'un ışıkla indüklenen fotoreseptör hasarından koruyucu olduğunu, ERG sonuçlarındaysa günlük 2x3 mg/kg ip Edaravon'un retinal disfoksiyonu inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda 2x3 mg/kg ip Edaravon'un TUNEL-pozitif hücre sayısını azalttığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da günlük 2x3 mg/kg Edaravon intraperitoneal olarak kullanılmış olup 7.gün sonu bulgularımız literatür ile uyumlu bulunmuştur (199).

Retinitis pigmentosa çocukluk çağında başlayıp körlüğe ilerleyebilen kalıtsal dejeneratif bir hastalıktır. Körlükle sonuçlanması ve hastaların yaşam kalitesini önemli ölçüde düşürmesi nedeniyle üzerinde yoğun çalışmalar yapılan bir hastalık grubudur. Vitamin A desteği dışında RP için henüz kanıtlanmış bir tedavi mevcut değildir. RP'deki rod fotoreseptör hücrelerdeki progresif ölüm, oksidatif strese yol

açarak hem rod hücre ölümünü arttırmakta hem de kon hücre ölümüne neden olmaktadır. Zaman içindeki fotoreseptör hücre ölümü hastalık körlükle sonuçlanmaktadır. Şu an RP tedavisindeki çalışmaların büyük bir bölümü oluşmuş fotoreseptör hasarını engellemeye yöneliktir. Ancak rod ve kon hücre apoptozisinin durdurulması hastalığın progresyonunda yavaşlamaya yol açıp hastalığın erken dönemlerinde tedavi şansının olabileceğini düşündürmektedir. Buna yönelik hayvan modellerinde antoksidan çalışmaları da yapılmaktadır. Antioksidan kullanımının hayvan modellerindeki yararları insanlar üzerinde de gösterilirse, RP’de hastalığın progresyonunu önlemede önemli bir basamak oluşturabilir. Bu açıdan RP tedavisinde antioksidan ajan çalışmaları yoğunluk kazanmıştır. Edaravon, ALS tedavisi için FDA onayı almış, güçlü nöroprotektif özelliğe sahip bir antioksidan ajandır. Kan beyin bariyerini geçebilme özelliği, güçlü nöroprotektif ve anti-enflamatuvar etkileri mevcut olup daha önce yapılmış çalışmalarda antioksidan özelliğinin retinal hücrelerde de etkili olduğu tespit edilmiştir. Ellajik asit dağ çileği, ahududu, kıızılcık, ceviz, fındıkta bulunan antioksidan özelliğe sahip polifenol bileşiğidir. Deneysel katarakt modelinde katarakt oluşumunu engellediği çalışmalar mevcuttur. Retina ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Biz de çalışmamızda Edaravon ve Ellajik asit’in MNU ile oluşturulmuş RP modelinde fotoreseptör hücre ölümüne etkisini araştırdık. Çalışmamızda Edaravon RP modelinde biyokimyasal ve histolojik açıdan fotoreseptör hücre ölümünü azaltmıştır ve sonuçlarımız Imai ve ark.’nın yaptığı çalışmayla uyumlu bulunmuştur. Ellajik asit’in ise biyokimyasal parametreler ve TUNEL boyama sonucunda apoptozisi azalttığı saptansa da retinal kalınlık ve rodopsin immünreaktivitesi ölçümlerinde anlamlı etkisi saptanmamıştır. Retinal doku üzerinde ilk defa çalıştığımız ve güçlü bir antioksidan olan Ellajik asit’in doz ve uygulama yöntemi ile retinal dejenerasyon üzerine etkisi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Daha önceki çalışmalarda antioksidan ve antiapoptoik etkileri saptanmış olan ve çalışmamızda fotoreseptör hücre ölümünü azaltarak ratlarda retinal dejenerasyonu engelleyici potansiyelini saptadığımız Edaravon’un bu etkisinin insanlarda da ortaya konulabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Petriçli İS, Erdoğan AI, Tunay ZÖ, Özdemir Ö. Herediter Retina Distrofili Olgularda Az Görme Rehabilitasyonu, Turk J Ophthalmol 2015; 45: 25-30
2. Özdek Ş. Retina distrofileri. Ret-Vit. 2010;18: 125-133.
3. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel GP, Mariotti SP. Global data on visual impairment in the year 2002. Bull World Health Organ. 2004; 82: 844-851.
4. Mirdehghan SA, Dehghan MH, Mohammadpour M, Heidari K, Khosravi M. Causes of severe visual impairment and blindness in schools for visually handicapped children in Iran. Br J Ophthalmol 2005; 89: 612-614.
5. Boonstra N, Limburg H, Tijmes N, van Genderen M, Schuil J, van Nispen R. Changes in causes of low vision between 1988 and 2009 in a Dutch population of children. Acta Ophthalmol 2012; 90: 277-286.
6. Gilbert C, Foster A. Childhood blindness in the context of VISION 2020-the right to sight. Bull World Health Organ 2001; 79: 227-232.
7. Aksoy A, Aslan L, Aslankurt M. Evaluation of children in two blind schools in the east mediterranean region in Turkey. Ret-Vit 2012; 20: 218-220.
8. Petricli İS, Ozen Tunay Z, Ozdemir O. Yenidoğan göz taramasında saptanan doğumsal göz anomalilerinin dağılımı. Retina-Vitreus 2012; 20: 273-278.
9. Phelan JK, Bok D. A brief review of retinitis pigmentosa and the identified retinitis pigmentosa genes. Molecular Vision 2000; 6: 116-124.
10. Hamel CP. Retinitis pigmentosa. Orphanet J Rare Dis 2006; 11: 1-40.
11. Bayar A, Şingar E, Yılmaz G. Diffüz Fotoresptör Distrofileri Diffuse Photoreceptor Dystrophies Sezin Ret-Vit 2012; 20: 243-249.
12. Sharma RK, Ehinger B. Management of Hereditary Retinal Degenerations: Present Status and Future Directions. Surv Ophthalmol 1999; 43: 427- 444.

13. Li J, Wuliji O, Li W, Jiang ZG, Ghanbari HA. Oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Int J Molecular Sci* 2013;14: 24438–24475.
14. Niedzielska E, Smaga I, Gawlik M. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurobiology* 2016; 53: 4094–4125.
15. Peter AC, Rupert WS, Lili L, Gulnar H, Yulia W, Syed MS, et al. Is there excess oxidative stress and damage in eyes of patients with retinitis pigmentosa. *Antioxidants & Redox Signaling* 2015; 23: 7-15.
16. Yu DY, Cringle SJ, Su EN, Yu PK. Intraretinal oxygen levels before and after photoreceptor loss in the RCS rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41: 3999–4006.
17. Shen J, Yan X, Dong A, Petters RM, Peng YW, Wong F, Campochiaro PA. Oxidative damage is a potential cause of cone cell death in retinitis pigmentosa. *J Cell Physiol* 2005; 203: 457–464.
18. Xiong W, MacColl Garfinkel AE, Li Y, Benowitz LI & Cepko CL: NRF2 promotes neuronal survival in neurodegeneration and acute nerve damage. *J Clin Invest* 2015; 125: 1433–1445.
19. Lee SY, Usui S, Zafar AB, Oveson BC, Jo YJ, Lu L, N-acetylcysteine promotes long term survival of cones in a model of retinitis pigmentosa. *J Cell Physiol* 2011; 226: 1843-1849.
20. Priyadarsini KI, Khopde SM, Kumar SS. Mohan H. Free radical studies of ellagic acid, a natural phenolic antioxidant. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 2200-2206.
21. Kaur S, Grover IS, Kumar S. Antimutagenic potential of ellagic acid isolated from *Terminalia arjuna*. In *J Exp Biol* 1997; 35: 478-482.
22. Ihantola-Vormisto A, Summanen J, Kankaanranta H, Vuorela H, Asmawi, ZM, Moilanen E. Anti-inflammatory activity of extracts from leaves of *Phyllanthus emblica*. *Planta Med* 1997; 63, 518-524.
23. Cozzi R, Ricordy R, Bartolini F, Ramadori L, Perticone P, De Salvia R. Taurine and ellagic acid: two differently-acting natural antioxidants. *Environ Mol Mutagen* 1995; 26: 248-254.

24. Takagi A, Sai K, Umemura T, Hasegawa R, Kurokawa Y, Inhibitory effects of vitamin E and ellagic acid on 8-hydroxy deoxyguanosine formation in liver nuclear DNA of rats treated with 2-nitropropane. *Cancer Lett* 1995; 91: 139-144.
25. Kokura S, Yoshida N, Sakamoto N. The Radical Scavenger Edaravone Enhances The Anti-tumor Effects Of CPT-11 In Murine Colon Cancer By Increasing Apoptosis Via Inhibition Of Nf-kappab. *Cancer Lett* 2005; 229: 223–233.
26. Masuda T, Shimazawa M, Hara H. Retinal Diseases Associated with Oxidative Stress and the Effects of a Free Radical Scavenger (Edaravone) *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2017: 14: 145-149.
27. Tsuruma K, Mika Yamauchi, Yuta Inokuchi, Sou Sugitani, Masamitsu Shimazawa, and Hideaki Hara. Role of Oxidative Stress in Retinal Photoreceptor Cell Death in N-Methyl-N-nitrosourea–Treated Mice. *J Pharmacol Sci* 2012; 118: 351–362.
28. Tsubura A, Yoshizawa K, Kuwata M, Uehara N. Animal models for retinitis pigmentosa induced by MNU; disease progression, mechanisms and therapeutic trials. *Histol Histopathol* 2010; 25: 933-944.
29. <http://webvision.med.utah.edu/sretina.html>.
30. Snell RS, Lemp MA. Clinical anatomy of the eye. The eye ball. 2nd Edition. Malden, Mass: Blackwell Science Inc, 1998: 132-213.
31. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. Nine Edition 1996: 637-649.
32. Schubert HD. Structure and function of neural retina. Yanoff M, Duker JS (Editors). *Ophthalmology*. Mosby, 2009: 511-514.
33. Baker SA, Kerov V. Photoreceptor Inner and Outer Segments. *Current Topics in Membranes*, 2013;72: 231-265.
34. Marmor MF. The retinal pigment epithelium. In: Yanoff M, Duker JS (Editors). *Ophthalmology*. Mosby 2009: 515-517.
35. Schmidt SY, Peisch RD.: Melanin concentration in normal human retinal pigment epithelium. Regional variation and age-related reduction. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 1063-1067.

36. Weiter JJ, Delori FC, Wing GL. Retinal pigment epithelial lipofuscin and melanin and choroidal melanin in human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 145-152.
37. Panda-Jonas S, Jonas JB, Jakobczyk-Zmija M. Retinal pigment epithelial cell count, distribution, and correlations in normal human eyes. *Am J Ophthalmol*. 1996; 12: 181-189.
38. Marmor MF. The retinal pigment epithelium. In: Yanoff M, Duker JS (Editors). *Ophthalmology*. Mosby, 2009: 515-517.
39. Thumann G, Hoffman S, Hinton DR. Cell Biology of the Retinal Pigment Epithelium. Ryan SJ. *Retina*. Volume 1. Basic Science and Inherited Retinal Diseases. Fourth edition. Elsevier & Mosby 2006: 137-152.
40. Retinal Pigment Epithelium. Fundamental and Principles of Ophthalmology. AAO Basic and Clinical Science Course. The Foundation of American Academy of Ophthalmology. San Francisco. 2000-2001; 366-371.
41. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005; 85: 845-881.
42. Bilgin AB. Retinanın Vasküler Anatomisi *Ret-Vit* 2012; 20: 1-5.
43. Remington LA. Clinical anatomy and physiology of the visual system, third edition. Elsevier Inc. San Diego, CA, 2012: 202-217.
44. Hayreh SS. Physiological anatomy of the retinal vasculature. In Besharse JC, Bok D: *The retina and its disorders*. Elsevier Inc San Diego CA, 2011: 653-660.
45. Snell RS, Lemp AL. Clinical anatomy of the eye, second edition. Blackwell Science, Inc. MA, USA 1998: 277-293.
46. Levin LA, Nilsson S, Ver Hoeve J, Wu S, Kaufman P, Alm A: *Adler's physiology of the eye*, 11th edition. Elsevier Inc. San Diego, CA, 2011.
47. Hayreh SS. The cilio-retinal arteries. *Br J Ophthalmol* 1963; 47: 71-89.
48. Justice J, Lehmann RP. Cilioretinal arteries. A study based on review of stereo fundus photographs and fluorescein angiographic findings. *Archives of Ophthalmology* 1976; 94: 1355-1358.

49. Pournaras CJ, Donati G. Chapter 126-Retinal and choroidal circulation. Albert & Jakobiec's principles & practice of ophthalmology. Albert D, Miller J, Azar D, Blodi B, Third Edition, Elsevier Inc. San Diego, CA, 2008.
50. Archer DB, Gardiner TA, Stitt AW. Functional anatomy, fine structure and basic pathology of the retinal vasculature. In Joussen AM, Gardner TW, Kirchhof B, Ryan SJ: Retinal vascular disease. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007: 3-23.
51. Harris A, Bingaman D, Ciulla TA. Retinal and choroidal blood flow in health and disease. In Ryan: Retina, the fourth edition. Elsevier Inc. San Diego, CA, 2006; 1: 83-102.
52. Palczewski K. G protein-coupled receptor rhodopsin. Annu Rev Biochem 2006; 75: 743-767.
53. Kiser DP, Palczewski K. Retinoids and Retinal Diseases Annu Rev Vis Sci 2016; 2: 197-234.
54. Kiser PD, Golczak M, Palczewski K. Chemistry of the retinoid (visual) cycle. Chem Rev 2014; 114: 194-232.
56. Chader GJ, Bensinger R, Johnson M, Fletcher RT. Phosphodiesterase. Important Role in Cyclic Nucleotide Regulation In The Retina. Exp Eye Res 1973; 17: 483-486.
57. Wang JS, Kefalov VJ. The cone-specific visual cycle. Prog. Retin. Eye Res 2011; 30: 115-128.
58. Weleber RG, Gregory-Evans K. Retinitis pigmentosa and allied disorders. In: Ryan SJ, (ed). Retina. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2001: 362-460
59. Yanoff M, Duker JS: Ophthalmology. Kısım 108, Konu: Distrofiler, Retinitis Pigmentosa Ve İlişkili Hastalıklar, 2010.
60. Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa. Lancet 2006; 368: 1795-1809.
61. Atmaca LS, Şaylı BS, Akarsu N, Gündüz K. Genetic features of retinitis pigmentosa in Turkey. Document Ophthalmologica 1995; 89: 387-392.

62. Fahim AT, Daiger SP, Weleber RG. Nonsyndromic Retinitis Pigmentosa Overview. *Gene Reviews*; 1993-2018.
63. McWilliam P, Farrar GJ, Kenna P. Autosomal dominant retinitis pigmentosa (ADRP): localization of an ADRP gene to the long arm of chromosome 3. *Genomics* 1989; 5: 619-622.
64. Dryja TP, McGee TL, Reichel E. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 1990; 343: 364-366.
65. Wang DY, Chan WM, Tam PO. Genetic markers for retinitis pigmentosa. *Hong Kong Med J* 2005; 11: 281-288.
66. McLaughlin ME, Sandberg MA, Berson EL, Dryja TP. Recessive mutations in the gene encoding the beta-subunit of rod phosphodiesterase in patients with retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 1993; 4: 130-134.
67. Wroblewski JJ, Wells JA, Eckstein A. Ocular findings associated with a 3 base pair deletion in the peripherin-RDS gene in autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 831-836.
68. Rosenfeld PJ, Cowley GS, McGee TL, Sandberg MA, Berson EL, Dryja TP. A null mutation in the rhodopsin gene causes rod photoreceptor dysfunction and autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Nat Genet* 1992; 1: 209-213.
69. Bird AC, X-linked retinitis pigmentosa. *Br J Ophthalmol* 1975; 59: 177-199.
70. Mashima Y, Saga M, Akeo K, Oguchi Y. Phenotype associated with an R120X nonsense mutation in the RP2 gene in a Japanese family with X Linked retinitis pigmentosa. *Ophthalmic Genet* 2001; 22: 43-47.
71. Kajiwar K, Berson EL, Dryja TP. Digenic retinitis pigmentosa due to mutations at the unlinked peripherin/RDS and ROM1 loci. *Science* 1994; 264: 1604-1608.
72. Toms M, Bitner-Glindzicz M, Webster A, Moosajee M. Usher syndrome: a review of the clinical phenotype, genes and therapeutic strategies. *Journal Expert Review of Ophthalmology* 2015; 10: 3-5.

73. Petit C. Usher Syndrome: From Genetics to Pathogenesis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001; 2: 271–297.
74. Zamel R, Khan R, Pollex RL, Hegele RA. Abetalipoproteinemia: Two case reports and literature review. *Orphanet J Rare Dis* 2008; 3: 19.
75. Or R, Subaşı M. Retinitis Pigmentosa ve İlgili Hastalıklar Türkiye Klinikleri J Ophthalmol-Special 2 Topics 2009; 2: 45-48.
76. Roberts PA, Gaffney EA, Luthert PJ, Foss AJE, Byrne HM. Mathematical models of retinitis pigmentosa: The oxygen toxicity hypothesis. *J Theor Biol* 2017 Jul 21;425: 53-71.
77. Komeima K, Rogers BS, Lu L, Campochiaro PA. Antioxidants Reduce Cone Cell Death in a Model of Retinitis Pigmentosa. *PNAS*, 2006; 103: 30-32.
78. Eysteinnsson T, Hardarson SH, Bragason D, Stefánsson E. Retinal vessel oxygen saturation and vessel diameter in retinitis pigmentosa. *ActaOphthalmol.* 2014; 92: 449-453.
79. Coşkun G, Özgür H. Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. *Dergipark Arşiv* 2011; 20: 145-158.
80. Adams JM, Cory S. Life or death decisions by the Bcl-2 family. *Trends. Biochem Sci* 2001; 26: 61-66.
81. Adrian C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 390-397.
82. Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E. Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 2004; 52: 821-831.
83. Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanism in Fas mediated apoptosis. *Cell Signal* 2003; 15: 983-992.
84. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell death: critical control points. *Cell* 2004; 116: 205-219.
85. Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev* 2007; 87: 99-163.

86. Smaili S, Hsu Y. Mitochondria in Ca²⁺ signaling and apoptosis. *J. Bioener and Biomem* 2000; 32: 35-46.
87. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000; 69: 217-245.
88. Palmer AM, Greengrass PM, Cavalla D. The role of mitochondria in apoptosis. *Drug News Perspect* 2000; 13: 378-384.
89. Ross MH, Pawlina W. *Histology: a text and atlas*. 6th edition. Louis: Mosby, 2001: 362-460.
90. Donoso LA, Kim D, Frost A, Callahan A, Hageman G: The Role of Inflammation in the Pathogenesis of Age- related Macular Degeneration. *Survey of Ophthalmology* 2006; 51: 137- 151.
91. Ahuja-Jensen P, Johnsen-Soriano S, Ahuja S, Bosch-Morell F, Sancho-Tello M, Romero FJ, et al. Low glutathione peroxidase in rd1 mouse retina increases oxidative stress and proteases *Neuroreport* 2007; 18: 797-801.
92. Butke TM, Sandstrom P. Oxidative Stress as a Mediator of Apoptosis. *Immunol Today* 1994; 15: 7-10.
93. Carmody RJ, McGowan AJ and Cotter TG. Reactive Oxygen Species as Mediators of Photoreceptor Apoptosis in Vitro. *Experimental Cell Research* 1999; 248: 520-530.
94. Narayan DS, Wood JPM, Chidlow G, Casson RJ. A review of the mechanisms of cone degeneration in retinitis pigmentosa. *Acta Ophthalmol* 2016; 94: 748–754.
95. Carmody RJ, McGowan AJ, Cotter TG. Reactive Oxygen Species as Mediators of Photoreceptor Apoptosis in Vitro. *Experimental Cell Research* 1999; 248: 520- 530.
96. Abuja PM, Albertini R. Methods for Monitoring Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 2001; 306: 1- 17.

97. Siân C, Barber Richard J, Mead Pamela J, Shaw Oxidative stress in ALS: A mechanism of neurodegeneration and a therapeutic target *Biochimica et Biophysica Acta* 2006; 1762: 1051–1067.
98. Busciglio J, Yankner B. Apoptosis and increased generation of reactive oxygen species an down's syndrome neurons in vitro. *Nature* 1994; 378: 776–779.
99. Ebadi M, Srinivasan SK, Baxi MD. *Prog Neurobiol*. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. 1996; 48: 1-19.
100. Ripps H. Cell death in retinitis pigmentosa: gap junctions and the 'bystander' effect. *Exp Eye Res* 2002; 74: 327–336.
101. Gupta N, Brown KE, Milam AH. Activated microglia in human retinitis pigmentosa, late-onset retinal degeneration, and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2003; 76: 463–471.
102. Leveillard T, Mohand-Said S, Lorentz O, Hicks D, Fintz AC, Clerin E, et al. Identification and characterization of rod-derived cone viability factor. *Nat Genet* 2004; 36: 755–759.
103. Yu, DY, Cringle SJ, Su EN, Yu PK. Intraretinal oxygen distribution and consumption during retinal artery occlusion and graded hyperoxic ventilation in the rat. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 2000; 41: 3999–4006.
104. Yu DY, Cringle SJ, Valter K, Walsh N, Lee D, Stone Photoreceptor Death, Trophic Factor Expression, Retinal Oxygen Status, and Photoreceptor Function in the P23H Rat *J Invest Ophthalmol Visual Sci* 2004; 45, 2013–2019.
105. Yorio T, Clark A, Wax MB. Degenerative retinopathies. *Ocular therapeutics: Eye on new discoveries*. 2008; 443-472.
106. Berson E, Rosner B, Sandberg M, Hayes K, Nicholson B, Weigel DiFranco C, et al. A randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 1993; 111: 761-772.
107. Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Weigel D, Franco C, Moser A, et al. Further evaluation of docosahexaenoic acid in patients with retinitis pigmentosa receiving vitaminA treatment: subgroup analyses. *Arch Ophthalmol* 2004; 122: 1306-1314.

108. Fishman GA, Gilbert LD, Fiscella RG, Kimura AE, Jam pol LM. Acetazolamide for treatment of chronic macular edema in retinitis pigmentosa. Arch Ophthalmol 1989; 107: 1445-1452.
109. Marmor MF, Kessler R. Sildenafil (Viagra) and ophthalmology. Surv Ophthalmol 1999; 44: 153-162.
110. Weleber RG, Denman ST, Hanifin JM, Cunningham WJ. Abnormal retinal function associated isotretinoin therapy for acne. Arch Ophthalmol 1986; 104: 831-837.
111. Bastek JV, Heckenlively JR, Straatsma BR. Cataract surgery in retinitis pigmentosa patients Ophthalmology 1982; 89: 880-884.
112. Radtke ND, Aramant RB, Seiler MJ, Petry HM, Pidwell D. Vision change after sheet transplantation of fetal retina with retinal pigment epithelium to a patient with retinitis pigmentosa. Arch Ophthalmol 2004; 122: 1159-1165.
113. Chow AY, Chow VY, Packo 17-KH, PollackJS, Peyman GA, Schuchard R. The artificial silicon retina micro chip for the treatment of visual loss from retinitis pigmentosa. Arch Ophthalmol 2004; 122: 460-469.
114. Humayun MS, Weiland JD, Fujii GY, Greenberg R, Williamson R, Little J, et al. Visual perception in a blind subject with a chronic micro electronic retinal prosthesis. Vision Res 2003; 43: 2573-2581.
115. Weiland JD, Liu W, Humayun MS. Retinal prosthesis. Annu Rev Biomed Eng 2005; 7: 361-401.
116. Acland GM, Aguirre GD, Bennett J, Aleman TS, Cideciyan AV, Benicelli J, et al. Long term restoration of rod and cone vision by single dose rAAV-mediated gene transfer to the retina in a canine model of childhood blindness. Mol Ther 2005; 12: 1072-1082.
117. Koeneke RK. Successful RPE65 gene replacement and improved visual function in humans. Ophthalmic Genet 2008; 29: 89-91.
118. Özer A. Herediter Retina Hastalıklarının Gen Tedavisinde Son Gelişmeler. Turk J Ophthalmol 2017; 47: 338-343.

119. Sieving P, Caruso R, Tao W, Coleman H, Thompson D, Fullmer K, et al. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) for human retinal degeneration: phase 1 trial of CNTF delivered by encapsulated cell intra ocular implants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 3896-3901.
120. Evaluation of Safety of Ciliary Neurotrophic Factor Implants in the Eye National Eye Institute: <http://www.clinicaltrials.gov>, 2018.
121. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical chemistry*. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc, 1996; 765-777.
122. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
123. McCord JM, Ide MA. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother* 2005; 59: 139-142.
124. Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, 1995: 1-15.
125. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 1287-1317.
126. Agar NS, Sadrzadeh SM, Hallaway PE, and Eaton JW. Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense *J Clin Invest*. 1986; 77: 319-321.
127. Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası. 2. Baskı, Barış Kitabevi, 1993: 814.
128. Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
129. Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant function of vitamins. Vitamin E and C, betacarotene and other carotenoids. *Ann NY Acad Sci* 1992; 669: 7-20.
130. Frei B, Stocker R, England L, Ames BN. Ascorbate: the most effective antioxidant in human blood plasma. *Av Exp Med Biol* 1990; 264: 155-163.

- 131.** Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *FreeRadical Biology and Medicine* 2014; 72 : 76-90.
- 132.** Zwart De LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 202-226.
- 133.** Burtis CA, Ashwood ER. Vitaminler. Aslan D (Eds). *Klinik Kimyada Temel İlkeler*. Ankara: Palme Yayınları, 2005: 332-601.
- 134.** Nijveldt RJ, Noad E, Hoarn DEC, Boelens PG, Norren K, Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 418-425.
- 135.** Knapen MFCM, Zusterzeel PLM, Peters WHM, Steegers EAP. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 82: 171-184.
- 136.** Cnubben NH, Rietjens IM, Wortelboer H, Zanden J, Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001; 10: 141-152.
- 137.** Haklar G, Sirikçi O, Ozer NK, Yalçın AS. Measurement of reactive oxygen species by chemiluminescence in diet-induced atherosclerosis: protective roles of vitamin E and probucol on different radical species. *Int J Clin Lab Res* 1998; 28: 122-126.
- 138.** Cavet ME, Harrington KL, Vollmer TR, Ward KW, Zhang JZ. Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells. *Mol Vis* 2011; 17: 533-542.
- 139.** Bala I, Bhardwaj V, Hariharan S, Kumar MN. Analytical methods for assay of ellagic acid and its solubility studies. *Pharm Biomed Anal* 2006; 40: 206-210.
- 140.** Aguilera-Carbo A, Augur C, Prado-Barragan LA, Favela-Torres E, Aguilar, CN. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *App Microbiol Biotechnol* 2007; 78: 189-199.

141. Papoutsi Z, Kassi E, Tsiapara A, Fokialakis N, Chrousos GP, Moutsatsou P. Evaluation of estrogenic/antiestrogenic activity of ellagic acid via the estrogen receptor subtypes $\text{er}\alpha$ and $\text{er}\beta$. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 7715-7720.
142. Aviram M, Dornfeld L, Rosenblat M, Volkova N, Kaplan M, Coleman R, et al. Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Clin Nut* 2000; 71: 1062-1076.
143. Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing. *J Agric Food Chem* 2000; 48: 4581-4589.
144. Vatter DA, Jang HD, Levin R, Shetty K. Synergism of cranberry phenolics with ellagic acid and rosmarinic acid for antimutagenic and dna protection functions. *J Food Biochem* 2005; 30: 98-116.
145. Larrosa M, Gonzalez-Sarrias A, Garcia-Conesa MT, Tomas-Barberan FA, Espin JC. Urolithins, ellagic acid-derived metabolites produced by human colonic microflora, exhibit estrogenic and antiestrogenic activities. *J Agric. Food Chem* 2006; 54: 1611-1620.
146. Watzl B, Leitzmann C. Bioaktive substanzen in lebensmitteln. *Hippokrates* 2005: 254.
147. Hurley RE. Interactions of N-methyl-N-nitrosourea and ellagic acid in developmental toxicology. Colorado: Doctor of Philosophy Thesis, Colorado State University, 1998.
148. Fajardo JE. Phenolic compounds in peanut: Studies on pod maturity, ellagic acid, elicitors, growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*, seed protein profiles, and isozymes, Doctor of Philosophy Thesis, Texas A&M University, Texas; 1992.
149. Sakthivel M, Elanchezhian R, Ramesh E, Isai M, Jesudasan CN, Thomas PA, Geraldine P. Prevention of selenite-induced cataractogenesis in Wistar rats by the polyphenol, ellagic acid. *Exper Eye Res* 2008; 86: 251-259.

150. Yamamoto Y, Kuwahara T, Watanabe K, Watanabe K. Antioxidant activity of 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, Redox Report: Communications in Free Radical Research, 1996; 5: 333–338.
151. Tomomi M, Masamitsu S, Hideaki H. Retinal Diseases Associated with Oxidative Stress and the Effects of a Free Radical Scavenger (Edaravone) Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume, 2017; 14: 246-252.
152. Qin T, Lei LY, Li N, Shi FR, Chen MH, Xie L. Edaravone improves survival and neurological outcomes after CPR in a ventricular fibrillation model of rats. The American Journal of Emergency Medicine, 2016; 34: 1944–1949.
153. Hironaka K, Inokuchi Y, Fujisawa T, Shimazaki H, Akane M, Tozuka Y, et al. Edaravone-loaded liposomes for retinal protection against oxidative stress-induced retinal damage. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 79 (2011) 119-125.
154. Inokuchi Y, Imai S, Nakajima Y, Shimazawa M, Aihara M, Araie M, Hara H. Edaravone, a free radical scavenger, protects against retinal damage in vitro and in vivo. J. Pharmacol Exp Ther 2009; 329: 687–698.
155. Amemiya S, Kamiya T, Nito C. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of edaravone following transient focal ischemia in rats. Eur J Pharmacol 2005; 516: 125–130.
156. Roh MI, Murakami Y, Thanos A, Vavvas DG, Miller JW. Edaravone, an ROS scavenger, ameliorates photoreceptor cell death after experimental retinal detachment. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2011; 52: 3825–3831.
157. Yuan Y, Zha H, Rangarajan P, Ling EA, Wu C. Anti-inflammatory effects of Edaravone and Scutellarin in activated microglia in experimentally induced ischemia injury in rats and in BV-2 microglia. BMC Neuroscience 2014, 15: 125-127.
158. Brückner R. Spaltlampenmikroskopie und Ophthalmoskopie am Auge von Ratte und Maus. DocOphthalmol 1951; 5–6: 452–454.
159. Farber DB. From mice to men: the cyclic GMP phosphodiesterase gene in vision and disease. The Proctor lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci 1995; 36: 263–275.

- 160.** Bowes C, Li T, Danciger M. Retinal degeneration in the rd mouse is caused by a defect in the beta subunit of rod cGMP-phosphodiesterase. *Nature* 1990; 347: 677–680.
- 161.** Barnett KC, Curtis R. Autosomal dominant progressive retinal atrophy in Abyssinian cats. *J Hered* 1985; 76: 168–170.
- 162.** Curtis R, Barnett KC, Leon A. An early-onset retinal dystrophy with dominant inheritance in the Abyssinian cat. Clinical and pathological findings. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987; 28: 131–139.
- 163.** Leon A, Curtis R. Autosomal dominant rod-cone dysplasia in the Rdy cat. 1. Light and electron microscopic findings. *Exp Eye Res* 1990; 51: 361–381.
- 164.** Kommonen B, Penn JS, Kylma T. Early morphometry of a retinal dystrophy in Labrador retrievers. *Acta Ophthalmol Copenh* 1994; 72: 203–210.
- 165.** Suber ML, Pittler SJ, Qin N. Irish setter dogs affected with rod/cone dysplasia contain a nonsense mutation in the rod cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 3968–3972.
- 166.** Ulshafer RJ, Allen CB. Ultrastructural changes in the retinal pigment epithelium of congenitally blind chickens. *Curr Eye Res* 1985; 4: 1009–1021.
- 167.** Semple Rowland SL, Lee NR, Van Hooser JP. A null mutation in the photoreceptor guanylate cyclase gene causes the retinal degeneration chicken phenotype. *Curr Eye Res* 1998; 4: 1119–1121.
- 168.** Travis GH, Brennan MB, Danielson PE. Identification of a photoreceptor-specific mRNA encoded by the gene responsible for retinal degeneration slow (rds). *Nature* 1989; 338: 70–73.
- 169.** Sanyal S, De Ruiter A, Hawkins RK. Development and degeneration of retina in rds mutant mice: light microscopy. *J Comp Neurol* 1980; 194: 193–207.
- 170.** Bhattacharya SS, Wright AF, Clayton JF. Close genetic linkage between X-linked retinitis pigmentosa and a restriction fragment length polymorphism identified by recombinant DNA probe L1.28. *Nature* 1984; 309: 253–255.

171. Dryja TP, McGee TL, Hahn LB. Mutations within the rhodopsin gene in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *N Engl J Med* 1990; 323: 1302–1307.
172. Dryja TP, McGee TL, Reichel E. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 1990; 343: 364–366.
173. Travis GH, Brennan MB, Danielson PE, et al. Identification of a photoreceptor-specific mRNA encoded by the gene responsible for retinal degeneration slow (rds). *Nature* 1989; 338: 70–73.
174. Kajiwarra K, Berson EL, Dryja TP. Digenic retinitis pigmentosa due to mutations at the unlinked peripherin/RDS and ROM1 loci. *Science* 1994; 264: 1604–1608.
175. Wagner TE, Hoppe PC, Jollick JD. Microinjection of a rabbit beta-globin gene into zygotes and its subsequent expression in adult mice and their offspring. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 6376–6380.
176. Steinberg RH, Flannery JG, Naash M. Transgenic rat models of inherited retinal degeneration caused by mutant opsin genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 698–670.
177. Liu C, Li Y, Peng M. Activation of caspase-3 in the retina of transgenic rats with the rhodopsin mutation s334ter during photoreceptor degeneration. *J Neurosci* 1999; 19: 4778–4785.
178. Lewin AS, Drenser KA, Hauswirth WW. Ribozyme rescue of photoreceptor cells in a transgenic rat model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Nat Med* 1998; 4: 967–971.
179. Li ZY, Wong F, Chang JH. Rhodopsin transgenic pigs as a model for human retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 808–819.
180. Noëll WK. Aspects of experimental and hereditary retinal degeneration. Graymore CN, (ed). *Biochemistry of the retina*. London: Academic Press, 1965: 51–72.
181. Chen CK, Burns ME, Spencer M. Abnormal photoresponses and light-induced apoptosis in rods lacking rhodopsin kinase. *Proc Natl Acad Sci* 1999; 96: 3718–3722.

182. Chen J, Simon MI, Matthes MT. Increased susceptibility to light damage in an arrestin knockout mouse model of Oguchi disease (stationary night blindness). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 2978–2982.
183. Hafezi F, Marti A, Munz K. Light-induced apoptosis: differential timing in the retina and pigment epithelium. *Exp Eye Res* 1997; 64: 963–970.
184. Hafezi F, Steinbach JP, Marti A, et al. The absence of c-fos prevents light-induced apoptotic cell death of photoreceptors in retinal degeneration in vivo. *Nat Med* 1997; 3: 346–349.
185. Hafezi F, Grimm C, Simmen BC, Wenzel A, Remé CE. Molecular ophthalmology: an update on animal models for retinal degenerations and dystrophies. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 922–927.
186. Christmann M, Kaina B. Nuclear translocation of mismatch repair proteins MSH2 and MSH6 as a response of cells to alkylating agents. *J Biol Chem* 2000; 275: 36256–36262.
187. Jobst K. Teratogenous changes and tumors in rats following treatment with methylnitroso-urea (MNU). *Neoplasma* 1967; 14: 435–436.
188. Herrold KM. Pigmentary degeneration of the retina induced by N-methyl-N-nitrosourea. An experimental study in Syrian hamsters. *Arch Ophthalmol* 1967; 78: 650–653.
189. Yoshizawa K, Yang J, Senzaki H, Uemura Y, Kiyozuka Y, Shikata N, et al. Caspase-3 inhibitor rescues N-methyl- N-nitrosourea-induced retinal degeneration in Sprague–Dawley rats. *Exp Eye Res* 2000; 71: 629–635.
190. Petrin D, Baker A, Coupland SG, Liston P, Narang M, Damji K, et al. Structural and functional protection of photoreceptors from MNU-induced retinal degeneration by the X-linked Inhibitor of apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 2757–2763.
191. Doonan F, Donovan M, Cotter TG. Caspase-independent photoreceptor apoptosis in mouse models of retinal degeneration. *J Neurosci* 2003; 23: 5723–5731.
192. Zulliger R, Lecaude S, Eigeldinger-Berthou S, Wolf-Schnurrbusch UEK, Enzmann V. Caspase-3-independent photoreceptor degeneration by N-methyl-N-nitrosourea

(MNU) induces morphological and functional changes in the mouse retina. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 2011; 249: 859–869.

- 193.** Miriam R, Jasmin B, Rahel Z, Volker E. Multiple programmed cell death pathways are involved in N-methyl-N-nitrosourea-induced photoreceptor degeneration Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2015; 253: 721–731.
- 194.** Linnea T, Karin A, Fredrik G. N-methyl-N-nitrosourea-induced neuronal cell death in a large animal model of retinal degeneration in vitro Experimental Eye Research 2016; 148: 55-64.
- 195.** Mordes D, Luo X, Kar A, Kuo D, Xu L, Fushimi K, et al. Pre-mRNAsplicing and retinitis pigmentosa. Mol Vis 2006; 12: 1259–1271.
- 196.** Maeda H, Ogata N, Yi X. Apoptosis of photoreceptor cells in ornithine-induced retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1998; 236: 207–212.
- 198.** Abuja PM, Albertini R. Methods for Monitoring Oxidative Stress, Lipid Peroxidationand Oxidation Resistance of Lipoproteins. Clinica Chimica Acta 2001; 306: 1- 17.
- 199.** Imai S, Inokuchi Y, Nakamura S, Tsuruma K, Shimazawa M, Hara H. Systemic administration of a free radical scavenger, edaravone, protects against light-induced photoreceptor degeneration in the mouse retina European Journal of Pharmacology 2010; 642; 77–85.
- 200.** Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Weigel-DiFranco C, Brockhurst RJ, Hayes KC, et al. Clinical trial of lutein in patients with retinitis pigmentosa receiving vitamin Arch Ophthalmol 2010; 128: 403–411.
- 201.** Berson EL, Rosner MA, Sandberg C, Weigel-DiFranco WC, Omega-3 intake and visual acuity in patients with retinitis pigmentosa receiving Vitamin A. Arch Ophthalmol 2012;130: 707-711.
- 202.** Pasantes M, Hugo Qand Octavio Q. Treatment with Taurine, Diltiazem, and Vitamin E Retards the Progressive Visual Field Reduction in Retinitis Pigmentosa: a 3-year follow-up study herminia metabolic brain disease, 2002; 17: 13-16.

203. Lee SY, Usui S, Zafar AB, Oveson B, Jo YJ, Lu L, Masoudi S, Peter A. N-Acetylcysteine Promotes Long-Term Survival of Cones in a Model of Retinitis Pigmentosa. *Campochiaro. J Cell Physiol* 2011; 226: 1843–1849.
204. Kiuchi K, Yoshiza WA, Shikata N, Matsumura M, Tsubura A. Nicotinamide prevents N-methyl-N-nitrosourea-induced photoreceptor cell apoptosis in Sprague-Dawley rats and C57BL mice. *Exp Eye Res* 2002; 74, 383-392.
205. Kiuchi K, Kondo M, Ueno S, Moriguchi K, Yoshizawa K, Miyake Y, et al. Functional rescue of Nmethyl-N-nitrosourea-induced retinopathy by nicotinamide in Sprague-Dawley rats. *Curr Eye Res* 2003; 26: 355-362.
206. Emoto Y, Yoshizawa K, Uehara N, Kinoshita Y, Yuri T, Shikata N, Tsubura A. Curcumin Suppresses N-Methyl-N-Nitrosourea-Induced Photoreceptor Apoptosis In Sprague-Dawley Rats in vivo 2013; 27: 583-590.
207. Yu DY, Cringle SJ, Valter K, Walsh N, Lee D, Stone J Photoreceptor death, trophic factor expression, retinal oxygen status, and photoreceptor function in the P23H rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2013–2019.
208. Lin FL, Lin CH, Ho JD, Yen JL, Chang HM, George CY. The natural retinoprotectant chrysophanol attenuated photoreceptor cell apoptosis in an N-methyl-N nitrosourea induced mouse model of retinal degeneration. *Scientific Reports* 2017; 7:41086.
209. Emoto Y, Yoshizawa K, Kinoshita Y, Yuki M, Yuri T, Tsubura A. Green tea extract attenuates MNU-induced photoreceptor cell apoptosis via suppression of heme oxygenase-1. *J Toxicol Pathol* 2016; 29: 61–65.
210. Larrosa M, Gonzalez-Sarrias A, Garcia-Conesa MT, Tomas-Barberan FA, Espin JC. Urolithins, ellagic acid-derived metabolites produced by human colonic microflora, exhibit estrogenic and antiestrogenic activities. *J Agric. Food Chem* 2006; 54: 1611-1620.
211. Hurley RE. Interactions of N-methyl-N-nitrosourea and ellagic acid in developmental toxicology. Colorado: Doctor of Philosophy Thesis, Colorado State University, 1998:148-162.

- 212.** Fajardo JE. Phenolic compounds in peanut: Studies on pod maturity, ellagic acid, elicitors, growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*, seed protein profiles, and isozymes, Doctor of Philosophy Thesis, Texas A&M University, 1992:188-196.
- 213.** Hannum SM. Potential Impact of Strawberries on Human Health: A Review of the Science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2004; 44: 1-17.
- 214.** Nakajima M, Nambu H, Shikata N, Senzaki H, Miki H, Tsubura A. Pigmentary degeneration induced by N-methyl-N-nitrosourea and the fate of pigment epithelial cells in the rat retina. *Pathol Int* 1996; 46: 874-882.
- 215.** Yuge K, Nambu H, Senzaki H, Nakao I, Miki H, Uyama M, Tsubura A. N-methyl-N-nitrosourea-induced photoreceptor apoptosis in the mouse retina. *In Vivo* 1996; 10: 483-488.
- 216.** Yoshizawa K, Nambu H, Yang J, Oishi Y, Senzaki H, Shikata N, et al. Mechanisms of photoreceptor cell apoptosis induced by N-methyl-N-nitrosourea in Sprague-Dawley rats. *Lab Invest* 1999; 79: 1359-1367.

6. ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Batman’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Batman ve Mardin’de tamamladım. 2007 yılında Batman Fen Lisesi’nden mezun oldum. 2013 yılında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 2014 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladım. Halen Fırat Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı’nda araştırma görevlisi olarak çalışmaya devam etmekteyim.

