



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PRİMER AÇIK AÇILI GLOKOMDA
MANNOZ BAĞLAYICI LEKTİN SERUM SEVİYESİ
VE
H/L GEN POLİMORFİZMİ**

**Dr. Özer DURSUN
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ayça YILMAZ**

**Bu tez, BAP-TF CTB (ÖD) 2009-3 TU kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir**

Mersin-2009

TEŞEKKÜR

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim süresince beni teşvik edip yönlendiren ve çalışmalarımda her zaman destek, ilgi ve anlayışını gördüğüm, yetişmemde büyük katkıları olan hocalarım Sayın Doç.Dr. Özlem YILDIRIM, Doç. Dr. Atila ARGİN, Doç. Dr. Ayça YILMAZ, Doç. Dr. Ufuk ADIGÜZEL ve Yrd. Doç. Dr. A. Ayça SARI'ya sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin oluşumu ve yönlendirilmesinde büyük katkı ve emeğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ayça YILMAZ'a, tezimin istatistiksel analizinde bana yol gösteren Sayın Yrd. Doç. Dr. Bahar TAŞDELEN'e, biyokimyasal çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Lülüfer TAMER'e, Arş. Gör. Lokman AYAZ'a ve tüm çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Tüm hayatım ve eğitimim boyunca maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan canım annem ve babam Neriman ve Osman DURSUN ile kardeşim Özgür DURSUN'a ve sevgili eşim Dr. Pınar DURSUN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Özer DURSUN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ ve AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	9
Glokom	9
Tanım	9
Epidemiyoloji	9
Risk Faktörleri	9
Glokom sınıflandırması	11
Primer açık açılı glokom	15
Primer açık açılı glokomun patofizyolojisi	15
Primer açık açılı glokomun kliniği	18
Normotansif glokom	20
Normotansif glokomda risk faktörleri	20
Kompleman sistemi	21
Klasik kompleman yolu	22
Alternatif kompleman yolu	22
Komplemanın lektin yolu	22
Apopitotik hücrelerin tanınmasında MBL'nin rolü	24
Muhtemel MBL-glokom ilişkisi	24
Mannoz bağlayıcı lektin geni	24
GEREÇ ve YÖNTEM	27
Hasta ve kontrol grubunun belirlenmesi	27
Serum MBL düzeylerinin ölçümü	28
Çalışma solüsyonlarının hazırlanması	28
Serum örneklerinin dilüsyonu	28
Deneyin yapılışı	28
Mannoz bağlayıcı lektin gen polimorfizminin belirlenmesi	29
DNA izolasyonu	29

Prensip	29
Protokol	29
H/L varyantı için primer ve prob dizaynı	30
Polimeraz zincir reaksiyonu	30
PZR koşulları	31
Genotip belirlenmesi (Melting Curve analizi)	32
BULGULAR	34
TARTIŞMA	38
SONUÇ ve ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	45
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	54
ŞEKİLLER DİZİNİ	55
TABLolar DİZİNİ	56

ÖZET

Günümüzde glokom gelişiminde apopitotik prosesler, artmış nitrik oksit seviyesi ve otoimmün komponent muhtemel patogenetik faktörler olarak tartışılmaktadır. Mannoz bağlayıcı lektin (MBL), komplemanın lektin yolunun tanıma molekülüdür. MBL seviyelerindeki değişimler ve MBL allellerindeki değişiklikler otoimmün hastalıklar ile ilişkili olabilmektedir.

Çalışmamızda otoimmün hastalıklarla ilişkisi olduğu bilinen MBL serum seviyesi ve H/L gen polimorfizminin primer açık açılı glokom hastalarındaki dağılımını araştırdık.

45 hasta serumunda ortalama MBL serum seviyesi 21.30 µg/ml, 45 kontrol bireyinden alınan serum örneklerinde ise ortalama 17.48 µg/ml olarak tespit edildi ($p < 0.001$). Genotip oranlarına bakıldığında hasta ve kontrol gruplarında LL, HL, HH varyantların oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.8$). 28 LL genotipinde ortalama MBL serum seviyesi 19.45 µg/ml, 37 HL genotipinde 18.78 µg/ml, 25 HH genotipinde 20.22 µg/ml olarak tespit edildi. İstatistiksel değerlendirmede farklı genotiplerde serum seviyesi açısından anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p > 0.5$). İleri hastalık grubunda ortalama MBL serum seviyesi 22.53 µg/ml iken, orta hastalık grubunda ortalama MBL serum seviyesi 20.13 µg/ml idi ($p > 0.5$). İleri hastalık grubunda LL allel 8 (%36.4) hastada, HL allel 9 (%40.9) hastada, HH allel 5 (%22.7) hastada saptandı. Orta hastalık grubunda ise LL allel 5 (%21.7) hastada, HL allel 11 (%47.8) hastada, HH allel 7 (%30.4) hastada saptandı. Bu iki grupta hastalar genotip açısından birbirleriyle karşılaştırıldığında HH, HL ve LL alleller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.5$).

PAAG hastalarından oluşan grupta serum MBL seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olması, artmış MBL düzeylerinin otoimmün patogeneze etkili olabileceğini düşündürmektedir. Hastalığın ileri ve orta şiddetli formlarında serum seviyelerinin farklı olmaması ve H/L gen polimorfizminin de iki grup arasında benzer oranda olması hem MBL serum seviyesi, hem de H/L gen polimorfizminin hastalığın progresyonunda etkili olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Gen polimorfizmi, Mannoz bağlayıcı lektin, Otoimmünite, Primer açık açılı glokom.

ABSTRACT

MBL Serum Levels and H / L Gene Polymorphism In Primary Open Angle Glaucoma

Apoptotic processes, increased nitric oxide levels and autoimmune components are discussed as possible pathogenetic factors for glaucoma, today. Mannose binding lectin (MBL) is the recognition molecule of the complement's lectin pathway. Changes in MBL levels and MBL alleles may be associated with autoimmune diseases.

In our study, we investigated serum levels of MBL and H / L gene polymorphism, known to be associated with autoimmune diseases, in patients with primary open-angle glaucoma.

In 45 patients the mean serum level of MBL was 21.30 µg/ml. In the group of 45 control subjects, the mean serum level of MBL was 17.48 µg/ml ($p < 0.001$). Looking at the genotype rates of patient and control groups, the difference between genotype LL, HL, HH rates were not found to be statistically significant ($p > 0.8$). The mean serum level of MBL in the cases of 28 LL genotype was 19.45 µg/ml, 37 HL genotype was 18.78 µg/ml, 25 HH genotype was 20.22 µg/ml ($p > 0.5$). In advanced disease group, the average serum level of MBL was 22.53 µg/ml, while it was 20.13 µg/ml in the intermediate disease group. MBL serum levels were compared with each other in these two groups and no statistically significant difference was found ($p > 0.5$). In advanced disease group 8 patients (36.4%) with LL allele, 9 patients (40.9%) with HL allele, 5 patients (22.7%) with HH allele were detected. In the intermediate disease group 5 patients (21.7%) with LL allele, 11 patients (47.8%) with HL allele, 7 patients (30.4%) with HH allele were detected ($p > 0.5$).

Serum MBL level of POAG patients is higher than the control group, increased MBL levels may suggest a possible effect to autoimmune pathogenesis. In the severe and mild forms of the disease, serum levels do not differ and H/L gene polymorphism between the two groups have similar rates, both the MBL serum level, as well as H/L gene polymorphism is not effective in progression.

Key Words: Autoimmunity, Gene polymorphism, Mannose binding lectin, Primary open angle glaucoma.

GİRİŞ VE AMAÇ

Glokom, retinal ganglion hücre ve aksonlarının kaybı, optik sinir dejenerasyonu ve ilerleyen görme alanı kaybı sonucunda körlüğe yol açabilen bir hastalıktır. En yaygın formu olan primer açık açılı glokomda optik sinir hasarına görme alanı defektli ve artmış göz içi basıncı (GİB) eşlik etmektedir. Glokom hastalarının %30'unda hiç GİB yüksekliği olmamaktadır. Hastalığın bu formu da normotansif glokom (NTG) olarak bilinmektedir.

Günümüzde glokom patogenezi sadece kısmen araştırılmış ve anlaşılabilmiştir. Kesin olan bu hastalığın tek nedeninin göz içi basıncı artışı olmadığıdır. GİB major bir risk faktörü olarak tanımlanmakta ve apoptotik prosesler, artmış nitrik oksit seviyesi ve otoimmün komponent muhtemel patogenetik faktörler olarak tartışılmaktadır. Bir çok araştırmacı son yıllarda özellikle primer açık açılı glokomun bir alt tipi olan normotansif glokomda immünolojik kökenli patolojiler dikkat çekmektedir. Bazı araştırmacılar NTG'nin organ spesifik bir otoimmün hastalık olduğunu da ileri sürmektedir.

Mannoz bağlayıcı lektin (MBL), komplemanın lektin yolunun tanıma molekülüdür. MBL'nin ligandlarına bağlanmasını takiben ortaya çıkan kompleman aktivasyonu doğal immün sistemin önemli bir komponentidir¹. Artmış MBL seviyelerinin inflamatuvar hastalıklar, transplant rejeksiyonu, diyabetik nefropati ile olduğu gibi birtakım otoimmün hastalıklarla da ilişkisi olduğu bilinmektedir.

MBL, insan immün sisteminin bir parçası olduğu bilinen bir serum lektinidir¹. Doğal immün sistemin, aşırı immün cevap oluşumuna yol açarak otoimmüniteyi başlatabildiği ve şiddetlendirebildiği belirtilmektedir². Otoimmünitenin major komponentlerinden biri de bozulmuş apoptotik hücrelerin uzaklaştırılmasıdır. MBL apoptotik hücrelerin in vitro^{3,4} ve in vivo⁵ ortamlarda uzaklaştırılmalarını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca artmış serum MBL seviyelerinin hücrel immün cevabı arttırarak, komplemanın lektin yolunu aktive ederek doku hasarını başlatabileceği tartışılmaktadır. Hem apoptotik hücre uzaklaştırılmasındaki defekt, hem de artmış MBL serum düzeyine bağlı olarak komplemanın lektin yolundaki aşırı aktivasyonu sonucunda otoimmün hasar ve doku zedelenmesi ortaya çıkmaktadır⁶.

İki insan MBL geni bulunmaktadır. Bunlardan birisi yalancı-gen MBL-1 ve bir protein ürün veren fonksiyonel MBL-2'dir. Fonksiyonel MBL-2 geni 10.

kromozom üzerinde (q11.2-q21) bulunur ve 4 ekzondan oluşur. Ekzon-1 sinyal peptidi, sisteinden zengin bir bölge ve kollajen benzeri bölgenin bir kısmını kodlar. Bu ekzon üzerinde saptanan mutasyonlar sırasıyla 54, 57 ve 52'inci kodonlarda saptanmış olup bu mutasyonlar A, B, C ve D varyantları olarak keşif tarihlerine göre adlandırılmışlardır. Buradaki A varyantı doğal olan varyanttır. Promotör bölgede de bir dizi mutasyon bulunmaktadır. Madsen ve ark. bu bölgede üç önemli nokta mutasyonu bulmuşlardır. Bu mutasyonlar -550 pozisyonunda H/L, -221'de X/Y ve +4'de P/Q'dur⁷. Hemen ardından düşük protein seviyeleri ile ilişkili dört genel haplotip belirlenmiştir ve LXP, LYP, LYQ ve HYP olarak adlandırılmışlardır⁸.

Biz çalışmamızda bu promotör bölgedeki H/L mutasyonu ve MBL serum seviyesi açısından PAAG hastaları ile kontrol grubunu birbiriyle karşılaştırdık. Bu mutasyonun 3 değişik varyantında (LL, HL, HH) MBL serum seviyesinin nasıl etkilendiğini, hastalığın ileri ve orta şiddetli formlarında H/L mutasyonu ve MBL serum seviyesinin değişip değişmediğini de araştırdık.

Bu çalışmanın amacı otoimmün hastalıklarla ilişkisi olduğu bilinen MBL'nin serum seviyesi ve H/L gen polimorfizminin yine muhtemel patogenetik faktörlerinden birinin otoimmünite olduğu düşünülen glokomda düzey ve dağılımını araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

Glokom

Tanım

Glokom, optik atrofi ve optik diskte çukurlaşma ile karakterize ilerleyici görme alanı kaybı ve bilateral körlüğe yol açabilen bir hastalıktır. Etiyolojik olarak heterojen olan, fakat retinal gangliyon hücrelerinin fonksiyon bozukluğu veya ölümü, ilerleyici görme alanı kaybı gibi benzer klinik bulgulara sahip olan optik nöropatlere verilen genel bir terimdir.

Epidemiyoloji

Yaş ve genetiğin glokomun prevalansı üzerinde büyük etkisi vardır. Günümüze değin yapılan epidemiyolojik araştırmalar Avrupa ve Kuzey Amerika'da ya da diğer bölgelerdeki beyaz ırk ya da Afrika kökenli popülasyonlar üzerinde yoğunlaşmış olmasına rağmen son zamanlarda Çin'de sarı ırkın verileri de elde edilmeye başlanılmıştır. 21'inci yüzyılın başlarında tüm dünyada 70 milyonu aşkın glokomlu saptanmıştır. Bunların %53'ü primer açık açılı glokom (PAAG) , %36'sı primer açılı kapanması glokomu (PAKG) ve geri kalan %11'i sekonder glokomdur. Popülasyon yaşlandıkça bu sayılar daha da yükselecektir. Shiao ve arkadaşları 1990 yılında yaptıkları bir çalışmada 7 milyon kişinin glokomdan dolayı kör olacağını öne sürmüşlerdir⁹. Krumpal ve arkadaşları 40 yaşın üzerindeki popülasyonda %1,5-2 oranında glokoma rastlamışlardır ve %6-26' sının glokoma bağlı nedenlerden dolayı kör olduğunu tespit etmişlerdir¹⁰.

Risk Faktörleri

1.Yaş: Gerek prevalans gerekse insidans oranları glokomun yaşla arttığını ortaya koymaktadır (2-4 kat). 40 yaşın altında %0.7 oranında gözlenirken, 60 yaş üzerinde %4.8 oranında gözlenir¹¹.

2.Cinsiyet: Cinsiyetler arasında göz içi basıncı yönünden fark olmasa da, kadınlarda normal basınçlı glokoma daha sık rastlanmaktadır. Bu kısmen vazospastik sendromun kadınlarda daha sık olmasına bağlı olabilir. PAAG'si olan bayanların belli bir basınç düzeyinde, glokomatöz hasar geliştirme riski, erkeklere nazaran daha yüksektir.

3.Irk-etnik köken: Afrikalılarda açık açılı glokom sıklığı beyazlara oranla yaklaşık 4 kat fazladır. Bu oran melez Afrikalılarda daha düşüktür. Çinlilerde açılı kapanması glokomu sıklığı diğer ırklara göre fazladır. Siyah ırkta optik sinir başı

perfüzyonunu bozan sistemik hipertansiyon ve orak hücreli anemi sıklığının fazla oluşu bu duruma katkıda bulunmaktadır^{12,13}.

4.Heredite: Kronik basit glokomlu gözlerde trabeküler ağda plazma hücresi ve gamma globülin tespiti hastalığın immünolojik ve herediter olduğunu göstermiştir¹⁴. Glokomlu kişilerin ailelerinde de glokom hikayesi vardır. Epidemiyolojik çalışmalar ailesinde glokom bulunanlarda bu riskin 2 ile 5 kat fazla olduğunu göstermektedir¹⁵. Glokomlu hastalarda yapılan çalışmalarda 1. kromozomun kısa kolunda bulunan bir gende (TIGR) mutasyon olduğu tespit edilmiştir^{16,17}. Bu gen trabeküler dokulardaki dışa akım fizyolojisini potansiyel olarak etkileyen bir gen ve protein olarak belirlenmiştir. Basit kronik glokomlu hastaların %4'ünde TIGR geninde mutasyona rastlanılmıştır¹⁸. Çin'de yapılan bir çalışmada ise diğer toplumlara göre çok düşük (%1.4) bulunmuştur¹⁹.

5.Miyopi: Yapılan geniş serili çalışmalarda yüksek miyop gözlerde glokomun görülme sıklığı normal popülasyondan çok daha yüksek bulunmuştur^{20,21}. 10 dioptrinin üzerinde glokom prevalansı artmaktadır. Miyopi ve glokomda benzer bağ dokusu değişiklikleri vardır, sklera gerilimi fazla olup, aralarında güçlü ailevi bağ ve ortak genetik bağ mevcuttur. Myopik gözlerde kısa aksiyel uzunluğu olan aynı GİB'ye sahip hastalara göre lamina kribrosayı da içeren bölgelerde skleral gerilim daha fazladır.

6.Hipermetropi: Hipermetropik şahısların akut açı kapanması glokomu geliştirme riskleri daha yüksek olsa da, GİB' ye daha duyarlı değillerdir.

7.Diyabet : Diyabetiklerde ve pozitif glukoz tolerans testi olanlarda glokom prevalansı normal popülasyondan 3 kat daha fazladır^{22,23}. Glokomun 10 yıllık insidansı diabetin erken başladığı kişilerde %3.7, geç başlayan ve insülin kullanmayanlarda %6.9, insülin kullananlarda ise %11.8 olarak saptanmıştır²⁴. Küçük damar tutulumu optik diski basınç ile ilgili hasara daha duyarlı yapmaktadır.

8.Sistemik Hipertansiyon ve Kardiyovasküler-Hematolojik Bozukluklar: 60 yaş altındaki hastalarda hipertansiyon glokomdan korurken bu yaş üstündekilerde ters etki gösterir ve olayı hızlandırır. Başlangıçta hipertansiyon perfüzyon artışı yaparken belli bir süre sonra mikrovasküler harabiyet sonucu optik sinirdeki perfüzyonun bozulmasına neden olur²⁵. Diyastolik perfüzyon basıncı 50 mmHg'nın altına düşmediği sürece PAAG ve hipertansiyon arasında pozitif ilişki gösterilememiştir²⁶. PAAG'de olguların

%11.6'sında kan basıncı düşüktür. Hiperkoagülabilité, artmış trombosit agregasyonu, hiperkolesterolemi gibi hematolojik ve kardiyovasküler bozukluklar da optik disk perfüzyonunu etkileyerek sinir harabiyetini arttıırırlar²⁷.

9.Migren ve Vazospazm: Kan damarlarındaki periyodik vazokonstrüksiyon ile oluşan iskeminin glokomatöz hasarı başlattığı kabul edilir²⁸. Migrende oküler kan akımında geçici değışiklik ve periferik vazospazm olması çok güçlü kanıtlar olmamasına rağmen bazı vakalarda glokom gelişmesine neden olabilir^{29,30}.

10.Optik Sinir Başı Görünümü: Önemli bir glokom göstergesidir. Glokom hasarı oluşunca cup/disk (C/D) oranı artar. Optik diskteki C/D oranı ne kadar büyükse görme alanı kaybı da o kadar fazla olur.

Glokom Sınıflandırması (Şekil 1)

Açık Açılı Glokom

Primer Açık Açılı Glokom: Bütün glokom tipleri arasında en sık görülenidir. Genellikle iki taraflı ve sinsi seyirlidir. 40 yaşından sonra ortaya çıkar. 16 yaşından küçük yaşlarda ortaya çıkanlara jüvenil tip denir.

Oküler Hipertansiyon (OHT) : GİB 21 mmHg'nın biraz üzerinde seyretmesine rağmen optik disk ve görme alanı değışikliklerine rastlanmaz.

Normotansif Glokom: GİB normal sınırlarda olmasına rağmen optik disk ve görme alanı değışiklikleriyle primer açık açılı glokoma benzerler. Bir çok yazar tarafından primer açık açılı glokomun bir subtipi olduğu da belirtilmektedir. Bu gruptaki hastalar gerçek normal tansiyonlu olabildikleri gibi, GİB'nin günlük değışikliklerinden dolayı, yüksek basınçlı devreleri gözden kaçırılmış da olabilir. Bu nedenle şüpheli durumlarda hastaların GİB'leri bir hafta süre ile gece ve gündüz belirli aralıklarla ölçülmelidir.

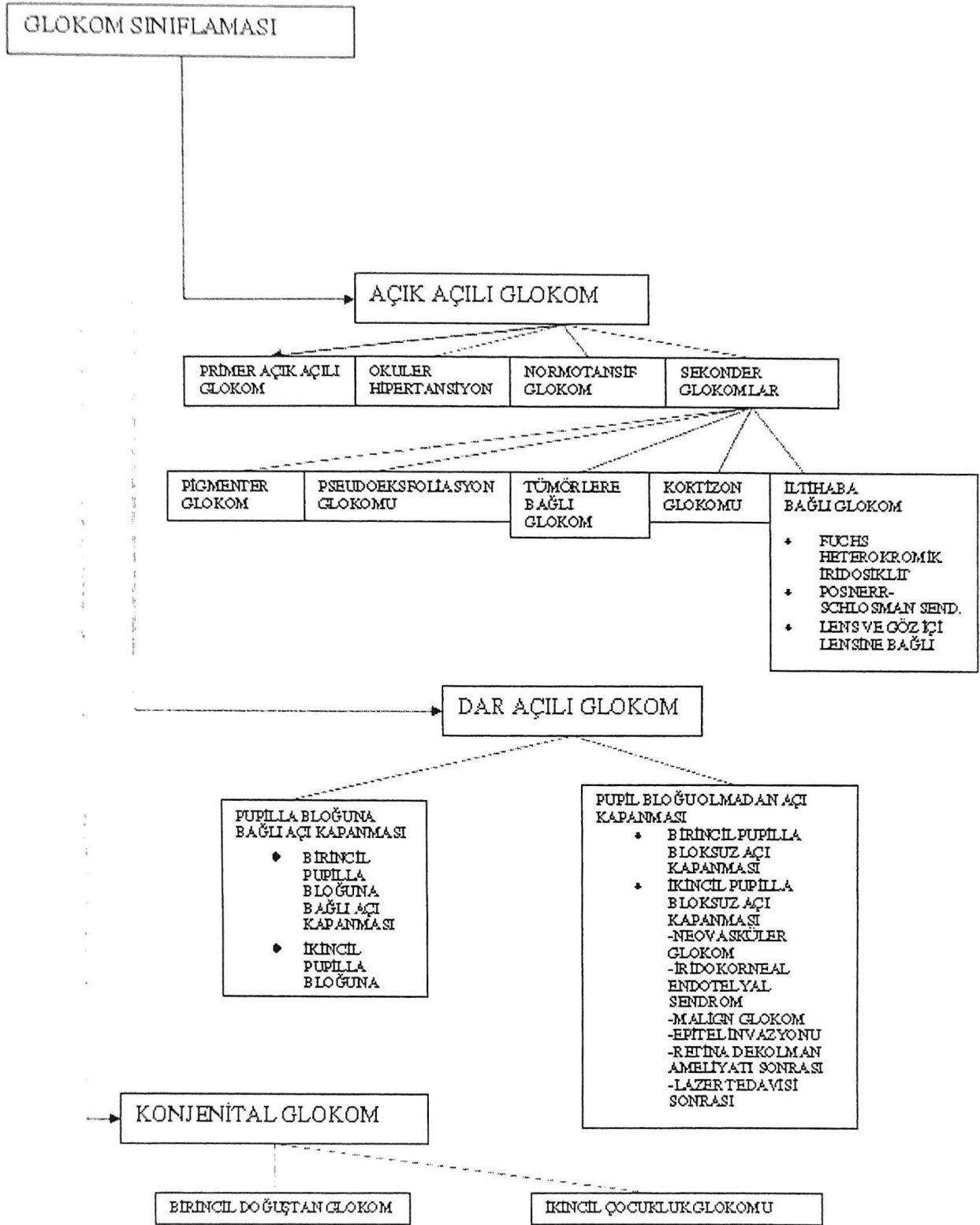
Sekonder Glokomlar

İnflamasyona Bağlı Glokom

Fuchs'un Heterokromik İridosikliti: Tek taraflı, ön kamarada presipitatlar ve iris renginde açıklıkla seyreden bir glokom tipidir.

Possner-Schlosmann Sendromu: Tek taraflı, ön kamarada az hücre, kornea endotelinde ince presipitatlar ile birlikte 40-60 mmHg'ya kadar varan GİB yükselmesi vardır.

Lens ve Göz İçi Lensine Bağlı: Fakoanafilaktik üveit, fakolitik glokom ve üveit-glokom-hifema sendromundan oluşur.



Şekil 1. Glokom sınıflaması.

Pigmenter Glokom: Ender görülen 3. ve 5. dekatlarda başlayan ve miyop erkeklerde daha sık rastlanan bir glokom tipidir. İris ve korpus silyarenin pigment epiteli kaynaklı pigment granülleri, özellikle kornea arka yüzünde ve trabeküler ağda birikmekte ve trabeküler dışa akımı zorlaştırarak GİB'yi yükseltmektedir.

Psödoeksfoliyasyon Glokomu : Korpus silyarede, zonüler liflerde, iris arka yüzeyinde, lens ön yüzünde ve trabeküler ağda eksfoliyasyon materyalleri vardır. Amiloid benzeri bu materyallerin iris ve korpus silyarenin bazal zarının dejenerasyonu sonucu ortaya çıktıkları düşünülmektedir. Başlangıçta tek taraflı olsa dahi daha sonraki yıllarda diğer gözde de görülür. İleri yaşlarda daha sık rastlanır.

Tümörlere Bağlı Glokom: Korpus silyare epiteliyoması, juvenil ksantogranülom, retrobulber tümörler, nörofibromatozis ve korpus silyare kistleri gibi çeşitli tümörlerde değişik mekanizmalarla ortaya çıkar.

Kortizon Glokomu: Topikal ve sistemik kullanılan kortizonlar bazı kişilerde glokoma neden olabilir.

Dar Açılı Glokom

Pupilla Bloğuna Bağlı Açı Kapanması

Birincil Pupilla Bloğuna Bağlı Açı Kapanması: Aniden arka kamarada bulunan humor aköz sıvısı irisi öne doğru iter. İridokorneal açığı tıkayarak GİB'nin 50-80 mmHg'ya kadar yükselmesine neden olur. Hastalık kadınlarda ve hipermetroplarda daha sık gözlenir.

İkincil Pupilla Bloğuna Bağlı Açı Kapanması: İleri derecede şişmiş matür katarakt, öne lens luksasyonu, ön kamara lensleri gibi nedenlerle oluşan glokom krizine denir.

Pupilla Bloğu Olmadan Açı Kapanması

Birincil Pupilla Bloksuz Açı Kapanması: Lensin normalden daha kalın olması, öne doğru gelmesi iridokorneal açının darlığına neden olur. Bu hastalarda fenilefrin gibi midriyatikler, adrenalin salgılanmasına yol açan aşırı heyecanlanmalar, sinemada olduğu gibi karanlıkta uzun süre kalmalar, iris kökünün trabeküler ağın önünde toplanarak açının kapanmasına ve GİB'nin yükselmesine neden olurlar.

İkincil Pupilla Bloksuz Açık Kapanması:

Neovasküler Glokom: Diabetes mellitusun proliferatif diyabetik retinopati evresinde, santral retinal ven tıkanıklıklarında, tıkaçıcı karotis hastalığında, göz içi tümörleri, kronik üveitler, vaskülitlerin seyrinde, yenidoğan retinopatisinde ve karotiko-kavernöz fistüllerde gelişebilir. Retina iskemik alanlarının neden olduğu anjiyojenik stimulus, pupilla çevresinden başlayan ve iris yüzeyine yayılan yeni damarlanmalara neden olur (rubeosis iridis). Bu damar yapılarının iridokorneal açıya yayılmaları ve daha sonra burada gelişen fibrovasküler dokunun kontrakte olması sonucunda iris kökü öne çekilir, trabeküler sistemi tıkar ve GİB'yi yükseltir.

İridokorneal Endotelyal Sendromlar: Genç erişkinlerde gözlenen nadir, idiyopatik ve tek taraflı izlenen iris anomalileri, kornea opaklaşması ve glokom ile seyreden bir grup sendromdur. Kornea endoteli kökenli bir hücre tabakası, kornea arka yüzünden göç ederek ön kamara açısını ve sonra da iris ön yüzeyini kaplar. Esansiyel iris atrofisi, iris nevüs sendromu (Cogan-Reese) ve Chandler sendromu bu sendromlar içerisinde sayılır.

Malign Glokom: Kamaralar sıvısının çeşitli nedenlerden dolayı yön değiştirerek vitreus içine yönelmesi sonucu iris-lens diyaframını öne itmek suretiyle iridokorneal açıyı kapatması GİB'nin yükselmesine neden olur. Sıklıkla trabekülektomi ameliyatlarından sonra gözlenir.

Epitel İnvazyonu: Katarakt ameliyatlarından veya gözün delici travmalarından sonra kornea ve konjonktivadan göz içine giren epitel hücreleri, kornea endotelini, trabeküler ağı, iris ve korpus silyareyi örten zarın gelişmesine neden olarak GİB'yi yükseltirler.

Retina Dekolman Ameliyatı Sonrası: Korpus silyaredaki ödem sonucu iridokorneal açının daralmasıyla GİB yükselir.

Laser Tedavisi Sonrası: Panretinal laser fotokoagülasyon, argon laser trabeküloplasti ve iridoplastiden sonra özellikle yüksek enerji kullanılan olgularda korpus silyare ödeminden ötürü açık kapanması ve GİB yükselmesi gözlenir.

Konjenital Glokom

Birincil Doğuştan Glokom: İridotrabeküler bölgenin gelişim bozukluğu sonucu ortaya çıkar. Genellikle erkeklerde, çift taraflı ve bir yaşından önce gözlenir. Konjenital glokom 1/10.000-1/15.000 canlı doğumda görülür.

İkincil Çocukluk Çağı Glokomu: Retinoblastom, ksantogranülom, medülloepitelyoma gibi çocuklarda görülen göz içi tümörleri glokom ve buftalmusa neden olurlar. Ayrıca travmalar, iltihaplar ve prematüre retinopatisi de ikincil açı tıkanmasına bağlı çocukluk çağı glokomuna yol açabilir.

Primer Açık Açılı Glokom

Primer açık açılı glokom, glokomun en sık rastlanan tipi olup, dünya çapında yaklaşık 37 milyon kişide görülmektedir³¹. Hastalığın başlangıcında belirti görülmemesi nedeniyle, ancak hasta geri dönülmez görme kaybına uğradıktan sonra fark edilebilmektedir. PAAG çoğunlukla yaşlı bireylerde görülmektedir. Yaşın ilerlemesiyle görülme sıklığında artış olmakla birlikte orta yaş ve öncesinde de ortaya çıkabilmektedir. Temel olarak ortaya çıktığı yaşa göre yetişkin ve juvenil olarak iki formu bulunmaktadır. Hastalığın Afrika kökenlilerde daha sık görüldüğü ve belirtilerinin daha şiddetli olup tedaviye daha az cevap verdiği yolunda bulgular vardır³²⁻³⁴. PAAG için bilinen en büyük risk faktörü GİB'nin artmasıdır³⁵ (>21mmHg). Gözün ön bölümünde bulunan aköz hümör adlı sıvı sürekli bir sirkülasyona sahiptir ve bir taraftan üretilerek bir taraftan da trabeküler ağ tarafından gözden uzaklaştırılır. Bu sayede sabit bir basınç oluşturan sıvı gözün şeklinin korunmasında önemli rol oynar. Ancak bu sıvının gözden uzaklaştırılmasında oluşan bazı aksaklıklar sonucu sıvı üretildiği hızla boşaltılamadığından, GİB artar ve bu da optik siniri meydana getiren hücrelerin ölümüyle sonuçlanarak optik sinirde hasara ve kalıcı görme kaybına yol açabilir. Günümüzde glokom tedavisinde uygulanan en önemli yöntem GİB'nin düşürülmesidir. GİB'si yüksek olan her bireyde glokom gelişirse de bu kişilerin yüksek risk altında olduğu bilinmektedir ve mutlaka periyodik olarak kontrol edilmeleri gerekmektedir.

Primer Açık Açılı Glokomun Patofizyolojisi

PAAG'nin patofizyolojisini anlamak için ön kamara açısı ve optik sinir başında gelişen değişiklikleri değerlendirmek gerekir.

Primer Açık Açılı Glokomda Ön Kamara Açısı Değişiklikleri

PAAG'de GİB artışının en önemli nedeni aköz hümörün dışa akım kolaylığının azalmasıdır. PAAG'deki dışa akım direnci en fazla trabeküler ağ ile Schlemm kanalı endoteli arasındaki bölgede yani jukstakanaliküler tabakada olmaktadır³⁶.

Bu bölgede direnç oluşturabilecek başlıca faktörler şunlardır;

Yabancı bir madde birikimi: Trabeküler ağ ve jukstakanaliküler bölgede pigment, eritrosit, glukozaminoglikan, amorf materyal, ekstraselüler lizozom, plak tipi maddeler gibi yabancı materyallerin birikimi histopatolojik olarak saptanmıştır. Bu bölgede kollajen ve elastin içeren elektron dens materyallerin biriktiği ve bunların aköz hümör dışı akımında önemli direnç oluşturduğu gösterilmiştir³⁷.

Trabeküler endotelyal hücre kaybı: Trabeküler endotelyal hücreler fagositoz ve ekstraselüler matriks yapımı gibi önemli görevleri olan yapılardır. PAAG'li gözlerde prematüre yaşlanma olarak adlandırılabilen endotel hücre kaybı, fagositoz aktivitesinde azalma ve makromoleküllerin yetersiz sentezi gibi durumlara yol açarak aköz dışı akımını azaltabilir. Yine trabeküler dokunun endotelyal kaplanması yetersiz olduğu durumlarda trabeküler dokunun birbirine yapışması ve aralıkların kapanması ortaya çıkabilir.

Schlemm kanalı iç duvarındaki endotelyal yapıdaki delik sayısında azalma: Schlemm kanalı iç duvarındaki endotel hücrelerinde ultramikroskopik deliklerin hem açıklık hem de sayı olarak azaldığı bildirilmiştir.

Schlemm kanalı iç duvarındaki vakuollerin kaybı: Schlemm kanalı iç duvarındaki vakuoller pasif olarak endotel iç duvarında basınç değişikliklerine bağlı oluşur. Bunlar sıvının trabeküler ağdan Schlemm kanalı lümenine doğru hareketinde önemli rol oynarlar. Bu mikroyapıların boyutunda ve sayısında azalma glokomlu olgularda saptanmıştır.

Nörolojik feed-back mekanizmasında bozulma: Trabeküler endotel hücrelerinde fonksiyonları tam bilinmeyen sinirsel yapılar vardır. Skleral mahmuz düzeyinde de mekanoreseptör türü sinir uçları vardır. Bu sinir uçlarının GİB yükseldiğinde aköz hümör yapımını azaltıcı veya dışı akımı artırıcı sinyaller gönderdiği düşünülmektedir. Teorik olarak bu feed-back mekanizmasındaki azalma GİB artışına neden olabilmektedir³⁸.

Primer Açık Açılı Glokomda Optik Sinir Başı Değişiklikleri:

PAAG'de görülen glokomatöz optik nöropati retinal ganglion hücresi ölümü sonucu ortaya çıkar. Glokomatöz optik sinir harabiyetinin geliştiği yer lamina kribroza olup buradaki sıkışma ve arkaya doğru itilme sonucu selektif olarak retina ganglion hücrelerinin ölümü gelişmektedir. Optik diskte çukurlaşma ve ekskavasyon glokomatöz optik atrofinin tipik belirtileridir. Çukurlaşma lamina

kribozanın arkaya doğru çanaklaşması, laminar demetlerin uzaması ve optik halkadan geçen aksonların kaybı ile karakterizedir.

Glokomdaki optik sinir harabiyeti diğer tipteki optik nöropatilerden farklı olup retina ganglion hücre aksonları dışında glial doku harabiyeti ile de karakterizedir. GİB artışı glokomatöz hasarın major risk faktörüdür. Ancak yapılan çalışmalarda glokomatöz optik sinir harabiyeti görülen olguların %20'sinde hiçbir zaman GİB'nin normal değerlerin üzerinde olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle glokomatöz optik nöropatiyi tek bir nedenle izah etmek mümkün değildir. Bu konuda çeşitli teoriler ortaya atılmıştır.

Mekanik Teori: Yüksek GİB skleral duvarda gerilim oluşturur. Lamina kribozanın her bölgesi bu gerilime eşit direnç göstermez. Lamina kribozada delikler üst ve alt kutuplarda daha geniştir. Buradan geniş çaplı sinir lifleri geçer. Bu bölgede kollajen doku desteğinin daha az olması lamina kribozanın distorsiyonuna ve arkaya doğru çukurlaşmasına neden olur. Lamina kribozada oluşan distorsiyon lateral genikulat nükleusa doğru olan aksoplazmik akımı bozar ve optik atrofiye neden olur.

İskemik Teori: Glokomatöz hasarın her zaman yüksek GİB değerlerinde ortaya çıkmaması ve GİB'nin düşürülmesine rağmen glokomatöz optik nöropatinin devam etmesi GİB yüksekliği dışında bazı diğer faktörlerin de rol oynadığını düşündürmektedir. GİB'ye bağlı olmayan başlıca faktörler; optik sinir başının perfüzyon bozukluğu, anormal vasküler rezistans, sistemik hipotansiyon ve diğer faktörlerdir³⁹.

Oküler kan akımı, perfüzyon basıncı ile doğru, vasküler rezistans ile ters orantılıdır. Retinal dokulardaki kan akımı santral sinir sisteminde olduğu gibi sempatik aktivasyondan bağımsızdır. Bu işlem "otoregülasyon" denilen lokal (nitrik oksit, prostaglandinler, endotelin ve renin-anjiyotensin sistemi) ve metabolik faktörler ile idare edilir. Sağlıklı bir gözde GİB'nin 30-35 mmHg değerlerine kadar, otoregülasyon normal bir şekilde sürer. Bu lokal faktörlerin başlıca üretim yeri kapiller endotel hücreleridir. Endotel hücreleri çeşitli trombosit ürünleri, otakoidler ve hormonlar salarlar. Bunlar içerisinde endotelin-1, çok kuvvetli bir vazokonstriktör olup fosfolipaz C'yi aktive ederek hücre içi kalsiyumu artırır. Bu da perisitlerin kontraksiyonuna neden olarak periferik vasküler direnci artırır⁴⁰. Sistemik hipotansiyon oküler kan akımını azaltan önemli bir diğer faktördür. Ortalama arteriyel basıncın çok düşmesi, nokturnal

diyastolik kan basıncındaki çok ciddi düşüşler perfüzyon basıncını olumsuz yönde etkileyerek oküler kan akımını bozar ve glokomatöz optik nöropatiye yol açar⁴¹.

Apopitozis: Hücrenin genetik programlama sonucu intiharıdır. Hücre içinde oluşan endonükleazların DNA'yı yok etmesi sonucu hücre ölür ve komşu hücreler tarafından fagosit edilir. Embriyonda retina ganglion hücreleri aksonlardan iki kat daha fazladır. Fetusta apopitozis sonucu sayı yarıya iner. Doğumdan sonra sinir büyüme faktöründeki azalma nöronda apopitozisin başlamasına neden olur. Retina ganglion hücrelerinin büyüme faktörü korpus genikülatum lateraleden gelen nörotrofik faktördür. Bu faktörün lamina kribroza düzeyinde bloke olması ve düzeyinin düşük olması apopitozisi başlatır.

Apopitozis nekrozdan farklı olarak inflamatuvar reaksiyonla beraber olmayan ve genetik olarak programlanmış hücre ölümüdür. Apopitozisin oluşumunu sağlayan nörotoksik ekzotoksinlerden biri olan glutamat, glokomlu olguların vitreusunda yüksek düzeyde saptanmıştır^{42,43}. Glutamat aktivasyonu sonucu N-Metil-D-Aspartat (NMDA) salınımı artar. NMDA reseptörlerinin glutamat tarafından aktive edilmesi, hücreler için enerji kaynağı olan mitokondrilerde nitrik oksit (NO) artışına ve mitokondride serbest radikal süperoksit anyonu ve peroksinitrit oluşumuna yol açar. Bu aktivasyon apopitozis olarak isimlendirilen inflamasyonsuz hücre ölümünün başlangıcıdır.

Apopitozis normalde planlanmış hücre ölümü iken glokomda erken aktive edilmiş olur. NMDA reseptörlerinin uyarılması kalsiyum yükselmesine ve kalsiyuma bağımlı hücre içi enzim sisteminin çalışmasına neden olur. Hücre içi kalsiyum, NO ve serbest radikallerin düzeyi artarak apopitotik hücre ölümü başlar. Yine yapılan çalışmalarda glokomlu olguların ganglion hücre düzeyinde immünglobulin birikimlerine rastlanması apopitotik retinal hücre ölümünü desteklemektedir^{44,45}.

Primer Açık Açılı Glokomun Kliniği

PAAG genellikle bilateral olup asimetric başlangıçlıdır. Olguların çoğu görme alanı bozuklukları aşikar oluncaya veya belirleninceye kadar ya da görmede azalma oluncaya kadar asemptomatiktir. Periferik görme alanı kaybına bağlı olarak hastalar çeşitli yakınmalarda bulunabilirler. Maküla, glokoma bağlı hasarda en geç etkilendiğinden, görme keskinliğinde azalma çok geç bir

bulgudur. PAAG'li hastalarda GİB 21 mmHg'nın üzerindedir. Ön kamara açısı geniş ve açıktır.

Optik disk çukurluğunun nonkonsantrik vertikal olarak genişlemesi erken glokomatöz hasar için tipiktir. Normal gözlerde optik disk asimetrisi görülmez. İki göz arasındaki C/D oranı farkı 0.2'den büyük ise glokom yönünden incelenmelidir. Normal şartlarda lamina kribrozadaki porlar sinir lifleri tarafından kapatıldığı için oftalmoskopik olarak izlenmezler. Sinir lifleri kaybının ilerlemesi ile disk kenarı boyunca porlar izlenir hale gelir. Lamina kribrozada incelme ve arkaya doğru çanaklaşma sonucu oftalmoskopik olarak optik disk çukurluğunda derinlik artışı görülür. Bu durum özellikle üst ve alt kadrantlarda daha belirgindir (kum saati görünümü).

Retinada sinir lifi tabakası kaybı sonucu nöroretinal rim incelmesi görülür. Lokalize ve diffüz tipte olabilir. Optik diskte soluklaşma ve çukurlaşma glokomatöz harabiyetin ortak belirtileridir. Glokomatöz çukurlaşma alt ve üst bölgede daha geniştir. Erken dönemde tipik olarak optik diskte çukurlaşma, solukluğu geçer ve nöroretinal rimin kontur değişiklikleri solukluğa göre daha ön plandadır. Nonglokomatöz optik atrofilerde ise kontur değişikliği olmadan diffüz solukluk ön plandadır. Optik disk çukurluğu genişledikçe damarlar nazale doğru yer değiştirir (nazalizasyon). Nöroretinal rimin çok incelmesi veya yok olduğu durumlarda retinal damarlar çukurluk kenarında dirsek yaparlar. Ayrıca optik diskten çıkan damarlarda daralma ve tıkanmaya bağlı kollateral damar oluşumu gözlenebilir.

Optik sinir başında (OSB) iğ şeklindeki hemorajiler genellikle alt temporal yarıda görülüp erken glokomatöz hasarın önemli bir habercisidirler. Hemoraji bölgesinde daha sonra disk çukurluğunda çentiklenme ve görme alanı defekti olma olasılığı yüksektir. OSB hemorajisinin ortaya çıkmasından sonraki dönemde bir yıl içerisinde glokomatöz hasarda ilerleme olasılığı %42 iken, hemoraji olmayan gözlerde bu oran %3.4 olarak bulunmuştur⁴⁶. Genel popülasyonda peripapiller atrofi en sık alt temporalde ortaya çıkarken glokomda nazalde izlenir.

Lokalize retina sinir lifi tabakası defektleri genellikle ince yarık şeklinde defektler olarak başlar ve arkuat bölgede üç veya dört disk çapı alanda görülürler. Erken dönemde görme alanında glokomatöz harabiyetin saptanamadığı olgularda erken sinir lifi atrofisine işaret edebilirler. Lokalize ince

yarık şeklindeki defektler zamanla daha da genişleyerek kama şeklindeki defektleri oluştururlar. Bu defektlerin saptanması daha kolay olup üst ve alt arkuat bölgede parlak çizgili alanların içindeki karanlık bölgeler olarak izlenirler. Sinir lifi tabakasının total atrofisi sonucu diffüz defektler de görülebilir. Oftalmoskopik olarak lokalize defektlere oranla daha zor saptanırlar. Retina sinir lifleri tabakasının muayenesi ileri glokomatöz optik atrofinin geliştiği gözlerden daha çok, erken glokomatöz hasarın saptanmasında ve takibinde önemlidir^{47,48}.

Normotansif Glokom

Göz içi basıncının, günün tüm saatlerinde 21 mmHg ve altında olmasına rağmen hastada glokomatöz OSB görünümünün ve görme alanı değişikliklerinin ortaya çıkmış olması ile tanınmakta olup PAAG'nin bir alt grubudur. NTG'yi PAAG'den ayıran bir diğer özellik ise, bu olgularda göz içi bazı dokularda iskemi ve buna bağlı gelişen hücre hasarının da, GİB kadar önemli bir faktör olduğudur.

Normotansif Glokomda Risk Faktörleri:

Kan Basıncı: Akut hipotansif ataklarla NTG arasında bağlantı mevcuttur⁴⁹. Noktürnal hipotansiyonun NTG olgularında PAAG olgularına göre daha fazla görüldüğü belirtilmektedir⁵⁰.

Damarsal Hastalıklar: Reynaud fenomeni ve migren gibi vazospastik hastalıklarla, NTG arasında ilişki olduğu saptanmıştır⁵¹.

Otoimmün Faktörler: Son yıllarda birçok araştırmacı, NTG'li hastalarda immünolojik kökenli patolojilere dikkat çekmektedir. Bazı araştırmacılar NTG'nin organ spesifik bir otoimmün hastalık olduğunu da ileri sürmektedir. Cartwright ve ark.⁵², NTG'li hastalarda %30, oküler hipertansiyonlu hastalarda %8 oranında immün kökenli bir hastalık saptamışlardır. Çalışmacılar immünopatojenlerin optik sinirde, damarlarında veya her ikisinde hasar yarattığını düşünmüş ve NTG'nin organ spesifik otoimmün bir hastalık olabileceğini bildirmişlerdir. Normotansif glokomlu olgularda monoklonal paraproteinemi insidansı yüksek bulunmuştur⁵³. Wax ve ark., NTG'si olan paraproteinemili hastaların retinal gangliyon hücreleri tabakasında IgG, IgA ve diğer retinal antikorların depolandığını göstermişlerdir⁵⁴. Kremmer ve ark., NTG'li hastalarda PAAG ve yaş karşılaştırmalı kontrol hastalarına göre antifosfolipid antikorlarının daha yüksek insidanda bulunduğunu göstermiştir⁵⁵. Özellikle IgG antikardiyolipin antikor seviyesinin NTG'li olgularda, kontrollere

göre çok daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. IgG antikardiyolipin antikorlar trombüs yaratan özellikleri ile NTG'de rol oynuyor olabilir⁵⁵. Romano ve ark. ise bir retinal protein olan rodopsine karşı antikor seviyesinin NTG olgularında, PAAG olgularına göre artmış olduğunu göstermişlerdir^{56,57}. Rodopsine karşı olan otoantikorlar teorik olarak retina gangliyon hücrelerinde hasara yol açar. Wax ve ark.⁵⁸ ile Tezel ve ark.⁵⁹, NTG'li hastaların serumlarında, rodopsin ve ısı şok proteinleri (İŞP) içeren retinal proteinlere karşı yüksek titrasyonda antikorlar olduğunu bulmuşlardır. İŞP60 ve İŞP27'ye karşı immünoreaktifler NTG'de %41, PAAG'de %14, normallerde ise %3 bulunmuştur. İŞP'lerin salınımı iskemi ve eksitotoksisite yoluyla nöronal hasar yaratmaktadır. İŞP'ye karşı olan otoantikorlar apopitozisi tetiklemektedir⁶⁰. İŞP60'a karşı olan antikorlar da damar endotelinde toksik etki yaratır. Tezel ve ark., glokomlu hastalarda aralarında kondroitin sülfat ve heparin sülfatın da olduğu OSB proteoglikanlarını tanıyan dolaşan otoantikorlar bulmuşlardır⁶¹. Normotansif glokomlu olgularda bu proteinler normallere göre %100, PAAG'lilere göre %50 daha fazla bulunmuştur. Bu antikorlar OSB'nin glokoma karşı hassasiyetini, ya lamina kribrozada fonksiyonel özellikleri değiştirerek ya da vaskülarizasyonda farklılık yaratarak veya her ikisini birden etkileyerek artırabilir.

Genetik Faktörler

Kompleman Sistemi

İmmün sistem doğal ve adaptif defans olmak üzere 2 gruba ayrılır. Doğal immün sistem infeksiyonlara karşı, fagositozla karakterize nonspesifik bir immün yanıttır⁶². Doğal immün sistem enfeksiyona karşı, ilk bariyerdir⁶³. Kompleman sistemi, vücudun savunmasında doğal ve adaptif immüitenin bir parçası olarak çok önemli bir role sahiptir. Kompleman sistemi, ilk olarak 1890'lı yıllarda tanımlanan, 3 aktivasyon yolu içeren ve santral kompleman komponenti C3'de birleşen, proteolitik aktivasyon basamaklarıdır. Klasik kompleman yolunun elemanlarının birçoğunun karşılığı, alternatif kompleman yolu ve lektin yolunda mevcuttur⁶². Kompleman sistemi; bir grup plazma proteini ve hücresele reseptörler içerir, sırayla aktive olur, konağı mikroorganizmalardan korur, immünkompleks klirensini kolaylaştırır ve diğer inflamasyon sistemlerini de etkiler⁶⁴.

Kompleman sistemi üç aktivasyon kaskadına sahiptir⁶⁵:

1-Klasik kompleman yolu

2-Alternatif kompleman yolu

3-Lektin yolu

Klasik Kompleman Yolu

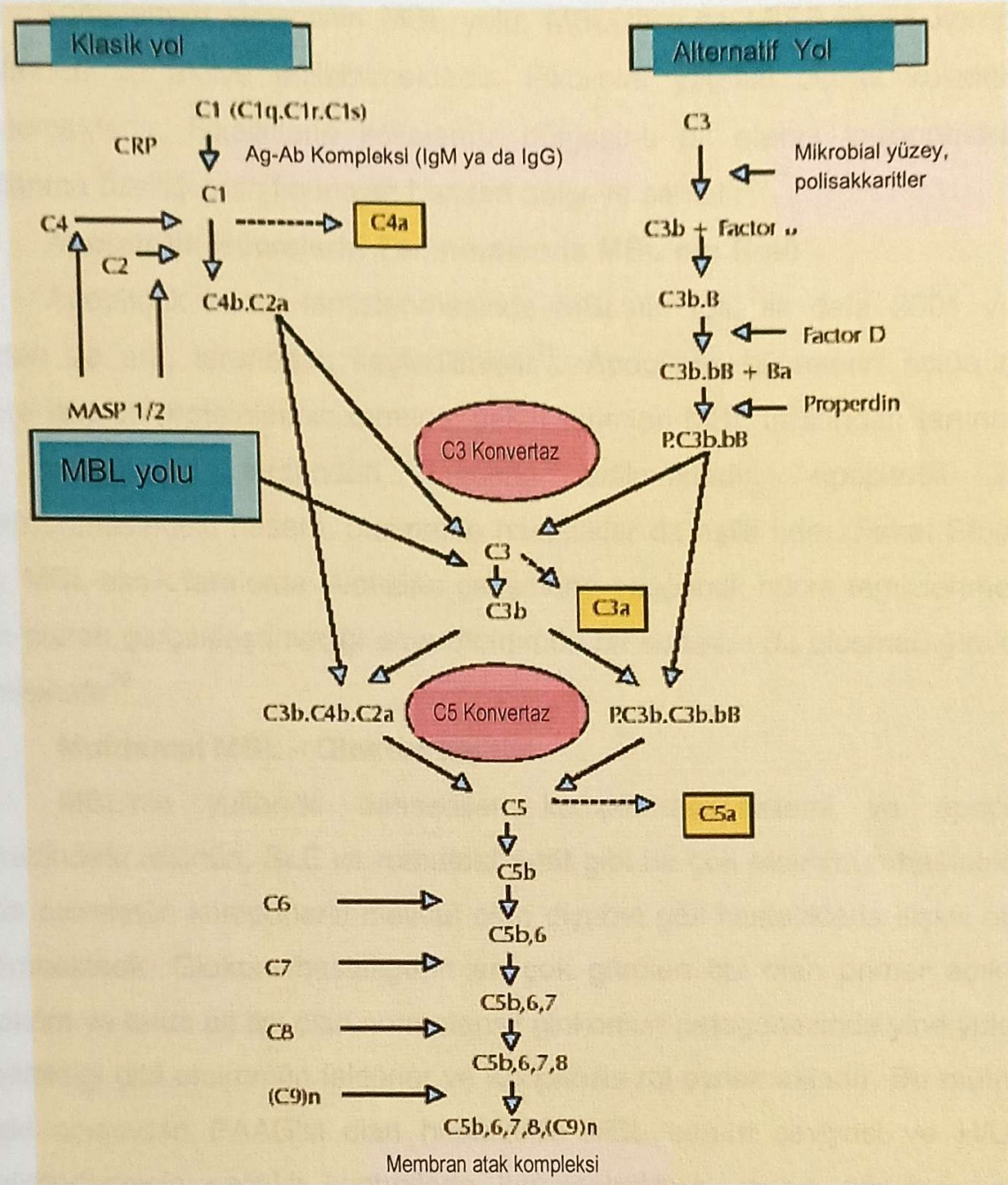
Klasik kompleman yolu antijenin antikor tanımasıyla, antijen antikor kompleksiyle başlar. C1q, IgM veya IgG Fc kısmına bağlanır. C1q'da konformasyonel değişiklikler meydana gelir. İki serin proteaz C1r ve C1s aktive olur. Bu proteazlar C2 ve C4 üzerinden etkir, C4bC2b ortaya çıkar. Oluşan bu konvertazla, C3'den C3b meydana gelir. C3b hedefi opsonize ederek, fagositik hücreler tarafından alınmasına neden olur ve membran atak kompleksinin oluşumuna neden olarak, hedef membranın geçirgenliğini artırır^{63,64}.

Alternatif Kompleman Yolu

Alternatif kompleman yolunun aktivasyonu, plazmadaki C3 parçalanma aktivitesi ile meydana gelen, C3b ile olur⁶³. Serumdaki C3b, C2'nin yapısal ve fonksiyonel analogu olan Faktör B ile birleşir. Faktör D'nin etkisiyle Faktör B'den ayrılan Bb ve Ba meydana gelir Alternatif yolun C3 konvertazı olan, C3bBb meydana gelir. Bu properdin B ile stabilize edilir. C3'ü parçalayarak, C3b oluşumuna neden olur. İki C3b kovalent olarak bağlanır, bunlara Bb'nin bağlanmasıyla C5 konvertaz meydana gelir. Her 3 kompleman yolunda olduğu gibi, C5 konvertaz aracılığıyla C5 parçalanır. C6, C7, C8, C9'un katılımıyla, membran atak kompleksi meydana gelir. Hücrelerin lizisine neden olur. Fakat membran atak kompleksinin, birçok nonlitik etkisi de mevcuttur⁶⁵.

Komplemanın Lektin Yolu

Bağışıklık sisteminde MBL'nin rolü ilk olarak Ikeda ve ark. tarafından komplemanın klasik yolunun bir protein tarafından aktive edilmesinin keşfi ile belirlenmiştir⁶⁶. Şimdi ise komplemanın aktivasyonunda alternatif ve klasik yol dışında antikor ve C1 aktivasyonundan bağımsız üçüncü bir yol olarak MBL yolu literatürde yerini almıştır. Şekil 2'de kompleman ve lektin yolları şematize edilmiştir.



Şekil 2. Kompleman ve lektin yolları.

Mannoz bağlayıcı lektin dolaşımında MBL ilişkili serin proteaz olan MİSP ile birlikte bulunur⁶⁷. MİSP-1 C3'ü direkt olarak etkilerken, MİSP-2 C4 ve C2'yi yıkarak C4bC2a kompleksini oluşturur⁶⁸. Oluşan bu kompleks C3 konvertazdır ve bu konvertaz alternatif ve klasik yolda oluşan konvertazdan farklıdır. MİSP-2'nin aktivasyonu için mikroorganizma ile MBL'nin temasa geçmesi gerekir. MİSP-1 ve MİSP-2'nin dışında MİSP-3 de keşfedilmiş fakat rolü henüz belirlenmemiştir⁶⁹.

Kompleman sisteminin MBL yolu, MBL dışında MISP-fikolin kompleksi tarafından da aktive edilebilmektedir. Fikolinler yapısal olarak kollektinlere benzemektedir. Fikolinlerin kollajenöz bölgesine ek olarak karbonhidratlara bağlanma özelliği olan fibrinojen benzeri bölgeye sahiptir⁷⁰.

Apoptotik Hücrelerin Tanınmasında MBL'nin Rolü

Apoptotik hücre temizlenmesinde MBL'nin rolü ilk defa 2001 yılında Ogden ve ark. tarafından keşfedilmiştir⁷¹. Apoptotik hücrelerin açığa çıkan hücre iskeleti proteinlerinin terminal şeker birimleri MBL tarafından tanınmakta ve makrofajlar tarafından fagosit edilmektedir. Apoptotik hücre temizlenmesindeki hasara, otoimmün hastalıklar da eşlik eder. Fakat Stuart ve ark. MBL-eksik farelerde yaptıkları çalışmada apoptotik hücre temizlenmesinin tam olarak gerçekleşemediği ama otoimmün bir sorunun da oluşmadığını rapor etmişlerdir⁷².

Muhtemel MBL – Glokom İlişkisi

MBL'nin yukarıda bahsedilen kompleman sistemi ve apoptozis sürecindeki rolünün, SLE ve romatoid artrit gibi bir çok otoimmün hastalıkla ve yine otoimmün komponenti mevcut olan diyabet gibi hastalıklarla ilişkili olduğu bilinmektedir. Glokom hastalığının en çok görülen tipi olan primer açık açılı glokom ve onun alt tipi olan normotansif glokomun patogeneğinde yine yukarıda belirtildiği gibi otoimmün faktörler ve apoptozis rol oynamaktadır. Bu muhtemel ilişki açısından PAAG'si olan hastalarda MBL serum seviyesi ve H/L gen polimorfizminin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması uygun görülmüştür. Bu yönde yapılmış literatürde yer alan herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Mannoz Bağlayıcı Lektin Geni

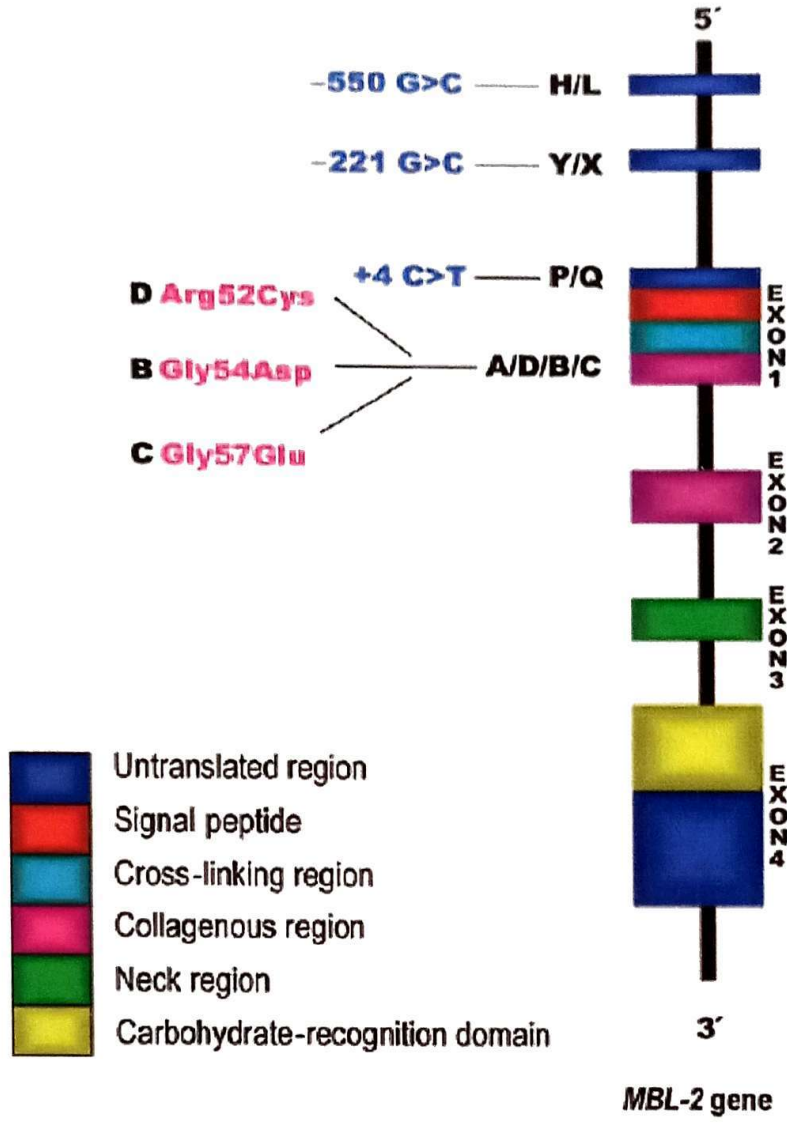
İki insan MBL geni bulunmaktadır. Bunlardan birisi yalancı-gen MBL-1 ve bir protein ürün veren fonksiyonel MBL-2'dir. Fonksiyonel MBL-2 geni 10. kromozom üzerinde (q11.2-q21) bulunur ve 4 ekzondan oluşur. MBL geni, kodladığı spesifik bölgeler ve mutasyonların yerleşimi Şekil 3'de verilmiştir. Ekzon-1 sinyal peptidi, sisteinden zengin bir bölge ve kollajen benzeri bölgenin bir kısmını kodlar. Ekzon-2 kollajen benzeri bölgenin kalan kısmını kodlar. Ekzon-3 α -sarmal boyun bölgesini ve ekzon-4 de globüler yapıda olan CRD'yi kodlar. Promotör bölge ise birçok gende olduğu gibi proteinin transkripsiyonunu düzenleyen birkaç düzenleyici eleman için bağlanma bölgesi içerir⁷³. Tüm ekzonlar Sumiya ve ark. tarafından 1991 yılında belirlenmiştir. Aynı çalışmada

ekzon-1 kodon 54 de GGC→GAC baz deęiřimi ile transle edilmiř proteinde aspartik asit yerine glisin geęmesine neden olan nokta mutasyonu belirlenmiřtir. Kodon 54'te belirlenen bu nokta mutasyonunun dūřuk protein ūretimine neden olduęu da Sumiya ve ark. tarafından bildirilmiřtir⁷⁴. Ekzon-1 ūzerinde 1992 yılında kodon 57'de (Glisin-Glutamin) ve 1994 yılında kodon 52'de (Arjinin-Sistein) birer nokta mutasyonu daha keřfedilmiřtir^{75,76}. Belirlenen bu mutasyonlar A, B, C ve D varyantları olmak ūzere keřif tarihlerine gōre adlandırılmıřlardır ki burada A olarak belirtilen doęal tipi gōstermektedir. Avrupalılarda B varyantı %25 sıklıkta gōrūlūrken C varyantı çok nadir gōrūlūr. Nadir gōrūlen bu mutasyon Afrikalılarda %50-60 gibi yūksek frekanslarda gōrūlūr. Popūlasyon ęalıřmaları bu varyantın 20,000 ila 50,000 yıl kadar ūnce ortaya ęıktıęını ileri sūrmektedir. B varyantı Avusturalyalılarda gōrūlmemektedir⁷⁷.

Ŭlkemizde MBL-2 geni ekzon-1 bōlgesi ūzerine Ege Ŭniversitesinden Pehlivan ve arkadaşlarının ęeřitli hasta gruplarında yaptığı ęalıřmalarda C alleleline rastlanmamıştır. Ŭlkemizde MBL-2 5' ęevirimi yapılamayan bōlge H/L, X/Y ve P/Q varyantlarının ęalıřıldıęı bir yayın bulunmamaktadır.

Ekzon-1 mutasyonlarının oligomerizasyonu etkilemek yolu ile fonksiyonel bir bozukluęa neden olduęu dūřūnūlmektedir. B ve C varyantlarında aksiyel glisinlerin dikarboksilik asitlerle yer deęiřtirmesi proteinin bu ūnemli bōlgesinde konformasyonel bir hataya sebep olmasına neden olmaktadır. Bu iki varyantın tersine D varyantı ekstra bir sistein ile bir disūlfid baęı daha oluřturmakta ve oligomerizasyon daha sıkı olmaktadır⁷⁸.

Promotōr bōlgede de bir dizi mutasyon bulunmaktadır. Madsen ve ark. bu bōlgede ūę nokta mutasyonu daha bulmuřlardır. Bu mutasyonlar -550 pozisyonunda H/L, -221'de X/Y ve +4'de P/Q'dur⁷. Hemen ardından dūřuk protein seviyeleri ile iliřkili dōrt genel haplotip belirlenmiřtir ve LXP, LYP, LYQ ve HYP olarak adlandırılmıřlardır⁸. Bu promotōr haplotipleri ekzon-1 mutasyonlar ile kuvvetli baęlantı dengesizlięi ięerisindedirler ve yedi yeni haplotipin (HYPA, LYPA, LYQA, LXPA, HYPD, LYPB ve LYQC) oluřumuna neden olurlar⁷⁹.



Şekil 3. MBL geni, kodladığı spesifik bölgeler ve mutasyonların yerleşimi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hasta ve Kontrol Grubunun Belirlenmesi

Çalışmaya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalında takip edilen 45 primer açık açılı glaukoma hasta dahil edildi. Bu hastaların tamamı branş polikliniğinde takip edilen tanısı kesin olarak konmuş, diyabet, herhangi bir romatolojik hastalığı, otoimmün kökenli olduğu bilinen hastalığı bulunmayan hastalardı. Tüm bireyler detaylı bir oftalmolojik muayeneden geçirdi. PAAG grubunu, 40 yaş üzeri, göz içi basınç ölçümü 21 mmHg ve üzeri, optik sinir başında, sinir lifi tabakasında ve görme alanında glaukomatöz kaybı olan hastalar oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen bireylerin birbirleriyle akrabalık bağı yoktur.

Olguların çalışmaya dahil edilme kriterleri (PAAG'li olgular için);

- tedavi öncesi GİB ölçümleri 22 mmHg ve üzerinde olan,
- gonyoskopik muayenelerinde açı patolojileri olmayan,
- açıları Shaffer sınıflamasına göre grade 3 ve üzeri açık olan,
- optik sinirde glaukomatöz hasarı saptanan, C/D oranı 0.4 ve üzerinde olan,
- glaukomatöz görme alanı kaybı olan hastalar.

Hasta grubunda bulunan 22 hastanın en az bir gözünde C/D oranı 0.8 ve üzerinde idi. Bu hastalar ileri hastalık grubu olarak sınıflandırıldı. Yine en az bir gözünde C/D oranı 0.4 – 0.7 arası olan 23 hasta tespit edildi. Bu hastalar ise orta şiddetli hastalık grubu olarak sınıflandırıldı.

Kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet uyumlu, 45 sağlıklı birey alındı. Bu sağlıklı kontroller de diyabeti, herhangi bir romatolojik hastalığı, otoimmün kökenli olduğu bilinen hastalığı bulunmayan bireylerdi. Bu bireyler polikliniğe görme kusuru muayenesi için gelmiş, muayenesinde glaukoma ait patoloji bulunmayan sağlıklı kişilerdi.

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan gerekli onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı. Hasta ve kontrol grubu bireylerden oftalmolojik muayeneyi takiben, ilgili onam formları alınıp hastalar bilgilendirildikten sonra, antekubital venlerinden 10 cc'lik enjektör yardımı ile serum örnekleri alındı. Serum örnekleri bir adet 3 ml'lik %7,5 EDTA'lı tüp (Venoject) ve bir adet 10 ml'lik içeriksiz biyokimya tüpü (Venoject) olmak üzere iki ayrı tüpte saklandı. MBL serum seviyesi çalışılması için biyokimya tüpüne alınan örnekler +4°C'de

buzdolabında, H/L gen polimorfizmi için DNA analizi yapılmak üzere EDTA'lı tüpe alınan örnekler ise -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

Serum MBL Düzeylerinin Ölçümü

Serum MBL düzeylerinin ölçümü için, eliza kiti (USCN life science Inc, Çin) kullanıldı.

1. Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

Yıkama solüsyonu (30X): 20 ml konsantre yıkama solüsyonu, 580 litre su içinde dilüe edilerek 1X 60ml yıkama solüsyonu hazırlandı.

2. Serum Örneklerinin Dilüsyonu

Tüm serum örnekleri, sample dilüent ile, 1/100 oranında sulandırıldı (10µl serum + 990µl fosfat buffer salin).

3. Deneyin Yapılışı

Çalışmaya başlamadan önce, kit buzdolabından alındı ve oda ısısına gelmesi için 30 dk bekletildi.

- Eliza plağının ilk kuyucuğu (blank) hariç, diğer kuyucuklara 100'er µl kit kontrol ve hasta serumları kondu. Plağın üstü kapatıldı.
- Plak 37 derecede, 2 saat inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra, semiotomatik eliza yıkayıcısı ile sıvı kısmı uzaklaştırıldı.
- 100 ul deteksiyon reagent A eklendi ve plağın üstü kapatılarak 37 derecede, 1 saat inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra, semiotomatik eliza yıkayıcısında, bütün kuyucuklar en az 300µl yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Son yıkamadan sonra, plak ters çevrilip, kurutma kağıdı üzerinde çırpılarak kuyucuklardaki sıvı tamamen uzaklaştırıldı.
- 100 µl deteksiyon reagent B eklendi ve plağın üstü kapatılarak 37 derecede, 30 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyondan sonra, semiotomatik eliza yıkayıcısında, bütün kuyucuklar en az 300 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Son yıkamadan sonra, plak ters çevrilip, kurutma kağıdı üzerinde çırpılarak kuyucuklardaki sıvı tamamen uzaklaştırıldı.
- Bütün kuyucuklara, 90'ar µL TMB substrat solüsyonu kondu ve oda ısısında 15-25 dakika inkübe edildi.

- Reaksiyonu durdurmak için, bütün kuyucuklara 50'şer µl Stop solüsyonu ilave edildi.
- Daha sonra, standartların konsantrasyonlarına karşı eliza cihazında (Organon teknika, Avusturya) okunan optik dansite değerleri kullanılarak, çizilen grafikten örneklerin serum mannoz bağlayıcı lektin düzeyleri µg/ml cinsinden hesaplandı.

Mannoz Bağlayıcı Lektin Gen Polimorfizminin Belirlenmesi

1. DNA İzolasyonu

a. Prensip; Hücreler, tüm nükleazları hemen inhibe eden bir kaotropik tuz (guanidin hidroklorür) varlığında proteinaz K ile kısa bir inkübasyon sonunda parçalanır. Hücresel nükleik asitler pürifikasyon filtre tüplerinde bulunan özel fiber cam yapıya seçici olarak bağlanır. Bağlı nükleik asitler kontamine edici hücresel elemanlardan hızlı yıkama ve çevirme işlemleri ile arındırılır. Bu işlemin gerçekleşmesinde inhibitör temizleyici tampon ile yıkama tamponu kullanılmaktadır. Son olarak düşük tuz elüsyonu ile nükleik asitlerin fiber cam yapıdan ayrılması sağlanır.

b. Protokol;

- Steril bir tüpe (1,5 ml'lik kapaklı) 200 µl tam kan alınır ve üzerine sırası ile 200 µl bağlayıcı tampon ve 40 µl proteinaz K eklenir. Proteinaz eklenmesini takiben tüplerin kapakları kapatılarak hemen karıştırılır.
- Tüpler 10 dakika 72 °C'de inkübe edilir.
- Inkübasyonun ardından 100 µl izopropanol eklenir, iyice karıştırılır ve karışım filtre tüpüne aktarılır.
- Bir dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir.
- Toplama tüpü değiştirilir ve tüpe 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklenir. 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir ve toplama tüpü tekrar değiştirilir.
- Ardından tüpe 500 µl yıkama tamponu eklenir ve 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir. Toplama tüpü değiştirilir.
- Bu yıkama işlemi bir kez daha tekrar edilir ve toplama tüpü değiştirilir.
- Tüpe herhangi bir çözelti eklenmeden 10 saniye 8000 rpm'de tekrar santrifüj edilir.

- Son olarak 1,5 ml'lik kapaklı DNA saklama tüplerine filtre tüpleri yerleştirilerek içerisine 72 °C'de bekletilen elüsyon tamponundan 200 µl eklenerek 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir. Bu defa DNA elüsyon tamponunun yardımı ile 1,5 ml'lik kapaklı DNA saklama tüplerine geçtiği için filtre tüpleri uzaklaştırılır ve DNA eldesi tamamlanmış olur.

2. H/L Varyant için Primer ve Prob Dizaynı

5' çevrimi yapılmayan bölge varyantı olan -550 (H/L), için Tablo 1'de belirtilen primer seti kullanılarak 706 bç'lik bir ampikon elde edilmiştir. H/L varyantı belirleme probu L-alleleline komplementer 3' ucundan floresanlanmış oligonükleotid dizisidir.

Çapa prob ise 5' ucu LC-Red 640 ile işaretlenmiş ve uzamanın engellenmesi için 3' ucu fosforile edilmiş ve belirleme probundan iki baz uzaklığa komplementer oligonükleotiddir.

Tablo 1. Promotör Bölge varyantları için kullanılan primer ve prob dizileri.

Primer ve Problar		Primer ve Prob Dizileri
Forward Primer:		5'_CCTGCCAGAAAGTAGAGAGG_3'
Reverse Primer:		5'_CCTCACCTTGGTGTGAGAAA_3'
H/L	Belirleme Probu:	5'_TTTLAGACAGGCTTGCCTGGGT_3'
	Çapa Prob:	5'_AGCATTTTCTCTGGAAATTTCTTACTACGTTGG_3'
	Çapa Prob:	5'_ATGTGTTCACTACTGAGATTAACTTCCCTGAG_3'
	Çapa Prob:	5'_TTTATAGTCTTCCAGCAGCAACGCCA_3'

3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

İnsan genomik DNA'sından elde edilen spesifik primerlerle hedef gen bölgesinden uygun baz çifti uzunluğunda gen fragmanı amplifiye edilir. Ampikon özel bir çift hibridizasyon probu aracılığı ile işaretlenir. Hibridizasyon problemleri, polimeraz zincir reaksiyonunun (PZR) yapışma fazı esnasında amplifiye fragmanın iç dizilerine bağlanan iki farklı oligonükleotidden oluşur. Problemlardan biri 5' ucundan LightCyler-Red ile işaretli, 3' ucundan ise fosforile edilmiştir. Diğerisi ise 3' ucundan floresanlanmıştır. Problemler dizi üzerinde

birbirlerinden en fazla iki baz uzak olarak yerleşirler. İki florofofor birbirine oldukça yakın konumlanırlar (maksimum 2 baz) ve aralarında, cihaz ışık kaynağı tarafından uyarılması ile floresan rezonans enerji transferi (FRET) gerçekleşir. Bu işlemde ışık kaynağından gelen uyarı floresan probu uyarır ve oluşan rezonans enerjisi LightCycler-Red'i uyarır. Emilen floresan LightCycler cihazı tarafından ölçülür.

4. PZR Koşulları

H/L varyant analizi için kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları Tablo 2, PZR koşulları ve spesifik PZR verileri Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 2. H/L varyant analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları.

İçerik	Konsantrasyon	Miktar
Forward primer	0,5 µM	
Reverse primer	0,5 µM	
Çapa prob	0,4	
Belirleme probu	0,2	
Hibridizasyon tamponu 10X*		2 µl
Taq polimeraz	0,2 UI	
MgCl ₂	4 mM**	
Örnek DNA	50 ng	2,5 µl
Distile Su		
Toplam Tepkime Hacmi		20 µl

*10 kat yoğun hibridizasyon tamponu nükleotidler, Taq polimeraz, 10 mMg²⁺ içerir.

** 4 mM MgCl₂ 20 µl toplam hacimdeki final konsantrasyondur.

Tablo 3. H/L varyant analizi için PZR koşulları.

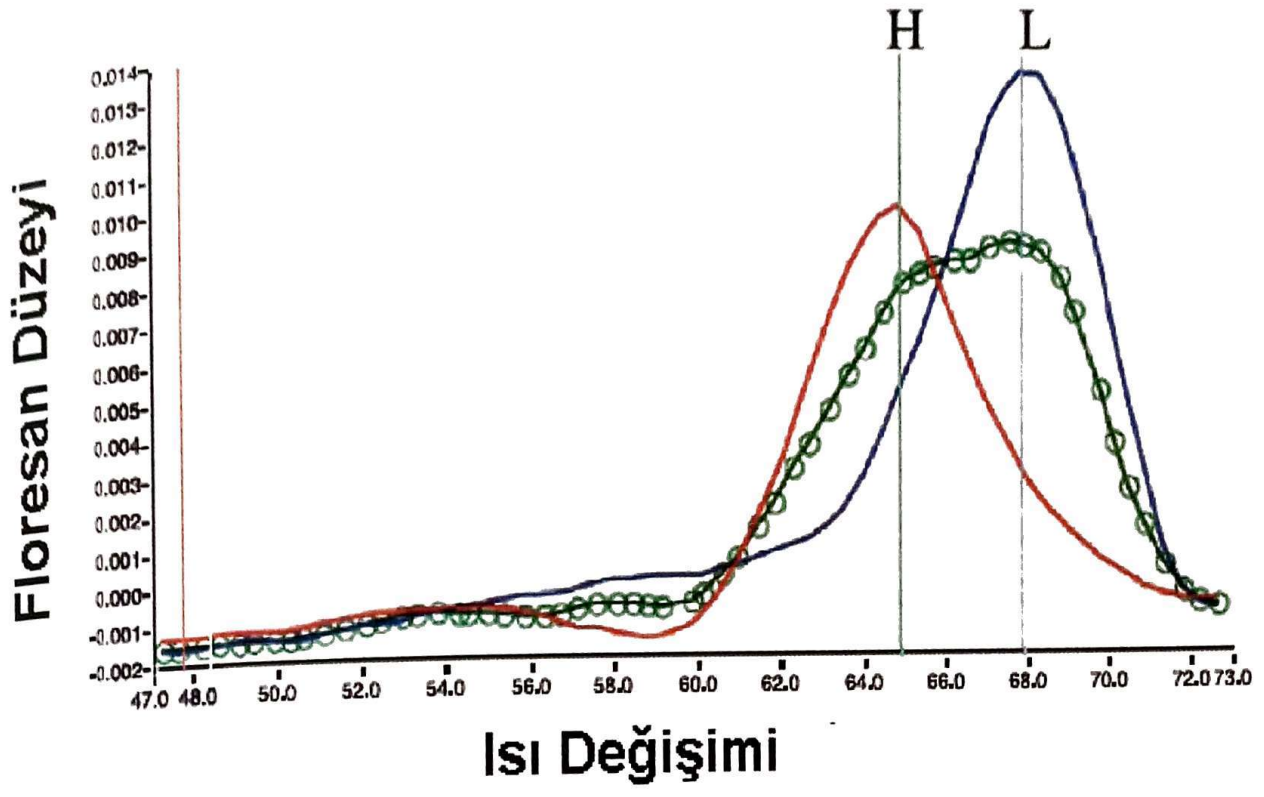
PZR aşamaları		Hedef ısı	Bekleme süresi (sn)	Isı geçiş oranı (°C/sn)	Floresan okuma
Denatürasyon		95°C	30	20	Yok
Amplifikasyon 45 Döngü	Denatürasyon	94°C	0	20	Yok
	Yapışma	57°C	10	3	Tek
	Uzama	72°C	20	20	Yok
Melting Curve	Dinlenme 1	50°C	0	10	Yok
	Dinlenme 2	45°C	180	10	Yok
	Okuma	75°C	0	0,1	Sürekli
Soğuma		40°C	30	20	Yok

5. Genotip Belirlenmesi (Melting Curve Analizi)

Genotip belirlemede hibridizasyon problemleri kullanılır ve problemlerin erime ısıları farkından faydalanılarak yapılır. Problemlerden birisi (çapa prob) mutasyonlu yöreye bağlanır. Diğer prob ise çapa probdan en fazla iki baz uzaklıkta aynı dizinin devamına bağlanır. Mutasyonlu ve doğal tip dizi arasındaki baz farkı bağlanan problemlerin artan ısı ile birlikte farklı zamanlarda ayrılmasına neden olur. Melting Curve analizi bu farktan faydalanarak doğal ve mutant tipleri birbirinden ayırır.

Ayrılma işleminde yani Melting Curve analizinde ısı belirli bir alt seviyeden (genellikle 40°C) belirli bir üst seviyeye (genellikle 75-85°C) kadar saniyede yaklaşık 0,1°C artar. Problemler bağlı bulundukları diziden ayrıldıklarında iki prob arasındaki FRET kesilir ve sinyal üretimi olmaz.

Çalışmada genotipik görüntülemesi yapılan promotör bölgede tek nokta mutasyonunun Melting Curve analiz görüntüleri ve değerlendirmeleri yapılmıştır. Şekil 4'te H/L varyantlarının erime ısıları verilmiş olup H alleli için T_M :64.8°C ve L alleli için ise 67.8°C'dir.



Şekil 4. H/L varyantlarına ait Melting Curve analizi.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 45 hastadan 18'i erkek, 27'si kadın hasta idi. Erkek hastaların yaş ortalaması 57.22 (± 10.22), kadın hastaların yaş ortalaması ise 56.96 (± 11.07) olarak hesaplandı. Kontrol grubuna dahil edilen 45 bireyden ise 16'sı erkek 29'u kadındı. Erkek bireylerin yaş ortalaması 50.93 (± 10.62), kadın bireylerin yaş ortalaması ise 54.20 (± 10.63) idi. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet dağılımları istatistiksel olarak birbirine benzer oranda idi. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerde esansiyel hipertansiyon dışında herhangi bir ek sistemik hastalık söz konusu değildi. Hipertansiyon hasta grubunda 13 hastada tespit edilirken, kontrol grubunda 5 bireyde mevcuttu (Tablo 4).

Tablo 4. Grupların genel özellikleri.

	HASTA (N)	KONTROL (N)
<u>CİNSİYET</u>		
E	n=18 (% 40)	n = 16 (% 35.5)
K	n= 27 (% 60)	n = 29 (% 64.5)
<u>YAŞ</u>		
E	57.22(± 10.22)	50.93(± 10.62)
K	56.96(± 11.07)	54.20(± 10.63)
Hipertansiyon	13	5

45 hasta serumunda ortalama MBL serum seviyesi 21.30 $\mu\text{g/ml}$, 45 kontrol bireyinden alınan serum örneklerinde ise ortalama 17.48 $\mu\text{g/ml}$ olarak tespit edilmiştir (Tablo 5).

Alınan toplam 90 serum örneğinde HL genotipinden bağımsız olarak iki grubun karşılaştırılması sonucunda hasta ve kontroller arasında serum seviyesi açısından istatistiksel olarak hasta grubunda anlamlı bir artış saptandı (Independent t test, $p < 0.001$).

Tablo 5. Hasta ve kontrol ortalama serum MBL değerleri.

Grup	Sayı (N)	Ortalama Serum MBL Seviyesi (µg/ml)	Standart Sapma
Hasta	45	21.30	4.96861
Kontrol	45	17.48	3.65803

Yine toplam 90 serum örneğinde, LL allel sayısı hasta grubunda 13 (%28.9), kontrol grubunda 15 (%33.3), HL allel sayısı hasta grubunda 20 (%44.4), kontrol grubunda 17 (%37.8), HH allel sayısı hasta grubunda 12 (%26.7), kontrol grubunda 13 (%28.3) olarak tespit edildi (Tablo 6).

Serum seviyesinden bağımsız olarak genotip oranlarına bakıldığında hasta ve kontrol gruplarında LL, HL, HH genotiplerinin oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Ki kare testi, $p>0.8$).

Tablo 6. Hasta ve kontrol DNA'larında H/L gen polimorfizm oranları.

Genotip	Hasta	Kontrol	Toplam
LL	13 (%28.9)	15 (%33.3)	28 (%31.1)
HL	20 (%44.4)	17 (%37.8)	37 (%41.1)
HH	12 (%26.7)	13 (%28.3)	25 (%27.8)

90 serum örneğinde hastalıktan bağımsız olarak genotipe göre MBL serum seviyesi karşılaştırıldığında, 28 LL genotipinde ortalama MBL serum seviyesi 19.45, 37 HL genotipinde 18.78, 25 HH genotipinde 20.22 olarak tespit edildi (Tablo 7). Tek yönlü ANOVA testi kullanılarak yapılan istatistiksel değerlendirmede farklı genotiplerde serum seviyesi açısından anlamlı bir değişiklik saptanmadı ($p>0.5$).

Tablo 7. Genotipe göre serum örneklerinde MBL seviyeleri.

Genotip	Sayı (N)	Ortalama Serum MBL Seviyesi (µg/ml)	Standart Sapma
LL	28	19.45	5,50774
HL	37	18.78	3,35798
HH	25	20.22	5,58194

90 serum örneğinde genotip olarak hiç mutant allel taşımayan (LL, wild type) 28 örnekte ortalama MBL serum seviyesi 19.45, en az bir tane mutant allel taşıyan (HL, HH) 62 örnekte ise ortalama serum seviyesi 19.36 olarak hesaplandı. Yine hastalıktan bağımsız olarak en az bir tane mutant allel (H) taşıyanlar ile mutasyon taşımayanlar serum seviyesi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmadı (Mann Whitney U testi, $p>0.8$) (Tablo 8).

Tablo 8. Mutasyon taşıyan örnekler ile taşımayanlarda ortalama MBL serum seviyeleri.

Genotip	Sayı (N)	Ortalama Serum MBL Seviyesi (µg/ml)	Standart Sapma
LL	28	19.45	5,50774
HL ve HH	62	19.36	4,40660

Hasta grubunun optik disklerinde C/D oranına baktığımızda sağ gözde ortalama 0.67 (± 0.16), sol gözde ise ortalama 0.67 (± 0.17) olarak tespit edildi.

45 örnekten oluşan hasta grubunu hastaların klinik özelliklerinden olan C/D oranına göre sınıflandırdığımızda herhangi bir gözünde $C/D \geq 0.8$ olan hastalar ileri, $C/D < 0.8$ olan hastalar orta şiddetli glokom olarak kabul edildi. 22 hasta ileri, 23 hasta orta şiddetli glokom sınıfına dahildi. İleri hastalık grubunda hasta ileri, 23 hasta orta şiddetli glokom sınıfına dahildi. İleri hastalık grubunda ortalama MBL serum seviyesi 22.53 iken, orta hastalık grubunda ortalama MBL serum seviyesi 20.13 idi (Tablo 9). Bu iki grup MBL serum seviyesi açısından

birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Independent t-test, $p>0.5$).

Tablo 9. Hastalığın klinik seyrine göre MBL serum seviyeleri.

Klinik Grup	Sayı (N)	Ortalama Serum MBL Seviyesi ($\mu\text{g/ml}$)	Standart Sapma
İleri Hastalık	22	22.53	4,61040
Orta Hastalık	23	20.13	5,11153

İleri hastalık grubunda LL allel 8 (%36.4) hastada, HL allel 9 (%40.9) hastada, HH allel 5 (%22.7) hastada saptandı. Orta hastalık grubunda ise LL allel 5 (%21.7) hastada, HL allel 11 (%47.8) hastada, HH allel 7 (%30.4) hastada saptandı (Tablo 10). Yine bu iki grupta hastalar serum seviyesinden bağımsız olarak genotip açısından birbirleriyle karşılaştırıldığında HH, HL ve LL alleller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Ki kare testi, $p>0.5$).

Tablo 10. Hastalığın klinik seyrine göre H/L gen polimorfizm oranları.

Genotip	İleri Derece(N)	Orta Derece(N)
LL	8 (%36.4)	5 (%21.7)
HL	9 (%40.9)	11 (%47.8)
HH	5 (%22.7)	7 (%30.4)

TARTIŞMA

Glokom, etiyolojik olarak heterojen, retinal gangliyon hücrelerinin fonksiyon bozukluğu veya ölümü, ilerleyici görme alanı kaybı gibi klinik bulgulara sahip olan bir çeşit optik nöropatidir. Primer açık açılı glokom, glokomun en sık rastlanan tipi olup, dünya çapında yaklaşık 37 milyon kişide görülmektedir³¹. Günümüzde glokomun patogenezi tam olarak anlaşılamamakla beraber, ortaya konmuş teoriler mevcuttur. Bu teoriler arasında son yıllarda üzerinde durulan önemli iki nokta apoptozis ve otoimmünitedir.

Apoptozis nekrozdan farklı olarak inflamatuvar reaksiyonla beraber olmayan ve genetik olarak programlanmış hücre ölümüdür. Apoptozisin oluşumunu sağlayan nörotoksik ekzotoksinlerden biri olan glutamat, glokomlu olguların vitreusunda yüksek düzeyde saptanmıştır^{42,43}. Glutamat aktivasyonu sonucu NMDA salınımı artar. NMDA reseptörlerinin glutamat tarafından aktive edilmesi, hücreler için enerji kaynağı olan mitokondrilerde NO artışına ve mitokondride serbest radikal süperoksit anyonu ve peroksinitrit oluşumuna yol açar. Bu aktivasyon apoptozis olarak isimlendirilen inflamasyonsuz hücre ölümünün başlangıcıdır.

Apoptozis normal ortamda planlanmış hücre ölümü iken glokomda erken aktive edilmiş olur. NMDA reseptörlerinin uyarılması kalsiyum yükselmesine ve kalsiyuma bağımlı hücre içi enzim sisteminin çalışmasına neden olur. Hücre içi kalsiyum, NO ve serbest radikallerin düzeyi artarak apoptotik hücre ölümü başlar. Yine yapılan çalışmalarda glokomlu olguların ganglion hücre düzeyinde immünglobulin birikimlerine rastlanması apoptotik retinal hücre ölümünü desteklemektedir^{44,45}.

Otoimmün patogenezi daha çok primer açık açılı glokomun bir subtipi olan normotansif glokomda araştırılmıştır. Cartwright ve arkadaşları, NTG'li hastalarda %30, oküler hipertansiyonlu hastalarda %8 oranında immün kökenli bir hastalık saptamışlardır⁵². NTG'nin organ spesifik otoimmün bir hastalık olabileceğini bildirmişlerdir⁵². Normotansif glokomlu olgularda monoklonal paraproteinemi insidansı yüksek bulunmuştur⁵³. Wax ve ark. NTG'si olan paraproteinemili hastaların retinal gangliyon hücreleri tabakasında IgG, IgA ve diğer retinal antikorların depolandığını göstermişlerdir⁵⁴. Kremmer ve ark., NTG'li hastalarda PAAG ve yaş karşılaştırmalı kontrol hastalarına göre antifosfolipid antikorlarının daha yüksek insidansla bulunduğunu göstermiştir⁵⁵.

Özellikle IgG antikardiyolipin antikor seviyesinin NTG'li olgularda, kontrollere göre çok daha yüksek olduğunu göstermişlerdir⁵⁵. Romano ve ark. ise bir retinal protein olan rodopsine karşı antikor seviyesinin NTG olgularında, PAAG olgularına göre artmış olduğunu göstermişlerdir^{56,57}. Rodopsine karşı olan otoantikorlar teorik olarak retina gangliyon hücrelerinde hasara yol açar. Wax ve ark.⁵⁸ ile Tezel ve ark.⁵⁹, NTG'li hastaların serumlarında, rodopsin ve ısı şok proteinleri içeren retinal proteinlere karşı yüksek titrasyonda antikorlar olduğunu bulmuşlardır. IŞP60 ve IŞP27'ye karşı immünoreaktifler NTG'de %41, PAAG'de %14, normallerde ise %3 bulunmuştur. IŞP'lerin salınımı iskemi ve eksitotoksiste yoluyla nöronal hasar yaratmaktadır. IŞP'ye karşı olan otoantikorlar apoptozisi tetiklemektedir⁶⁰. IŞP60'a karşı olan antikorlar da damar endotelinde toksik etki yaratır. Tezel ve ark. glokomlu hastalarda aralarında kondroitin sülfat ve heparin sülfatın da olduğu OSB proteoglikanlarını tanıyan dolaşan otoantikorlar bulmuşlardır⁶¹. Normotansif glokomlu olgularda bu proteinler normallere göre %100, PAAG'lilere göre %50 daha fazla bulunmuştur. Bu antikorlar OSB'nin glokoma karşı hassasiyetini, ya lamina kribrozada fonksiyonel özellikleri değiştirerek ya da vaskülarizasyonda farklılık yaratarak veya her ikisini birden etkileyerek artırabilir.

Bağışıklık sisteminde MBL'nin rolü ilk olarak Ikeda ve ark. tarafından komplemanın klasik yolunun bir protein tarafından aktive edilmesinin keşfi ile belirlenmiştir⁶⁶. Şimdi ise komplemanın aktivasyonunda alternatif ve klasik yol dışında antikor ve C1 aktivasyonundan bağımsız üçüncü bir yol olarak MBL yolu literatürde yerini almıştır.

Apoptotik hücre temizlenmesinde MBL'nin rolü ilk defa 2001 yılında Ogden ve ark. tarafından keşfedilmiştir⁷¹. Apoptotik hücrelerin açığa çıkan hücre iskeleti proteinlerinin terminal şeker birimleri MBL tarafından tanınmakta ve makrofajlar tarafından fagosite edilmektedir. Apoptotik hücre temizlenmesinde hasara, otoimmün hastalıklar da eşlik eder. MBL'nin apoptozisin geç dönemindeki hücre serilerine ve aynı zamanda apoptotik artıklara ve nekrotik hücrelere direkt olarak bağlandığı gösterilmiştir. Fakat erken apoptotik hücrelere bağlanmamaktadır⁸⁰. Fraser ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, fagositozun arttığı durumlarda C1q ve MBL'nin sitokin üretimini mRNA ve protein düzeylerinde regüle ettiği gösterilmiş. Bu bilgiler, proinflamatuvar cevabın kollojen aracılıklı süpresyonu, apoptotik hücrelerin

temizlenmesi sırasında otoimmüniteden korunmanın önemli bir basamağı olabileceği hipotezini destekler⁸¹.

MBL'nin kompleman sistemi ve apoptozis sürecindeki rolünün, SLE ve romatoid artrit gibi bir çok otoimmün hastalıkla ilişkili olduğu bilinmektedir. Otoimmün hastalıklarda temel patofizyolojik olay bağışıklık sisteminin genel yapısındadır. Dolayısıyla, ortaya çıkan immün cevapta da bazı anormallikler vardır. Bu yapının bir prototipi olan SLE'de çevresel, hormonal ve genetik faktörler patofizyolojide önemli rol oynar. MBL'nin en çok çalışıldığı otoimmün hastalıkların başında gelen SLE'de genelde MBL'nin eksikliği veya düşük serum seviyelerine rastlanmıştır. Düşük MBL konsantrasyonu, bozulmuş MBL yolağını, anti-C1q ve anti-kardiyolipin otoantikörlerinin varlığını, dolayısıyla SLE'nin varlığını işaret etmektedir. Antinükleer antikör (ANA), anti-çift sarmal DNA (dsDNA) antikör gibi nükleer proteinlere karşı olan antikörler SLE'de tanı kriteri olarak kullanılırken, anti-C1q ve anti-dsDNA ayrıca lupus aktivitesinin göstergesi olarak kullanılmaktadırlar. Genel düşünce, komplemanın klasik yolağının erken komponentlerindeki bu eksikliklerden dolayı immün komplekslerin temizlenmesindeki yetersizlik SLE'ye neden olmaktadır. Erken komponentler özellikle C1q, apoptozise giden hücrelerin tutulmasıyla ilgilidir ki bu apoptotik hücreler SLE'deki otoantijenler için kaynak oluşturmaktadır⁸⁰. Seelen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, SLE'li hastalarda MBL'ye karşı oluşan antikörlerin anti-C1q ile benzerlik gösterip göstermediği, hastalık gelişimine katkıda bulunup bulunmadığı araştırılmış. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında SLE'li hastalarda anlamlı düzeyde MBL yüksekliği ve MBL'ye karşı IgG yapısında otoantikörlerin olduğu bulunmuş. Fakat, hastalığın aktivitesinde hem MBL hem de anti-MBL yönünden anlamlı bir fark bulunamamış. Yüksek serum MBL düzeyleri olan hastalarda anti-MBL otoantikör düzeyleri de yüksek bulunmuş. Anti-MBL serum konsantrasyonu ile MBL kompleks aktivitesi arasında güçlü bir negatif korelasyon ve anti-C1q ile anti-MBL otoantikör düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur⁸².

Romatoid artritli (RA) hastalarda yapılan çalışmalarda ise bulgular çok daha farklıdır. Düşük serum MBL düzeyleri olan RA'lı hastalarda hastalık ortaya çıkma yaşı daha genç, eklem skoru daha yüksek^{83,84}, radyografik eklem destrüksiyonunun progresyonu daha hızlı ve ESH düzeyleri daha yüksek saptanmıştır⁸³. MBL seviyeleri düşük olan hastalar, 6 aylık bir tedaviyle MBL

seviyeleri yüksek olanlara göre daha az gelişme göstermiştir. Düşük MBL seviyesinin aynı zamanda tanı anında ve tedaviye cevabın takibinde artmış radyolojik eklem erozyonları ile anlamlı ilişkili içinde olduğu saptanmıştır. MBL yetersizliği RA hastalarında zayıf prognozla ilişkilendirilmiş durumdadır. Şu anki edinilmiş bilgiler yüksek MBL düzeylerinin RA'lı hastalarda yararlı olabileceğini desteklemektedir. MBL yetersizliği intraartiküler artmış immün kompleks düzeyleri ile ilişkili olabilir, bu durumun sonucu olarak RA hastalarında inflamasyon ve eklem hasarı başlatılabilir.

İnanç ve arkadaşlarının çalışmasında Behçet Hastalığında, kontroller ile karşılaştırıldığında düşük serum MBL düzeyleri gözlenmiş. Çok düşük serum MBL düzeyleri, yüksek hastalık şiddeti ve daha ciddi klinik manifestasyonlar ile ilişkili bulunmuştur. Sonuç olarak Behçet Hastalığında, daha düşük serum MBL düzeyleri ile ilişkili daha şiddetli hastalık seyri gözlenmiş. MBL eksikliğinin, mikroorganizmalara karşı olan doğal immünitinin bozulması veya apoptotik hücre temizlenmesinin azalmasına bağlı inflamatuvar mekanizmaların değişikliğe uğraması nedeniyle Behçet Hastalığı patogenezi ile ilgili olabileceği ileri sürülmüştür⁸⁵.

Bizim çalışmamızda primer açık açılı glokomu olan hasta grubu ile sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasında serum seviyesinin hasta grubunda anlamlı olarak artmış bulunması, MBL'nin serum seviyesinin artması ile primer açık açılı glokom hastalığı arasında bir bağlantı olabileceğini düşündürmektedir.

MBL karaciğerden sentezlenen, bir akut faz proteindir⁸⁶ ve daha önce belirtildiği gibi MBL geninin ekzon-1 ve promotör bölgesinde meydana gelen polimorfizmler nedeniyle, MBL düzeyinde düşüklük gözlenir⁸⁷. MBL ile ilişkili ilk hastalık öyküsü 1968 yılında tanımlanmıştır. Bir çocuk hastada taze plazma infüzyonu ile düzelen fagositik defekt saptanmış ve aynı durumun çocuğun akrabalarında da saptanması üzerine genetik orijinli olabileceği düşünülmüştür. Bu genetik durumun, daha sonra MBL genindeki polimorfizm olduğu tanımlanmıştır⁸⁸. MBL geninin heterozigot mutasyonlarında MBL düzeyi düşük saptanırken; homozigot mutasyonlarda çok daha düşük hatta ölçülemez düzeyde serum MBL düzeyine neden olmaktadır⁸⁹. Bu mutasyon sonucunda oluşan mutant proteinin artmış degradasyonu sonucu serum MBL düzeyi düşük saptanır^{74,77}. MBL genindeki polimorfizmler sonucunda meydana gelen varyant

alleliler, MBL temel unitinde yapısal değişikliklere neden olarak düşük molekül ağırlıklı protein üretimine ve düşük serum MBL düzeyine neden olmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda promotör -550 allel L ve -221 allel X varyantları da, düşük MBL düzeyleri ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Varyant allellerden dolayı, serum MBL düzeyi çok geniş varyasyonlar göstermektedir. Biz, sonuçlarımızı değerlendirdiğimizde H/L polimorfizminin serum seviyesi değiştirmediğini gördük.

İp ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, promotör bölge polimorfizmleri ile serum MBL düzeyi arasındaki ilişkiye de bakılmıştır. Haplotiplerden H/Y'nin yüksek MBL üretimine, L/Y'nin orta derecede MBL üretimine ve L/X'in düşük MBL üretimine neden olduğu saptanmıştır. Bizim sonuçlarımızda ise istatistiksel değerlendirmede farklı genotiplerde serum seviyesi açısından anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Yine hastalıktan bağımsız olarak en az bir tane mutant allel (H) taşıyanlar ile mutasyon taşımayanlar (LL wild type) serum seviyesi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark ortaya çıkmadı. Bu bize sadece H varyantın tek başına serum seviyesi üzerinde etkili olmadığını göstermektedir.

PAAG hastalığının klinik seyri ve hastalığın progresyonu ile MBL arasında bir ilişki aradığımızda ise ileri hastalık grubunda ortalama MBL serum seviyesi 22.53 µg/ml iken, orta hastalık grubunda ortalama MBL serum seviyesi 20.13 µg/ml idi. Bu iki grup MBL serum seviyesi açısından birbirine karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Yine bu iki grupta hastalar serum seviyesinden bağımsız olarak genotip açısından birbirileriyle karşılaştırıldığında HH, HL ve LL alleller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Bu da bize hastalığın ileri formlarında MBL serum seviyesinin farklılık göstermediğini ve H/L gen polimorfizmi ile progresyon arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir.

Glokom hastalığı yaygın bir sorun haline gelmiş olup, tüm dünyada 70 milyonu aşkın glokom hastası olduğu bilinmektedir. Bu hastalığın türleri arasında en sık görüleni olan primer açık açılı glokom hastalığın %50'den fazlasını oluşturmaktadır. Bu derece yaygın olan hastalığın epidemiyolojisi, kliniğı, tedavisi iyi bilinmekte olup etyolojisi hakkında ise kesin bir yargıya henüz varılamamıştır. Otoimmün patogeneze üzerinde daha önce yapılmış çalışmalar mevcut olup bunlar daha çok PAAG'nin bir alt tipi olan NTG üzerinde

yoğunlaşmıştır. MBL molekülünün düşük ve yüksek serum seviyeleri otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiş olup, MBL geni üzerinde keşfedilmiş mutasyonların da bu serum seviyeleri üzerine etkileri halen araştırılmaktadır. Glukom hastalığının patogeneziindeki otoimmünite ve apoptozis teorileri araştırılırken MBL ile ilişkisini araştıran bir yayınla günümüzde karşılaşmamaktayız. Bu yönüyle bizim çalışmamız özgün bir değere sahiptir. PAAG hastalarından oluşan grupta serum MBL seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olması, bu hastalıkta artmış MBL düzeylerinin otoimmün patogeneziye etkili olabileceğini düşündürmektedir. Promotör bölgede daha önce saptanmış olan H/L mutasyonunun ise hasta ve kontrol grubunda benzer sıklıkta olması PAAG'ye yakalanma veya bu hastalıktan korunmada bu mutasyonun etkisinin olmadığını, LL, HL, HH varyantlarında serum MBL seviyelerinin birbirinden farklı olmaması ise bize bu tek nokta mutasyonunun serum seviyesini değiştirmede etkili olmadığını göstermektedir. Bu konuda Ip ve ark.'nın yaptığı gibi birden fazla mutasyona bakılıp değişik haplotiplerde serum seviyesi çalışmak daha doğru olabilirdi. Hasta grubunda MBL serum seviyeleri yüksek saptanırken hastalığın ileri ve orta şiddetli formlarında serum seviyelerinin farklı olmaması ve H/L gen polimorfizminin de iki grup arasında benzer oranda olması hem MBL serum seviyesi, hem de H/L gen polimorfizminin hastalığın progresyonunda etkili olmadığını göstermektedir.

Bizim çalışmamızda PAAG tanısı almış hastalar otoimmün patogenezi açısından araştırılırken bu hastalığın bir alt grubu olan NTG hastaları çalışma dışında tutulmuştur. NTG'de de tedavide GİB düşürülmesi ilk tedavi yaklaşımı olarak kabul edilse de, GİB gibi majör bir risk faktörünün bu hastalarda normal sınırlarda olması araştırmacıları bu hastalık grubunda otoimmün etyolojiye daha fazla yönlendirmektedir. NTG'de de benzer bir çalışma planlanması uygun olabilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Primer açık açılı glokom gibi toplumda yaygın görülen ve sinsi bir seyir izleyip kalıcı, ilerleyici görme alanı kayıplarına hatta körlüğe yol açabilen bir hastalığın halen etyolojisi kesin olarak aydınlatılamamıştır. Biz çalışmamızda kompleman sistemi ve apoptozis üzerinden otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu bilinen MBL molekülünün serum seviyesini PAAG hastalarında kontrol grubuna göre yüksek tespit ettik. MBL-2 geni üzerinde daha önceden keşfedilmiş bir mutasyon olan H/L polimorfizminin PAAG hastalarında ve kontrol grubunda birbirinden farklı olmadığını, LL, HL ve HH allellere sahip insanlarda MBL serum seviyelerinin değişmediğini gördük. Hastalığın ileri ve orta şiddetli formlarının da MBL serum seviyesi ve H/L polimorfizmi ile ilişkisinin olmadığını saptadık.

Hasta grubunda MBL serum seviyesinin yüksek olması otoimmün patogeneizde etkili bir faktör olabilir. Glokom hastalığının diğer tiplerinde de bu molekülün serum seviyeleri değerlendirilirse önemli sonuçlar elde edilebilir. Keşfedilen gen polimorfizmleri açısından bizim çalışmamıza göre dah fazla sayıda örnekle çalışıp birden fazla polimorfizm bakılarak elde edilecek değişik haplotiplerde hastalığın ortaya çıkma sıklığı ve MBL serum seviyelerinin değerlendirilmesi de uygun olabilir.

KAYNAKLAR

1. Turner MW. Mannose-binding lectin: the pluripotent molecule of the innate immune system. *Immunol Today* 1996;17:532.
2. Carroll M. Innate immunity in the ethiopathology of autoimmunity. *Nat Immunol* 2001;2:1089.
3. Nauta AJ, Castellano G, Xu W, et al. Opsonization with C1q and mannose-binding lectin targets apoptotic cells to dendritic cells. *J Immunol* 2004;173:3044.
4. Ogden CA, deCathelineau A, Hoffmann PR, et al. C1q and mannosebinding lectin engagement of cell surface calreticulinand CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptoticcells. *J Exp Med* 2001;194:781.
5. Stuart LM, Takahashi K, Shi L, Savill J, Ezekowitz RA. Mannose-binding lectin-deficient mice display defectiveapoptotic cell clearance but no autoimmune phenotype. *J Immunol* 2005;174:3220.
6. Clinical Implications for Infection, Transplantation and Autoimmunity. *Human Immunology* 2006;67:247-56.
7. Madsen HO, Satz ML, Hogh B, Svejgaard A, Garred P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J Immunol* 1998;161(6):3169-75.
8. Madsen HO, Garred P, Thiel S, et al. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 1995;155(6):3013-20.
9. Shiose Y, Kitazava Y, Tsukhara S, et al. A collaborative glaucoma survey for 1998 in Japan. *Rinsho Ganko* 1990; 44 :653-659.
10. Krumpazky HG, Klauss V. Epidemiology of blindness and eye disease. *Ophtalmol* 1996; 210: 1-84.

11. Amaly MF, Krueger DE, Maunder L, et al. Biostatistical analysis of the collaborative glaucoma study. *Arch Ophthalmol* 1980; 98: 2163-71.
12. Klein BEK, Klein R. Intraocular pressure and cardiovascular risk variables. *Arch Ophthalmol* 1981; 99: 837-9.
13. Schwartz AL, Helfgott MA. The incidence of sickle trait in blacks requiring filtering surgery. *Ann Ophthalmol* 1977; 9: 957-9.
14. Shin DH, Becker B, Waltman SD, Palmber PF, Belec E. The prevalence of HLA B12 antigens in primary open angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1977; 95:224-5.
15. Kanski JJ. *Clinical Ophthalmology* 4th ed. Butterworths, Reed Pub, 1999;206-217.
16. Caballero M, Rowlette LL, Borrás T. Altered secretion of a TIGR, MYOC mutant lacking the olfactomedin domain. *Biochim Biophys Acta* 2000;15:447- 60.
17. Budde WM. Heredity in primary open angle glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2000; 11: 101-6.
18. Johnson DH. Myocilin and glaucoma: a TIGR by the tail. *Arch Ophthalmol* 2000; 118: 974-8.
19. Zhou Y, Jian Ge H, Guo Y. To screen, clone and sequence TIGR gene mutation in Chinese patients with primary open angle glaucoma. *Chin J Ophthalmol* 2000; 36: 416-419.
20. Perkins ES, Phelps C. Open angle glaucoma, ocular hypertension, low tension glaucoma and refraction. *Arch Ophthalmol* 1982; 100: 1464-7.
21. David R, Zangwill LM, Tessler Z, Yassur Y. The correlation between intraocular pressure and refractive status. *Arch Ophthalmol* 1985; 103: 1812- 5.
22. Diclemans I, Vingerling JR, Walfs RC, et al. The prevalence of primary angle glaucoma in population based study in the Netherlands. *Ophthalmology* 1974; 101: 1851-5.
23. Nielsen NV. The prevalence of glaucoma and ocular hypertension in types 1 and 2 diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1983; 61: 662-5.

24. Klein BE, Klein R, Moss SE. Incidence of self reported glaucoma in people with diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol* 1997; 81(9): 743-7.
25. Bupitt CJ, Hodes C, Everitt MG. Intraocular pressure and systemic blood pressure in the elderly. *Br J Ophthalmol* 1975; 59: 717-20.
26. Bonomi L, Marchini G, Maraffa M, et al. Vascular risk factors for primary open angle glaucoma: the Egna-Neumarkt Study. *Ophthalmology* 2000; 107 (7): 1287-93.
27. Leske MC, Pogdan MJ. Intraocular pressure, cardiovascular risk variables and visual field defects. *Am J Epidemiol* 1983; 118: 280-7.
28. Drance SM, Sween VP, Morgan RW, Felman F. Studies factors involved in the production of low tension glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1973; 89: 457-65.
29. Carbett JJ, Phelps CD, Eslinger P, Montague PR. The neurologic evaluation of patients with low tension glaucoma- *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 1101-4.
30. Phelps CD, Carbett JJ. Migraine and low tension glaucoma: a case control study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985; 26: 1105-8.
31. Ray K, Arijit M, Moulinath A. Recent advances in molecular genetics of glaucoma *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003;253: 223–31.
32. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, et al. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA* 1991;266:369–74.
33. Wormald RP, Basauri E, Wright LA, Evans JR. The African Caribbean Eye Survey: risk factors for glaucoma in a sample of African Caribbean people living in London. *Eye* 1994; 8:315–20.
34. Buhrmann RR, Quigley HA, Baron Y, et al. Prevalence of glaucoma in a rural East African population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:40–8.
35. Anderson DR. Glaucoma: the damage caused by pressure. XLVI Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol* 1989;108:485-95.
36. Ethier CR, Kamm RD, Plaszewski BA, Johnson MC, Richardson TM. Calculations of blood flow resistance in the juxtacanalicular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27: 1741-50.

37. Knepper PA, Goossens W, Hvizd M, Palmberg PF. Glycosaminoglycans of the human trabecular meshwork in POAG. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1360-7.
38. Lutjen-Drecoll E, Rohen JW. Morphology of aqueous outflow pathways in normal and glaucomatous eyes. In: Ritch R, Shields MB, Krupin T (eds). *The glaucomas, basic sciences*. 2nd ed. St. Louis: Mosby, 1999: 89-123.
39. Kanski JJ. Klinik oftalmoloji. In: Orağlı KM (ed). *Glokomlar*. Dördüncü baskı. Great Britain: Butterworth-Heinemann LTD, 1999:183-209.
40. Flammer J, Orgol S, Costa VP, Orzaksi N, Krieglstein GK, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Progress in Retinal and Eye Research* 2002;21:359-93.
41. Anderson DR. Glaucoma, capilleries and pericytes 1: blood flow regulation. *Ophthalmologica* 1996;210:257-62.
42. Turađlı E, Önal M, Yalvađ I. *Glokom*. Ankara: SFN 2003:69-76.
43. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of human and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996;114:299-305.
44. Quigley HA. Ganglion cell death in glaucoma: pathology recapitulates oncogeny. *Aust NL J Ophthalmol* 1995;23:85-91.
45. Garcia E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 1995;61:33-44.
46. Diehl DL, Quigley HA, Miller NR. Prevalance and significans of optic disc hemorrhaghe in a longitudinal study of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1990;108(4):545-50.
47. Quigley HA, Katz J, Derrick RJ. An evaluation of optic disc and nerve fiber layer examinations in monitoring progressin of early glaucoma damage. *Ophthalmology* 1992;99(1):19-28.
48. Yalvađ I. Primer açık açılı glokom tanısı. *Türkiye Klinikleri Oftalmoloji* 2004;13(1):16-28.
49. Kamal D, Hitchings R. Normal-tension glaucoma a practical approach. *Br J Ophthalmol* 1998;82:835-40.

50. Hayreh SS, Zimmerman MB, Podhajsky P, Alward WJ. Nocturnal arterial hypotension and its role in optic nerve head and ocular ischemic disorders. *Am J Ophthalmol* 1994;117:603-24.
51. Hamard P, Hamard H, Dufaux J. Blood flow rate in the microvasculature of the optic nerve head in primary angle glaucoma. A new approach. *Surv Ophthalmol* 1994;38:87-94.
52. Cartwright MJ, Grajewski AL, Friedberg ML, Anderson DR, Richards DW. Immune-related disease and normal tension glaucoma. A case control study. *Arch Ophthalmol* 1992;110:500-2.
53. Wax MB, Barret DA, Pestronk A. Increased incidence of paraproteinemia and autoantibodies in patients with normal pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1994;117:561-78.
54. Wax MB, Tezel G, Edward PD. Clinical and ocular histopathological findings in a patient with normal pressure glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1998;116:993-1001.
55. Kremmer S, Kreuzfelder E, Klein R, et al. Antiphosphatidylserine antibodies are elevated in normal tension glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2001;125:211-15.
56. Romano C, Li Z, Arrendt A, Hargrave PA, Wax MB. Epitope mapping of antirhodopsin antibodies from patients with normal pressure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1275-80.
57. Romano C, Barrett DA, Li Z, Pestronk A, Wax MB. Anti-Rhodopsin antibodies in sera from patients with normal pressure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1968-75.
58. Wax MB, Tezel G, Saito I, et al. Anti- Ro/SS-A positivity and heat shock protein antibodies in patients with normal pressure glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1998;125:145-57.
59. Tezel G, Seigel GM, Wax MB. Autoantibodies to small heat shock proteins in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2277-87.
60. Alarcon-Segovia D, Ruiz-Arguelles A, Llorente L. Broken dogma: penetration of autoantibodies into living cells. *Immunol Today* 1996;17:163-4.

61. Tezel G, Edward DP, Wax MB. Serum autoantibodies to optic nerve head glycosaminoglycans in patients with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1999;117:917-24.
62. Endo Y, Takahashi M, Fujita T. Lectin complement system and pattern recognition. *Immunobiology* 2006;211(4):283-93.
63. Takahashi K, Eddie Ip WK, Michelow IC, Alan R, Ezokowitz B. The mannose binding lectin: a prototypic pattern recognition molecule. *Current Opinion in Immunology* 2006;18:16- 23.
64. Schur PH, Klickstein L. Complement and Systemic Lupus Erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH (eds). *Dubois' Lupus Erythematosus*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2002: 243-59.
65. Atkinson JP. Complement System. In: Haris Jr ED, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Sargent JS, Ruddy S, Sledge CB (eds). *Kelley's Textbook of Rheumatology*. 7th ed. USA: Elsevier Saunders, 2005:342-55.
66. Ikeda K, Sannoh T, Kawasaki T, Yamashina I. Serum lectin with known structure activates complement through the classical pathway. *J Biol Chem* 1987;262:7451-4.
67. Garred P, Larsen F, Madsen HO, Koch C. Mannose-binding lectin deficiency-revisited. *Mol Immunol* 2003;40:73-84.
68. Matsushita M, Fujita T. Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* 1992;176:1497-502.
69. Dahl MR, Thiel S, Matsushita M. MASP-3 and its association with distinct complexes of the manan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity* 2001;15:127-35.
70. Matsushita M, Endo Y, Fujita T. Cutting edge: complement-activating complex ficolin and mannose-binding lectin-associated serine protease. *J Immunol* 2000;164:2281-4.
71. Ogden CA, deCathelineau A, Hoffmann PR, Bratton D, et al. C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *J Exp Med*. 2001;194(6):781-95.

72. Stuart LM, Takahashi K, Shi L, Savill J, Ezekowitz RA. Mannose-binding lectin-deficient mice display defective apoptotic cell clearance but no autoimmune phenotype. *J Immunol* 2005;174(6):3220-6.
73. Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens* 2006;68:193-209.
74. Sumiya M, Super M, Tabona P, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet* 1991;337(8757):1569-70.
75. Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics* 1994;40(1):37-44.
76. Turner MW, Dinan L, Heatley S, et al. Restricted polymorphism of the mannose-binding lectin gene of indigenous Australians. *Hum Mol Genet* 2000;9(10):1481-6.
77. Lipscombe RJ, Sumiya M, Hill AV, et al. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Hum Mol Genet* 1992;1(9):709-15.
78. Wallis R, Drickamer K. Molecular determinants of oligomer formation and complement fixation in mannose-binding proteins. *J Biol Chem* 1999;274(6):3580-9.
79. Boldt AB, Petzl-Erler ML. A new strategy for mannose-binding lectin gene haplotyping. *Hum Mutat* 2002;19(3):296-306.
80. Nauta AJ, Jensen NR, Roos A, et al. Mannose-Binding Lectin Engagement with Late Apoptotic and Necrotic Cells. *Eur J Immunol* 2003;33:2853-63,.
81. Fraser DA, Bohlson SS, Jasinskiene N, et al. C1q and MBL, components of the innate immune system, influence monocyte cytokine expression. *J Leukoc Biol* 2006;14:64-71.
82. Seelen MA, Trouw LA, Van Der Hoorn JWA, et al. Autoantibodies Against Mannose-Binding Lectin in Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Exp Immunol* 2003;134:335-43,.
83. Saevarsdottir S, Vikingsdottir T, Vikingsson A, et al. Low mannose binding lectin predicts poor prognosis in patients with early rheumatoid arthritis. A prospective study. *J Rheumatol* 2000;28:728-34.

84. Sato R, Matsushita M, Miyata M, et al. Substances Reactive with Mannose-Binding Protein (MBP) in Sera of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Fukushima J Med Sci* 1997;43:99-111.
85. Inanç N, Mumcu G, Birtaş E, et al. Serum mannose-binding lectin levels are decreased in Behçet's disease and associated with disease severity. *J Rheumatol* 2005;32:287-91.
86. Worthley DL, Bardy PG, Mullighan CG. Mannose binding lectin biology and clinical implications. *Internal Medicine Journal* 2005;35: 548-55.
87. Lee YH, Witte T, Momot T. The Mannose-Binding Lectin Gene Polymorphisms and Systemic Lupus Erythematosus. Two case – Control Studies and Meta-Analysis. *Arthritis Rheum* 2005;52(12): 3966-74.
88. Miller ME, Seals J, Kaye R, Levitsky LC. A familial, plasma associated defect of phagocytosis. *Lancet* 1968;60.
89. Takashi R, Tsutsumi A, Ohtani K, et al. Association of MBL gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristic and progression of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64(2):311-14.
90. Turner MW. The Role of Mannose Binding in health and disease. *Molecular Immunology* 2003;40:423-9.
91. Hansen S, Holmskov U. Structural aspects of collectins and receptors for collectins. *Immunobiology* 1998;199(2):165-89.
92. Garred P, Thiel S, Madsen HO, et al. Gene frequency and partial protein characterization of an allelic variant of manan binding protein associated with low serum concentrations. *Clin Exp Immunol* 1992; 90:517-52.
93. Lau YL, Lau CS, Chan SY. Mannose-binding protein in Chinese patients with SLE. *Arthritis Rheum* 1996;39:706-8.
94. Garred P, Madsen HO, Halberg P, et al. Mannose-Binding Lectin Polymorphisms and Susceptibility to Infection in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42:2145-52.

95.WK, Chan SY, Lau CS, Lau YL. Association of systemic lupus erythematosus with promoter polymorphisms of the mannose binding lectin gene. *Arthritis Rheum* 1998;41:1663-8.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANA	: Anti Nükleer Antikor
bç	: baz çifti
C	: Compleman
C/D	: Cup / Disk
CRD	: Carbohydrate Recognition Domains
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dsDNA	: anti-çift sarmal Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
Eliza	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ESH	: Eritrosit Sedimentasyon Hızı
FRET	: Floresan Rezonans Enerji Transferi
GA	: Görme Alanı
GİB	: Göz İçi Basıncı
Ig	: Immunglobülin
IŞP	: Isı Şok Proteini
MBL	: Mannoz Bağlayıcı Lektin
MİSP	: Mannoz İlişkili Serin Proteaz
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NO	: Nitrik oksit
NTG	: Normotansif Glokom
OHT	: Oküler Hipertansiyon
PAAG	: Primer Açık Açılı Glokom
PAKG	: Primer Açık Kapanması Glokomu
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RA	: Romatoid Artrit
rpm	: revolutions per minute
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
TIGR geni	: Trabecular-meshwork Induced Glucocorticoid Response
TMB	: Tetrametilbenzidin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 (Glokom sınıflaması)	12
Şekil 2 (Kompleman ve laktin yolları)	23
Şekil 3 (MBL geni, kodladığı spesifik bölgeler ve mutasyonların yerleşimi)	26
Şekil 4 (H/L varyantlarına alt Melting Curve analizi)	33

TABLolar DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 (Promotör bölge varyantları için kullanılan primer ve prob dizileri)	30
Tablo 2 (H/L varyant analizinde kullanılan materyallerin konsantrasyon ve miktarları)	31
Tablo 3 (H/L varyant analizi için PZR koşulları)	32
Tablo 4 (Grupların genel özellikleri)	34
Tablo 5 (Hasta ve kontrol ortalama serum MBL değerleri)	35
Tablo 6 (Hasta ve kontrol DNA'larında H/L gen polimorfizm oranları)	35
Tablo 7 (Genotipe göre serum örneklerinde MBL seviyeleri)	36
Tablo 8 (Mutasyon taşıyan örnekler ile taşımayanlarda ortalama MBL serum seviyeleri)	36
Tablo 9 (Hastalığın klinik seyrine göre MBL serum seviyeleri)	37
Tablo 10 (Hastalığın klinik seyrine göre H/L gen polimorfizm Oranları)	37