

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

**PRİMER AÇIK AÇILI GLOKOMLU HASTALARDA
PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ,
MDA SEVİYESİ VE OKSİDATİF DNA HASARI**

Dr. Uğur Yılmaz MUMCU

**Tez Yöneticisi
Prof. Dr. İbrahim KOÇER**

**Uzmanlık Tezi
ERZURUM 2011**

İÇİNDEKİLER

TABLolar DİZİNİ.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
ONAY	V
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Epidemiyoloji	2
2.2. Glokom Sınıflandırılması	4
2.3. Primer Açık Açılı Glokom	5
2.3.1. PAAG’da Risk Faktörleri	6
2.3.1.1. Göziçi basıncı (GİB)	6
2.3.1.2. Yaş ve ırk	6
2.3.1.3. Genetik.....	7
2.3.1.4. Miyopi	7
2.3.1.5. Endokrin bozukluklar	7
2.3.1.6. Diyet	7
2.3.1.7. Optik sinir başı (OSB) hassasiyeti	8
2.3.1.8. Retina ganglion hücrelerinin hassasiyeti	8
2.3.1.9. Hemodinamik değişiklikler.....	8
2.4. Glokomatöz Optik Nöropati de Etyopatogenez.....	9
2.4.1. Mekanik teori	9
2.4.2. İskemik teori	9
2.4.3. Apoptoz teorisi.....	10
2.5. Oksidatif Stres ve Glokom	11
2.6. Serbest Radikaller	12
2.6.1. Serbest radikal çeşitleri.....	13
2.6.2. Serbest radikallerin etkileri.....	13

2.6.2.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri	13
2.6.2.2. serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri	15
2.6.2.3. Serbest radikallerin DNA ya etkileri	16
2.6.2.4. Serbest radikallerin proteinlere etkileri	16
2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar	17
2.7.1. Endojen antioksidanlar	18
2.7.2. Eksojen Antioksidanlar	19
2.8. Paraoksonaz	20
2.8.1. PON1	21
2.8.2. PON2	24
2.8.3. PON3	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. DNA İzolasyonu ve Hidrolizasyonu	29
3.2. MDA Analizi	30
3.3. PON-1 Aktivitelerinin Tayini.....	30
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇLAR	41
KAYNAKLAR	42

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Ülkemizde Glokom Tiplerinin Dağılımı	4
Tablo 3.1. Paraoksonaz Aktivite Ölçüm Prosedürü	31
Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Grubunda PON, MDA, 8-OHdG/dG Değerleri ve Yaş Dağılımı	32
Tablo 4.2. PON, MDA, 8-OHdG/dG Değerleri ve Cinsiyetler Arasındaki Dağılımının İstatistiksel Analizi	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. PON1'in Yapısı	22
Şekil 2.2. PON1'in HDL'ye bağlanması	23
Şekil 4.1. Gruplarda 8-OHdG/dG Dağılımı	33
Şekil 4.2. Gruplar Arasında MDA Dağılımı.....	33
Şekil 4.3. Gruplar Arasında PON Aktivitesi Dağılımı.....	34
Şekil 4.4. Hasta Grubunda MDA ve DNA Oksidasyonu Arasındaki Korelasyon	34
Şekil 4.5. MDA ve 8-OHdG/dG Arasındaki Pozitif Korelasyon	35
Şekil 4.6. 8-OGdG/dG ve PON Arasındaki Negatif Korelasyon	36

ONAY

“Primer Açık Açılı Glokomlu Hastalarda Paraoksonaz Aktivitesi, MDA Seviyesi ve Oksidatif DNA Hasarı” adlı çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı’nın tarih 11.05.2009 tarih ve 90 sayılı kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı’nın 15.05.2009 tarih ve 4 no’lu oturum, 134 no’lu toplantı kararı, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Başkanlığı’nın 19.08.2009 tarih ve 2 sayılı oturum, 27 nolu kararı ile tez çalışması olarak kabul edilmiştir. 28.10.2011



Prof.Dr.Orhan BAYKAL
GÖZ Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda destek vererek değerli bilgi ve tecrübeleriyle yetişmemde katkıları bulunan hocalarım Anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Orhan BAYKAL'a, tez hocam Prof. Dr. İbrahim KOÇER'e, Doç. Dr. İlknur Akyol SALMAN'a, Doç. Dr. Orhan ATEŞ ve Yrd. Doç. Dr. Sadullah KELEŞ'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda bulunduğum süre içinde her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm çalışma arkadaşlarıma, hemşirelerimize, sekreterlerimize ve klinik personeline ayrıca teşekkürler ediyorum.

Çalışmalarımın her aşamasında bana sonsuz sabır ve destek gösteren aileme de manevi desteklerinden ötürü teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Uğur Yılmaz MUMCU

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda sağlıklı bireylerle primer açık açılı glokomlu (PAAG) hastalarda antioksidan paraoksonaz enzim aktivitesi, lipid peroksidasyon belirteci MDA ve oksidatif DNA hasarı belirteci 8 OH- dG /dG seviyelerini ve bu parametreler arasında anlamlı bir fark ve ilişki olup olmadığının tespit edilmesi ve etiyopatogenez de bir rolü olup olmayacağının araştırılması amaçlandı.

Materyal-Metod: PAAG'lu 53 hastanın ve sağlıklı 52 olgunun alınan kan plazmasında MDA ve 8 OH-dG ölçümleri HPLC ile; PON değerleri spektrofotometrik yöntemle tayin edildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

Sonuçlar: Her iki grup arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı fark yoktu. PAAG'lu hastalarda ve kontrollerde sırasıyla MDA seviyesi 10.46 ± 8.4 ve 4.70 ± 1.79 μmol ; PON seviyesi 121 ± 39.55 ve 161.62 ± 60.22 U/mL; 8 OH-dG değerleri 1.32 ± 0.53 ve 0.47 ± 0.27 birim olarak bulundu. MDA ve 8 OH-dG değerleri PAAG'lu hastalarda sağlıklı kontrol grubundan yaklaşık iki kat daha fazla iken, PON düzeyi anlamlı düzeyde daha düşük bulundu ($p < 0,01$).

Yorum: Glokomlu hastalarda lipid peroksidasyonunun belirteci olan MDA seviyesinin ve DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG/dG nin yükseldiğini; organizmada bir antioksidan olan PON seviyesinin düştüğünü tespit ettik. Bu bulgular etiyopatogenezde artmış lipid peroksidasyonunun, azalmış antioksidan seviyelerinin ve muhtemelen bunlara bağlı gelişen DNA hasarının rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Yakın gelecekte glokomun önlenmesi ve tedavisinde oksidatif strese yol açan nedenlerin ortadan kaldırılmasının ve nöroprotektif ajanların kullanılmasının önemli bir rol oynayabileceği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Primer açık açılı glokom, Paraoksonaz, Malondialdehit, 8-HdG/dG

ABSTRACT

Paraoxonase Activity and the level of MDA and oxidative DNA damage in the patients with Primary Open Angle Glaucoma

We aimed to investigate antioxidant paraoxonase activity and MDA, indicator of lipid peroxidation, and the level of 8 OH- dG /dG, indicator of oxidative DNA damage in the patients with primary open angle glaucoma (PAAG) and to find out whether there is any significant distinction between these parameters or the role in the etiopathogenesis compared to health individuals

In the blood plasma of 52 healthy individuals and 53 patients with Primary Open Angle Glaucoma, the measurements of MDA and 8 OH- dG /dG was performed by means HPLC, the values of PON were determined by means of spectrophotometric method; The data obtained were analysed statistically

There was no distinction between two groups as regards age and gender. The level of MDA were found as 10.46 ± 8.4 and 4.70 ± 1.79 μmol in the control group and in the patients with PAAG respectively. The level of PON was 121 ± 39.55 and 161.62 ± 60.22 U/mL; The values of 8 OH- dG /dG were 1.32 ± 0.53 and 0.47 ± 0.27 . While the values of MDA and 8 OH- dG /dG were more in the patients with PAAG than twice of those of healthy controls, the level of PON was found significantly lower level ($p < 0.01$)

We detected that the level of MDA, indicator of lipid peroxidation in the patients with Glaucoma, and 8 OH- dG /dG indicator of oxidative DNA damage increased, and the level of PON, an antioxidant in organism, reduced

These findings make us think that increased lipid peroxidation and reduced antioxidant levels and DNA damage probably which may develop depending on these may play role in etiopathogenesis. In near future in the prevention or treatment of glaucoma it can be said that removing of the causes leading to oxidative agents and the use of neuroprotective agents; may play important role.

Key Words: Paraoxonase, Primary Open Angle Glaucoma, Malondialdehyd, 8 OH- dG /dG

SİMGE ve KISALTMALAR

AMD	: Yaşa bağılı maküla dejenerasyonu
C/D	: Cup/Disk
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
GA	: Görme Alanı
GİB	: Göz içi Basıncı
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
HDL	: High Density Lipoprotein (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein)
LDL	: Low Density Lipoprotein (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein)
MDA	: Malondialdehid
NFA	: Nerve Fiber Analyzer
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
O₂^{•-}	: Süperoksit anyon radikali
OH[•]	: Hidroksil radikali
ONOO⁻	: Peroksi nitrit
PAAG	: Primer Açık Açılı Glokom
PAKG	: Primer Açık Kapanması Glokomu
PON	: Paraoksonaz
PON1	: Paraoksonaz1
PON2	: Paraoksonaz2
PON3	: Paraoksonaz3
PUFA	: Poliunsatüre fatty asit
R[•]	: Organik radikaller
8-OHdG	: 8-hidroksi deoksiguanozin
8-OHdG/dG	: 8-hidroksi deoksiguanozin/deoksiguanozin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tüm dünyada kalıcı görme kaybının önde gelen sebeplerinden birisi olan glokom, ganglion hücre hasarı ve neticesinde görme alanında kayıpla seyrederek körlükle sonuçlanabilen, kronik, ilerleyici bir optik nöropatidir.

Gelişmiş ülkelerde glokom hastalarının sadece %50 kadarına tanı konulup tedavi edilirken gelişmekte olan ülkelerde bu oran çok daha düşüktür. Günümüzde modern tıbbın imkanları insan ömrünü uzatırken özellikle glokom gibi yaşlılıkla sıklığı artan hastalıklar ciddi bir sorun oluşturmakta ve daha fazla sayıda insanı etkilemektedir.

Glokomatöz optik nöropatiyi tek bir nedenle izah etmek mümkün değildir. Bu konuda çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Günümüzde genetik yatkınlık, mekanik anlamdaki faktörler, iskemi, nörotrofik faktörlerin eksikliği veya oksidatif ve nitratif strese bağlı nörotoksisitenin neden olduğu çok sebepli bir klinik durum olduğu kabul edilmektedir. Son zamanlarda özellikle iskemik dokuda oluşan süperoksit radikalleri ve bunlara bağlı gelişen membran ve hücre hasarlarının da gelişen ganglion hücre hasarında önemli role sahip olduğunu düşündürecek bulgular elde edilmektedir.

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda takipli veya yeni tanı alan primer açık açılı glokomlu (PAAG) hastalarda paraoksonaz enzim aktivitesi, MDA seviyeleri ve oksidatif DNA hasarı seviyelerinin araştırılarak, normal bireylerle glokomlu hastalar arasında bu parametreler açısından fark olup olmadığının tespit edilmesi ve etiyopatogeneizde bir rolü olup olmayacağının araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

Glokom, retina ganglion hücrelerinin dejenerasyonu ile optik sinir başında çukurlaşma ve atrofiye yol açan, karakteristik görme alanı defektleri oluşturan ve tedavi edilmediği takdirde körlükle sonuçlanabilen kronik ilerleyici bir optik nöropatidir (1).

Glokom terimi eski Yunanca da “gri-mavi” anlamına gelen “glaukos” kelimesinden türemiştir. Hastalık ilk kez antik çağlarda tanımlanmıştır. Glokom, Hipokrat tarafından yaşlı insanlarda görülen ve göz bebeğindeki açık mavi renk değişimi olarak tarif edilmiştir. Bu sebeple glokomun önceleri katarakt ile aynı patoloji olduğu düşünülmüştür. Görme kaybı ile yüksek göz içi basıncı arasındaki ilişki ilk defa 10. ve 15. yüzyıl Arap kaynaklarında yer almaktadır. XVII yüzyılda Banister tarafından Avrupa literatürüne sokulmuş ve Glokom terimi de Guthrie (1823) tarafından kullanılmıştır (2;3). XIX yüzyılda Donders Von Graefe ve Müllerin çalışmaları ile başlayan glokom üzerindeki araştırmalar halen bir çok araştırmacının yoğun çalışmaları ile devam etmektedir.

2.1. 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 ırktan ya da Afrika kökenli popülasyonlar üzerinde yoğunlaşmış olmasına rağmen son zamanlarda Çin de sarı ırkın verileri de elde edilmeye başlanılmıştır. Glokomla ilgili epidemiyolojik çalışmaların çoğu primer açık açılı glokomun (PAAG) en sık form olduğu bölgelerde, Kuzey Amerika ve Avrupa' da gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla verilerin çoğu PAAG ile ilgilidir.

Bütün dünyada, geri dönüşümsüz körlüğün en sık nedeni glokomdur (4). Gelişmiş ülkelerde glokomlu kişilerin sadece %50' sinin tespit edildiği gösterilmiştir ve bu oranın gelişmekte olan ülkelerde daha düşük olduğu düşünülmektedir (5).

Hastalığın yapılan çalışmalarda prevalansı ırk, yaş, cinsiyet ve klinik sınıflamadaki farklılıklar nedeniyle değişiklik göstermektedir. Amerika'da PAAG prevalansı 40 yaş üstündeki kişilerde %1,86 olarak bildirilmiştir (6). Baltimore Göz Çalışmasında ise 40 yaş üzerindeki PAAG prevalansının siyahlarda %4,7 ve beyazlarda

%1,3 olduğu bildirilmiştir (7). Barbados Gz çalışmasında ise siyahlardaki bu oran %6,6 olarak bildirilmiştir (8). Yapılan çalışmaların tümünde yaşlı kişilerdeki glokom prevalansında genç popülasyona göre anlamlı bir artış vardır, 70' li yaşlardaki oran 40' lı yaşlardakine göre 3-8 kat daha fazladır. Avustralya Blue Mountain Gz alışmasında PAAG prevalansı kadınlarda erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur (9). Rotterdam çalışmasında ise prevalans erkeklerde kadınlara göre 3 kat yüksek bulunmuştur (10). Bununla birlikte yapılan bir çok çalışmada ise prevalans açısından cinsiyetler arasında belirgin bir fark bulunamamıştır (7;11).

Daha az sayıda yapılan çalışmada tespit edilen primer açı kapanması glokomu (PAKG) prevalansı ise PAAG' a göre daha düşüktür. Beaver Dam çalışmasında (11) prevalans %0,04, Baltimore çalışmasında (7) ise Afrikalı Amerikalılarda %0,9 olarak bulunmuştur. Asyalı toplumlarda ise PAKG daha sık görülmektedir.

PAAG insidansı ise daha az sayıda toplum bazlı çalışmayla ölçülmüştür. Barbados Gz çalışmasında 40 yaş üzerinde siyahlarda 4 yıllık genel insidans %2,2 bir yıllık insidans ise %0,55 olarak tespit edilmiştir (12). Melbourne Görme Düşüklüğü Projesinde beyazlarda 40 yaş üzerindeki yıllık insidans %0,1 olarak saptanmıştır (13). Her iki çalışmada da insidans yaşla birlikte anlamlı düzeyde artmaktadır.

Dünya Sağlık rgtnn yaptığı literatür analizinde yüksek GİB' lı kişilerin nüfusu 104,5 milyon olarak öngörülmüştür ve yıllık PAAG insidansının 2,4 milyon kişi olduğu tahmin edilmiştir (14).

Ülkemizde, çok merkezli yapılan çalışmaların ortalamasına göre, çeşitli glokom tiplerinin dağılımı tablo 1'de görüldüğü gibidir (15).

Tablo 2.1. Ülkemizde Glokom Tiplerinin Dağılımı

GLOKOM TİPİ	ORAN
Primer Açık Açılı Glokom	%46.61
Psödoeksfolyatif Glokom	%15.6
Normotansif Glokom	%10.14
Primer Açık Kapanması Glokomu	%6.06
Tedaviye Dirençli Glokom Tipleri	
Neovasküler Glokom	%2.83
Oküler İnflamasyona İkincil Glokom	%2.47
Afakik ve Psödoafakik Glokom	%3.61
Lense Bağlı Glokom	%1.48
Travmatik Glokom	%1.36
Primer Konjenital Glokom	%0.92
Pigmenter Glokom	%0.91
Göz içi Tümörlerine Bağlı Glokom	%0.74

2.2. Glokom Sınıflandırılması

Glokomlar genellikle göz içi basıncının yükselmesine neden olabilecek başka faktörlerin varlığına göre primer ya da sekonder, iridokorneal açının durumuna göre açık açılı ya da kapalı açılı, glokomun başlangıç yaşına göre konjenital, çocukluk çağı ya da erişkin glokomu veya GİB' nin yüksekliğine göre yüksek basınçlı ya da normal basınçlı olarak sınıflandırılabilir.

Avrupa Glokom Cemiyeti' nin 2003 yılında yayınladığı rehberde glokom sınıflaması şu şekilde yapılmıştır (16).

A. Primer Konjenital Glokomlar

B. Primer Açık Açılı Glokomlar

1. Primer Jüvenil Glokom
2. Primer Jüvenil Glokom Şüphesi
3. Primer Açık Açılı Glokom/Yüksek Basınçlı Glokom (PAAG/YBG)
4. Primer Açık Açılı Glokom Şüphesi (PAAG Şüphesi)
5. Primer Açık Açılı Glokom/Normal Basınçlı Glokom (NBG)
6. Normal Basınçlı Glokom Şüphesi
7. Oküler Hipertansiyon (OH)

C. Sekonder Açık Açılı Glokomlar (SAAG)

1. Oftalmolojik Sebeplere Bağlı SAAG lar
2. İatrojenik SAAG lar
3. Göz Dışı Sebeplerin Neden Olduğu SAAG lar

D. Primer Açık Kapanması

1. Primer Açık Kapanması (PAK)
2. Akut Açık Kapanması Atağından Sonraki Dönem
3. Kapanabilir Açık (Açık Kapanması Riski)

E. Sekonder Açık Kapanması Glokomları (SAKG)

1. Pupil Bloğu ile Birlikte SAKG
2. Pupil Bloğu Olmaksızın Öne “Çekme” Mekanizması ile Oluşan SAKG
3. Pupil Bloğu Olmaksızın Arkadan “İtme” Mekanizması ile Oluşan SAKG

2.3. Primer Açık Açılı Glokom

Erişkin yaşta başlayan kronik, ilerleyici, sinsi seyirli optik nöropati olup yüksek GİB (>21 mmHg), açık ve normal bir ön kamara açısı ile görme alanlarında tipik glokomatöz defektlerle karakterizedir. Bu hastalarda retinal ganglion hücrelerinde ilerleyici kayıp ile optik sinir başında glokomatöz çukurluk oluşur.

Primer açık açılı glokomda oluşan optik sinir hasarının fizyopatolojik açıklaması tam olarak yapılamamıştır. PAAG'de meydana gelen humör aköz dışı akımı obstrüksiyonunun mekanizması halen bilinmemektedir. Dışa akıma karşı direnç oluşumunda ve GİB değişikliklerine bağlı optik sinir başında hasar oluşmasında, genetik defektlerin rolü olduğu düşünülmektedir (17;18).

Primer açık açılı glokom en sık görülen glokom tipidir. PAAG çoğunlukla yaşlı bireylerde görülmekte ve yaşla birlikte görülme sıklığı da artmakla birlikte orta yaş ve öncesinde de ortaya çıkabilmektedir. Temel olarak ortaya çıktığı yaşa göre yetişkin ve juvenil olarak iki formu bulunmaktadır. Genel popülasyonda %0,3 -0,5 oranında saptanırken bu oran 40 yaş üzerinde %1-2 düzeylerine kadar yükselmektedir. PAAG'nin kalıtsal özellikler gösterdiğini destekleyen birçok bulgu vardır. PAAG'li olguların

birinci derece yakınlarında glokom insidansı normal popülasyondan 6 kat daha fazla saptandığı için PAAG poligenik geçişli genetik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (19;20). Primer açık açılı glokom için risk faktörü olabilecek değişkenler hastalığın patogenezinin anlaşılmasında ve tanı ve tedavisinin planlanmasında oldukça önem taşımaktadır. Genetik özellikler, çevresel etkiler ve kişisel özellikler risk faktörleri üzerine oldukça etkilidir.

2.3.1. PAAG’da Risk Faktörleri

2.3.1.1. Göziçi basıncı (GİB)

Geleneksel anlayışa göre yükselmiş göziçi basıncı hastalığın esasını teşkil etmektedir. Ancak şu anki bilgiler ışığında glokomatöz hasara sebep olan tek faktör değil, fakat bilinen en önemli risk faktörüdür (21).

GİB nı Etkileyen Faktörler: Günün değişen saatleri, kalp atım hızı, Postural değişiklikler, solunum siklusu, egzersiz, sıvı alımı, sistemik ilaçlar, topikal ilaçlar olarak sayılabilir.

Alkol alımı, GİB da geçici bir düşme yapar. Kafein, GİB da geçici bir yükselme yapabilir. Marihuana GİB nı düşürür fakat bunun klinik yararlılığı ispatlanmış değildir. Bazı insanlarda uzanır şekilde yattıklarında GİB da abartılı bir şekilde yükselme görülmektedir ve bu duruma yatkınlık bazı glokom tiplerinin patogenezinde önemli olabilir. GİB genellikle yaştan ve genetik yapıdan etkilenir. PAAG hastalarının akrabalarında yüksek GİB görülmesi daha muhtemeldir.

2.3.1.2. Yaş ve ırk

GİB yaşa bağlı olarak artmaktadır. Bu artış 51-60 yaş grubu erkeklerde istatistiki anlamlılık gösterirken, kadınlarda bu anlamlılık bir dekad önce olmaktadır. İleri yaşlarda sistemik ve oküler bozuklukların görülme sıklığı herkes tarafından bilinen bir gerçektir. Yapılan çalışmalarda PAAG’un siyah ırkta ve yaşa bağlı olarak insidans ve prevalansında çok belirgin bir artış olduğu gösterilmiştir (21).

2.3.1.3. Genetik

Glokomda genetik predispozisyonun mevcudiyeti ilk defa 1842’de Benedict tarafından bildirilmiştir. Yapılan çeşitli araştırmalarda PAAG da basit mendelian genetik geçiş olmadığı bildirilmiş olmasına rağmen otozomal dominant ve otozomal resesif geçişlerde gösterilmiştir. Cinsiyete bağlı geçiş ise ileri derecede az bildirilmiştir. Moleküler biyoloji ve genetikteki gelişmelere bağlı olarak bugüne kadar PAAG da 6 lokus bildirilmiştir (22).

2.3.1.4. Miyopi

PAAG ile ilişkisine ait ilk yayın 1885’de Gallenga ya aittir. %19 luk oran bildirmiştir. Mastropasqua ve ark %16.3 glokom oranı bildirdikleri serilerinde, miyopik refraksiyon arttıkça glokom prevalansındaki artışın istatistiki olarak anlamlı olduğunu göstermişlerdir (22).

2.3.1.5. Endokrin bozukluklar

Menapozun GİB ile ilişkisinden bahsedilmektedir. Hormon replasman tedavisinin menopozdaki kadınlarda GİB’ni anlamlı derecede düşürücü etkisini Sator ve ark göstermişlerdir. Centanni ve ark ait çalışmaya göre subklinik hipotiroidi olgularında da GİB normal olgulara göre daha yüksek seviyelerde olup erken dönemde L-throxine tedavisi ile tamamen normale dönmektedir. Framingham Eye Study ve Leske’nin çalışmalarına göre Diabetes mellitus (DM) prevalansı GİB 21 mmHg üzerinde olanlarda 2-3 misli daha fazla olduğunu göstermiştir. DM da glokom insidansı ise %5.5 olarak ifade edilmektedir (22).

2.3.1.6. Diyet

Hayreh ve ark yapmış oldukları çalışmada aterojenik diyet almış yaşlı maymunların genç ve normal beslenenlere göre daha yüksek GİB na sahip olduklarını ifade etmişlerdir (22).

2.3.1.7. Optik sinir başı (OSB) hassasiyeti

OSB'nin kan akımında bir otoregülasyon mekanizması söz konusudur. Sistemik kan basıncı ve GİB değişikliklerine bağlı olarak otoregülasyon mekanizmasındaki bozukluklar optik sinir başını iskemiyeye karşı hassas hale getirecektir (22).

2.3.1.8. Retina ganglion hücrelerinin hassasiyeti

Travma ve iskemiyeye bağlı olarak ve glokom olgularında ekstra sellüler ortama çıkan ve bir nörotransmitter olan glutamatın retina ganglion hücrelerinde apoptozise neden olduğu gösterilmiştir (22).

2.3.1.9. Hemodinamik değişiklikler

Sistemik kan basıncına, GİB yüksekliğine ve aynı zamanda kanın özelliklerine bağlı olarak meydana gelir. Tielsch'in çalışmasına göre diastolik kan basıncının 40-90 mmHg olduğu popülasyonda glokom prevalansında artış söz konusu değil iken, 40 mmHg altındakilerde belirgin bir artış göstermektedir. Bu da perfüzyon basıncının düşmesi ile glokom riskinin arttığını göstermektedir. Ayrıca genç hipertansiyonlu olgular glokomdan az etkilenirken, yaşlı hipertansiyonlu olgular daha fazla etkilenmektedir. Noktürnal hipotansif atakların da optik sinir başı kanlanmasını olumsuz etkilediği de gösterilmiştir (22). Vazospazma neden olan sigara içimi ve vazospazm ile karakteristik hastalık olan migren ve Reynauld fenomeni gibi olgularda Optik sinir başı kanlanmasının yetersizliği glokomatöz hasara veya mevcut hasarın artmasına sebep olabilecek durumlardır. Lokal vasküler risk faktörleri olarak kabul edilen disk hemorajileri, peripapiller atrofi, koroidal skleroz ve lokal peripapiller vazokonstriksiyon kalitatif olarak değerlendirilmektedir. Yirminci yüzyılın başlarında Bjerrum tarafından tanımlanmış olan disk hemorajisi ve glokom ilişkisi bir mikroenfarktüs olup optik sinir başı iskemisi oluşturarak hasarın habercisi olmaktadır. Yapılan çalışmalar disk hemorajisi olan gözlerdeki progresyon, disk hemorajisi olmayanlara göre 3-4 misli fazladır.

2.4. Glokomatöz Optik Nöropati de Etiyopatogenez

Glokomatöz optik nöropati erken glokomatöz çanaklaşma, akson ve glial hücrelerin kaybıyla oluşur. İlerlemiş glokomda doku harabiyeti artar, kribriiform tabakanın arkasına yayılır ve lamina arkaya doğru çöker. Optik sinirin iç ve dış faktörlerden etkilenmesi sonucu glokomatöz optik nöropati oluşur. Göz içi basınç (GİB) yüksekliği glokomatöz optik nöropati gelişiminde major risk faktörlerinden birisidir. Fakat yapılan çalışmalarda ülke ve etnik yapıya göre değişmekle beraber glokomatöz optik sinir harabiyeti görülen olguların %10-20 kadarında hiçbir zaman GİB in normal değerlerin üzerinde olmadığı saptanmıştır (23). GİB artışı dışındaki faktörler de glokomatöz hasara katkıda bulunmaktadır. Glokomatöz optik nöropatiyi tek bir nedenle izah etmek mümkün değildir. Bu konuda çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Günümüzde; genetik yatkınlık, mekanik anlamdaki faktörler, iskemi, nörotrofik faktörlerin eksikliği veya oksidatif ve nitratif stresin neden olduğu nöronal ölüm gibi faktörlerin rol oynadığı çok sebepli bir klinik durum olarak kabul edilmektedir.

2.4.1. Mekanik teori

Bu teori ilk defa 1858 yılında Müller tarafından ortaya atılmıştır. Bu teoride yüksek GİB skleral duvarda gerilim oluşturur. Lamina kribrozanın her bölgesi bu gerilime eşit direnç göstermez. Lamina kribrozada delikler üst ve alt kutuplarda daha geniştir. Buradan geniş çaplı sinir lifleri geçer. Bu bölgede kollajen doku desteğinin daha az olması lamina kribrozanın distorsiyonuna ve arkaya doğru çukurlaşmasına sebep olur. Bu distorsiyon lateral genikulat nükleusa doğru olan aksoplazmik akımı bozar ve optik atrofiye neden olur (23).

2.4.2. İskemik teori

Glokomatöz hasar her zaman yüksek GİB değerlerinde ortaya çıkmamakta, GİB düşürülmesine rağmen akson kaybının devam etmesinin iskeminin sonucu olduğu düşünülmüştür. GİB yükselmesiyle, santral retinal arter ve arka silyer arter direncinde artma, kan basıncındaki gece düşmelerinin glokomda fazla olması, akut damar dilatasyonunda kontrast duyarlılığının artması gibi veriler bu teoriyi desteklemektedir (23). Oküler kan akımı perfüzyon basıncı ile doğru, damar direnci 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. Bu yerel faktörlerin başlıca üretim yeri kapiller endotel hücreleridir. Endotel hücreleri çeşitli trombosit ürünleri, otokoidler 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 artırır (24). Sağlıklı bir gözde GİB 30-35 mmHg değerlerine kadar otoregülasyon normal şekilde sürer. 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 glokoma bağlı optik nöropatiye yol açar (25).

2.4.3. Apoptoz teorisi

Hücrenin genetik programlama sonucu intiharıdır. Hücre içinde oluşan endonükleazların kendi DNA’sını yok etmesi sonucu hücre ölür ve komşu hücreler tarafından fagosite edilir. Embriyoda retina gangliyon hücreleri aksonlardan iki kat daha fazladır. Fetusda apoptozis sonucu sayı yarıya iner. Doğumdan sonra sinir büyüme faktöründeki azalma nöronda apoptozis başlamasına neden olur. Retina gangliyon hücrelerinin büyüme faktörü korpus genikülatum lateraleden gelen nörotrofik faktördür. Bu faktörün lamina kribroza düzeyinde bloke olması ve düzeyinin düşük olması apoptozisi başlatır. Apoptozis nekrozdan farklı olarak inflamatuvar reaksiyonla beraber olmayan ve genetik olarak programlanmış hücre ölümüdür (23). Apoptozisin oluşumunu sağlayan nörotoksik maddelerden biri olan glutamat glokomlu olguların vitreusunda yüksek düzeyde saptanmıştır. 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 radikallerden süperoksit anyonu ve peroksinitrit oluşumuna yol açar. Bu aktivasyon apoptozis olarak isimlendirilen inflamasyonsuz hücre ölümünün başlangıcıdır (26;27). Apoptozis normal ortamda planlanmış hücre ölümü iken glokomda erken aktive edilmiş olur. NMDA reseptörlerinin uyarılması hücre içinde kalsiyum yükselmesine ve kalsiyuma bağımlı hücre içi enzim sisteminin çalışmasına

neden olur. Hücre içi Ca, NO ve serbest radikallerin düzeyi artarak apopitotik hücre ölümü başlar. Yine yapılan çalışmalarda glokomlu olguların gangliyon hücre düzeyinde immünglobulin birikimlerine rastlanması apopitotik retinal hücre ölümünü desteklemektedir (28).

2.5. Oksidatif Stres ve Glokom

Son zamanlarda glokom patogenezinde neden, nasıl ve ne zaman sorularına cevap arayan birçok çalışma yapılmaktadır. Pek çok faktör araştırılmakta ve özellikle iskemik dokuda oluşan süperoksit radikalleri ve bunlara bağlı gelişen membran ve hücre hasarlarının da glokomatöz hasarın gelişiminde önemli role sahip olduğunu düşündürecek bulgular elde edilmektedir.

Oksidatif stres radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik sonucu oluşur. Kronik oksidatif stres glokomun patogenezi ve özellikle de yaşa bağlı klinik başlangıcı ile ilişkilidir.

Glokomda; proteinlerdeki nitrotirozin ve karboniller, lipid oksidasyon ürünleri ve okside DNA bazlarını da içeren birçok oksidatif stres markırları rapor edilmiştir (29). Oksidatif stres sırasında meydana gelen serbest radikaller, hücrenin yapı taşları olan lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlere zarar verip fonksiyonlarını bozmaktadır. Oksidatif stres sırasında üretilen serbest oksijen radikalleri lipidlerin peroksidasyonunu indükler ve oldukça reaktif aldehitleri meydana getirir (30). Oluşan son ürünler malondialdehit (MDA) ya da 4-hidroksinanenal (4-HNE) oksidatif streste patolojik moleküler süreçte iyi bilinen markırlardır (31). Oksidatif stresin trabeküler ağ dejenerasyonunu tetikleyerek GİB artışına ve aköz akışında değişimlere neden olduğu ileri sürülmektedir (32). Gerçekten de hidrojen peroksit (H_2O_2) ile muamele trabeküler ağ hücrelerinin hücre dışı matriks adezyonunu bozar ve hücre iskeletinin yapısında yeni düzenlenmelere yol açar (33). Kontrol ile karşılaştırıldığında glokom hastalarının trabeküler ağ hücrelerinde oksidatif DNA hasarının önemli derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (34). Ayrıca insanlarda yapılan in vivo çalışmalar hem GİB artışı hem de görme alanı hasarının oksidatif DNA hasarı miktarı ile ilişkili olduğunu göstermiştir (35). Benzer şekilde primer açık açılı glokomlu (PAAG) gözlerde optik sinir hasarının şiddeti trabeküler ağ değişimleri ile korelasyona sahiptir (36). Oksidatif DNA hasarı bu

hasar için bir indikatör olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG) seviyelerinin ölçümü ile tayin edilmektedir (37). Oküler dejenerasyonun eşlik ettiği klinik durumlarda nitratif stres hastalık gidişatını kötüleştirir ve glokomda NOS-2 ekspresyonunun artışı, nitrik oksidin oküler patolojilerde rolünü ortaya koyar (38). Bu sonuç reaktif nitrojen türlerinin artmış GİB ile ilişkili retinal gangliyon hücre ölümüne katkıda bulunabileceğini işaret etmektedir (39;40). Artmış GİB hayvan modellerinde hücresel komponentlerin oksidatif yıkımı genellikle oküler doku hasarına eşlik eder. Protein karbonil oluşumu ve lipid peroksidasyon ürünleri gibi oksidatif stres markırları oküler hipertansiyon deneysel modellerinde rapor edilmiştir (41).

2.6. Serbest Radikaller

Moleküllerin dış yörüngelerinde biri diğerine zıt yönde hareket eden elektron çiftleri bulunmaktadır. Bu elektron çiftleri, molekülün kararlı kalmasını sağlar. Dış yörüngelerinde en az bir adet eşleşmemiş elektron içeren atom veya moleküle serbest radikal denir (42-44). Serbest radikaller rastlantısal bir şekilde metabolizmanın yan ürünleri olarak veya belli bir amaca yönelik olarak (ör:fagositoz) hücre içerisinde sürekli üretilirler.

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler (45;46).

1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.

2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi.

3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi

Bir radikal, radikal olmayan bir molekülle reaksiyona girerse, başka bir serbest radikal oluşur. Bu özellik serbest radikallerin zincirleme reaksiyonlara girebilmelerine olanak sağlar (47).

Biyolojik sistemlerdeki en büyük radikal kaynağı oksijendir. Çünkü oksijen atomu orbitallerinde iki eşleşmemiş elektrona sahiptir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlarken, radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girmesini sağlamaktadır. Oksijen atomu orbitallerindeki

elektronların farklı dizilimi ile de süperoksit, peroksit ve singlet oksijen gibi radikallerin oluşumuna da neden olur. Ayrıca serbest oksijen radikali oluşumunun anahtar maddeleri arasında oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metal iyonları ve hidroksil radikalleride yer almaktadır. Oksijenli (Aerobik) solunum yapan canlılar dışardan aldıkları besin maddelerini oksijeni kullanarak enerjiye çevirirler. Dolayısıyla aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin en fazla olduğu canlı grubudur. Bu yüzden aerobik solunum yapan canlılar serbest radikallerin etkilerine daha fazla maruz kalırlar (45).

2.6.1. Serbest radikal çeşitleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu, aerobik koşullar altında süren yaşam ile ve hem fizyolojik hem de patofizyolojik koşullar altında üretilen reaktif araçlar ile ilgilidir (48). Reaktif oksijen türleri DNA, karbohidratlar, lipidler ya da proteinler gibi biyolojik makro moleküllere hasar verebilme yeteneğine sahiptir. Bu oksijen metabolitleri ya hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$), peroksil radikali ($\text{ROO}\cdot$) gibi radikal ya da singlet oksijen, ONOO^- ya da H_2O_2 gibi reaktif radikal olmayan bileşiklerdir (49). Gözde reaktif oksijen metaboliti kaynakları güneş ışığı, mitokondriyal solunum ve hücrel metabolik reaksiyonlardır.

Serbest oksijen radikalleri: Süperoksit radikali ($\text{O}_2^{\cdot-}$): Hidrojen peroksit (H_2O_2): Hidroperoksit Radikali ($\text{HO}_2\cdot$): Hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$): Hipoklorikasit Radikali (HOCl): Singlet Oksijen ($^1\text{O}_2$): dir

Reaktif Nitrojen Türleri (NO , N_2O , NO^+ , NO^-): dir

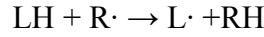
2.6.2. Serbest radikallerin etkileri

2.6.2.1. Serbest radikallerin lipitlere etkileri

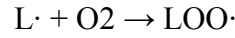
Serbest radikallerin en önemli etkisi lipitlere yaptığı etkidir ki bu da lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır. Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimelerine denilmektedir. Hücre membranları poliansatüre yağ asitlerinden (PUFA) ve kolesterolden zengindir ve kolaylıkla oksidan

radikallerden etkilenirler. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarı geri dönüşümsüzdür (50;51). Biyolojik zararın yapısı lipit ve proteinden oluşmaktadır, lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar vermektedir (52). Lipit peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça zararlıdır. Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri ($L\cdot$) ve lipit peroksit radikallerinin ($LOO\cdot$) oluşması, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir.

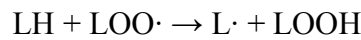
Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir. Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali($L\cdot$) niteliği kazanır.



Oluşan lipit radikalının molekül içi çift bağlarının pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali ($LOO\cdot$) oluşur.

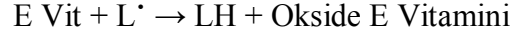
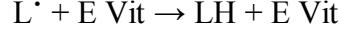


Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (50;51;53-55)



Oldukça kararlı olan lipit hidroperoksitleri lipit peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Lipit peroksidasyonunun sürekli olarak devam ettiği durumlarda E vitamini gibi

zincirleme tepkimeyi sonlandırıcı bir antioksidan ile lipit peroksidasyonu sonlanabilir (56). (Koçer ve ark. 2004) Vitamin E nin gamma ışınlarına maruz bırakılmış farelerde MDA seviyesini azalttığı ve katarakt oluşumunu engellediği gösterilmiştir (57).



Geçiş metalleri varlığında lipit hidroperoksitleri bu metallerin redoks döngüsüyle birlikte lipit peroksidasyonunu başlatabilecek radikallerin oluşumuna neden olabilirler.

Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipit peroksidasyonu”, serbest radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise “nonenzimatik lipit peroksidasyonu” denir (58). Nonenzimatik lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur.

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda üç karbonlu bir dialdehid olan malondialdehit (MDA) meydana gelir. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH₂ ve/veya SH gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açar (50;59). MDA, kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir göstergesi olmamakla beraber lipit peroksidasyonunun derecesiyle iyi uyum gösterir. Oksidatif stresi belirlemede lipit oksidasyonunu MDA ölçümleri yansıtır.

2.6.2.2. Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu serbest oksijen radikalleri meydana gelir. Bunlar diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar.

Sinoviyal sıvı ve gözün vitröz sıvısında bulunan mukopolisakkarit olan hyalüronik asitin hasarı sonucu sırasıyla, enflamatuar eklem hastalıklarının ve kataraktın oluşumunda serbest oksijen radikallerinin rolü vardır (60;61).

2.6.2.3. Serbest radikallerin DNA ya etkileri

Serbest radikallerin DNA'ya etkileri, mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Oksidatif DNA hasarları mutagenezise, kanserogenezise ve yaşlanmaya yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar.

DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksit veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit (ONOO), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrik asit (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı süper oksit radikalleri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin O_2 ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (62-64).

Oksidatif deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı DNA-protein çapraz bağlantılarına, zincir kırıklarına ve baz modifikasyonlarına neden olabilir. Oksidatif DNA hasarı bu hasar için bir indikatör olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG) seviyelerinin ölçümü ile tayin edilmektedir (37).

2.6.2.4. Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır:

- 1) Aminoasitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmentasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmaları.

Serbest radikallerin proteinlerde yaptığı hasarın büyüklüğü; aminoasit kompozisyonlarına, protein konformasyonuna, aminoasitlerin lokalizasyonuna ve de hasar gören proteinin tamir kabiliyetine bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalın toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir.

Doymamış bağ içeren fenilalanin, tirozin, triptofan, histidin ve kükürt içeren metiyonin, sistein ve sistin gibi aminoasitlere sahip proteinler serbest radikallere daha çok hassastırlar ve kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye, proteolize ve hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (61).

Serbest radikallerin etkileriyle, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozulur, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler.

2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri, Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar "**antioksidan savunma sistemleri**" veya kısaca "**antioksidanlar**" olarak bilinir. Glokomda gelişen posttranslasyonel oksidatif modifikasyonlar (41;65) hem serbest radikal oluşum miktarlarına hem de intraselüler ve ekstraselüler antioksidan seviyelerine bağlıdır.

Antioksidanlar etki etme tiplerine göre 4 sınıfa ayrılabilirler:

1) Yok edici antioksidanlar: Etkilerini serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirme yoluyla yaparlar. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.

2) Baskılayıcı antioksidanlar: Etkilerini serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya aktif olmayan şekle dönüştürme şeklinde gösterirler. Vitaminler, flavanoidler ve mannitol bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Zincir kırıcı antioksidanlar: Etkilerini serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyerek yaparlar. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Tamir etkisine sahip antioksidanlar: Etkilerini serbest radikallerin oluşturdukları hasarı onararak gösterirler. Genel olarak bakıldığında antioksidanlar endojen ve eksojen olabilirler.

2.7.1. Endojen antioksidanlar

Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar:

Süperoksit dismutaz (SOD): Süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen bir antioksidan enzimdir.

SOD'nin fizyolojik fonksiyonu hücreleri süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin hücre içi öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD'nin hücre dışı aktivitesi çok düşüktür.

Ökaryotlarda bu enzimin 3 adet izoenzimi vardır. Bunlar taşıdıkları metallere Cu-SOD, Zn-SOD ve Mn-SOD ve lokalizasyonlarına göre ekstraselüler SOD (EC SOD); şeklinde sınıflara ayrılırlar. Süperoksit dismutaz enziminin üç formu (Cu-Zn SOD, Mn SOD ve EC SOD)'da aköz humorda mevcuttur (66).

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px): Yapısında selenyum atomu ihtiva eder. Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir. Fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler.

Eritrositlerde GSH-Px oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. Aköz humorda GSH-Px'ın varlığı radioimmunoassay teknikleri kullanılarak gösterilmiştir (67). Glutasyon peroksidaz mRNA ekspresyonunun asıl gerçekleştiği yerin oküler silier epitelyum olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak aköz humorda GSH-Px bu hücrelerden köken almaktadır (68).

Glutasyon S-Transferazlar (GST): Glutasyon S-transferazlar (GST), başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.

Katalaz (CAT): Katalaz, hidrojen peroksidi (H_2O_2); suya ve oksijene parçalar.

Glutasyon redüktaz: Glutasyon redüktaz, GSH-Px'ın hidroperoksitleri indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüştürerek dolaylı antioksidan etki gösterir.

Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi: Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir. Süperoksidi ($O_2^{\cdot-}$) detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli cereyan eden normal bir reaksiyondur. Bu yolla bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin ($O_2^{\cdot-}$) zararlı etkilerine engel olurlar.

Enzim olmayan endojen antioksidanlar: Enzim olmayan antioksidanlar melatonin, seruloplazmin, transferrin, haptoglobülin, ferritin, bilirubin, glutasyon, sistein, metiyonin, ürik asit, albumin, laktoferrin, mukus, eritrosit ve glukoz olarak sayılabilir.

2.7.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Vitamin antioksidanlar:

Vitamin C (askorbik asit): Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Suda çözünür. Lipit peroksidasyonunu başlatan radikallerin etkilerini yok ederek, lipitleri oksidasyona karşı korur.

Vitamin E (α -tokoferol): Çok güçlü bir antioksidandır. Yağda çözünür. En önemli işlevi membran fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturmaktır. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipit peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu zincir reaksiyonu vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonların da etkilidir. Vitamin E okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce askorbik asit ve glutasyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir.

Vitamin E ve C verilmesinin yaşlı kişilerde ortalama kan lipid peroksit konsantrasyonlarında bir azalma sağladığı saptanmıştır. Glutasyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutasyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken, vitamin E peroksitlerin sentezini engeller.

Vitamin A (β -karoten): Vitamin A'nın ön maddesidir. Yağda çözünür. Serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksyona girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikallerin oluşumunu önleyerek antioksidan görevi gördüğü saptanmıştır.

Selenyum: Glutasyon peroksidaz enziminin aktivitesi için gereklidir.

2.8. Paraoksonaz

Oksidatif strese karşı önemli bir antioksidan olarak görev yapan bu enzim, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilmektedir.

PON'nin en iyi bilinen koruyucu fonksiyonu, organofosfat nörotoksinleri, aromatik karboksilik asit esterlerini ve insektisidleri hidroliz etme yeteneğidir. Toksik organik molekülleri hidroliz etmesi, PON-1'in tanımlanan ilk fizyolojik fonksiyonudur. Önceleri organofosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliği nedeniyle toksikoloji alanında üzerinde çalışılan PON-1, son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır (69).

1946'da Abraham Mazur hayvan dokusunda organofosfat bileşiklerini hidroliz edebilen bir enzimin varlığını ilk kez bildirmiştir (70). Bu enzim 1953 yılında Aldridge W.N. tarafından p-nitrofenil asetat, propiyonat ve bütirat'ı hidroliz eden A-esteraz olarak teşhis edilmiştir (71;72). 1961'de Uriel tarafından insan serumunda yapılan bir çalışmada ilk kez HDL ile PON ilişkisi gösterilmiştir (73). Mackness ve ark., yaptıkları çalışmalar ile, 1985' te PON'un HDL üzerinde bulunduğunu (74), 1988' de, PON'un HDL üzerinde apoA-I'e bağımlı olarak aktivite gösterdiğini (75) ve 1991 yılında da LDL üzerindeki lipidperoksit birikimini azalttığını bulmuşlardır (76). İmmunoaffinite kromatografi çalışmaları insan serum paraoksonazının HDL'nin yapısındaki apolipoprotein AI ve klusterin (apolipoprotein J) ile ilişkili olduğunu ve total HDL'nin

çok küçük bir bölümünü oluşturduğunu göstermiştir (69;77).

Adlandırılması: Biyokimya ve Moleküler Biyolojinin Uluslararası Nomenklatur Komitesi'nin (IUBMB) enzim isimlendirmesinde paraoksanaz iki numaraya (EC 3.1.1.2 ve EC 3.1.8.1.) sahiptir. 1990'lı yıllardan sonra, paraoksonazın arilesterazdan farklı olarak yalnız fenolik esterleri değil, fosforik ve fosfinik asit esterlerini de hidroliz ettiği anlaşılmış ve EC 3.1.8.1 ile tanımlanmıştır.

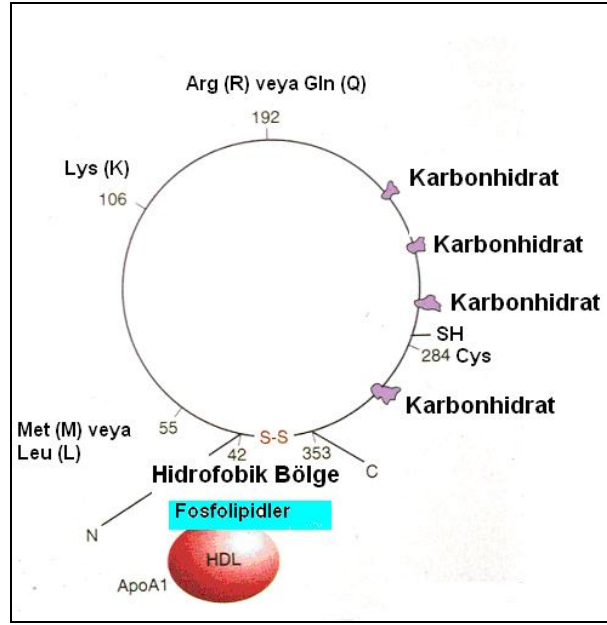
Paraoksonaz enziminin, A grubu Arildialkilfosfataz sınıfı bir ester hidrolaz enzimi olması nedeniyle sistematik adı arildialkilfosfatazdır. A esteraz grubunda yer alan paraoksonaz enzimi, aktivitesinin ölçümünde ilk olarak paraokson substratı kullanıldığı için paraoksonaz adını almıştır (78).

Paraoksonaz enzimi geniş bir substrat özgüllüğü gösterirken, fizyolojik substratı tam olarak belirlenmemiştir. Ancak arilesteraz, organofosfataz ve laktonaz aktivitelerine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Paraoksonaz gen ailesi: İnsanda 7. kromozomun uzun kolunda bulunan paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 şeklinde 3 üyesi vardır. PON1, PON2 ve PON3 genlerinin memeliler arasında; %60 sekans benzerliği vardır. PON1 bu ailenin ilk bulunan ve üstünde en çok çalışma yapılan ferdidir (79).

2.8.1. PON1

PON1 biyokimyasal yapısı: Serum PON1, organofosfatların hidrolizini katalizlediği bilinen kalsiyum bağımlı bir esterazdır. Karaciğer, böbrek, bağırsak gibi dokulara geniş çapta yayılmıştır. PON1 serumda HDL'ye bağlı olarak bulunur ve PON1'in kararlılığı ve bağlanma ilgisindeki etki HDL içerisinde şekil ve büyüklük değişimine neden olur (80)



Şekil 2.1. PON1'in Yapısı

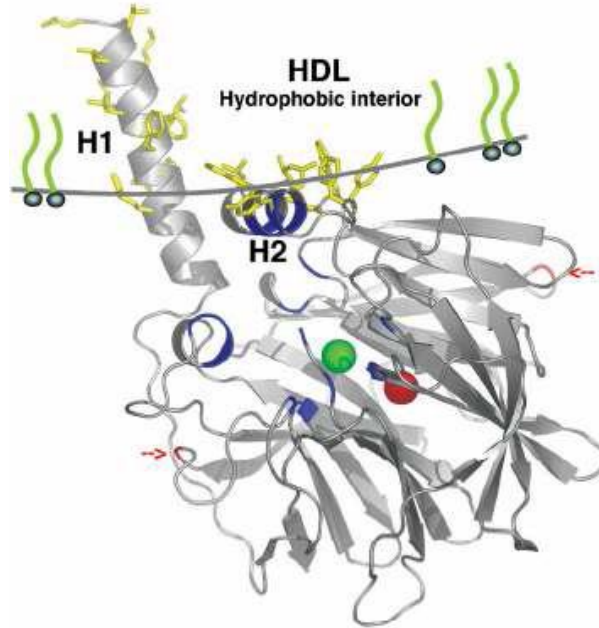
PON1, 43-45 kDa molekül ağırlığına sahip 354 aminoasit içeren bir proteindir (80;81). Her molekül total ağırlığın %15.8'ini oluşturan üç karbonhidrat zinciri içermektedir. İzoelektrik noktası 5.1'dir. Aminoasit bileşimi yüksek lösin içeriği dışında bir özellik göstermez (82). Yapısında yer alan 3 sistein (Cys) rezidüsünden 284'teki serbest 42 ve 352. sistein rezidüleri arasında tek disülfid bağı bulunur. İn situ hibridizasyon çalışmaları ile PON1 geninin 7. kromozomun uzun kolu üzerinde q21-q22' de bulunduğu gösterilmiştir (69;77). PON1'in ince yapısı 4 adet zincirden oluşmuş 6 adet β -kırmalı yapıdan meydana gelmiştir. Enzim 42. ve 353. sistein rezidüleri arasındaki disülfid köprüsü ile sonlanarak üç boyutlu yapısını kazanır (83). N terminal ve C terminal uçlarının bu şekilde kovalent bağlanması β -kırmalı yapıli enzimlerde nadir görülür. Üç boyutlu yapıda; β -kırmalı tabakaların merkezinde 7.4Å aralıklı iki adet Ca^{+2} iyonu bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi yapısal kalsiyum olup yapıdan uzaklaştırılması dönüşümsüz denatürasyona neden olmaktadır (84). Diğer i ise katalitik etkinlikte görev alan kalsiyumdur. Bu kalsiyum iyonu 2.2-2.5Å uzaklıkta 5 adet aminoasit rezidüsü (Asn224, Asn270, Asn168, Asp269 ve Glu 53) ile etkileşim halindedir. Aynı kalsiyum iyonu bir su molekülü ile fosfat iyonunun oksijeni ile etkileşmektedir. PON1 aktif bölgede diğer β -kırmalı yapılardan farklı olarak hidrofobik

heliks (H2 ve H3) yapıları vardır. Bunlar aynı zamanda sonlanma noktalarıdır. Bu yapı aktif bölgenin korunması ve enzimin HDL'ye bağlanması gibi kritik rollere sahiptir.

PON1 üzerinde 4 tane potansiyel N-glikozillenme bölgesi vardır. PON1 memeli hücrelerinde ekspre edildikten sonra bu noktalardan glikozillenir (85). PON ailesinin hidrolitik aktivitesi için glikolizasyon önemli değildir (86;87). Ancak enzimin yapısında bulunan bu karbonhidrat molekülleri spesifik olmayan hücre membranlarına bağlanmada veya kararlılığı ve çözünürlüğü arttırmada etkili olabilir (88;89).

PON1'in HDL'ye bağlanması: PON1 ve PON3 karaciğerde sentezlendikten sonra kana salınır, orada spesifik olarak HDL'ye bağlanır. HDL periferel hücrelerden kolesterolün taşınmasını sağlayan ve kendisine bağlı platelet aktive eden faktör, LCAT, PON1 ve PON3 gibi enzimler ile LDL'nin oksidasyonunu önler (90;91).

HDL yaklaşık 10nm çapında kompleks bir yapıdır. Bileşiminde öncelikle membran bileşenleri (fosfolipidler, kolesterol ve kolesterol esterleri), apolipoprotein A1 ve aromatik heliksler yer alır (92). HDL'ye bağlı olan enzimlerden ilk kez üç boyutlu yapısı aydınlatılan PON1 enzimidir. PON1 hidrofobik N terminal ucuyla sonlanır, H2 ve H1 hidrofobik heliksler bir araya gelerek potansiyel membrana bağlanma yüzeyi oluştururlar (Şekil 2.2.). Heliks yapılar lizin, triptofan ve tirozin yan zincirleri ile oluşturdukları yapı karakteristiği ile HDL ara yüzeyine girebilmektedir (89).



Şekil 2.2. PON1'in HDL'ye bağlanması (93)

PON1 sentezlenmesi ve salgılanması: PON1 sentezi karaciğerde gerçekleştiğinden dolayı, serumdaki PON1 seviyesini belirleyen başlıca faktör karaciğer fonksiyonlarıdır. Serumdaki PON seviyesi ve aktivitesi bireyler arasında çok değişkendir (94). Bunun nedeni enzim aktivitesini ve peptit konsantrasyonunu etkileyen PON1 geninin kodlanma ve promoter bölgesinde çok sayıda polimorfizm göstermesidir. PON1'in serumdaki aktivitesini ve konsantrasyonunu belirleyen promoter aktivitesi üzerinde en önemli polimorfizm -107 pozisyonundadır (95;96). PON1 sentezinde önemli olan bir diğer faktör karaciğer hücrelerindeki kolesterol dengesidir. Ayrıca PON1'in karaciğerden sentezini herhangi bir hastalık durumu da etkilemektedir (97-99). PON1 karaciğerden sentezlendikten sonra serumda HDL'ye veya karaciğerde mikrozomlara bağlanabilmesi için sentez sırasında N-terminal hidrofobik bölgesi olması gerekmektedir. N-terminal hidrofobik bölgesi bağlamada belirleyici olduğu kadar salgılanma prosedüründe de önemli role sahiptir (100;101). Yapılan çalışmalarda hamster ovaryum hücresi ve insan hepatosit hücresine transfekte edilen PON1 sentezlendikten sonra hücre zarının dış yüzeyine bağlandığı gösterilmiştir (102). PON1 karaciğerde sentezlendikten sonra da önce mikrozomlara bağlı, daha sonra hücrenin dış yüzeyine bağlandığı düşünülmektedir (103;104). Hücrenin zarının dış yüzeyinden salınması ve HDL'ye bağlanması tesadüf değildir, bu bağlanmada fosfolipit kompleksi önemli rol oynamaktadır ve LDL nin PON1'in hücreden salınması ve kendisine bağlanması için fosfolipit içeriği yeterli değildir (89;102;103).

2.8.2. PON2

PON2, moleküler ağırlığı yaklaşık 44 kDa olan hücre içinde elde edilen büyük bir proteindir (105;106). Paraoksonaz gen ailesinin üyesi olan PON2 hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. PON2, hemen hemen her insan dokusundan elde edilebilir, yüksek oranda ekspresyon karaciğer, böbrek, plasenta, testis ve kalpte yapılır (107).

PON2, kromozom 7q21.3-22.1 üzerinde bulunan paraoksonaz gen ailesinin ikinci üyesidir (107). PON1'e benzerlik gösteren PON2 patofizyolojik şartların sayısına bağlı olarak iki polimorfizme sahiptir. Populasyon çalışmalarında PON2 148. pozisyonda alanin veya glisin (A/G148) ve 311. pozisyonda sistein veya serin (C/S311)

aminoasitlerinin yer değişimine bağlı olarak polimorfizm göstermektedir. A/G148 polimorfizmi total veya LDL kolestrol seviyeleri, plazmadaki glikoz seviyeleri ve başlangıç ağırlığının değişimleri ile ilişki halindedir (108;109). C/S311 polimorfizmi ise kalp damar hastalıkları, tip 2 diyabet, alzheimer ve menopoz sonrası kemik ağırlığının düşmesi ile ilişkilidir (110-112).

PON2 genetik polimorfizmi ile farklı plazma lipoproteinleri arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir. İlk olarak PON2 gen polimorfizmleri, lipoprotein metabolizmaları üzerinde direkt bazı fonksiyonel etkilere sahiptir. Örneğin PON2 polimorfizmi lipoproteinlerin sentez ve salgılanması üzerinde fonksiyonel etki gösterir. İkinci olarak PON2 polimorfizmleri PON aktivitesini etkileyebilir. Lipit metabolizma yolundaki bazı önemli enzimleri (lipoprotein lipaz, hepatik lipaz gibi) aktif yada inaktif yapabilir. Bunun sonucunda lipoprotein kompozisyonu ve lipit seviyeleri değişikliğe uğrayabilir.

PON2'nin fizyolojik ve patofizyolojik fonksiyonelleri az bilinmesine rağmen, hücresel düzeyde antioksidan etkisi olduğu bilinmektedir. PON2'nin transfekte edildiği hücrelerde oksitlenmiş lipitler ya da hidrojen peroksidin neden olduğu hücre içi oksidatif stres seviyesinin belirgin şekilde düştüğünü gösterir. Rosenblat ve ark.'nın yaptığı çalışmada, saflaştırılmış rekombinant PON2'nin, LDL oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir (105;113). Ayrıca PON2, minimal oksitlenmiş LDL'nin oksidasyonunu da geciktirebilir (MM-LDL). Sonuç olarak; PON2, hücreleri oksidatif stresten korur ve hücresel antioksidan olarak görev yapar. Bununla birlikte PON2'nin mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (80).

2.8.3. PON3

PON3, moleküler ağırlığı yaklaşık 40 kDa olan bir proteindir. Paraoksonaz gen kümesi içerisinde insanda kromozom 7 üzerinde PON1 ve PON2'nin arasında bulunur. PON1 ve PON2'ye karşılık PON3, son zamanlarda tanımlanmış karakterizasyonu en az bilinen proteindir. PON1' e benzerlik gösteren PON3' te karaciğerde sentezlendikten sonra kana salınır, orada spesifik olarak HDL'ye bağlanır. HDL periferel hücrelerden kolesterolün taşınmasını sağlayan ve kendisine bağlı platelet aktive eden faktör, PON1 ve PON3 gibi enzimler ile LDL'nin oksidasyonunu önler (114).

PON1 ve PON3 aterosklerozun önlenmesinde farklı rollere sahiptir. PON3 arterosklerozu karşı bazal koruma fonksiyonu sağlarken, PON1'in koruyucu etkisi daha farklıdır. PON1 ekspresyonu, aterogenezin uyarılması lehine baskılanır (115).

PON3, PON1 ve PON2'ye benzer olarak antioksidan özelliklere sahiptir. tavşan serumundan saflaştırılan PON3'ün in vitro ortamda LDL oksidasyonunu arttıran bakırı inhibe ettiği gösterilmiştir (116). PON3, PON1 gibi paraokson ve fenilasetata benzer sentetik substratları hidroliz edemez. PON3, PON1'e göre çok az arilesteraz aktivitesine sahiptir ve paraoksonaz aktivitesi göstermez. Fakat laktonazları çok hızlı hidroliz eder (80;93;114).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı na 2009 Haziran-2011 Mayıs tarihleri arasında başvuran ve kliniğimiz de PAAG tanısı konulan 53 hasta ile 52 sağlıklı bireylerden oluşan bir kontrol grubundan elde edilen veriler karşılaştırıldı.

Her iki gruptaki bireylere çalışmanın şekli anlatılarak, çalışmaya gönüllü olarak katıldıklarına dair imzalı onam formu alındı.

- 18 yaşının altında olan
- Koroner kalp hastalığı olan
- Serabrovasküler olay hikayesi olan
- Neoplastik hastalığı olan
- Böbrek veya karaciğer yetmezliği bulunan
- Vitamin kullanan
- Sigara içme alışkanlığı olan
- Retinal vasküler hastalığı ve anterior optik nöropatisi olan
- DM hastası olan

hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya katılan hastaların en iyi düzeltilmiş vizyonu, tansiyon oküleri, biyomikroskopik ön segment muayenesi, iridokorneal açının gonyoskopik muayenesi, korneal kalınlığın pakimetrik ölçümü, fundus muayenesi, cup/disk oranı, görme alanı muayenesi yapıldı.

PAAG li grup için

- GİB nin aplanasyon tonometrisi ile yapılan ölçümde en az iki ayrı zamanda 22 mm Hg ve üzeri olması.

- Standart otomatik perimetride glokomatöz hasarın mevcudiyeti (Arkuat skotom, nazal step, paranazal skotom, konsantrik daralma, santral ve temporal ada gibi.)

- Optik sinir başının +90 D lens ile biyomikroskopik incelenmesinde glokoma ait değişikliklerin mevcudiyeti

- * Optik disk çukurluğunda büyüme ve derinleşme
 - * Vertikal çukur/disk oranında büyüme
 - * Lamina kribroza porlarının belirginleşmesi, porların çizgisel hal alması
 - * Nöroretinal kenar incelmeleri
 - * Nöroretinal kenarda soluklaşma
 - * Damarlarda nazale kayma
 - * Süngü bulgusu
 - * Sirkumferansiyel damarların açığa çıkması
 - * Damarlarda daralma
 - * Disk hemorajileri
 - * Peripapiller atrofi vs.
- NFA analizinde sinir lifi kaybı mevcudiyeti olması
 - Gonyoskopide açının açık olması
 - Oküler travma hikayesi olmaması

Normal olgular için (Kontrol grubu)

- Glokom aile hikayesi olmaması
- Oftalmolojik muayenenin normal olması
- GİB in 21 mmHg nin altında olması
- Görme alanında herhangi bir anormalliğin bulunmaması
- NFA analizinde sinir lifi kaybı mevcudiyeti olmaması
- Optik disk başının +90 D lens ile biyomikroskopik incelenmesinin normal olması
- Gonyoskopide açının açık olması
- Oküler travma hikayesi olmaması

Ayrıca her iki grup içinde pakimetri ile belirlenen santral kornea kalınlığı; GİB ölçüm sonuçlarını etkileyeceği için dikkate alınmıştır.

Hastaların serum örneklerinde paraoksonaz enzim aktivitesi, MDA seviyeleri ve oksidatif DNA hasarı seviyesinin bir göstergesi olarak 8-OHdG/dG seviyeleri çalışıldı. Gruplarda tespit edilen parametre değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

SPSS 18:0 programında yapıldı. İki grup arasındaki ortalamaların farklarının değerlendirilmesinde independent sample T test kullanıldı.

3.1. DNA İzolasyonu ve Hidrolizasyonu

Örneklerde DNA oksidasyonunu tespit edebilmek için öncelikle lökositlerden DNA izolasyon işlemini gerçekleştirdik. DNA, örneklerden Miller ve ark. tarif ettiği metotta birkaç modifikasyon yapılarak aşağıda tarif edildiği şekilde izole edildi (117).

2 mL EDTA'lı (etilendiamin tetraasetikasit) tam kan üzerine 3 mL eritrosit liziz tamponu eklenip, alt üst edilerek karışması sağlandı. 5 dakika +4 °C de bekletildi. Karışım 3500 rpm de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüjden elde edilen süpernatant atılıp tüpün altın da kalan beyaz pellet üzerine 0.1 mL %10 sodyumdodesil sülfat, 40 µL proteinkinaz K ve 1.9 mL WBC liziz tamponu eklenerek 65 °C'de 1 saat bekletildi. İnkübasyon işleminden sonra tüpe 0.8 mL 9.5 M'lık amonyum asetat ilave edildi. Tüp iyice karıştırıldıktan sonra 3500 rpm de 25 dk santrifüj edilip, üstte kalan süpernatant kısımdan 2 mL dikkatlice alınarak steril bir tüpe aktarıldı ve üzerine 4 mL %99'luk etil alkol eklendikten sonra tüpün kapağı hemen kapatılıp, alt üst edilerek DNA'nın yoğunlaşması sağlandı. Yoğunlaşan DNA bir pipet ucu yardımıyla alınarak Kaur ve ark. uyguladığı metodla hidroliz edildi (118). Hidroliz işlemi, izole edilen DNA üzerine 0.5 mL formik asit (%60) konulup 1 saat 150 °C'de inkübe edilerek yapıldı

HPLC ile 8-OHdG ve dG analizi: Analiz HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) yöntemi esası ile çalışan Agilent 110 modüler sisteminde yapıldı (Donald ve ark.) (119). Sistemde agilent marka izokratik pompa, otosampler, kolon fırını, RP-C18 kolon (250 mm × 4.6 mm × 4.0 µm, Phenomenex, CA) Elektrokimyasal dedektör (ECD) ve bu dedektöre paralel bağlanan UV dedektör bulunmaktaydı. Hidroliz basamağında elde edilen 1 mL hidroliz çözeltisi analiz için kullanıldı. Mobil faz olarak 0.05 M fosfat tampon ile stabil hale getirilmiş asetonitril su (93:3, v/v) karışımı kullanıldı. Sonuçlar 8-OHdG/10⁶dG cinsinden verildi (Tarng ve ark.) (120)

Kromatografik koşullar

Basınç : 115 ± 10

Enjeksiyon hacmi : 100 µL

Kolon fırını	: 32 °C
ECD	: 600 mV
UV	: 245 nm

3.2. MDA Analizi

Serum MDA analizi yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile Khoschsorur ve ark. tanımladığı metoda göre yapıldı. HPLC sisteminde dedektör olarak floresan dedektör kullanıldı. 50 µL serum örneğine 0.44 M H₃PO₄ ve 42 mM tiyobarbiturik asit (TBA) konularak 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hemen soğutuldu ve karışımla aynı hecimde alkalın metilalkol eklenerek hafifçe karıştırıldı. Karışım 3000 g de 3 dk santrifüj edildi. Üstte kalan tabaka pipet yardımıyla ayrıldı. Süpernatant kısmından 100 µL alınarak HPLC-FLD sistemine verildi.

Kromotografik koşullar

Basınç	: 75 ± 10
FLD dedektör	: Eksitasyon 527 nm, emissiyon 551 nm
Akış hızı	: 0.8 mL/dk
Mobil faz	: Metanol/50 mM KH ₂ PO ₄ (40:60, v/v)
Kolon	: RP-C18 (5 µm, 4.6x160 mm, Eclipse VDB-C18 agent)
Enjeksiyon hacmi	: 20 µL

3.3. PON-1 Aktivitelerinin Tayini

Paraoksonaz aktivitesinin ölçümü: Paraoksonaz aktivitesi için substrat olarak paraokson kullanıldı. Paraokson hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün 37°C’de, 412 nm’de spektrofotometrik olarak birim zamandaki absorbans değişiminin tesbit edilmesi ölçümün esasını oluşturmaktadır. Ölçümde numune olarak serum kullanıldı (121).

Kullanılan çözeltiler:

1) 100 mM’lık Tris/HCl tamponu (pH=8): 3.784 g tris + 35 mg CaCl₂ + 14.61 g NaCl tartılır, yaklaşık 200 ml saf suda çözünür. HCl ile çözeltinin pH’sı 8’e ayarlanır. Son hacim saf suyla 250 mL’ye tamamlanır.

2) Paraokson çözeltisi: 16.2 µL paraokson 610 µL asetonda çözünür, üzerine 11.874 ml tris/HCl tamponu eklenir ve iyice karıştırılır. Renkli şişede taze olarak hazırlanır.

Paraoksonaz aktivite ölçümü:

Tablo 3.1. Paraoksonaz Aktivite Ölçüm Prosedürü

	Numune tüpü	Kör tüpü
Tris/HCl tamponu (100 mM, pH 8.0)	190 µL	190 µL
Numune	10 µL	-
H₂O	-	10 µL
Paraokson	50 µL	50µL

Tablo 'daki gibi pipetlemeler yapıldıktan sonra mikropate okuyucuda 37°C'de 412 nm'de 5 dakika boyunca absorbanslar okundu. Okuma bittikten sonra hidroliz ürünü p-nitrofenolden dolayı meydana gelen dakikadaki absorbans değişimi ($\Delta A/dk$) kaydedildi. Paraoksonaz aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı. Dakikada bir nmol p-nitrofenol oluşturan enzim miktarı bir ünite olarak ifade edildi (121;122).

Paraoksonaz Aktivitesinin Hesaplanması:

$$U/mL (nmol/dk/mL) = \frac{\Delta A/dk \times 10^9}{\epsilon} \times SF$$

$\Delta A/dk$: Bir dakikadaki absorbans değişimi

ϵ : p-nitrofenolün molar absorbtivite katsayısı, mevcut deney şartları için 17600.

SF : Seyreltme faktörü

10^9 : nmole çevirme faktörü

Formülüne göre hesaplandı.

4. BULGULAR

53 PAAG lu hasta ve 52 normal olgu(kontrol grubu) çalışmaya alınmıştır. PAAG lu hastaların yaş ortalaması 58.81 ± 12.23 olup bu grubun 22' si kadın %41.50 31' i erkek %58.50 di. Kontrol grubunun ise yaş ortalaması 61.53 ± 10.95 olup 28' i erkek %53.85 24' ü kadın %46.15 dı.

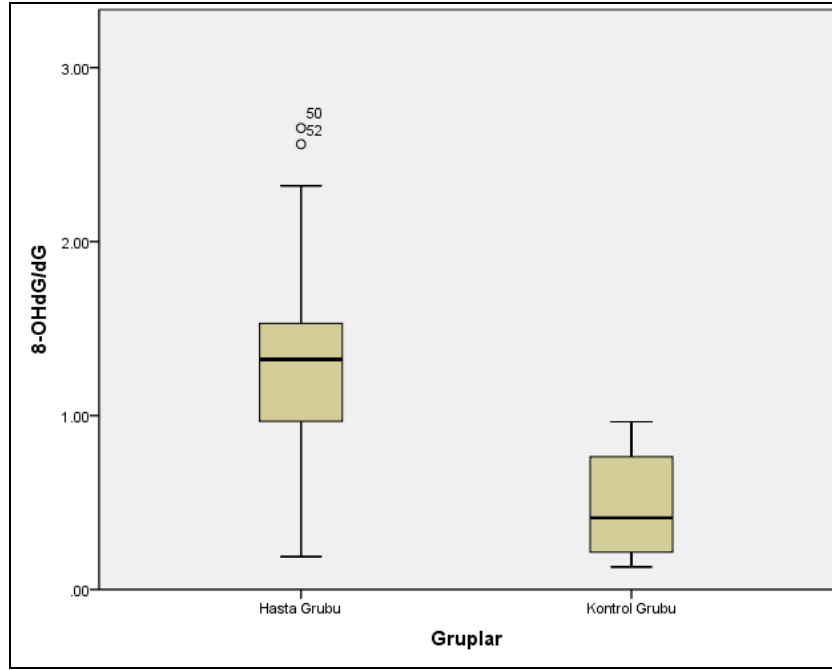
Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Grubunda PON, MDA, 8-OHdG/dG Değerleri ve Yaş Dağılımı

	Hasta grubu N=53	Kontrol grubu N=52
8-OHdG/dG	$1.32 \pm 0.53^*$	0.47 ± 0.27
MDA(μ mol)	$10.46 \pm 8.4^*$	4.70 ± 1.79
PON (U/mL)	$121 \pm 39.55^*$	161.62 ± 60.22
Yaş	58.81 ± 12.23	61.53 ± 10.95

*: $p < 0.01$ değerinde istatistiksel olarak anlamlıdır.

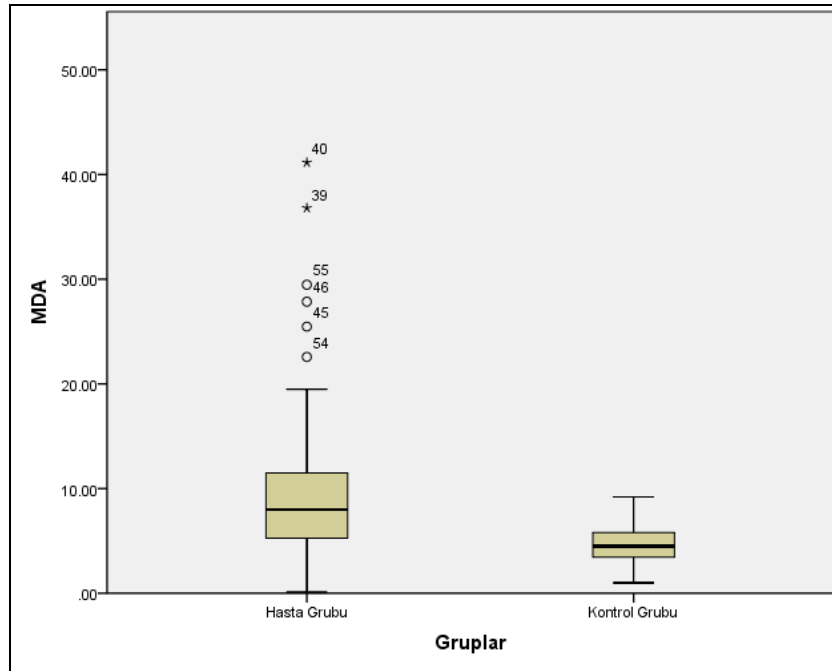
Çalışmamızda yer alan hasta grubu (31 erkek 22 kadın) ve kontrol grubunun (28 erkek 24 kadın) cinsiyetlere göre istatistiksel analizi yapıldığında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmedi. Gruplar arasında hem yaş hem de cinsiyet açısından istatistiksel olarak bir fark olmaması çalışmamızın homojenliği açısından önemliydi.

Hasta ve kontrol grubunda DNA oksidasyonunun istatistiksel olarak değerlendirilmesinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edildi (Şekil 4.1.).



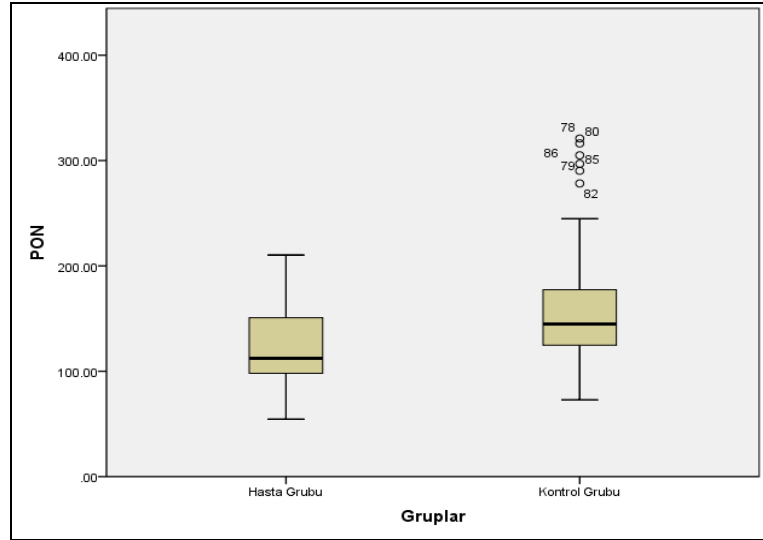
Şekil 4.1. Gruplarda 8-OHdG/dG Dağılımı

Aynı şekilde lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi için tespit ettiğimiz MDA sonuçlarında iki grup arasında istatistiksel olarak fark tespit edildi (Şekil 4..2).



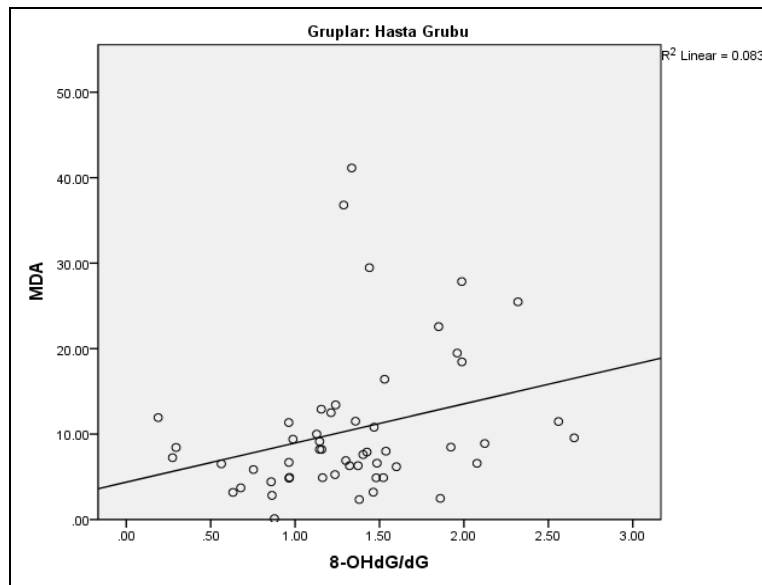
Şekil 4.2. Gruplar Arasında MDA Dağılımı

PON değerlerinde de iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (Şekil 4.3.).



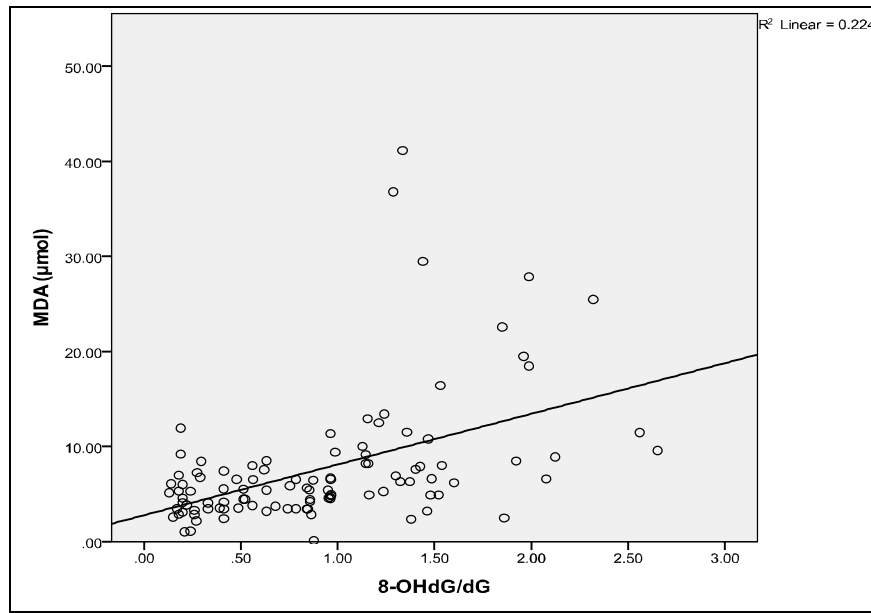
Şekil 4.3. Gruplar Arasında PON Aktivitesi Dağılımı

Gruplar içinde parametrelerin kendi aralarında korelasyon analizi yapıldığında, hasta grubunda MDA seviyeleri ve 8OHdG/dG oranı arasında zayıf ($r=0.288$) fakat istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$) korelasyon tespit edildi. (Şekil 4.4.)

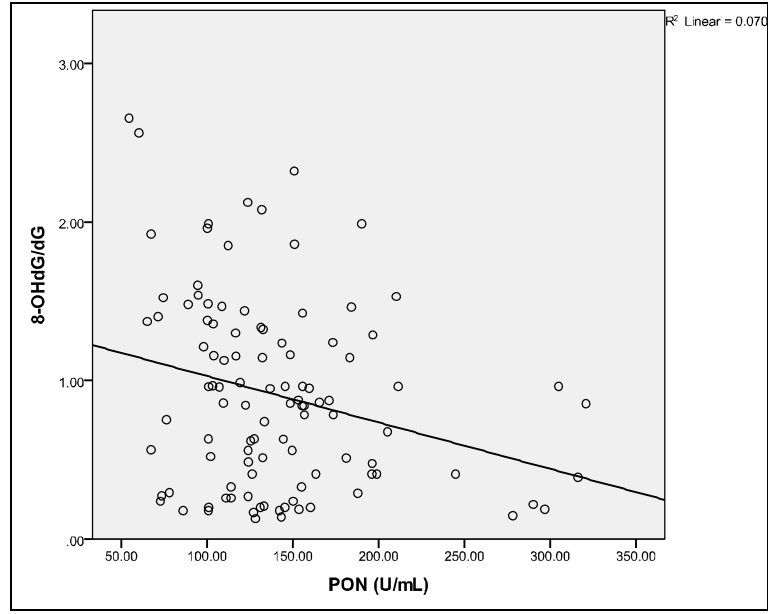


Şekil 4.4. Hasta Grubunda MDA ve DNA Oksidasyonu Arasındaki Korelasyon

Hasta ve kontrol grubu toplu halde değerlendirme altına alınarak yapılan korelasyon analizinde oksidatif hasarın tespiti için ölçümünü yaptığımız parametreler ve PON aktivitesinin katılımcıların yaşı ile her hangi bir korelasyonları olmadığı tespit edildi. Bunun nedeni hasta ve kontrol grubumuzun yaşlarının artan ya da azalan şekilde değil homojen bir dağılım göstermesidir. Bununla birlikte 8-OHdG/dG'nin MDA ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon ($r= 0.473$, $p<0.01$) PON ile anlamlı negatif korelasyon ($r= -0.283$, $p<0.01$) gösterdiğini tespit ettik (Şekil 4.5., Şekil4.6.)



Şekil 4.5. MDA ve 8-OHdG/dG Arasındaki Pozitif Korelasyon



Şekil 4.6. 8-OGdG/dG ve PON Arasındaki Negatif Korelasyon

Tespitini yaptığımız parametrelerin cinsiyetler arasındaki dağılımının istatistiksel analizi yapıldığında her hangi bir anlamlı fark olmadığını gördük (Tablo: 4.2.)

Tablo 4.2. PON, MDA, 8-OHdG/dG Değerleri ve Cinsiyetler Arasındaki Dağılımının İstatistiksel Analizi

Hasta Grubu	Erkek N=31	Kadın N=22
MDA (µmol)	9.54±6.96	11.75±10.29
8-OHdG/dG	1.29±0.55	1.37±0.51
PON (U/mL)	125.96±45.58	114.05±28.61
Kontrol Grubu	Erkek N=28	Kadın N=24
MDA(µmol)	4.84±1.85	4.54±1.73
8-OHdG/dG	0.48±0.28	0.46±0.27
PON(U/mL)	160.15±67.27	163.34±52.19

5.TARTIŞMA

Glokom genellikle GİB artışıyla birlikte merkezi görmede azalma periferik görmede daralma, fundusta c/d oranında artma damarlarda nazale itilme ve kroşelenme ile birlikte seyreden tedavi edilmezse körlükle sonuçlanan yavaş seyirli iskemik bir optik nöropati olarak tanımlanmaktadır. Retina ganglion hücrelerinin dejenerasyonu ile karakteristik görme alanı defektleri oluşmaktadır.

Glokomun etyopatogenezine dair pek çok faktör araştırılmakta ve son zamanlarda özellikle iskemik dokuda oluşan süperoksit radikalleri ve bunlara bağlı gelişen membran ve hücre hasarlarının da glokomatöz hasarın gelişiminde önemli role sahip olduğunu düşündürecek bulgular elde edilmektedir.

Oksidatif stres radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik sonucu oluşur. Kronik oksidatif stres glokomun patogenezi ve özellikle de yaşa bağlı klinik başlangıcı ile ilişkilidir. PAAG prevalansı yaşla birlikte artmaktadır. Yapılan çalışmaların tümünde yaşlı kişilerdeki glokom prevalansın da genç popülasyona göre anlamlı bir artış vardır, 70' li yaşlardaki oran 40' lı yaşlardakine göre 3-8 kat daha fazladır.

Serbest oksijen radikalleri oksidatif deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına yol açar DNA-protein çapraz bağlantılarına, zincir kırıklarına ve baz modifikasyonlarına neden olabilir. Oksidatif DNA hasarı bu hasar için bir indikatör olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OH-dG) seviyelerinin ölçümü ile tayin edilmektedir (37).

Oksidatif stres sırasında üretilen serbest oksijen radikalleri lipitlerin (hem hücresel membran lipitleri hem de dolaşımda bulunan lipoprotein molekülleri) peroksidasyonunu indükler ve oldukça reaktif aldehitleri meydana getirir (30). Oluşan son ürünler malondialdehit (MDA) ya da 4-hidroksinanenal (4-HNE) oksidatif streste patolojik moleküler süreçte iyi bilinen markırlardır (31). Plazma MDA düzeyinin belirlenebilmesi dokulardaki lipid peroksidasyonunun ve dolayısıyla oksidatif stresin hassas göstergelerinden birisidir (123;124).

Önceleri organofosfat bileşiklerini hidroliz etme özelliği nedeniyle toksikoloji alanında üzerinde çalışılan PON-1, son yıllarda antioksidan etkileri nedeniyle güncellik kazanmıştır. Oksidatif strese karşı önemli bir antioksidan olarak görev yapan bu enzim,

kanser ve kardiyovasküler hastalıklar başta olmak üzere birçok hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilmektedir.

Çalışmamızda Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda takipli veya yeni tanı alan primer açık açılı glokomlu (PAAG) hastalarda paraoksonaz enzim aktivitesi, MDA seviyeleri ve oksidatif DNA hasarı seviyelerinin araştırılarak normal bireylerle glokomlu hastalar arasındaki bu parametreler arasında fark olup olmadığının tespit edilmesi ve etiopatogenez de bir rolü olup olmayacağının araştırılması amaçlandı.

53 PAAG lu hasta ve 52 normal olgu (kontrol grubu) çalışmaya alınmıştır. PAAG lu hastaların yaş ortalaması 58.81 ± 12.23 olup bu grubun 22' si kadın %41.50 31' i erkek %58.50 di. Kontrol grubunun ise yaş ortalaması 61.53 ± 10.95 olup 28' i erkek %53.85 24' ü kadın %46.15 di.

Çalışmamızda yer alan hasta grubu (31 erkek 22 kadın) ve kontrol grubunun (28 erkek 24 kadın) cinsiyetlere göre istatistiksel analizi yapıldığında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmedi. Gruplar arasında hem yaş hem de cinsiyet açısından istatistiksel olarak bir fark olmaması çalışmamızın homojenliği açısından önemliydi.

Lipit peroksidasyonunun değerlendirilmesi için tespit ettiğimiz MDA sonuçlarında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. MDA değerleri hasta grubunda yaklaşık 2 kat daha yüksek bulundu.

Faschinger C ve ark.(123) ise yaptıkları çalışma da serum ve aköz hüümör MDA değerlerini glokomlu ve glokomsuz gözlerde farklı bulmamıştır. Ancak burada kontrol grubu olarak alınan gözler kataraktlı olup, kataraktın gelişiminde oksidatif stresin rol oynayabileceği bilinmektedir. Nitekim Ocakoğlu Ö. ve ark.(125) yaptıkları çalışma da bizim çalışmamızla paralel olarak MDA düzeylerini PAAG'li hastalarda sağlıklı kontrollere kıyasla 2 kat daha fazla bulmuştur. Yıldırım ve ark. 'da (124) benzer şekilde plazma MDA seviyesini PAAG'li hastalarda kontrollerden daha yüksek tespit etmiştir. Bu erken sonuçlar PAAG etyopatogenezinde MDA seviyesindeki muhtemel değişikliklerin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Koçer ve arkadaşları iskemi reperfüzyon hasarını önlemede L-carnitinin etkilerini araştırdıkları çalışmalarında MDA seviyeleri ile iç retinal kalınlık arasında anlamlı pozitif korelasyon tespit etmişlerdir. Bu çalışma da nöronal hasarda süperoksit radikallerinin rolünü göstermektedir (126).

Çalışmamızda PON değerlerinde de iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. PON değerleri hasta grubunda kontrol grubuna oranla daha düşük seviyede idi. Bu da glokomda yetersiz antioksidan seviyenin bir göstergesidir. Serbest oksijen radikalleri artışı yanı sıra antioksidan potansiyelin azalması trabekülüm hücreleri (127), retinadaki vasküler endotel ve retina ganglion hücrelerinde hasara neden olarak GİB'i arttırabilir ve bu durum optik disk hasarına ve görme alanı kaybına kadar gidecek bir süreci başlatabilir.

Hasta ve kontrol grubunda DNA oksidasyonunun göstergesi olan 8-OHdG/dG dağılımının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde iki grup arasında anlamlı fark tespit edildi. Hasta grubunda 8-OHdG/dG değerleri kontrol grubunun değerlerinin 2 katından daha yüksekti. İzotti ve ark. da glokom hastalarında yaptıkları çalışmada trabekülüm bölgesinde ölçülen 8 OH-dG seviyelerini kontrol gözlerden daha yüksek bulmuştur (128). Ocakoğlu Ö. ve ark. ise kan plazmasında PAAG'li hastalarda 8-OH-dG seviyelerini sağlıklı gözlerden daha yüksek bulmuştur (125). İstatistiksel analize tabi tutulmamakla birlikte daha ciddi görme alanı defektleri olan PAAG'li hastalarda 8 OH dG seviyelerinde gözlediğimiz yüksekliğin glokoma bağlı alan kaybının ciddiyeti ile uyumlu olduğunu düşünmekteyiz.

Bizim çalışmamızda da MDA seviyelerinin glokomlu hastalarda yüksek olması glokomatöz hasarla ilişkilendirilebilir. Aynı şekilde pon seviyelerinin glokomlu hastalarda düşük bulunması oksidatif strese karşı savunma mekanizmalarının yetersizliğinin bir göstergesidir.

Literatürde PON la ilgili glokom da yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Ancak MDA seviyelerinin literatürle paralellik gösterip yüksek olması ve PON seviyelerinin düşük bulunması artmış oksidatif strese karşı yetersiz antioksidan aktiviteyi gösteren yeni bir parametre olabileceğini düşündürmektedir.

Literatürde PON ve glokomla ilişkili yayın olmamakla birlikte AMD ve katarakt gibi dejeneratif oftalmoljik hastalıklarda PON aktivitesi çalışılmıştır. Ateş O. ve ark. nın yaptığı çalışmada PON seviyesi yaşa bağlı maküla dejenerasyonu bulunan hastalarda kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur (129). Bu sonuçta AMD etyolojisinde de suçlanan bozulmuş oksidan/antioksidan dengesinin glokom içinde geçerli olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bütün bu deneysel veri dökümanlarına rağmen glokomda

serbest radikal üretiminin primer mi yoksa sekonder mi geliştiği halen anlaşılamamıştır. Glokomun ileri yaşlardaki prevalans artışı kronik oksidatif sürecin kümülatif etkisiyle trabeküler ağ hücresel komponentlerini ve ekstraselüler matriks yapısının regülasyonunu etkileyebilir. Aköz humor akışında değişmelere yol açabilir. Gözün akış sisteminde meydana gelen bu bozukluk GİB artışına yol açarak glokomun klinik başlangıcına sebep olabilir.

Hasta ve kontrol grubu toplu halde değerlendirme altına alınarak yapılan korelasyon analizinde oksidatif hasarın tespiti için ölçümünü yaptığımız parametreler ve PON aktivitesinin katılımcıların yaşı ile her hangi bir korelasyonları olmadığı tespit edildi. Bunun nedeni hasta ve kontrol grubumuzun yaşlarının artan ya da azalan şekilde değil homojen bir dağılım göstermesidir.

Bununla birlikte 8-OHdG/dG'nin MDA ile istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon ($r = 0.473$, $p < 0.01$) PON ile anlamlı negatif korelasyon ($r = -0.283$, $p < 0.01$) gösterdiğini tespit ettik. Kısaca glokomlu hastalarda antioksidan sistem aktivitesi azalırken, oksidatif stres sonucu olan lipid peroksidasyon yıkım ürünleri (MDA) ve DNA hasarı indikatörü olan 8-OHdG/dG bir biri ile bağlantılı olarak artmaktadır.

Sonuç olarak glokomlu hastalarda lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA seviyesinin ve DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG/dG ın yükseldiğini organizmada bir antioksidan olan PON seviyesinin düştüğünü tespit ettik. Bu bulgular etyopatogeneizde artmış lipid peroksidasyonunun, azalmış antioksidan seviyelerinin ve muhtemelen bunlara bağlı gelişen DNA hasarının rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Daha geniş serilerde yapılacak kontrollü çalışmalarla glokomun tanısında ve glokomlu hastalar da ki nöronal hasarın takibinde bir parametre olarak kullanılıp kullanılamayacağını araştırılmasının yararlı olacağını düşünüyoruz. Yakın gelecekte glokomun önlenmesi ve tedavisinde oksidatif strese yol açan nedenlerin ortadan kaldırılmasının ve nöroprotektif ajanların kullanılmasının tedavi hedeflerinden biri olabileceği söylenebilir.

6. SONUÇLAR

Takip ve tedavisindeki tüm ilerlemelere rağmen glokom özellikle en sık rastlanan türü olan ve prevalansı yaşla birlikte artan PAAG, ortalama hayat beklentisinin ve dolayısıyla yaşlı nüfusun giderek arttığı günümüz dünyasında önemli bir halk sağlığı problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Etiyopatogenezi tam olarak aydınlatılamadığından bu konuda yapılacak olan çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kliniğimizde yaptığımız çalışmada PAAG'lu 53 hastanın ve sağlıklı 52 olgunun alınan kan plazmasında MDA ve PON ölçümleri ve 8 OH-dG değerleri tayin edildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

Glokomlu hastalarda kontrol grubuna göre:

1. Llipit peroksidasyonunun göstergesi olan Malondialdehit seviyesi yükselmektedir.
2. DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG/dG oranı yükselmektedir.
3. Organizmada bir antioksidan olan Paraoksonaz seviyesi düşmektedir.
4. Glokomlu hastalarda oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonu artmakta, antioksidan seviye düşmekte ve DNA hasarı artmaktadır.
5. Gelecekte glokomun önlenmesi ve tedavisinde oksidatif strese yol açan nedenlerin ortadan kaldırılması yanında; nöronal hasarların durdurulmasında nöroprotektif ajanların da önemli bir rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- (1) Allingham RR, Damji K, Freedman S. Clinical epidemiology of glaucoma. Shields' Textbook of Glaucoma. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005. p. 170-90.
- (2) Blodi FC. Historical introduction: Development of our concept of glaucoma. In: Denny M, Taylor F, editors. Basic and Clinical Science Course. San Francisco: American Academy of Ophthalmology; 2000. p. 5-6.
- (3) Watson PG, Jakeman C, Ozturk M, Barnett MF, Barnett F, Khaw KT. The complications of trabeculectomy (a 20-year follow-up). Eye (Lond) 1990;4 (Pt 3):425-38.
- (4) Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. Br J Ophthalmol 2006 Mar;90(3):262-7.
- (5) Coffey M, Reidy A, Wormald R, Xian WX, Wright L, Courtney P. Prevalence of glaucoma in the west of Ireland. Br J Ophthalmol 1993 Jan;77(1):17-21.
- (6) Friedman DS, Wolfs RC, O'Colmain BJ, Klein BE, Taylor HR, West S, et al. Prevalence of open-angle glaucoma among adults in the United States. Arch Ophthalmol 2004 Apr;122(4):532-8.
- (7) Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. JAMA 1991 Jul 17;266(3):369-74.
- (8) Leske MC, Connell AM, Schachat AP, Hyman L. The Barbados Eye Study. Prevalence of open angle glaucoma. Arch Ophthalmol 1994 Jun;112(6):821-9.
- (9) Mitchell P, Smith W, Attebo K, Healey PR. Prevalence of open-angle glaucoma in Australia. The Blue Mountains Eye Study. Ophthalmology 1996 Oct;103(10):1661-9.
- (10) Dielemans I, Vingerling JR, Wolfs RC, Hofman A, Grobbee DE, de Jong PT. The prevalence of primary open-angle glaucoma in a population-based study in The Netherlands. The Rotterdam Study. Ophthalmology 1994 Nov;101(11):1851-5.
- (11) Klein BE, Klein R, Sponsel WE, Franke T, Cantor LB, Martone J, et al. Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. Ophthalmology 1992 Oct;99(10):1499-504.

- (12) Leske MC, Connell AM, Wu SY, Nemesure B, Li X, Schachat A, et al. Incidence of open-angle glaucoma: the Barbados Eye Studies. The Barbados Eye Studies Group. Arch Ophthalmol 2001 Jan;119(1):89-95.
- (13) Mukesh BN, McCarty CA, Rait JL, Taylor HR. Five-year incidence of open-angle glaucoma: the visual impairment project. Ophthalmology 2002 Jun;109(6):1047-51.
- (14) Simmons ST, Cioffi GA, Gross RL. Introduction to glaucoma: Terminology, Epidemiology, and Heredity. Basic and Clinical Science Course. Glaucoma. San Francisco: American Academy Of Ophthalmology; 2008. p. 3-16.
- (15) Turaçlı ME. Açık açılı glokomların epidemiyolojisi ve risk faktörleri. Türkiye Klinikleri Oftalmoloji; 2004. p. 1-6.
- (16) European Glaucoma Society. Terminology and Guidelines for Glaucoma. 2 ed. 2003.
- (17) Zimmerman R, Sakiyalak D, et al. Primary open-angle glaucoma. In: Janoff M, Duker JS, editors. Ophthalmology. 2 ed. St Louis: Mosby; 2004. p. 1482-7.
- (18) Migdal C. Primer open angle glaucoma. Duane's Ophthalmology [CDROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
- (19) Wilson MR, Martone JF. Epidemiology of Chronic Open-Angle Glaucoma. In: Shields MB, Ritch R, Krupin T, editors. The Glaucomas. 2 ed. St. Louis: Mosby; 1996. p. 753-800.
- (20) Tielsch JM, Katz J, Sommer A, Quigley HA, Javitt JC. Family history and risk of primary open angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. Arch Ophthalmol 1994 Jan;112(1):69-73.
- (21) Tanito M, Itai N, Dong J, Ohira A, Chihara E. Correlation between intraocular pressure level and optic disc changes in high-tension glaucoma suspects. Ophthalmology 2003 May;110(5):915-21.
- (22) Turaçlı E, Önel M, Yalvaç I. Glokom. 2003. p. 69-76.
- (23) Yalvaç IS. Glokom Açısından Gözün Embriyoloji, Anatomi ve Fizyolojisi. In: Aydın P, Akova YA, editors. Temel Göz Hastalıkları. 2 ed. Ankara: Güneş Kitabevi; 2010. p. 457-63.
- (24) Flammer J, Orgul S, Costa VP, Orzalesi N, Krieglstein GK, Serra LM, et al. The impact of ocular blood flow in glaucoma. Prog Retin Eye Res 2002 Jul;21(4):359-93.

- (25) Anderson DR. Glaucoma, capillaries and pericytes. 1. Blood flow regulation. *Ophthalmologica* 1996;210(5):257-62.
- (26) Quigley HA. Ganglion cell death in glaucoma: pathology recapitulates ontogeny. *Aust N Z J Ophthalmol* 1995 May;23(2):85-91.
- (27) Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, Podos SM, Lipton SA. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1996 Mar;114(3):299-305.
- (28) Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 1995 Jul;61(1):33-44.
- (29) Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. *Am J Ophthalmol* 2004 Jan;137(1):62-9.
- (30) Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11(1):81-128.
- (31) Poli G, Schaur RJ. 4-Hydroxynonenal in the pathomechanisms of oxidative stress. *IUBMB Life* 2000 Oct;50(4-5):315-21.
- (32) Sacca SC, Izzotti A, Rossi P, Traverso C. Glaucomatous outflow pathway and oxidative stress. *Exp Eye Res* 2007 Mar;84(3):389-99.
- (33) Zhou L, Li Y, Yue BY. Oxidative stress affects cytoskeletal structure and cell-matrix interactions in cells from an ocular tissue: the trabecular meshwork. *J Cell Physiol* 1999 Aug;180(2):182-9.
- (34) Izzotti A. DNA damage and alterations of gene expression in chronic-degenerative diseases. *Acta Biochim Pol* 2003;50(1):145-54.
- (35) Sacca SC, Pascotto A, Camicione P, Capris P, Izzotti A. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2005 Apr;123(4):458-63.
- (36) Gottanka J, Johnson DH, Martus P, Lutjen-Drecoll E. Severity of optic nerve damage in eyes with POAG is correlated with changes in the trabecular meshwork. *J Glaucoma* 1997 Apr;6(2):123-32.

- (37) Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res* 1992 Sep;275(3-6):331-42.
- (38) Goureau O, Bellot J, Thillaye B, Courtois Y, de KY. Increased nitric oxide production in endotoxin-induced uveitis. Reduction of uveitis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Immunol* 1995 Jun 15;154(12):6518-23.
- (39) Liu B, Neufeld AH. Expression of nitric oxide synthase-2 (NOS-2) in reactive astrocytes of the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000 Apr;30(2):178-86.
- (40) Shareef S, Sawada A, Neufeld AH. Isoforms of nitric oxide synthase in the optic nerves of rat eyes with chronic moderately elevated intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999 Nov;40(12):2884-91.
- (41) Tezel G, Yang X, Cai J. Proteomic identification of oxidatively modified retinal proteins in a chronic pressure-induced rat model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005 Sep;46(9):3177-87.
- (42) Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993 Jul;49(3):481-93.
- (43) Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pasini E, De GF, et al. Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium. *Am J Clin Nutr* 1991 Jan;53(1 Suppl):215S-22S.
- (44) Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int* 1999 Feb;49(2):91-102.
- (45) Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984 Apr 1;219(1):1-14.
- (46) Halliwell B, Gutteridge JM. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990;186:1-85.
- (47) Kusterer K, Pihan G, Szabo S. Role of lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by HCl, NaOH, or ischemia. *Am J Physiol* 1987 Jun;252(6 Pt 1):G811-G816.
- (48) Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982 Nov;47(5):412-26.
- (49) Bergamini CM, Gambetti S, Dondi A, Cervellati C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des* 2004;10(14):1611-26.

- (50) Kurutaş Belge E., İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*. 2004. p. 13:120-130.
- (51) Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819-28.
- (52) Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 2 ed. Oxford: Clarendon Pres: 1989. p. 125.
- (53) Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001 Apr;306(1-2):1-17.
- (54) Özkan A, Fışkın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*. 2004. p. 14:52-60.
- (55) Södergren E. Lipid Peroxidation İn vivo Evolution and Application of Methods for Measurements. Sweden: Tryck&Medier; 2000.
- (56) Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995 Jan;35(1-2):21-39.
- (57) Karslioglu I, Ertekin MV, Kocer I, Taysi S, Sezen O, Gepdiremen A, et al. Protective role of intramuscularly administered vitamin E on the levels of lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in the lens of rats made cataractous with gamma-irradiation. *Eur J Ophthalmol* 2004 Nov;14(6):478-85.
- (58) Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1 ed. Konya: Mimoza Yayınları; 1995. p. 1-41.
- (59) Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, et al. Oxidative status and malondialdehyde in beta-thalassaemia patients. *Eur J Clin Invest* 2002 Mar;32 Suppl 1:55-60.
- (60) McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993 Oct;26(5):351-7.
- (61) Reznick AZ, Cross CE, Hu ML, Suzuki YJ, Khwaja S, Safadi A, et al. Modification of plasma proteins by cigarette smoke as measured by protein carbonyl formation. *Biochem J* 1992 Sep 1;286 (Pt 2):607-11.
- (62) Totter JR. Spontaneous cancer and its possible relationship to oxygen metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980 Apr;77(4):1763-7.
- (63) Horwood E, Epe B. DNA and Free Radicals. Chichester. 1993. p. 41-65.
- (64) Dizdaroglu M. DNA and Free Radicals. Chichester. 1993. p. 19-39.

- (65) Aslan M, Yucel I, Akar Y, Yucel G, Ciftcioglu MA, Sanlioglu S. Nitrotyrosine formation and apoptosis in rat models of ocular injury. *Free Radic Res* 2006 Feb;40(2):147-53.
- (66) Behndig A, Svensson B, Marklund SL, Karlsson K. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998 Mar;39(3):471-5.
- (67) Huang W, Akesson B. Radioimmunoassay of glutathione peroxidase in human serum. *Clin Chim Acta* 1993 Oct 15;219(1-2):139-48.
- (68) Martin-Alonso JM, Ghosh S, Coca-Prados M. Cloning of the bovine plasma selenium-dependent glutathione peroxidase (GP) cDNA from the ocular ciliary epithelium: expression of the plasma and cellular forms within the mammalian eye. *J Biochem* 1993 Aug;114(2):284-91.
- (69) Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 1996 Apr;7(2):69-76.
- (70) Mazur A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolysing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. *J Biol Chem* 1946 Jul;164:271-89.
- (71) Aldridge WN. Serum esterases. II. An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. *Biochem J* 1953 Jan;53(1):117-24.
- (72) Aldridge WN. Serum esterases. I. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination. *Biochem J* 1953 Jan;53(1):110-7.
- (73) Uriel A. Characterisation des cholinesterases et d'autres esterases carboxylique apres electrophorese en gelose. *Am instit Pasteur*; 1961. p. 101-4.
- (74) Mackness MI, Hallam SD, Peard T, Warner S, Walker CH. The separation of sheep and human serum "A"-esterase activity into the lipoprotein fraction by ultracentrifugation. *Comp Biochem Physiol B* 1985;82(4):675-7.
- (75) Mackness MI, Walker CH. Multiple forms of sheep serum A-esterase activity associated with the high-density lipoprotein. *Biochem J* 1988 Mar 1;250(2):539-45.
- (76) Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991 Jul 29;286(1-2):152-4.

- (77) Azarsız E. "Paraoksonaz ve Klinik önemi". 2000. p. 109-19.
- (78) Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. Human serum paraoxonase. *Gen Pharmacol* 1998 Sep;31(3):329-36.
- (79) Deakin SP, James RW. Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clin Sci (Lond)* 2004 Nov;107(5):435-47.
- (80) Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress, and diseases. *J Mol Med (Berl)* 2003 Dec;81(12):766-79.
- (81) Mackness B, Durrington PN, Mackness MI. The paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002 Aug;13(4):357-62.
- (82) Gan KN, Smolen A, Eckerson HW, La Du BN. Purification of human serum paraoxonase/arylesterase. Evidence for one esterase catalyzing both activities. *Drug Metab Dispos* 1991 Jan;19(1):100-6.
- (83) Jawad Z, Paoli M. Novel sequences propel familiar folds. *Structure* 2002 Apr;10(4):447-54.
- (84) Kuo CL, La Du BN. Calcium binding by human and rabbit serum paraoxonases. Structural stability and enzymatic activity. *Drug Metab Dispos* 1998 Jul;26(7):653-60.
- (85) Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004 Jan;369(1):78-88.
- (86) Aharoni A, Gaidukov L, Yagur S, Toker L, Silman I, Tawfik DS. Directed evolution of mammalian paraoxonases PON1 and PON3 for bacterial expression and catalytic specialization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Jan 13;101(2):482-7.
- (87) Josse D, Xie W, Renault F, Rochu D, Schopfer LM, Masson P, et al. Identification of residues essential for human paraoxonase (PON1) arylesterase/organophosphatase activities. *Biochemistry* 1999 Mar 2;38(9):2816-25.
- (88) Jonas A. Lecithin cholesterol acyltransferase. *Biochim Biophys Acta* 2000 Dec 15;1529(1-3):245-56.
- (89) Sinan MST. "İnsan Serum Paraoksonaz Enziminin (PON1) Expressiyonu, Saflaştırılması ve Bazı İlaçların Enzim üzerine Etkilerinin Araştırılması.". Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı; 2005.

- (90) Lund-Katz S, Liu L, Thuahnai ST, Phillips MC. High density lipoprotein structure. *Front Biosci* 2003 May 1;8:d1044-d1054.
- (91) Navab M, Hama SY, Hough GP, Hedrick CC, Sorenson R, La Du BN, et al. High density associated enzymes: their role in vascular biology. *Curr Opin Lipidol* 1998 Oct;9(5):449-56.
- (92) Borhani DW, Rogers DP, Engler JA, Brouillette CG. Crystal structure of truncated human apolipoprotein A-I suggests a lipid-bound conformation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997 Nov 11;94(23):12291-6.
- (93) Harel M, Aharoni A, Gaidukov L, Brumshtein B, Khersonsky O, Meged R, et al. Structure and evolution of the serum paraoxonase family of detoxifying and anti-atherosclerotic enzymes. *Nat Struct Mol Biol* 2004 May;11(5):412-9.
- (94) Blatter Garin MC, Abbott C, Messmer S, Mackness M, Durrington P, Pometta D, et al. Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population differences in protein concentrations. *Biochem J* 1994 Dec 1;304 (Pt 2):549-54.
- (95) Deakin S, Leviev I, Brulhart-Meynet MC, James RW. Paraoxonase-1 promoter haplotypes and serum paraoxonase: a predominant role for polymorphic position - 107, implicating the Sp1 transcription factor. *Biochem J* 2003 Jun 1;372(Pt 2):643-9.
- (96) Leviev I, James RW. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gene and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 Feb;20(2):516-21.
- (97) Cabana VG, Reardon CA, Feng N, Neath S, Lukens J, Getz GS. Serum paraoxonase: effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. *J Lipid Res* 2003 Apr;44(4):780-92.
- (98) Feingold KR, Memon RA, Moser AH, Grunfeld C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. *Atherosclerosis* 1998 Aug;139(2):307-15.
- (99) Van Lenten BJ, Wagner AC, Nayak DP, Hama S, Navab M, Fogelman AM. High-density lipoprotein loses its anti-inflammatory properties during acute influenza a infection. *Circulation* 2001 May 8;103(18):2283-8.

- (100) Hassett C, Richter RJ, Humbert R, Chapline C, Crabb JW, Omiecinski CJ, et al. Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: the mature protein retains its signal sequence. *Biochemistry* 1991 Oct 22;30(42):10141-9.
- (101) Martoglio B, Dobberstein B. Signal sequences: more than just greasy peptides. *Trends Cell Biol* 1998 Oct;8(10):410-5.
- (102) Deakin S, Leviev I, Gomaraschi M, Calabresi L, Franceschini G, James RW. Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *J Biol Chem* 2002 Feb 8;277(6):4301-8.
- (103) Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, Hsu C, Billecke S, La Du BN. Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids: apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999 Sep;19(9):2214-25.
- (104) Oda MN, Bielicki JK, Berger T, Forte TM. Cysteine substitutions in apolipoprotein A-I primary structure modulate paraoxonase activity. *Biochemistry* 2001 Feb 13;40(6):1710-8.
- (105) Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR, Navab M, et al. Paraoxonase-2 is a ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2001 Nov 30;276(48):44444-9.
- (106) Primo-Parmo SL, Sorenson RC, Teiber J, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase gene (PON1) is one member of a multigene family. *Genomics* 1996 May 1;33(3):498-507.
- (107) Ng CJ, Shih DM, Hama SY, Villa N, Navab M, Reddy ST. The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2005 Jan 15;38(2):153-63.
- (108) Hegele RA, Harris SB, Connelly PW, Hanley AJ, Tsui LC, Zinman B, et al. Genetic variation in paraoxonase-2 is associated with variation in plasma lipoproteins in Canadian Oji-Cree. *Clin Genet* 1998 Nov;54(5):394-9.
- (109) Hegele RA. Paraoxonase genes and disease. *Ann Med* 1999 Jun;31(3):217-24.

- (110) Chen Q, Reis SE, Kammerer CM, McNamara DM, Holubkov R, Sharaf BL, et al. Association between the severity of angiographic coronary artery disease and paraoxonase gene polymorphisms in the National Heart, Lung, and Blood Institute-sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *Am J Hum Genet* 2003 Jan;72(1):13-22.
- (111) Shi J, Zhang S, Tang M, Liu X, Li T, Han H, et al. Possible association between Cys311Ser polymorphism of paraoxonase 2 gene and late-onset Alzheimer's disease in Chinese. *Brain Res Mol Brain Res* 2004 Jan 5;120(2):201-4.
- (112) Yamada Y, Ando F, Niino N, Miki T, Shimokata H. Association of polymorphisms of paraoxonase 1 and 2 genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese. *J Hum Genet* 2003;48(9):469-75.
- (113) Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, Bisgaier CL, La Du BN, Aviram M. Mouse macrophage paraoxonase 2 activity is increased whereas cellular paraoxonase 3 activity is decreased under oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003 Mar 1;23(3):468-74.
- (114) Campo S, Sardo AM, Campo GM, Avenoso A, Castaldo M, D'Ascola A, et al. Identification of paraoxonase 3 gene (PON3) missense mutations in a population of southern Italy. *Mutat Res* 2004 Feb 26;546(1-2):75-80.
- (115) Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A, et al. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001 Apr;21(4):542-7.
- (116) Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem* 2000 Oct 27;275(43):33435-42.
- (117) Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988 Feb 11;16(3):1215.

- (118) Barry HALLIWELL, Harparkash KAUR. Measurement of oxidized and methylated DNA bases by HPLC with electrochemical detection. Neurodegenerative Disease Research Centre, Pharmacology Group, University of London, King's College, Manresa Road.London: 1996. p. 318.21-23.
- (119) Donald Armstrong. Free radical and antioxidant protocols. Human Press; 1998. p. 108: 81-190.
- (120) Tarnag DC, Huang TP, Wei YH, Liu TY, Chen HW, Wen CT, et al. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine of leukocyte DNA as a marker of oxidative stress in chronic hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 2000 Nov;36(5):934-44.
- (121) Gülcü F, Gürsü MF. Yöntem Bildirisi: Paraoksonaz ve Aril Esteraz Aktivite Ölçümlerinin Standardizasyonu. Türk Biyokimya Dergisi. 2003. p. 28(2): 45-49.
- (122) Kaya H, Polat F, Çetinkaya R, Taysi S, Odabaş AR, Selçuk Y. Serum Paraoksonase Activity In Chronic Hemodialysis Patients. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi I Official Journal of the Turkish Nephrology Association. 2000. p. 3: 76-179.
- (123) Faschinger C, Schmut O, Wachswender C, Mossbock G. [Glaucoma and oxidative stress. Determination of malondialdehyde--a product of lipid peroxidation]. Ophthalmologe 2006 Nov;103(11):953-9.
- (124) Yildirim O, Ates NA, Ercan B, Muslu N, Unlu A, Tamer L, et al. Role of oxidative stress enzymes in open-angle glaucoma. Eye (Lond) 2005 May;19(5):580-3.
- (125) Özcan Ocakoğlu, Huriye Balcı, Ahmet Özkök, Yıldız Dinçer, Eylem Efe Koç, Didar Uçar, et al. Primer açık açılı glokomlu ve senil kataraktlı hastalarda oksidatif stresin rolü. Türk Oftalmoloji Dergisi. 2008. p. 34-4:292-297.
- (126) Kocer I, Kulacoglu D, Altuntas I, Gundogdu C, Gullulu G. Protection of the retina from ischemia-reperfusion injury by L-carnitine in guinea pigs. Eur J Ophthalmol 2003 Jan;13(1):80-5.
- (127) Kahn MG, Giblin FJ, Epstein DL. Glutathione in calf trabecular meshwork and its relation to aqueous humor outflow facility. Invest Ophthalmol Vis Sci 1983 Sep;24(9):1283-7.
- (128) Izzotti A, Sacca SC, Cartiglia C, De FS. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in the eyes of glaucoma patients. Am J Med 2003 Jun 1;114(8):638-46.

- (129) Ates O, Azizi S, Alp HH, Kiziltunc A, Beydemir S, Cinici E, et al. Decreased serum paraoxonase 1 activity and increased serum homocysteine and malondialdehyde levels in age-related macular degeneration. *Tohoku J Exp Med* 2009 Jan;217(1):17-22.

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Primer Açık Açılı Glokomlu Hastalarda Paraoksonaz Aktivitesi,
MDA Seviyesi ve Oksidatif DNA Hasarı

Dr.Uğur Yılmaz MUMCU

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 30.10.2006

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 28.10.2011

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 28.10.2011

Tez Danışmanı : Prof.Dr.İbrahim KOÇER

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Orhan BAYKAL

Jüri Üyesi : Prof. Dr. İbrahim KOÇER

Jüri Üyesi : Doç.Dr.Orhan ATEŞ

Jüri Üyesi : Doç.Dr.İlknur AKYOL SALMAN

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Sadullah KELEŞ

Prof. Dr.Orhan BAYKAL
GÖZ Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

EKİM -2011
ERZURUM