

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

**DENEYSEL GLOKOM MODELİNDE ERİTROPOETİN VE
RASAJİLİNİN NÖROPROTEKTİF ETKİNLİKLERİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Kadir MERCAN**

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

**ELAZIĞ
2018**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Ahmet KAZEZ

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr.Ülkü ÇELİKER

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER _____**Danışman**

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Sınavı Jüri Üyeleri

.....
.....
.....
.....
.....

TEŞEKKÜR

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

Özellikle tez çalışmama katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Ülkü Çeliker'e ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

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

Ayrıca eğitimim süresince bütün sıkıntılara ortak olan ve benden desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

ÖZET

Glokom retinal gangliyon hücre kaybı ile karakterize ilerleyici bir optik nöropatidir. Majör risk faktörü artmış göz içi basıncı olmasına rağmen göz içi basıncı normal olsa da glokoma bağlı görme kaybı meydana gelebilir. Nöroprotektif tedavi stratejilerinin glokom tedavisindeki önemi açıktır.

Bu çalışmada amaç eritropoetin ve rasajilinin retinal gangliyon hücreleri üzerinde koruyucu etkilerinin glokomatöz stres varlığında biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle araştırmaktır. Çalışmamızda 35 adet Sprague Dawley rat rastgele bölünerek 5 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba cerrahi ve tıbbi müdahale yapılmamıştır. Diğer gruplardaki ratlara ise intravitreal N-metil-D-aspartat enjeksiyonu yapılarak apoptozis indüklenmiştir. İkinci grup intraperitoneal phosphate bufferd saline (PBS), üçüncü grup oral serum fizyolojik (SF), dördüncü grup intraperitoneal eritropoetin, beşinci grup ise oral rasajilin ile tedavi edilmiştir. Deney süresinin sonunda ratların sağ gözlerine enükleasyon yapılmış ve kan örnekleri alınmıştır. Deney gruplarından elde edilen gözlerden alınan retinal doku örneklerinde TUNEL analizi yapılmış, yine alınan örneklerde nitrik oksit sentaz-2 (NOS-2), total oksidan ve antioksidan düzeyi (TOS-TAS), süper oksit dismutaz (SOD), brain derived neurotrophic factor (BDNF), irisin düzeyleri ayrıca kanda BDNF ve irisin düzeyleri ölçülmüştür.

PBS ve SF ile tedavi edilen gruplarda retina gangliyon hücrelerinde apoptozis oranı birinci gruba göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Eritropoetin ve rasajilinle tedavi edilen gruplarda apoptotik hücre oranı ikinci ve üçüncü gruplara göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p<0,001$). PBS ve SF ile tedavi edilen gruplardan alınan intraoküler doku örneklerinde birinci gruba göre NOS-2, TOS, SOD, BDNF, İrisin düzeyleri anlamlı şekilde artmış TAS düzeyi anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$) Eritropoetin ve rasajilinle tedavi edilen gruplarda ikinci ve üçüncü gruplara göre NOS-2, TOS, SOD düzeyi anlamlı şekilde azalmıştır ($p<0,05$). Eritropoetin ve rasajilinle tedavi edilen gruplarda ikinci ve üçüncü gruplara göre TAS düzeyinde anlamlı bir değişiklik olmamıştır ($p>0,05$). Eritropoetin ve rasajilinle tedavi edilen gruplarda BDNF ve İrisin düzeyi birinci gruba göre anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$). Rasajilinle tedavi edilen grup üçüncü gruba karşılaştırıldığında BDNF düzeyinin anlamlı şekilde artmıştır ($p<0,05$) Kan örneklerine bakıldığında

BDNF düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmazken irisin düzeylerinde alınan intraoküler dokular ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Sonuç olarak eritropoetin ve rasajilin NOS-2 ekspresyonunu azaltarak ve nörotrofik etkileriyle nöroprotektif bulunmuştur. Ayrıca intraoküler doku örneklerindeki irisin düzeyinin BDNF ile korele şekilde arttığı aynı zamanda gözdeki ve kandaki düzeylerinin uyumlu olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Deneysel glokom, eksitoksisite, eritropoetin, rasajilin



ABSTRACT

NEUROPROTECTIVE ACTIVITIES OF ERYTHROPOIETIN AND RASAGILINE IN EXPERIMENTAL GLAUCOMA MODEL

Glaucoma is a progressive optic neuropathy characterized by retinal ganglion cell loss. Although the major risk factor is increased intraocular pressure, glaucoma related visual loss may occur even though the intraocular pressure is normal. The importance of neuroprotective treatment strategies in the glaucoma treatment is obvious.

The aim of this study was to investigate the protective effects of erythropoietin and rasagiline on retinal ganglion cells by using biochemical and immunohistochemical methods in the presence of glaucomatous stress. In our study, 35 Sprague Dawley rats were randomly divided into 5 groups. The first group did not undergo surgery or medical intervention. The rats eyes in the other groups were induced for apoptosis with intravitreal N-methyl-D-aspartate injection. The second group was treated with intraperitoneal phosphate buffered saline (PBS), the third group oral saline (SF), the fourth group intraperitoneal erythropoietin and the fifth group with oral rasagiline. At the end of the experiment period, the right eyes of the rats were enucleated and blood samples were obtained. TUNEL analysis was performed on the retinal tissue samples obtained from the eyes of the rats and levels of nitric oxide synthase-2 (NOS-2), total oxidants and antioxidants (TOS-TAS), superoxide dismutase (SOD), brain derived neurotrophic factor(BDNF) and irisin were also measured. Brain derived neurotrophic factor(BDNF) and irisin levels were also measured in obtained blood samples.

The percentages of apoptotic retinal ganglion cells in the PBS and SF treated groups was significantly higher than the first group ($p < 0.05$). The percentages of apoptotic retinal ganglion cells in groups treated with erythropoietin and rasagiline were significantly lower than these the second and the third groups ($p < 0.05$). Tissue levels of NOS-2, TOS, SOD, BDNF, and Irisin significantly increased in the eye specimens treated with PBS and SF ($p < 0.05$). NOS-2, TOS, SOD levels decreased significantly ($p < 0.05$) compared to the second and the third groups in rats treated with erythropoietin and rasagiline. There was no significant change in TAS level compared with the second and the third groups in rats treated with erythropoietin and

rasagiline ($p > 0.05$). BDNF and Irisin levels were significantly increased in eyes treated with erythropoietin and rasagiline compared to the first group ($p < 0.05$). The group treated with rasagiline showed a significant increase in BDNF level compared to the third group ($p < 0.05$). When blood samples were investigated, there was no significant change in BDNF levels but results were consistent with eye samples at irisin levels.

As a result, erythropoietin and rasagiline were found to be neuroprotective with neurotrophic effects and reducing NOS-2 expression. In addition, it was found that iris level in eye tissues increased in correlation with BDNF and at the same time tissue and blood levels were compatible.

Key Words: experimental glaucoma, excitotoxicity, erythropoietin, rasagiline



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Giriş ve Amaç	1
1.2. Genel Bilgiler	5
1.2.1. Glokom ve Nöroproteksiyon	5
1.2.2. Eksitotoksisite	6
1.2.3. Rat Görme Sistemi	8
1.2.4. Optik Sinir Başı	9
1.2.5. TUNEL Analizi	10
1.2.6. Glokomda Medikal Tedavi	10
1.2.7. Nöroprotektif İlaçlar	16
1.2.7.1. Ca ² Kanal Blokörleri	16
1.2.7.2. Antiglokomatözler	16
1.2.7.3. N-metil-D-aspartat Antagonistleri	17
1.2.7.4. Nitrik Oksit Sentaz-2 İnhibitörleri	17
1.2.7.5. Nörotrofinler	18
1.2.7.6. Antioksidanlar	18
1.2.7.7. Eritropoetin	19
1.2.7.8. Rasajilin	20
2. GEREÇ VE YÖNTEM	23
2.1. Anestezi Tekniği ve Apoptosis İndüksiyonu	23
2.2. Gruplandırma	23

2.3. İntraokuler Doku Örneklerinin ve Kan Örneklerinin Alınması	24
2.4. TUNEL Metodu	24
2.5. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi	26
2.5.1. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	26
2.5.2. Doku homojenizasyonu	26
2.5.3. Doku Örneklerinde Total Protein Miktarlarının Tespiti	26
2.5.4. BDNF ve İrisin Düzeylerinin ölçümü	27
2.5.5. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü	27
2.5.6. TAS Düzeylerinin Ölçümü	27
2.5.7. TOS Düzeylerinin Ölçümü	28
2.5.8. NOS-2 protein ekspresyon düzeylerinin tespiti	28
2.5.9. İstatistiksel analiz	29
3. BULGULAR	30
3.1. TUNEL Boyama Sonuçları	30
3.2. NOS-2 Düzeyi Sonuçları	33
3.3. Total Antioksidan (TAS) Düzeyi Sonuçları	35
3.4. Total Oksidan (TOS) Düzeyi Sonuçları	36
3.5. SOD Düzeyi Sonuçları	37
3.6. BDNF Düzeyi sonuçları	38
3.7. İrisin Düzeyi sonuçları	40
4. TARTIŞMA	43
5. KAYNAKLAR	48
6. ÖZGEÇMİŞ	69

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Glokomun tedavisinde kullanılan ilaçlar	11
Tablo 2.	TUNEL Boyama Prosedürü	25
Tablo 3.	Apoptotik indeks (%)	30
Tablo 4.	Gruplara göre ortalama NOS-2 düzeyleri	35
Tablo 5.	Gruplara göre ortalama TAS düzeyleri	36
Tablo 6.	Gruplara göre ortalama TOS düzeyleri	37
Tablo 7.	Gruplara göre ortalama SOD düzeyleri	38
Tablo 8.	Gruplara göre alınan intraoküler dokulardaki ortalama BDNF düzeyleri	39
Tablo 9.	Gruplara göre kandaki ortalama BDNF düzeyleri	40
Tablo 10.	Gruplara göre alınan intraoküler dokulardaki ortalama İrisin düzeyleri	41
Tablo 11.	Gruplara göre kandaki ortalama İrisin düzeyleri	42

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Apoptozisin başlıca sinyal bileşenleri	4
Şekil 2.	Glutamat ve NO ilişkisi.	7
Şekil 3.	Asidozun glutamat/aspartat taşıyıcısına etkisi	8
Şekil 4.	Optik sinir başının normal görünümü	9
Şekil 5.	Rasajilinin kimyasal yapısı.	21
Şekil 6.	Kontrol grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri	31
Şekil 7.	Sham 1 grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri	31
Şekil 8.	Sham 2 grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri	32
Şekil 9.	ERİTROPOETİN grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri	32
Şekil 11.	A-B-C Western Blot analizleri sonucu Beta-actin ve Nos-2 proteinlerine ait bant görüntüleri	34
Şekil 12.	İntraoküler Dokularda Ortalama Nos-2 Expresyon düzeyi	35
Şekil 13.	Gruplara göre ortalama TAS düzeyleri	36
Şekil 14.	Gruplara göre ortalama TOS düzeyleri	37
Şekil 15.	Gruplara göre ortalama SOD düzeyleri	38
Şekil 16.	Gruplara göre alınan intraoküler dokularda ortalama BDNF düzeyleri	39
Şekil 17.	Gruplara göre kandaki ortalama BDNF düzeyleri	40
Şekil 18.	Gruplara göre alınan intraoküler dokulardaki ortalama İrisin düzeyleri	41
Şekil 19.	Gruplara göre kandaki ortalama İrisin düzeyleri	42

KISALTMALAR LİSTESİ

ALS	: Amniyotrofik Lateral Skleroz
ASP	: Aspartat
BDNF	: Brain Derived Neurotrophic Factor
CAT	: Katalaz
CNTF	: Silier nörotrofin faktörü
DPT	: Dış Pleksiiform Tabaka
EAA	: Eksitatör Aminoasit
EPO	: Eritropoetin
EPOR	: Eritropoetin Reseptörü
FDA	: US Food and Drug Administration
GA	: Görme Alanı
GSH	: Glutatyon
GİB	: Göz İçi Basıncı
GLU	: Glutamat
GON	: Glokomatöz Optik Nöropati
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
HA	: Humor Aköz
LGN	: Lateral Genikulat Nukleus
MAO-B	: Monoamin Oksidaz-B
MH	: Müller Hücreleri
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
NTF	: Nörotrofik Faktör
NTG	: Normal Tansiyonlu Glokom
OD	: Optik Disk
PBS	: Phosphate bufferd saline
RGH	: Retinal Gangliyon Hücre
RLZ	: Riluzol
ROS	: Reaktif Oksijen Metabolitleri
RPE	: Retina Pigment Epiteli

SLT	: Sinir Lifi Tabakası
SOD	: Süper Oksit Dismutaz
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TOS	: Total Oksidan Seviyesi



1. GİRİŞ

1.1. Giriş ve Amaç

Glokom endüstriyel ülkelerde körlüğün başlıca nedenidir ve ilerleyici bir optik nöropati olarak seyreder. Artmış göz içi basıncı (GİB) ise glokom için majör risk faktörüdür. Primatlarda göz içi basınç artışının sağlandığı deneysel çalışmalarda glokoma bağlı optik sinir hasarı görülmüştür (1). Ancak GİB normal seviyede olduğunda da glokoma bağlı görme kaybı meydana gelebilir (2). Glokomda görülen karakteristik retinal değişiklikler özellikle retina sinir lifi tabakasında (SLT) olmak üzere retinal incelme, retina ganglion hücrelerinin (RGH) sayısında azalma şeklindedir (3).

Glokomun başlatıcı sebepleri halen bilinmemektedir. Glokom, çeşitli tetikleyicilerin uyardığı olaylar ve sonuçta apoptozis ile RGH ölümüne yol açan bir nörodejeneratif hastalıktır. Optik sinir hasarına yol açan basamakları anlamaya çalışma çabası ve bu yöndeki araştırmalar sadece glokomatöz hasarı hedeflemeyen aynı zamanda bu dejenerasyonun asıl nedenine yönelik yeni nöroprotektif tedavi stratejilerinin gelişmesine olanak sağlamaktadır. GİB düşürülmesi ve benzer tedaviler dolaylı olarak nöroprotektif tedaviler olarak kabul edilebilse de tam olarak tanımlamak gerekirse, nöroprotektif tedavi nöronun direkt kendisini hedef alır (4).

Günümüzde glokomdaki RGH kaybının patofizyolojisine ait görüşlerin yoğunlaştığı temel konular; nörotrofik faktörlerin (NTF) retrograd aksoplazmik transport blokajı, azalan vasküler perfüzyona bağlı iskemi, serbest radikallerin oluşumu, nitrik oksit (NO) toksisitesi, glutamat aracılı eksitotoksisite ve genetik faktörler şeklindedir. Bu süreçlerin biri veya birkaçının birlikteliği sonucunda oluşan apoptozis aracılı hücre ölümü üzerinde durulmaktadır (5-7).

Oksidatif ve nitrozatif stresin; glokoma bağımlı optik sinir hasarına neden olduğu ve nöronal ölümün gelişiminde rolü olduğu açıktır (8). Oksidatif stres sonucunda meydana gelen serbest radikaller, hücrenin yapı taşları olan lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlere zarar vermektedir. Özellikle retinada doymamış yağ asitlerinin bol miktarda bulunması retinayı serbest radikallere karşı daha duyarlı hale getirmektedir (9). Yapılan son deneysel çalışmalar iris-silier cisim,

retina ve glokomlu optik diskde (OD) indüklenebilir nitrik oksit sentaz 2 (NOS-2)'nin varlığını rapor ederek glokomda NO'un rolünü belirtmiştir (10).

Nitrik oksit, oküler kan akımının modülasyonunda ve GİB'nin regülasyonunda görev alan önemli bir mediatördür. Nitrik oksit, NOS enzimi vasıtasıyla sentezlenir (11). NOS enziminin nöronal NOS (nNOS, NOS-1), indüklenebilen NOS (iNOS, NOS-2) ve endotelial NOS (eNOS, NOS-3) olmak üzere üç tane isoformu mevcuttur (12). NOS-1 ve NOS-3 bulundukları dokularda normal süreçte sentez edilirken, NOS-2 immünolojik ve inflamatuvar uyarılar sonrasında ekspres olur (13). NOS-1 ve NOS-3 tarafından üretilen NO miktarı nanomolar düzeyde olup fizyolojik sınırlar içerisinde yer alırken, NOS-2 tarafından yapılan NO miktarı mikromolar düzeyde ifade edilir ve patolojiktir (14).

Petros ve ark. (15) göz içi NO sentezini incelemiş ve her üç NOS enziminin varlığını göz içerisinde göstermişlerdir. NOS-1 ve NOS-3 tarafından yapılan az miktardaki NO, kardiovasküler ve sinir sistemi içerisinde sinyal iletiminde görev almaktadır (16). Nitrik oksitin nörotransmisyon ve vazodilatasyon gibi birincil etkileri guanilat siklaz enzimi vasıtasıyla yapılan cGMP yoluyla gerçekleşmektedir (17). NOS-2 tarafından yapılan NO ikincil etki olarak oksidasyon ve nitrasyon reaksiyonları verebilen ürünleri oluşturarak sitotoksik ve inflamatuvar yanıtın gelişmesinde önemli rol oynar. Nitrik oksit düşük moleküler ağırlığı ve nötral yapısı nedeniyle biyolojik sistemlerde çok rahat geçiş gösterir. Oksidatif stres varlığında süperoksit anyon radikalleri ile çok rahat reaksiyona girer.

Glokomlu OD'lerde yapılan çalışmalar nitrotirozin boyamaları ile glokomda OD'de NOS-2 varlığını göstermiş ve NO'un glokomatöz optik nöropatideki (GON) rolünü belirtmiştir (11, 18). Glokomda NOS-2 ekspresyonunun artışı, NO'un oküler patolojilerde rolünü ortaya koyar (19). Glokomda görme kaybının ana mekanizması RGH apoptozisidir (20) ve nöronal hücrelerde (21), astrositlerde (22) ve makrofajlarda (23) NO'nun aracı olduğu sitotoksikite sonucunda apoptozisi uyaran NO düzeyleri daha önceden bildirilmiştir. Çalışmamızda NOS-2 enzim miktarının tayini yapılarak glokomun gözdeki oluşturabileceği moleküler oksidasyonun ve nitrasyonun tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Mekanik basınç teorisinde artan GİB özellikle Lamina kribroza ve komşu dokular gibi gözün arka yapısal elemanlarında mekanik stres ve gerilmeye neden

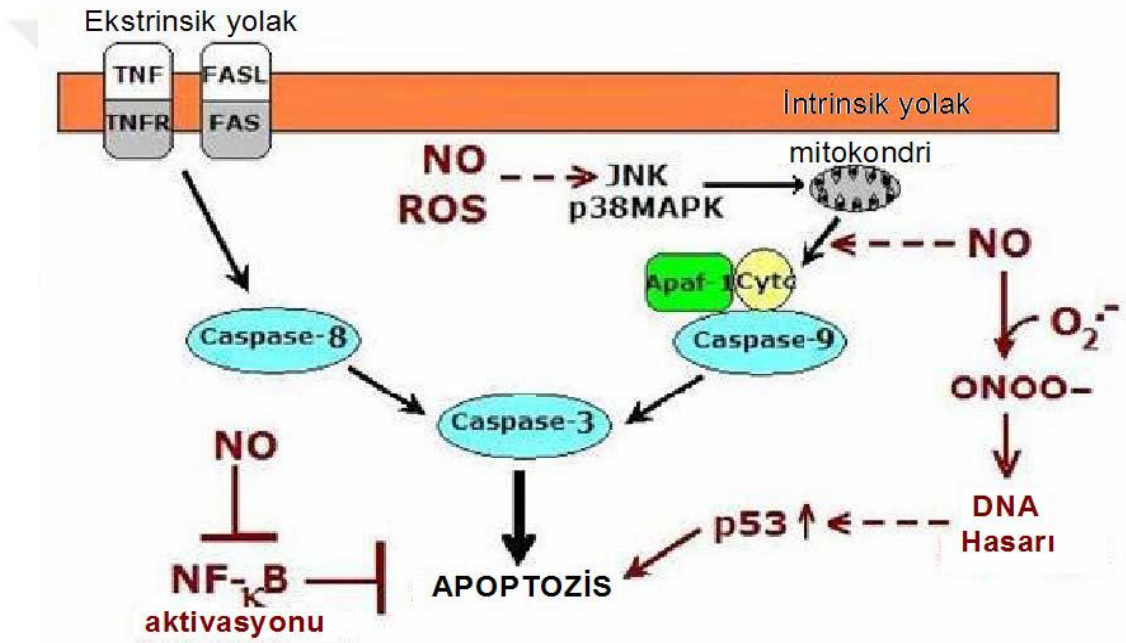
olur. Optik sinir lifleri lamina kribroza düzeyinde sklerayı delerek gözün dışına çıkar. Bu bölge artan basınca oldukça duyarlıdır. Artan GİB nedeni ile meydana gelen stres ve gerilme, aksonal hasar yaparak ve aksonal transportu bozarak lamina kribrozada kompresyon, deformasyon ve remodellinge neden olur (20, 24). Bu teori artmış hasar (25) ve nöroretinal hattın zayıflaması (26) gibi özellikleriyle GON'yi desteklerken NTG'ü açıklamamaktadır (27).

Diğer bir teori ise vasküler iskemi teorisidir. Bu teoride OD'deki vasküler yetmezliğin sonucunda azalan metabolik aktivite ve artmış glutamat birikimi ile RGH ölümüne neden olduğunu ileri sürmektedir (28, 29). Artmış glutamat birikimi sinaptik olarak salındığında potansiyel toksik seviyelere ulaşabilir. Glutamat, nöron ve gliaların plazma membranında yerleşmiş olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri üzerinden etki eden uyarıcı bir nörotransmitterdir (29). NMDA reseptörlerinin aşırı uyarılması hücre içi kalsiyumu (Ca^{2+}) toksik seviyelere kadar arttırarak aşırı NO üretimi ile sonuçlanan NOS-2'yi aktive eder (30). Akut ve kronik nörodejeneratif hastalıklarda mitokondrial disfonksiyona yol açtığı bilinen "glutamat aracılı eksitotoksik hasar"ın, bugün için glokomatöz hasarın patogeneğinde anlamlı rol oynadığı düşünülmektedir (31-33). Biz de bu çalışmada glokomatoz optik nöropati modeli oluşturmak ve apoptozisi uyarmak için intravitreal NMDA enjeksiyonu uyguladık.

Apoptozis indüksiyonu oksijen ve nitrojen türleri arasında hassas biyokimyasal bir etkileşimle gerçekleşmektedir. NO'nin başlattığı apoptotik hücre ölümünün başlıca sinyal bileşenleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Apoptozis'in en tanımlayıcı özelliği DNA fragmentasyonunun olmasıdır. Çalışmamızda retinal gangliyon hücrelerinde apoptozisin belirlenmesi amacı ile mikroskobik DNA fragmentasyon tayini amaçlanmıştır (TUNEL).

Oküler perfüzyon basınç ortalamasındaki dalgalanma normal tansiyonlu glokomda (NTG) hastalığın ilerleyişi için risk faktörüdür (34). Normal GİB'e sahip hastalarda stabil olmayan oküler kan akışının reperfüzyon hasarına yol açtığı ve oksidatif stres ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir (35). Glokom hastalarında reaktif oksijen metabolitlerinin (ROS) artışı rapor edilmiştir (8). Retinal gangliyon hücreleri, SLT, dış pleksiform tabaka (DPT), fotoreseptörlerin iç segmenti ve retinal pigment epitelyumunda (RPE) bulunan bu reaktif ürünler genellikle mitokondriyal solunum

zinciri bileşenlerinin otooksidasyonundan türer (36). Hücre metabolizması sırasında oluşan ROS sitoplazmik molekülleri oksidasyona uğratabilme özelliğine sahiptir. Glokomda gelişen posttranslasyonel oksidatif modifikasyonlar (37, 38) hem ROS oluşum miktarlarına hem de antioksidan seviyelerine bağlıdır. HA(Hümör aköz)’da glutatyon, askorbat, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin varlığı rapor edilmiştir (39, 40). Sonuç olarak glokoma bağlı artış gösteren oksijen metabolitlerinin detoksifikasyonu oküler antioksidanlara oldukça bağlıdır. Çalışmamızda SOD enziminin ve total oksidan seviyesi – total antioksidan seviyesi (TOS-TAS)’nin tayini yapılarak antioksidan etki incenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 1. Apoptozisin başlıca sinyal bileşenleri

(NO molekülü ROS’larla etkileşerek aynı zamanda da doğrudan olarak mitokondrideki apoptozis yollarını aktive eder ayrıca süperoksitle oluşturduğu dehidronitrit (ONOO-) anyonları doğrudan DNA hasarı yaparak p53 aktivasyonu yoluyla apoptozisi uyarır)

Glokomda gelişen apoptozis için önemli bir unsur da nörotrofik faktörler ile retina ganglion hücrelerine sürekli olarak “yaşa” sinyalinin gönderilmesidir. Bu faktörlerden en önemlisi BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) dir. BDNF’nin nörotrofik etkiyle RGH’ lerinin apoptozisten koruduğu ve RHG için hayati öneme sahip olduğu bilinmektedir (41-44). Ekzojen BDNF verilmesiyle deneysel glokom modellerinde RGH ölümünün azaldığı gösterilmiş (45). Yine deneysel olarak eğer BDNF taşınımı bir şekilde engellenecek olursa, ganglion

hücrelerinin hasara uğradığı görülmüştür (46). İrisin ise son dönemlerde gündeme gelmiş asıl etkisi yağ dokusu üzerine olan diyet ilişkili kilo kaybında etkili bir hormondur (47). FDNC5 (Fibronectin type III domain containing 5) molekülü olarak sentezlenir ve proteoliz sonucunda aktif formu olan irisine dönüşür. Sentezlendiği dokularda oksidatif stres sonucunda yüksek kalsiyum ilişkili olarak sentezi artar. FDNC5 molekülünün SSS (Santral sinir sistemi)'de sentezlendiği gösterilmiştir (48-50). FDNC5 molekülünün BDNF sentezini tetikleyerek nöroprotektif etkisi olduğu düşünülmektedir (48). Bu çalışmada İrisin ve BDNF düzeylerinin tayini yapılarak deneysel modelimizde nörotrofik faktör düzeylerinin incelenmesi ve kullanılacak olan terapötiklerin bu faktörler üzerine olası etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Daha çok yaşlı popülasyonda görülmesine rağmen, bütün yaş gruplarında ve toplumun her kesiminde görülen glokomun; sağlık ve ekonomiye çok ciddi etkileri vardır. Bu yüzden glokom, en önemli halk sağlığı problemlerinden biridir.

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. Glokom ve Nöroproteksiyon

Glokom genellikle GİB artışı ile seyreden, RGH dejenerasyonu sonucunda OD'de çanaklaşma ve görme alanı (GA) kaybı oluşturan, kronik optik nöropatidir (51) ve önlenabilir körlüğün en önde gelen nedenidir (52). Glokomun görülme insidansı yaşla birlikte artmakla beraber çeşitli yazarlara göre % 0.47 ile % 8 arasında değişmektedir (53). Halen dünya genelinde 60 milyon insanı etkilemektedir (54). 2020 yılında yaklaşık 80 milyon insanın glokom hastası olacağı öngörülmektedir. Glokomun tanı ve takibinde GİB ölçümünün büyük önemi vardır. Nitekim GİB halen glomatöz hasar gelişiminde en önemli risk faktörüdür (55). Randomize kontrollü klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre; bazı hastalarda başarılı GİB kontrolüne rağmen görme alanı kaybındaki progresyon devam etmekte ve GİB'in normal olduğu hastalardaki RGH hasarının önüne geçilememektedir (56, 57). Bu sonuçlar çok sayıda araştırmacıyı glokomun tek nedeninin artmış GİB olmadığına ve GİB'i düşürmeye yönelik klasik glokom tedavisine ek olarak yeni tedavi stratejileri geliştirmeye yöneltmiştir.

Nöroproteksiyon RGH'ları canlı ve fonksiyonel kılmayı hedefleyen bir terapötik stratejidir. Önemli olan fonksiyonelliktir, çünkü optik sinir aracılığıyla

görsel sinyal gönderemeyen canlı bir RGH, ölü bir RGH kadar etkisizdir. Nöroproteksiyon GİB'nı düşürmeyi amaçlayan klasik yöntemlerden bağımsız, nöronun daha uzun yaşamasını hedefleyen bir stratejidir (7).

Nöroprotektanlar uzun süredir klinik olarak kullanılmaktadır. Serbest radikal süpürücüler, antioksidant ajanlar, apoptozis inhibitörleri, antiinflammatuar ajanlar, NTF'ler, metal iyon şelatörleri, iyon kanalı modulatorleri ve gen tedavisini içeren ve çeşitli hastalıklarda kullanılan 500'den fazla ürün nöroprotektif etkinliklerinden dolayı araştırılmaktadır (7). Bugüne kadar RLZ (Riluzol) ve memantine amiyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Alzheimer hastalığı için, US Food and Drug Administration (FDA) tarafından onay almıştır. Her iki ilacın da glutamat aracılı eksitotoksisiteyi engellediği düşünülmektedir (58).

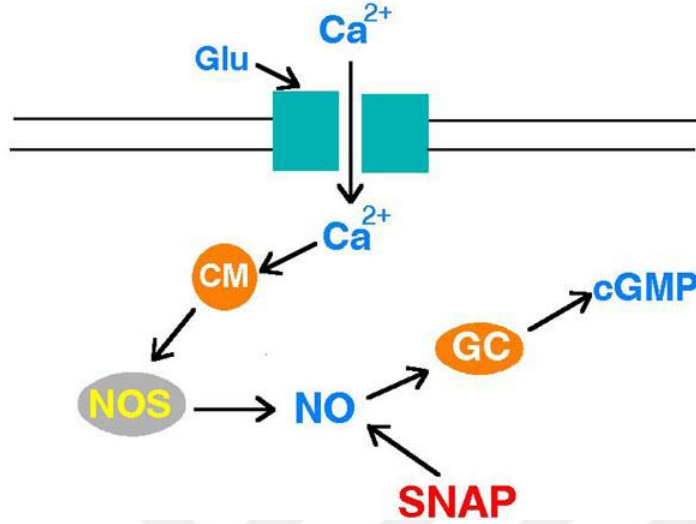
1.2.2. Eksitotoksisite

Günümüzde SSS'ni etkileyen akut veya kronik birçok hastalık patogenezinde eksitator aminoasitlerin önemi bilinmektedir. Eksitotoksisite EAA (Eksitator aminoasit) reseptörlerinin aşırı uyarılmasına bağlı olarak nöronal hasarın indüklenmesidir. Eksitotoksik hasar ilk defa retinada tanımlanmıştır daha sonraki dönemde SSS'nde iskemik ve travmatik hasarın patogenezinde önemli bir komponent olduğu gösterilmiştir. Buna ilaveten birçok kronik nörolojik hastalıkta eksitotoksisitenin rol aldığına dair kanıtlar bulunmuş ve antioksidant tedavi bu durumların bazılarında onaylanmıştır (59).

Deneyisel glokom modellerinde, vitreus içerisindeki glutamat konsantrasyonları, RGH'ya toksik olacak kadar yüksek düzeylerde bulunmuştur. Glokomlu insanlarda postmortem yapılan çalışmalarda da vitreus içerisinde yaklaşık iki katı glutamat yüksekliği tespit edilmiştir (60-63). Deneyisel glokom modellerinde NMDA reseptör blokeri ajanların nöroprotektif etkisinin gösterildiği çalışmalar ile eksitotoksisite glokom ilişkisi desteklenmiştir (64, 65).

Obrenovitch ve ark. (66)'nın glutamat hipotezine göre nöronal toksisiteye bağlı hücre ölümü glutamat sentezindeki artıştan, glutamat geri alınımındaki veya yıkımındaki azalmadan ya da eksitator nöronların inhibisyonundaki azalmadan kaynaklanmaktadır. Bu durumların mevcudiyetinde ortamdaki glutamat miktarı artmakta sonuç olarak nöron dejenerasyonuna ve ölümüne yol açmaktadır (67-69).

Normal glutamaterjik iletimde presinaptik sinir ucundan salınan glutamat sinaptik aralığı geçerek postsinaptik NMDA reseptörlerine bağlanarak onları uyarır. Böylece hücre içi Ca^{2+} miktarı artarken protein kinaz C (PKC) ve NOS aktivasyonu gerçekleşir (70) (Şekil 2).



(PKC: proteinkinaz C, NO: nitrik oksit, NOS: Nitrik oksit sentaz, Glu: Glutamat, CM: kalsiyum kalmomodulin, GC: guanilat siklaz, SNAP: S-Nitroso-N-Acetyl-D)

(Glutamat NMDA reseptörlerine bağlanarak hücre içi kalsiyum miktarını artırır. Bu artış NOS-2 enzimi aktivitesini artırarak hücre içindeki NO seviyelerinde artışa neden olur.)

Şekil 2. Glutamat ve NO ilişkisi.

Salınan NO glutamat salınımını daha da artırır (70). Glutamatın etkisi eksitator sinyal perisinaptik glialarda bulunan glutamat re-uptake taşıyıcı protein tarafından sonlandırılır. Glutamat taşıyıcı sistemi anoksi/hipoksiye yol açan durumlarda bozulur. Glutamat geri alımı için eksternal Na^{+} ve internal K^{+} 'a ihtiyaç vardır. Glutamat geri alınması Na^{+}/K^{+} gradienti ile doğrudan ilişkilidir. Hücre içi asidoz, hücre şişmesi, araşidonik asit ve serbest radikal oluşumu da astrositlere glutamat geri alımını inhibe etmektedir (71) (Şekil 3).



(Glu: glutamat; Asp: aspartat)

(Oksidatif stress ve asidoz durumunda hücre dışı potasyum miktarı artar bu artış ve sodyum potasyum gradientinin ters dönmesi taşıyıcı kanalın da ters olarak glutamati hücre dışına taşımasına neden olur. Dışarı taşınan glutamat tekrar NMDA reseptörlerini uyararak tekrar NO artışı ve oksidasyon ardından asidoz ilişkisine neden olur ve kısır bir döngü oluşur.)

Şekil 3. Asidozun glutamat/aspartat taşıyıcısına etkisi

Hücrel pH yavaş yavaş asitleşirken, hücre dışında K^+ konsantrasyonu artar. Hücre dışı Na^+ ve Ca^{+2} azalır. K^+ artışı hücrelerin depolarizasyonuna ve yine glutamat salınımına neden olur (72). Fazla glutamat salıverilmesine bağlı olarak glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması hücre içi Ca^{+2} artışı ve serbest radikal oluşumuyla nöron hasarına yol açmaktadır (73).

1.2.3. Rat Görme Sistemi

Ratlarda, LGN (lateral genikulat nukleus), parvoselüler ve magnoselüler diye ayrılmamıştır ve ayrı görsel alt sistemler tanımlanmamıştır. Ratlar, insanlara göre, retinada, LGN’de ve görme korteksinde çok az özelleşme gösterirler. Ratlar renkli görmeden yoksundurlar (74). Ratların temporal (zamansal) frekansları ayırt etme yetenekleri vardır. Magno sisteme karşılık gelen bir sistem varken, parvo sistemine karşılık bir sistemlerinin olduğu şüphelidir. Çünkü uzaysal rezolüsyonları insanlardann daha küçüktür (75). Türler arası topografik özelleşme ve algı yeteneklerindeki farklılıklara rağmen, iki tür arasında nitelik olarak parvoselüler ve magnoselüler sistemlerinde benzerlik bulunmaktadır. Primatlara benzer olmakla birlikte insanlara göre ratların görsel yolları RGH’nin morfolojisi, optik traktustaki sinir liflerinin hızı, RGH’nin LGN tabakalarındaki dağılımı, talamokortikal projeksiyonların kortikal dağılımı ve ileti hızları, LGN’deki nöronların reseptif alan özellikleri ve görsel korteks bakımından fonksiyonel ve yapısal olarak farklılıklar

gösterirler. Primer görme korteksinden input alan ekstrasitriyal görsel bölgeler diğer memelilerde olduğu gibi ratlarda da şekilli görmeyi sağlar (74).

1.2.4. Optik Sinir Başı

Optik sinir başı RGH aksonlarının optik sinir kanalında toplanmasıyla oluşur. Sinir lifleri optik disk üzerinde kanala doğru keskin bir dönüş yapar. Bu kanal lamina kribrosa ile örtülüdür. Yaklaşık 1.200.000 adet sinir lifi, 1000 dolayında demetlere ayrılarak, 200-300 adet değişik boyuttaki delikten geçmek durumundadır. Optik disk boyutları önemli varyasyon göstermekle birlikte vertikal 1,88 mm ve horizontal olarak 1,77 mm boyutlarındadır. Skleranın hemen arkasında, myelin kılıfının katılımıyla sinir 3 mm'lik boyuta ulaşır (76). Optik disk aynı zamanda retinal damarların giriş çıkış yaptıkları yerdir (Şekil 4).



Şekil 4. Optik sinir başının normal görünümü

Glokomda OD ve çevresinde bazı değişiklikler görülmektedir. Bu değişiklikler karmaşık ve çoğu kez birbiriyle bağımlı gibi görünmeyen patolojik nedenlerle ortaya çıkmaktadır. GİB artışı, vazospazm, disk yapısında anomaliler, kan akımında anomaliler, anormal kollajen ve venöz dönüşü engelleyen hastalıklar bu etkenlerdendir.

Optik disk, glokomun değerlendirilmesi açısından en önemli bölgedir. Optik disk, intrapapiller ve parapapiller olarak iki kısımda incelenebilir. İkisi arasındaki sınırı, OD ön duvarını yapan Elschnig'in peripapiller skleral halkası belirler. OD çapı, OD şekli, nöroretinal rim büyüklüğü, nöroretinal rim şekli, optik çukurluğun OD alanına göre oranı (C/D), OD hemorajileri, parapapiller koryoretinal atrofi, retinal damar çapları ve SLT, OD morfolojisini belirleyen değişkenlerdir (77).

1.2.5. TUNEL Analizi

Glokom hastalarında normal GA ve OD'e rağmen başlangıç glokom hasarının bir göstergesi olan SLT defekti gösterebilirler GA'da hasar ortaya çıktığında RGH aksonlarının yaklaşık yarısı kaybedilmiş durumdadır. Bu nedenle glokom şüpheli olgularda SLT'nin değerlendirilmesi hem erken tanıda hem de glokom hasarının ilerlemesinin saptanmasında büyük önem taşımaktadır. Glokomda SLT'nin değerlendirilmesi amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Glokomda RHG kaybının nedeni apoptozistir. Dokulardaki apoptotik hücreler TUNEL yöntemi ile tespit edilebilir. TUNEL yöntemi DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar (78, 79). Apoptotik parçalanma sonucu DNA uçları, DNA polimeraz veya Klenow fragmenti kullanılarak işaretlenebilmektedir. Ancak terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak yapılan işaretleme göreceli olarak daha duyarlı bir yöntem olarak bulunmuştur. Konvansiyonel parafin kesitleri, TdT ve nonizotopik işaretli nükleotidler (sıklıkla biyotinli dUTP) kullanılarak yapılan in situ işaretleme ardından floresan veya enzimatik görüntüleme, apoptotik hücreleri diğerlerinden ayırmada yeterli olmaktadır. Bu yöntem yaygın olarak "TdT-dUTP nick-end-labelling" sözcüklerinin kısaltılması olan "TUNEL" yöntemi adıyla anılmaktadır (80, 81) Biz de çalışmamızda gruplar arasında RGH'lerinde apoptotik hücre düzeylerini karşılaştırmak amacıyla TUNEL yöntemini kullandık.

1.2.6. Glokomda Medikal Tedavi

Güncel glokom tedavisinin ana hedefi, en az yan etki ile görme işlevinin korunmasıdır. Yükselmiş GİB glokomda hasar için en önemli risk faktörüdür (82). Bu nedenle her hastanın tedavi planında hedef GİB belirlenmelidir. Hedef GİB, uygulanan tedavi ile glokomun ilerlemesine engel olacak GİB düzeyidir (83).

Genel anlamda PAAG'nin tedavisi medikaldir ve tedavi amacı ile topikal ve sistemik ilaçlar kullanılmaktadır. Bu ilaçlar tek başına, sabit veya sabit olmayan kombinasyonlar halinde kullanılabilir. Tedavinin başarısını etkileyen faktörler; hastanın tedaviye uyumu, ilaç etkileşimleri, yan etkiler ve birlikte olan sistemik hastalıklardır. Yetersiz tedavi uyumu glokomun cerrahi olmayan tedavisini sınırlayan en önemli etkidir (83).

Tablo 1. Glokomun tedavisinde kullanılan ilaçlar

Glokomun Tedavisinde Kullanılan İlaçlar
-Parasempatomimetikler
-Sempatomimetikler
-Beta-Blokörler
-Karbonik Anhidraz İnhibitörleri
-Prostaglandin Analogları
-Hiperotomotik ajanlar

Parasempatomimetik ilaçlar kolinerjik agonistler olarak da adlandırılırlar. Etki mekanizmaları pupil sfinkter kasını kasarak miosis yapmalarına, buna bağlı olarak irisi trabeküler ağıdan uzaklaştırarak trabeküler akımı arttırmalarına dayanır. Başlangıç değerine göre GİB'i % 10-20 azaltırlar (84). En önemli yan etkileri kanaköz bariyer hasarına bağlı üveit gelişimidir. Bu nedenle inflamatuvar ve neovasküler glokomda tercih edilmemelidirler. Pilokarpin en çok kullanılan direkt etkili parasempatomimetiktir. Aynı zamanda bir alkaloiddir. Göz damlası ve pomat formlarında % 2'den % 4'e kadar değişen konsantrasyonlarda bulunur. Göze geçişi oldukça hızlıdır. Uygulamadan 30 dakika sonra GİB düşmeye başlar. Günde dört kez kullanılmaktadır. Aköz dışı akımını arttırarak etki eder. Göz ve alın ağrısı, konjonktival hiperemi, punktat stenoz, bulantı-kusma, diyare, öksürük, bronkospazm gibi yan etkileri bulunmaktadır (85). Karbakol pilokarpine benzer etki gösterir ancak GİB'i düşürmede daha etkindir. % 1.5-%3 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur. Yan etkileri pilokarpinden daha fazla olduğundan pek tercih edilmez (85).

Sempatomimetik ilaçlar adrenerjik agonistler olarak da adlandırılırlar. Bu ilaçlar α ve β adrenerjik reseptörleri uyararak etki ederler. Bu grupta epinefrin ve dibivefrin gibi nonselektif ajanların yanında aproklonidin ve brimonidin gibi selektif alfa-2 adrenerjik agonistler yer alır (86). Epinefrin nonselektif adrenerjik bir ajandır ve günde iki kez kullanılır. % 0.25-%2 arasında değişen konsantrasyonlarda bulunur.

Etki süresi 12-24 saattir. Başlangıçta aköz üretimini arttırmasına rağmen üveoskleral akımı arttırarak GİB'i düşürür. Midriasis etkisi nedeniyle akut aç kapanma glokomu oluşturabileceğinden kullanımı açık açılı glokomlarla sınırlıdır. Lensi olmayan hastalarda maküla ödeme neden olabilir. Yanma, batma, punktal stenoz, fornikslerde adrenokrom birikimi, baş ağrısı, iridosiklit, taşikardi, hipertansiyon, ritm bozuklukları oluşturabilir (87). Dipivefrin epinefrin analogudur. Epinefrinden daha az yan etkiye sahiptir. % 0.1 konsantrasyonda günde iki kez kullanılır (83). Aproklonidin selektif alfa-2 reseptör agonistidir. % 0.5 konsantrasyonda günde iki kez kullanılır. Ön segment laser girişimleri, ön ve arka segment cerrahilerinden önce profilaktik olarak kullanılmaktadır. Etkisi 12 saattir. Kronik kullanımda alerjik reaksiyonlara neden olabilir (86, 87). Brimonidin selektif alfa-2 reseptör agonistidir. RGH ve iç retina tabakaları üzerinde nöron koruyucu etkinliği vardır. Günde iki kez kullanılır. Aproklonidine göre daha az oküler allerji yapar. Kan basıncında düşme, baş dönmesi ve ağız kuruluğu gibi yan etkileri vardır (86, 87).

β blokörler HA yapımını azaltarak GİB'i düşürürler (88). Göz içi basıncını ortalama % 20 kadar azaltmaktadırlar (89). β blokörler nonselektif ve selektif olarak iki gruba ayrılırlar (90). Nonselektif ajanlar, beta-1 ve 2 reseptörlerini bloke ederler. Timolol, metipronolol, karteolol, propranolol, levabutanol, nadalol bu grupta yer alırlar. Selektif Ajanlar, Sadece β -1 reseptörlerini bloke ederler. Betaksolol, atenolol, proktolol bu grupta yer alır. Timolol glokom tedavisinde kullanıma giren ilk β blokördür. β blokörler içerisinde GİB'i düşürücü etkisi en yüksek olan ajandır. Günde iki kez kullanılır. % 0.25 ve % 0.50'lik konsantrasyonları mevcuttur. % 0.1'lik jel formu günde bir kez kullanılır. Etkisi iki saatte maksimuma ulaşır. Etki 12-24 saat sürer. Timolol tedavi başlangıcında HA yapımını % 40 kadar azaltır. Bu etki zamanla azalır. Nadiren oküler yanma ve hiperemi gibi oküler yan etkileri vardır. Asıl yan etkileri sistemiktir. KOAH, astım, sinüs bradikardisi, 2.-3. derece kalp bloğu ve kalp yetmezliği olanlarda kullanılmamalıdır (91). Betaksololün GİB düşürücü etkisi timololden biraz daha azdır. Dışa akım direncini etkilemez. Bir miktar nöroprotektif etkisi vardır. Bu etkisi nedeni ile NTG'de ve hafif artmış GİB'ı olan hastalarda tercih edilir. Selektif β -1 reseptör blokörü olduğu için astım hastalarında tercih edilebilir. Nöroprotektif etkisi nedeni ile GA'nını timololden daha iyi korur. % 0.25-% 0.5 konsantrasyonlarda bulunur (92). Levobunolol ise uzun etkilidir ve

kuru gözü olan hastalarda tercih edilebilir. % 0.5 konsantrasyonda bulunur ve günde iki kez kullanılmaktadır (90). Karteolol intrinsik semptomimetik aktiviteye sahip bir beta blokör olduğu için sempatik sinir sistemini bloke etmez hatta bir miktar aktive eder. Bu etki sayesinde daha az kardiovasküler yan etki oluşturur. Kan-lipid seviyesi üzerine olumlu etkisi bulunduğu için hiperlipidemik hastalarda tercih edilebilir. Günde iki kez kullanılır. % 1 ve % 2'lik konsantrasyonları mevcuttur (90).

Karbonik anhidraz, hidrojen ve bikarbonat dengesi ile su ve karbondioksit reaksiyonunu katalizleyen enzimdir. Bu enzim pigmente ve non pigmente silyer epitelyum hücre membranında lokalizedir (92).

Aköz yapımında enzimin net etkisi, silyer epitel membranını aktif olarak geçip arka kamarada ozmotik gradient oluşturan bikarbonat iyonlarını meydana getirmektir. Gradyent farkından dolayı, su pasif olarak akar ve aköz yapımıyla sonuçlanır. Bu enzimin inhibisyonu ile aköz yapımı % 50 kadar azalır ve dolayısıyla GİB düşer. Aköz dışı akımı ve episkleral venöz basınç üzerine etkisi yoktur (93). Sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri; asetozolamid, metazolamid ve diklorfenamiddir. Topikal karbonik anhidraz inhibitörleri; dorzolamid ve brinzolamiddir. Asetozolamidin antihipertansif tedavide oral diüretik olarak kullanılmaya başlandıktan sonra GİB düşürücü etkisi anlaşılmıştır. Genellikle günde dört kez 250 mg tablet şeklinde oral olarak kullanılır. GİB düşürücü etkisi diüretik etkisiyle ilgili değildir. Hümör aköz yapımını azaltır. Metabolik asidoz yapar. Metabolik asidoz optik sinir kan akımını arttırarak glokomlu hastalarda görme fonksiyonunu korur. Akut GİB yüksekliklerinde etkili bir ilaçtır. Baş ağrısı, el ve ayaklarda uyuşma, tinnitus, işitme azalması, ağızda acı tat, depresyon, hipopotasemi, ürolithiasis, bulantı, libido kaybı, kan diskrazisi gibi yan etkileri vardır (94). Dorzolamid HA yapımını azaltarak etki eden topikal bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. Korneal penetrasyonu yüksektir. % 2'lik dorzolamid günde üç kez topikal olarak kullanılır. Göz içi basıncını yaklaşık % 18 azaltmaktadır (95). İritasyon, yanma ve ağızda acı tat hissi gibi yan etkileri vardır. Steril müköpürülen konjonktivit yapabilir (96). Brinzolamid potent ve seçici bir karbonik anhidraz inhibitörüdür. % 1'lik konsantrasyonu günde iki kez kullanılmaktadır. Ağızda acı tat ve oküler iritasyon gibi yan etkileri vardır (97).

Biyolojik olarak aktif maddeler olan prostoglandinler eikozonoid hormonlardandır. Araşidonik asitten köken alırlar ve hücre membranındaki fosfolipidlerden salıverilirler. Gözde konjonktiva, silyer cisim, iris ve trabeküler dokuda üretilirler. Prostoglandinler düşük konsantrasyonlarda HA'nın uveaskleral dışı akımını arttırarak GİB'i düşürürler. Ancak yüksek konsantrasyonlarda gözde enflamasyona neden oldukları için GİB'i yükseltebilirler (97). Prostoglandinlerin en sık görülen yan etkisi konjonktival hiperemidir. En önemli yan etki iris pigmentasyonundaki artıştır. Bu % 10-20 hastada görülür. Pigmentasyon artışı ilacı kesmekle ilerlemez ve geri dönmez. İris pigmentasyon artışı iristeki melanositlerde melanin sentezinin artması ile ilişkilidir. Bunların yanı sıra yanma, batma, kaşıntı, bulanık görme, göz kapaklarında pigmentasyon artışı, baş ağrısı, yüzde kızarıklık, herpetik keratit nüksü gibi yan etkiler de görülebilir (98). Uzun süre topikal prostoglandin kullanımına bağlı kirpiklerde uzama oluşabilir. Arka kapsül bütünlüğünün olmadığı hastalarda kistoid maküla ödemi görülebilir (99). Latanoprost prostoglandin F2 α analogudur. Korneadan penetre olurken hidrolize olur ve biyolojik olarak aktivite kazanır. Silyer kastaki reseptörlere bağlanarak uveoskleral dışı akımı arttırırlar. Genel olarak GİB'i 6-9 mmHg kadar düşürürler. Önemli avantajları % 0.005'lik solüsyonun günde tek doz uygulanması, düşük kardiyopulmoner etki ve yüksek konsantrasyonda miyotik ajanlar hariç, diğer ilaçlarla kombinasyon yapılabilmesidir. Etkisini 1 saatte gösterir ve bu etki 24 saat devam eder. PAAG'lu olguların % 44'ünde GİB'i % 30 veya daha fazla azalttığı bildirilmiştir (99-103). Latanoprost damlatıldıktan yaklaşık 12 saat sonra en yüksek etki meydana gelir ve akşam kullanımı sabah kullanımına göre daha etkilidir (103). Latanoprostun bir avantajı da nokturnal hipotansiyonu önlemesidir. Uyku sırasında oküler perfüzyonun düşmesine bağlı glokomatöz hasar meydana gelir. Latanoprost NTG'de gece ilerleyen OD hasarını önleyebilir (104, 105). Travoprost prostoglandin F2 α analogudur. Kimyasal yapı olarak latanoprostta benzer. Latanoprostta göre bu reseptörlere daha fazla afinite gösterir. Uveoskleral dışı akımı arttırarak GİB'i azaltır. Günde tek doz % 0.004 konsantrasyonda kullanılır. Göz içi basıncında 7-8 mmHg düşüş sağlar. Latanoprostta göre konjonktiva hiperemisine daha çok neden olur. Soğuk zincire gerek duyulmaması ise latanoprostta üstünlüğüdür (99, 101-104, 106). İsopropil unoproston prostoglandin metabolit analogu olan bir dokosanoiddir. Prostoglandinlerden yapısal

olarak farklıdır. Prostaglandinler gibi FP ve EP reseptörlerine etki etmediği için daha az yan etki oluşturur. Uveoskleral ve trabeküler dışa akımı arttırarak GİB'i düşürür. Günde 2 kez % 0.15 konsantrasyonda kullanılır. GİB'de ortalama 3.3 mmHg kadar azalma sağlar. Nöron koruyucu ve vazodilatör etkinliği vardır. Göz içi basıncını % 11-23 kadar düşürür. GİB'i düşürmede timolol kadar etkindir, diğer prostoglandin analoglarından daha az etkindir (106). Bimatoprost bir prostamiddir. Prostamidler de membran lipidlerinden köken alır, ancak biyosentetik öncüsü araşidonikasit değil anadamiddir. Prostamidler, FP reseptörlerine bağlanmazlar, serbest olarak bulunurlar. % 0.3 konsantrasyonda günde 1 kez kullanılırlar. Soğuk zincire ihtiyaç duymazlar. Latanoprosttan daha fazla hiperemi yaparlar (107). Korneal enzimler tarafından aktivasyon gerektirmeyen aktif bir ilaçtır. Dışa akımı arttırarak etki ederler. Trabeküler dışa akımda % 35, uveoskleral dışa akımda % 50 artış sağlarlar (108).

Hiperozmotik ajanlar kan ve vitreus arasında bir ozmotik gradiyent yaratıp vitreustan sıvı çekerek GİB'i düşürürler. Özellikle GİB'in kısa sürede düşürülmesi gereken akut açı kapanması glokomu gibi durumlarda tercih edilirler. Vitreus dehidratasyonu iris-lens diyaframını geriye doğru çekerek ön kamarayı derinleştirir ve açığı açar (109). Gliserol günde 1-1.5g/kg şeklinde oral yoldan uygulanır. Otuz dakika içerisinde etkisi başlar ve 2-3 saat sürer. % 50'lik solüsyonlar şeklindedir. Daha az diürez yapar. Bulantı, kusma, baş ağrısı ve vertigo yapar. Diabetik hastalarda kullanımı sakıncalıdır (97). İsosorbide günde 1-1.5g/kg şeklinde oral yoldan kullanılır. % 45'lik solüsyonları vardır. Kalori değeri olmadığı için diabetiklerde kullanılabilir. Daha yavaş GİB düşüşü sağlar. Kalp yetmezliği yapabilir (97). Mannitol % 20'lik konsantrasyonlarında 2-5mg/kg dozunda intravenöz (IV) olarak kullanılır. Etkisi yaklaşık 30 dk sonra başlar ve 6 saat kadar sürer. Hızlı etkilidir. En çok tercih edilen hiperozmolar ajandır. Dehidratasyon en önemli yan etkisidir (109). Üre günde 0.5-2g/kg olarak IV uygulanır. Hızlı etkilidir ve kalori değeri yoktur. Metabolize olmadan atılır. Tromboflebit yapabilir (109).

Bütün bu sayılan medikal tedavi seçeneklerine rağmen GİB'i düşürülebilse dahi glokomun progresyonu halen günümüzde tam anlamıyla engellenememektedir. GİB'nin normal seviyelerde olduğu NTG'da da sayılan medikal tedavi seçenekleri kısıtlı olarak kullanılabilir çünkü bütün bu seçenekler artmış GİB'nı hedef

almaktadır. Bu nedenlerden dolayı glokomda nöroprotektif tedavi daha da önemli hale gelmektedir. Günümüzde brimonidin ve betaksololün nöroprotektif özelliği gösterilmiş olsa bile yeterli değildir. Bütün bunlara ek olarak glokomda topikal tedavilerin komplikasyonlarının sıklığı ve hastaların tedaviye uyumu başlı başına bir sorun teşkil etmektedir. Sadece nöroprotektif özelliğinden dolayı glokomda kullanılan bir teropotik ajan henüz yoktur. Biz bu tezde sadece nöroprotektif özelliğinden dolayı glokomda sistemik olarak kolay bir şekilde kullanılabilecek yan etkileri nispeten az teropotik ajanları incelemeyi amaçladık.

1.2.7. Nöroprotektif İlaçlar

Nöroproteksiyon terim olarak hasarlanma ihtimali olan veya ölmekte olan nöronların asıl etken ortadan kaldırılmamış olsa bile muhafaza edilmesi anlamında kullanılmaktadır. Glokomda ise nöroproteksiyonun amacı stresli durumlarda hasarın hedeflediği nöronların yaşamını sürdürecektir sinyal yollarını açık tutmak ve nöron hücre kaybına sebep olan maddelerin veya yolların önüne geçerek RGH hasarını geciktirmek veya durdurmaktır (110). Birçok farmakolojik ilaç, büyüme faktörleri ve diğer bileşenlerin çok sayıda nörolojik ve nörodejeneratif hastalıkta in vitro nöroprotektif olduğu rapor edilmiştir ve bazı ajanların optik sinirde nöroprotektif aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (5).

1.2.7.1. Ca² Kanal Blokörleri

Ca² kanal blokörleri glutamat-NMDA'nın meydana getirdiği hücre içi Ca² akımını engelleyerek etki ederler. Yapılan çalışmalarda Ca² kanal blokörleri alan NTG ve açık açılı glokom hastaları kontrol ile karşılaştırıldığında bu blokörleri kullanan hastalarda glokom progresyonunda düşüş olduğu görülmüştür (111). Bir Ca² kanal blokörü olan flunarizinin farelerde optik sinir transeksiyonundan sonra RGH yaşamsallığını arttırdığı gösterilmiştir (112). Önemli bir nokta ise Ca² kanal blokörlerinin kan basıncını düşürme özelliklerinden dolayı optik sinirde perfüzyonu azaltarak iskemiye yol açabilmeleridir (113).

1.2.7.2. Antiglokomatözler

α_2 -reseptörler retinada gangliyon hücre tabakasında bulunurlar (114, 115). Bu reseptörlerin uyarılması kompleks ve bağımsız yollarla nöronal hücre ölümünü

inhibe eder ve pro-apoptotik yolların inhibisyonu (116) nörotrofik faktör salınımının arttırması (117) ve glutamat salınım inhibisyonu (118) etkileriyle apoptozisi azalttığına yönelik kanıtlar bulunmaktadır. Son zamanlarda α_2 modülasyonunun NMDA reseptör inhibisyonu etkisiyle nöroprotektif etkiye neden olduğu gösterilmiştir (33). Brimonidin oldukça yüksek selektif α_2 -reseptör agonistidir. Rat optik sinir hasarı modelinde alpha reseptör agonisti olan brimonidin RGH kaybını azaltarak nöroprotektif özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (119). Geo ve ark. (117) intravitreal brimodinin rat RGH’de beyinden türeyen nörotrofin ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir.

β -blokerlerin iskemi, hipoksi ve eksitotoksisite durumunda nöronlara kalsiyum ve sodyum iyonlarının akımını inhibe ederek nöroportektif etkilerinin olduğuna inanılır ve RGH’de NMDA-Glutamat affinitesini azaltırlar (120, 121) Günümüzde β -blokerlerin nöropotektif özellikleriyle ilgili geniş klinik çalışmalar bulunmamaktadır (122-125).

1.2.7.3. N-metil-D-aspartat Antagonistleri

N-metil-D-aspartat antagonistleri NMDA reseptörlerinin aşırı uyarımını inhibe ederek aşırı Ca^{2+} akışını önlerler. Bir NMDA antagonisti olan memantin hem kültür hem de in vivo olarak RGH’lerin eksitotoksik cevabını bloke ettiği gösterilmiştir (126). Rat retinal iskemi modelinde sistemik olarak verilen memantin RGH kaybını azalttığı gösterilmiş (127). Ayrıca maymunlarda yapılan deneysel oküler hipertansiyon glokom modelinde SLT kaybı, görsel fonksiyon kaybı ve merkez görme yolağı nöronal bozulmasına karşı nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (128, 129) .

1.2.7.4. Nitrik Oksit Sentaz-2 İnhibitörleri

Nitrik oksit apoptozisten önce gerçekleşen DNA nitrozilasyonu ve fragmentasyonunda önemli rol oynar (130). Neufield ve ark. üç episkleral damarın koterize edilerek oluşturulduğu rat glokom modelinde NOS-2 inhibitörü olan aminoguanidinin oral kullanımının glokomun neden olduğu hasara karşı koruyucu etkisi ile ilgili çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmalarda uygulamadan altı ay sonra tedavi edilmemiş hayvanların OD’leri solgun ve hasarlı iken tedavi alan hayvanların OD’leri normal olarak gözlenmiştir. Tedavi edilmemiş gözlerde RGH kaybının

ortalama %36 olduğu, tedavi edilen gözlerin ise RGH'lerinin %10'dan daha azını kaybettiği histolojik olarak gösterilmiştir (131).

1.2.7.5. Nörotrofinler

Deneyssel modellerde yapılan çeşitli çalışmalar, nörotrofik faktörlerin, özellikle BDNF'nin ve siliyer nörotrofik faktörün (CNTF) optik sinir yaralanmalarından sonra RGC'lerin sağkalım oranını artırabildiğini, ancak bunu doğrulamak için henüz yeterince güçlendirilmiş klinik çalışmaların bulunmadığını göstermiştir (41, 44, 132). Son çalışmalar, BDNF ve LINGO-1 (CNS specific leucine-rich repeat protein) antagonistinin kombinasyonunun uzun vadeli RGC canlılığını arttırdığını göstermiştir. Araştırmaların çoğu BDNF üzerinde yoğunlaşmıştır ve sonuçlar ümit verici olmasına rağmen uzun vadeli RGC canlılığı hala kusurlu olmaya devam etmektedir ve çalışmalar sonuçsuz kalmaktadır (133, 134).

İrisin asıl etkisi yağ dokusu üzerine olan diyet ilişkili kilo kaybında etkili bir hormondur (47). FDNC5 (Fibronectin type III domain containing 5) molekülü olarak sentezlenir ve proteoliz sonucunda aktif formu olan irisine dönüşür. Sentezlendiği dokularda oksidatif stres sonucunda yüksek kalsiyum ilişkili olarak sentezi artar. Son dönemlerde fiziksel aktivitenin beyindeki kognitif fonksiyonları, İrisin-BDNF ilişkisi ile arttırdığı öne sürülmüş ve FDNC5 molekülünün SSS (Santral sinir sistemi)'de sentezlendiği gösterilmiştir (48-50). FDNC5 molekülünün BDNF sentezini tetikleyerek nöroprotektif etkisi olduğu düşünülmektedir ve birçok nörodejeneratif santral sinir sistemi hastalığında etyolojide rolü olabileceğini destekleyen çalışma vardır (48-50). İrisin ile glokom ilişkisini inceleyen ve göz içinde varlığını araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. İrisin yaklaşık 12kDa olan düşük molekül ağırlığı ile kan beyin bariyerini geçebilir ve sistemik nörotrofik tedavi mümkün olabilir. Glokom patogenezinde de oksidatif stres ve kalsiyum ilişkili apoptozis yolları olduğundan biz de bu tezde irisin düzeylerini hem intraoküler dokularda hem de kanda inceledik.

1.2.7.6. Antioksidanlar

Antioksidanlar ROS'u nötralize ederler. CAT, SOD, vitamin C ve E gibi serbest radikal süpürücüler oksidatif hasar sırasında oluşan ürünlerin

temizlenmesinde faydalıdır. Oküler dokular ve sıvılar oksidatif hasara karşı korunmada kilit rol oynayan antioksidanları içerir. Süperoksit kendisini dismutasyona uğratarak H_2O_2 ve O_2 oluşturan, sitoplazmik mitokondrial ve ekstraselüler SOD tarafından uzaklaştırılır (135). SOD ve CAT'ın spesifik aktivitesi hem normal insan kadavra trabeküler ağ tabakasında hem de tavşan iris ve korneal endotelyumunda ölçülmüştür (136, 137).

Glutatyon (GSH) ve askorbik asit insanların HA'da tespit edilebilen düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlardır (39). 12 kontrol ve 38 kronik açık açılı glokom hastasına ait kan askorbik asit seviyeleri ölçülmüş ve anlamlı bir fark görülmemiştir (138). Aksine PAAG teşhisi yeni koyulmuş olan 21 hasta ile 34 aynı yaş ve cinsiyette kontrol örneklerinin plazma GSH seviyeleri ölçülmüş ve glokom hastalarının kontrollerden önemli derecede düşük GSH seviyelerine sahip oldukları gözlenmiştir (139). Laboratuvar sonuçları ve hayvan çalışmaları oksidatif hasarın glokom patogeneziindeki rolünü desteklese de tamamlanan denemeler ek antioksidan (Vitamin E, askorbik asit) kullanımı ve PAAG riski arasında güçlü bir ilişki olduğunu gösterememiştir (140).

1.2.7.7. Eritropoetin

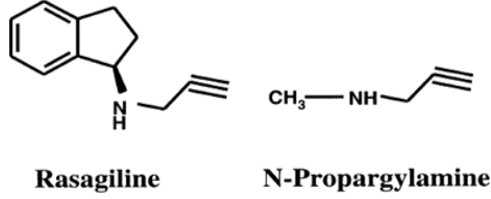
Eritropoetin (EPO) 30.4 kDa ağırlığında esas olarak yetişkin böbrek ve fetal akciğer dokusunda üretilen hematopoetik glikoproteindir. EPO az bir miktarda da olsa santral sinir sisteminde üretilmektedir ve nöron, astrosit, mikroglia hücrelerini de içeren birçok santral sinir sistemi hücresinde EPO reseptörü (EPOR) bulunmaktadır (141). Kan dolaşımında bulunun EPO'nun sadece %10'u renal olmayan orjinlidir (142) ve temel olarak hematopoezi uyarır ve bu nedenle anemi tedavisinde günümüzde kullanılmaktadır (143). Hematopoez etkisine ek olarak anjiojenik, anti-inflamatuvar ve endotel hücre stabilizasyon etkisi vardır (144). Bu etkisini fibroblast growth hormon-2 ve vasküler endotelial growth hormon (VEGF) gibi proanjiojenik faktörlerin sentezini uyararak yapar (145). Patolojik olarak artmış VEGF düzeylerine sahip diyabetik hayvanlarda EPO düzeyinin düşük olduğu saptanmıştır (146). EPO interlökin-6, interlökin-1 β , TNF-a gibi pro-inflamatuvar sitokinleri azaltarak mikroglia hücrelerini aktif statüsünden dinlenme durumuna getirir (147). Ayrıca interlökin-10 sentezini uyararak anti-inflamatuvar etki gösterir

(148). EPO'nun antioksidan etkisi PI3K (Fosfotidilinositol 3-kinase)/Akt (Protein kinaz) yolağının inhibisyonuyla gerçekleşir ve H₂O₂ nin EPO sentezini arttırdığı gösterilmiştir (149) Hu ve ark. (150) EPO'nun silier nörotrofik faktör (CNTF) ve BDNF ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir. EPO'nun nöroprotektif ve nörotrofik etkisi bilinmektedir (151-154). Bu etkinin tam mekanizması bilinmese de EPO opotozisi, ROS salınımını, eksitoksisiteyi azaltır ve progenitör hücre proliferasyonunu artırır (144), ayrıca EPO Bax/Bcl kompleks inhibisyonu yaparak ve caspas aktivasyon sistemini inhibe ederek apoptozisi regüle eder (155, 156). EPO sadece iskemik hastalıklarda değil amyotrofik lateral sklerozis, Parkinson, Alzheimer gibi dejeneratif nörolojik hastalıklarda da tedavi için aday görülmektedir (157, 158). EPO'nun santral sinir sistemine ek olarak retinada da nöroprotektif etkisi olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (159). Retinada EPO sentezlendiği ve EPOR ekspresyonu olduğu bulunmuştur (160). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla sistemik ve intravitreal olarak kullanılan EPO'nun birçok oküler durum üzerine etkileri bildirilmeye devam etmektedir. EPO'nun etkileri deneysel modellerle glutamat ve nitrik oksit toksisitesinde (161), diyabetik retinopatide (162, 163), oksijenle uyarılmış retinopatide (164), glokomda (165), retina dekolmanında (166), aksonotomide (167), prematür retinopatisinde (168), yaşa bağlı makula dejenerasyonunda (169), ışıkla uyarılmış retinal apoptoziste (170), optik nöritte (171), korneal epitelyal erozyonda (172) gösterilmiştir. EPO'nun kan basıncı artışı (kolay regüle edilebilen) ve nadir olarak tromboza neden olabilme ve alerjik reaksiyon gibi yan etkileri vardır. Biz de çalışmamızda glokom modelinde EPO'nun nöroprotektif etkinliğini araştırmayı planladık.

1.2.7.8. Rasajilin

Tüm nöroprotektif ilaçlar arasında rasajilin umut verici görünmektedir. FDA onaylı bir anti-parkinson ilaç olan rasajilin [N-propargyl-(1R)-aminoindan] (Azilect, Teva Pharmaceutical Co.) (Şekil 5), oldukça potent, selektif, geri dönüşümsüz monoamin oksidaz B (MAO-B) inhibitörüdür (173). Rasajilin nörotoksinlerle oluşturulan nörodejeneratif hastalık modellerinde nöroprotektif özelliği olduğu gösterilmiştir (174-178). Rasajilin nöronlarda sitoprotektif gen ekspresyonunu arttırarak (Bcl-s, Bcl-xL) apoptozisi azaltır ve nörodejeneratif hastalıklarda yaşla

beraber nöron azalmasından korur (179). Youdim ve Weinstock rasajilinin mitokondri ilişkili apoptotik hücre ölüm kaskadını inhibe ettiğini göstermişlerdir (180).



Şekil 5. Rasajilinin kimyasal yapısı.

Rasajilinin beyindeki nöroprotektif etkisi propargyl parçasıyla ilişkilidir. Protein ve transkripsiyonel düzeyde belirgin moleküler değişiklikleri indükleyerek nöronal differansiasyon, hücre surveyi ve ölüm yolları, metabolizma/oksidatif stress ve sinyal sistemine etki eder (181). Bütün bu özellikler glokomdaki RGH ölümü için de geçerlidir. Rasajilin hızlı bir şekilde gastrointestinal sistemden abzorbe edilir ve kolaylıkla kan-beyin bariyerini geçer (173). Diğer bir MAO-B inhibitörü olan selejilin gibi toksik metabolitlere dönüşmez. Rasajilinin Parkinson hastalığında önerilen dozu günlük 1mg tablet veya L-dopa ile birlikte günde dört defa 0.5 mg tablettir (173). Daha önce yapılan hayvan modellerinde rasajilinin nöroprotektif özelliğini en iyi 0.5-3 mg/kg arasında gösterdiği bildirilmiş (182). Rasajilin ve rasajilinin propargyl parçasının BDNF gen ekspresyonunu da arttırdığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (183). Rasajilinin diskinezi, baş ağrısı, karın ağrısı, ateş, baş dönmesi gibi yan etkileri bulunmaktadır. BDNF nin glokomda RGH ölümündeki rolü gayet iyi bilinmektedir. Biz de bu çalışmada daha önce belirtilmiş özellikleri göz önünde bulundurularak rasajilinin glokom modelindeki nöroprotektif etkinliğinin incelenmesini amaçlandı.

1.2.8. Oksidatif Stres Markerları

Oksidatif stres reaktif oksijen ürünlerinin intraoküler konsantrasyonlarının fizyolojik sınırlar üzerine çıkması olarak tanımlanabilir (184). Bu durum antioksidan refleks mekanizmalarının artışıyla ROS etkilerine karşı koruyucu cevaba neden olur (185). Oksidatif stres prematür retinopatisi, maküler dejenerasyonlar ve üveit gibi birçok oküler hastalığın patofizyolojisinde olası etkiye sahiptir (184). Retinada doymamış yağ asitlerinin bol miktarda bulunması retinayı serbest radikallere karşı

daha duyarlı hale getirmektedir ve oksidatif stresin glokoma bağımlı nöronal ölümün gelişiminde rolü olduğu bilinmektedir (8, 9). Oksidanlar normal biyolojik süreçte üretilseler de intrasellüler ve ekstrasellüler antioksidanlarla etkisiz hale getirilirler. Sistein, tyrozin, askorbat, glutatyon daha önce HA'de varlığı gösterilen antioksidanlardandır (39). Total oksidan ve antioksidan seviyesi ölçümü doku ve sıvılarda oksidatif stres durumunu belirlemeye yardımcı bir yöntemdir. İçinde belirli konsatrasyondaki oksidatif maddeyi nötralize edebilecek antioksidan enzim bulunan kitlerle ölçümü yapılabilir. Kitin doğrudan nötralizasyon etkisiyle oksidan madde ölçümü, etkisi belli olan bir antioksidan maddeyle karşılaştırarak antioksidan madde düzeyi ölçülebilir.

Humor Aköz'da SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin mevcudiyeti gösterilmiştir. SOD superoksit anyonunu akut dönemde hızlı bir şekilde hidrojen peroksite dönüştürerek bütün göz dokularında etkin görev yapar (186). SOD, ROS metabolizmasında kilit öneme sahip bir antioksidan enzimdir ve süperoksit anyonlarını ortadan kaldırarak dokuları hidroksil radikalleri gibi zararlı ROS formlarından korur (187). SOD ayrıca ROS üretiminin artışı halinde ilk olarak koruyucu etkiyle devreye giren ve ilk olarak üretimi artan indikatördür. NO ürünleri hızlı bir şekilde süperoksit anyonlarıyla etkileşerek peroksinitrit anyonlarına dönüşür. Bu nedenle çalışmamızda SOD enziminin ve TAS-TOS düzeylerinin tayini planlanmıştır.

Bütün bu bilgiler ışığında; glokomatöz stres oluşturmak amacıyla ratların gözlerine intravitreal NMDA enjeksiyonu yaparak apoptozisi indüklemeyi amaçladık. Sham grupları ve tedavi gruplarında NO etkisini incelemek amacıyla intraoküler NOS-2 düzeyini, oksidatif stresi incelemek amacıyla intraoküler TAS-TOS-SOD düzeylerini, nörotrofik etkiyi incelemek amacıyla ise BDNF-İrisin düzeylerini intraoküler ve sistemik olarak ölçmeyi amaçladık. BDNF kan beyin bariyerini geçemeyen ve bu nedenle santral sinir sistemi hastalıklarında kullanılamayan potent bir nörotrofik faktördür ve daha önce bahsettiğimiz gibi sentezi irisin hormonu ile ilişkili gibi görünmektedir(bkz. Nörotrofinler). İrisin düzeyi daha önce intraoküler dokularda ölçülmemiştir fakat sistemik olarak kanda ölçülmüştür. Bu nedenle BDNF-İrisin ilişkisini incelemek amacıyla bu markerların düzeylerini hem intraoküler hem de sistemik olarak ölçmeyi planladık.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Fırat Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde yetiştirilen 35 adet Sprague Dawley cinsi, ortalama 500 gram ağırlığında 12 haftalık erkek rat kullanıldı. Ratlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde sirkadiyen ritme uygun olarak, 23 °C oda ısısında, kafesler içinde, sürekli serbest yem ve su verilmek suretiyle beslendi.

2.1. Anestezi Tekniği ve Apoptosis İndüksiyonu

Anestezi ve analjezi uygulamasında intramüsküler 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı ve derin anestezi olması için intramüsküler enjeksiyondan 8 dakika sonra tüm hayvanların sağ gözlerine topikal %1'lik proparacain hidroklorid damlatıldı. Hayvanların sağ gözlerine 3 dakika %5 lik povidone iodide uygulandıktan sonra limbusun yaklaşık 1mm gerisinden 30-gauge iğne kullanılarak intravitreal 200 nmol NMDA (5 µl de 40 mM NMDA) enjekte edilerek apoptosis indüksiyonu planlandı. Operasyon sonrasında gözler serum fizyolojik ile yıkanıp, antibiyotikli damla tatbik edildi. Hayvanların sol gözüne herhangi bir işlem yapılmadı.

2.2. Gruplandırma

Ratlar her bir grupta 7 denek olacak şekilde randomize 5 gruba ayrıldı.

Grup 1 (kontrol): Herhangi bir işlem yapılmadı ve tedavi verilmedi. Sekizinci günde analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi ve kan örnekleri alındı.

Grup 2 (sham 1): Deneklere apoptosis indüksiyonu uygulandı ve indüksiyondan 24 saat önce ve hemen sonrasında Phosphate buffered saline (PBS) solüsyonu intraperitoneal olarak verildi. İndüksiyondan 7 gün sonra analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi ve kan örnekleri alındı.

Grup 3 (sham 2): Deneklere apoptosis indüksiyonu uygulandı ve indüksiyondan 24 saat önce ve hemen sonrasından başlayarak günlük olarak oral gavaj yöntemiyle serum fizyolojik verildi. İndüksiyondan 7 gün sonra analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi ve kan örnekleri alındı.

Grup 4 (Eritropoetin tedavi grubu): Deneklere apoptozis indüksiyonu uygulandı ve indüksiyondan 24 saat önce ve hemen sonrasında 5000 ü/kg eritropoetin (Epobel®) intraperitoneal olarak verildi. İndüksiyondan 7 gün sonra analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi ve kan örnekleri alındı.

Grup 5 (Rasajilin tedavi grubu): Deneklere apoptozis indüksiyonu uygulandı ve indüksiyondan 24 saat önce ve hemen sonrasından başlayarak günlük olarak oral gavaj yöntemiyle serum fizyolojikle sulandırılmış rasajilin (Azilect®) 1 mg/kg verildi. İndüksiyondan 7 gün sonra analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edildi ve kan örnekleri alındı.

2.3. İntraokuler Doku Örneklerinin ve Kan Örneklerinin Alınması

Hayvanlara analjezi ve anestezi verilerek gözler enükle edilmiştir. Ratlardan çıkarılan bulbuslardan optik sinir ve retina OD'den horizontal yönde 1 mm uzaklığa kadar olacak şekilde disseke edilerek RGH'de apoptozisin TUNEL (terminal deoxyribonucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin end labeling) işaretleme tekniği ile boyanarak gösterilmesi için patoloji laboratuvarına gönderildi. Geriye kalan retina, vitreus, HA, iris, koroid dokuları NOS-2, TAS-TOS, SOD, İrisin, BDNF düzeylerinin tespiti için biyokimya laboratuvarına gönderildi. Genel anestezi altında dekapitasyon işlemi esnasında kan örnekleri alınarak serumda irisin ve BDNF düzeylerinin tespiti için biyokimya laboratuvarına gönderildi.

2.4. TUNEL Metodu

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

Xylene ile deparafinize edilen dokular, dereceli alkol serilerinden geçirilerek phosphate buffered saline (PBS) ile yıkandı. 0.05% 'lik proteinase K ile 10 dakika inkübe edilen dokular, endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için % 3 hydrogen peroxide ile 5 dakika inkübe edildi. PBS ile dokular yıkandıktan sonra, 6 dakika Equilibration Buffer ile inkübe edilip, 37°C' de nemli ortamda çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdT Enzyme) ile 60 dakika inkübe edildi. Stop/Wash Buffer da 10 dakika bekletilen dokular, Anti-Digoxigenin-Peroksidaz ile 30 dakika

işlem gördü. Diaminobenzidine (DAB) substratı ile apoptotik hücreler incelendi. Harris hematoksilin ile zıt boyası yapılan kesitler uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilin ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 1 x 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik olan en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücrelere oranlanması ve paydanın 100'e eşitlenmesi ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplanarak istatistiksel analizleri yapıldı

Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. TUNEL Boyama Prosedürü

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3X15 dakika
3	%100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1: 500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7	PBS	3X5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9	PBS	3X5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11	Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer+%30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3X5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3X5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilin	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	%80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21	Xylol	2X5 dakika
22	Kapatma mediyumu kullanılarak lamel ile kapatma.	

2.5. Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

2.5.1. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Deney süresi sonunda kan örnekleri biyokimyasal analizler için jelli biyokimya tüplerine alındı. Alınan kanlar 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek (Heraeus Biofuge Stratos; Kendo Laboratory Products, Osterode-Germany) serumları ayrıldı, eppendorf tüplere porsiyonlanarak çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Biyokimyasal değerlendirmeler için intraoküler doku örnekleri %0,9'luk soğuk (+4°C) sodyum klorür (NaCl) ile yıkandı ve kurutma kâğıdı ile kurutuldu ve uygun porsiyonlara ayrılarak çalışma gününe kadar -80°C'de saklandı. Toplanan serum ve intraoküler doku örneklerinden BDNF ve İrisin düzeyleri, SOD enzim aktiviteleri, TAS, TOS seviyeleri kendilerine uygun metodlar kullanılarak ölçüldü ayrıca Western Blot yöntemi ile gözde NOS-2 protein ekspresyon düzeyleri ortaya konuldu.

2.5.2. Doku homojenizasyonu

-80 °C'de derin dondurucuda bulunan örnekler çıkarıldı. Çıkarılan dokular 100mg şeklinde hassas terazide (SARTORIUS GMBH, Germany) tartıldı ve proteaz ve fosfataz inhibitör içeren RIPA Lysis Buffer (Santa Cruz Biotechnology, Inc. USA) çözeltisi içine aktarıldı (1;9, w;v). +4°C'de buz kalıpları içinde, homojenizatör ile (Ultra TurraxType T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 16000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Elde edilen homojenat 5000xg'de 1 saat (+4°C'de) santrifüj edilerek üstteki süpernatantları alındı. Tekrar santrifüj edilerek temiz bir lizat oluşturuldu ve gerekli biyokimyasal ölçümleri yapmak için -80 ° C'de muhafaza edilecek şekilde eppendorf tüplerine aktarıldı.

Bu aşamada 17 numaralı rata ait intraoküler doku örnekleri homojenizasyon esnasında teknik nedenlerle kullanılamaz hale geldiğinden çalışmadan çıkartıldı.

2.5.3. Doku Örneklerinde Total Protein Miktarlarının Tespiti

Süpernatantlarda total protein miktarları, Qubit protein ölçüm kiti (Qubit Protein Assay Kit, Invitrogen, USA) ve ölçüm tüpleri (Qubit Assay Tubes 500 µL,

İnvitrogen, USA) kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak, Qubit Fluorometer cihazında (İnvitrogen, USA) tespit edildi. Sonuçlar mg/ml olarak belirtildi.

2.5.4. BDNF ve İrisin Düzeylerinin ölçümü

Brain Derived Neurotrophic Factor düzeyleri, rat BDNF ELISA kiti (Sunred Biological Technology Co., Ltd., katalog no; 201-11-0477, Shanghai, China), irisin düzeyleri, rat İrisin ELISA kiti (Sunred Biological Technology Co., Ltd., katalog no; 201-11-1713 Shanghai, China) kullanılarak, kit prosedürlerine uygun olarak hem serum hem de doku süpernatantlarında çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm’de okutuldu. Plate yıkamalarında ise otomatik yıkayıcı olarak Bio-tek ELX50 (BioTek Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar serum örnekleri için ng/mL, doku için ng/mg protein, olarak belirtildi. Sonuçlar verilirken, sulandırma oranı göz önüne alınarak ve dilüsyon faktörü ile çarpılarak hesaplandı. BDNF için kitin ölçüm aralığı 0,04 - 10 ng/mL, minimum ölçülebilir düzeyi 0,035 ng/mL idi. İrisin için kit ölçüm aralığı 0,3 - 90 ng/mL, minimum ölçülebilir düzeyi 0,247 ng/mL idi.

2.5.5. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

Süper Oksit Dismutaz enzim Aktiviteleri; SOD ölçüm kiti (BioAssay Systems, Enzy Chrom[™] Superoxide Dismutase Assay Kit, cat no; ESOD-100, USA) kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak hem serum hem de doku süpernatantlarında çalışıldı. Absorbanslar ELX800 ELISA okuyucusunda spektrofotometrik olarak 1saat ara ile 440 nm’de okutuldu ve absorbans farkları kaydedildi. İki ölçüm arasındaki absorbans farklarının, en yüksek absorbansa sahip standartın iki ölçüm arasındaki absorbans farkından tek tek çıkartılması ile elde edilen standart eğri grafiğinden yararlanılarak serum ve doku süpernatantlarındaki SOD enzim aktiviteleri ölçüldü. Sonuçlar, sulandırma oranı göz önüne alınarak ve dilüsyon faktörü ile çarpılarak hesaplandı. Birimler, serum örnekleri için U/mL, doku için U/mg protein olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı 0,05 - 3 U/mL idi.

2.5.6. TAS Düzeylerinin Ölçümü

Total Antioksidan Seviyesi düzeyleri Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı’nda otoanalizörle (Siemens Advia 2400 ChemistrySystem, Siemens,

Tokyo, Japonya) Rel Assay Total Antioxidant Status Test Kiti (REF: RL0017, LOT: 0R14046A2, Mega Tıp Sanayi ve Ticaret Ltd, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak hem serum hem de doku süpernatantlarında ölçüldü. Sonuçlar doku ve serumlar için mmol Trolox Equiv./L olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı 1,20-1,50 mmol/L, lineeritesi ise 0-2,75 mmol Trolox Equiv./L idi.

2.5.7. TOS Düzeylerinin Ölçümü

Total Antioksidan Seviyesi düzeyleri Fırat Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda otoanalizörle (Siemens Advia 2400 ChemistrySystem, Siemens, Tokyo, Japonya) Rel Assay Total Oxidant Status Test Kiti (REF: RL0024, LOT: a1150570, Mega Tıp Sanayi ve Ticaret Ltd, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak intraoküler doku örneklerinde ölçüldü. Sonuçlar doku ve serumlar için $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak belirtildi. Kitin ölçüm aralığı ise 4-6 $\mu\text{mol/L}$, lineeritesi ise 0-33,5 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L idi.

2.5.8. NOS-2 protein ekspresyon düzeylerinin tespiti

Total protein miktarları bilinen süpernatantlardan kromojenik deteksiyon yöntemi kullanarak % 4-12 Bis-Tris jel'e 20 μL 'lik protein olacak şekilde yükleyeceğimiz örnekler hazırlandı. Yüklenen total protein miktarının eşit olabilmesi için (30 μg), +4⁰C'de buz kalıpları üzerinde süpernatantlara; prosedürde belirtildiği üzere 1 μl NuPAGE[®] Sample Reducing Agent (10X), 2,5 μl NuPAGE[®] LDS Sample Buffer (4X) ve distile su eklenerek son hacimler 20 μL 'ye tamamlandı. Hazırlanan bu karışımlar 10 dakika 70 °C'de Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, USA) cihazında denatüre edildikten sonra -20 °C'de 5 dakika bekletildi.

Invitrogen firmasından temin edilen SURELOCK X CELL dikey jel elektroforez sisteminde kasetlerin ilk kuyucuğuna SeeBlue Plus2 Pre-stained Standardından (Invitrogen[™], USA), diğer kuyucuklara hazırlamış olduğumuz örnek karışımlarından eklendi. Elektroforez Güç Kaynağı (Bio-Rad Laboratories, USA) 150V, 1 saate ayarlandı ve elektroforezde proteinler yürütüldü. Jel kasetleri jel bıçağı kullanılarak bağlantı noktalarından ayrıldı. Yürüttüğümüz jel distile su içine dikkatlice alındı. iBlot dry blotting sistemini kullanarak PDVF membranına proteinler transfer edilerek blotlama işlemini gerçekleştirildi. β -Aktin ve NOS-2 proteinlerinin membran üzerinde daha önceden markıra göre bant yerleri

belirlenmiş olan aralıktan membran steril bir bisturi yardımıyla kesilerek 2 membrana bölündü ve WesternBreeze® Chromogenic Western Blot Immunodetection Kit–Anti-Mouse (WB7103, lot: 1862244 İnvitrogen™, USA) kiti prosedürüne uygun şekilde önce bloklama ardından yıkama işlemlerini gerçekleştirildi. Bloklama işlemlerinin ardından, Referans primeri olarak seçilen Mouse Monoklonal Anti-β-Aktin primer antikoru (MA1115, BOSTER BIOLOGICAL TECHNOLOGY Co., Ltd., USA) ve Hedef primeri olarak seçilen Mouse Monoklonal Anti-NOS-2 primer antikoru ((C-11): sc-7271, lot: # E2417, Santa Cruz Biosearch, USA) bloking solüsyonlarının içerisinde belirtilen oranlarda eklenerek 1 saat inkübe edildi. Yıkama solüsyonları ile arındırılmış membranlar üzerine sekonder antikorlar eklenerek inkübasyona bırakıldı. Tekrar yıkamalar ardından Chromogenic substrat eklendi ve proteinlerin görünür hale gelmesi sağlandı. Yapılan tüm basamaklar sonucunda ortaya çıkan bantlar image-j programı kullanılarak görüntülendi ve referans proteinimiz β-Aktin proteini ile standardize edilerek rölatif protein miktarları hesaplandı.

(Normalize Edilmiş Veri= NOS-2 değerleri/ β-Aktin değerleri)

2.5.9. İstatistiksel analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 22,0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Her değişken için normallik testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uyan veriler için parametrik olan Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve onu takiben Tukey Posthoc Testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uymayanlarda nonparametrik olan Kruskal Wallis Varyans Analizi ve onu takiben Mann-Whitney U Testi kullanılmıştır. Ayrıca ilişkili değişkenler için Wilcoxon testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

Deney süresince deneklerin genel görünüm ve hallerinde değişiklik gözlemlenmemiştir.

3.1. TUNEL Boyama Sonuçları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; Kontrol (Şekil 7) grubuyla kıyaslandığında SHAM 1 (Şekil 8) ve SHAM 2 (Şekil 9) gruplarında TUNEL pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p<0,001$, $p<0,001$). SHAM 1 ve SHAM 2 grupları arasında TUNEL pozitifliği açısından anlamlı bir fark yoktu ($p=0,977$). SHAM 1 ve SHAM 2 grupları ile kıyaslandığında ise ERİTROPOETİN (Şekil 10) ve RASAJİLİN (Şekil 11) gruplarında TUNEL pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış bulundu (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$). Bununla birlikte ERİTROPOETİN ve RASAJİLİN grupları arasında TUNEL pozitifliği açısından belirgin bir fark izlenmedi ($p=0,977$). Tablo 3. Apoptotik indeks (%)

Tablo 3. Apoptotik indeks (%)

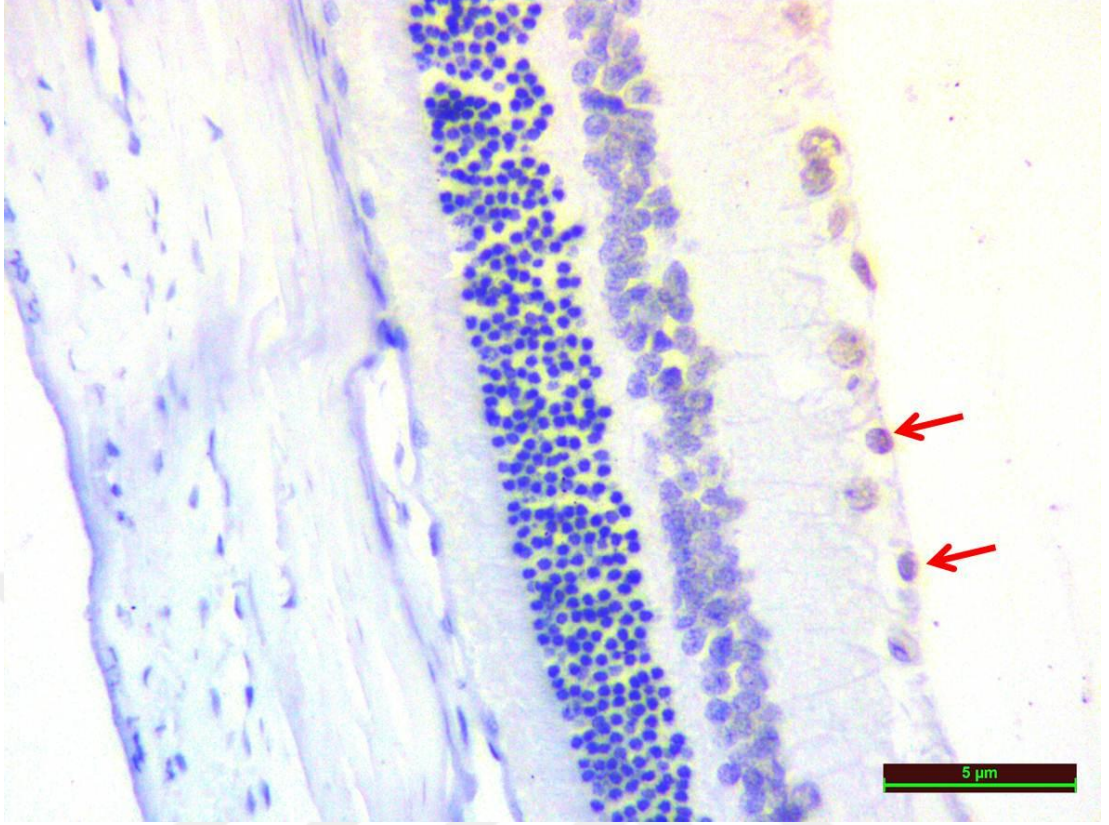
GRUP	Apoptotik indeks (%)
KONTROL	1,83±0,75
SHAM 1	11,66±2,06*
SHAM 2	12,66±2,94*
ERİTROPOETİN	5,33±1,50**
RASAJİLİN	4,80±1,30***

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

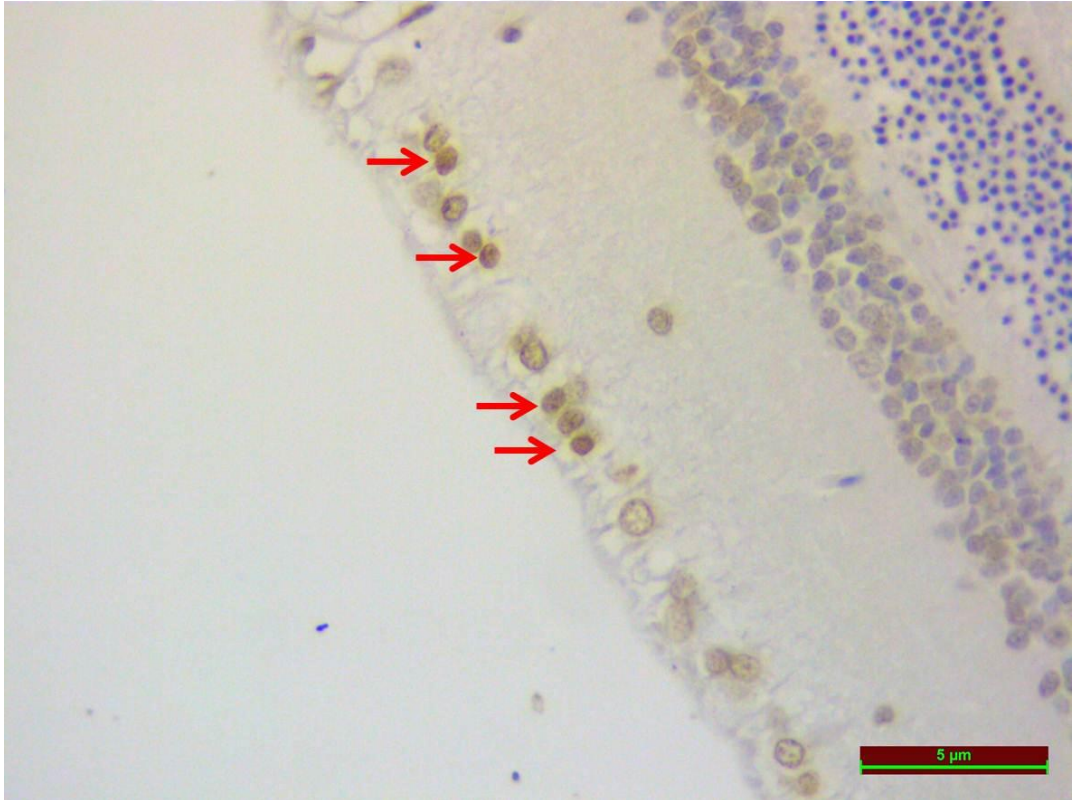
* Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında $p < 0,001$

** SHAM 1 grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$

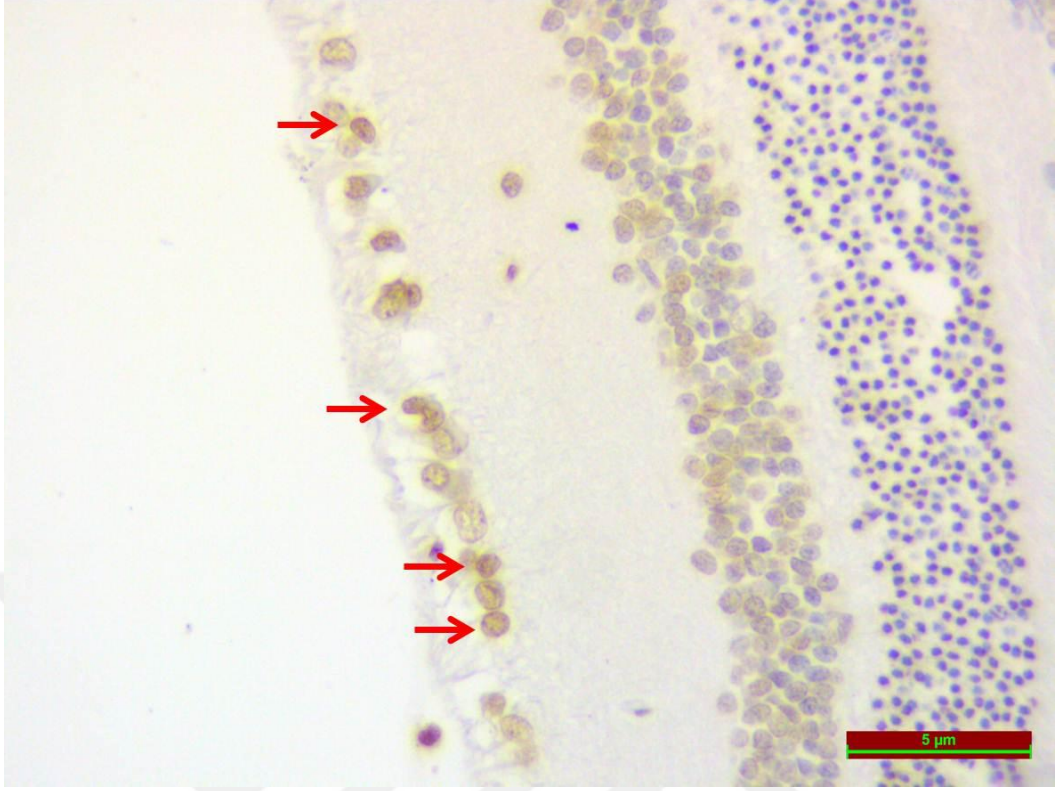
*** SHAM 2 grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,001$



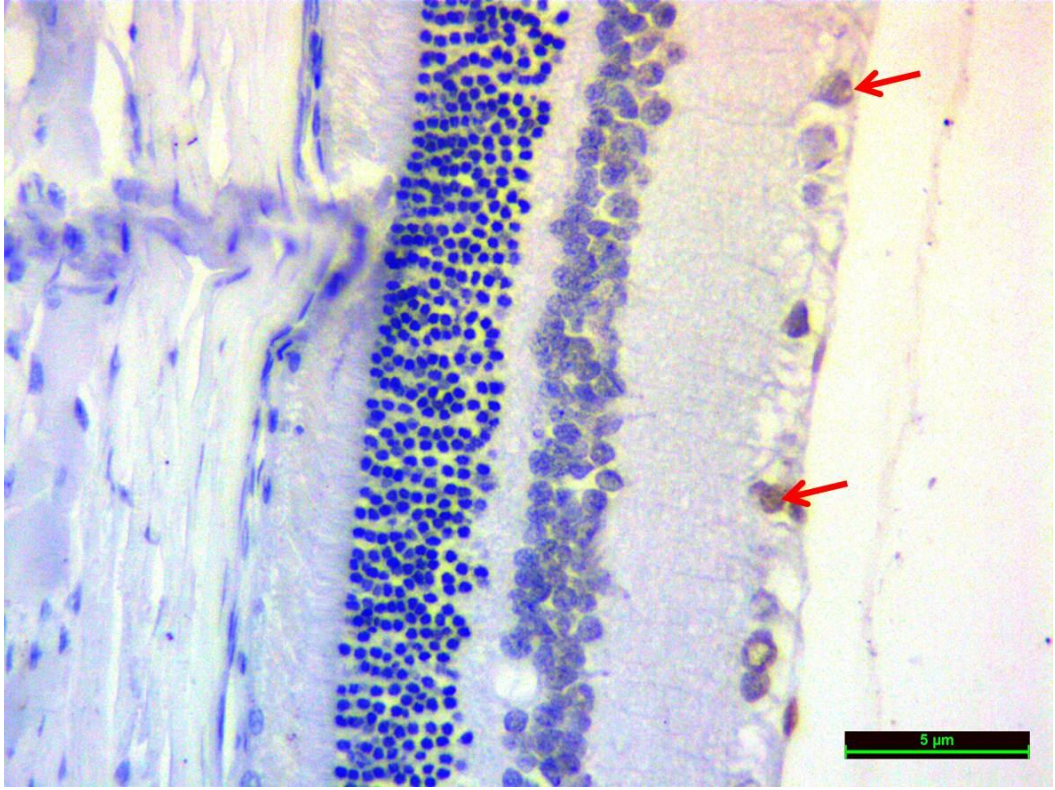
Şekil 6. Kontrol grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri (kırmızı ok).



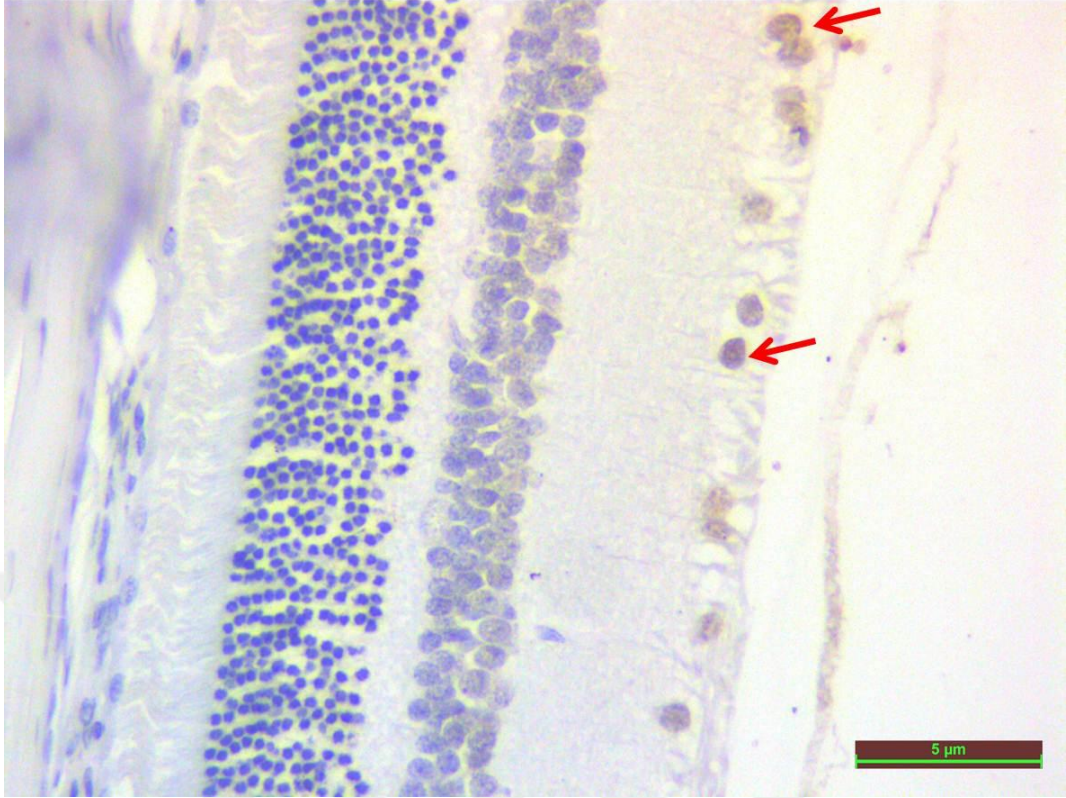
Şekil 7. Sham 1 grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri (kırmızı ok).



Şekil 8. Sham 2 grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri (kırmızı ok).



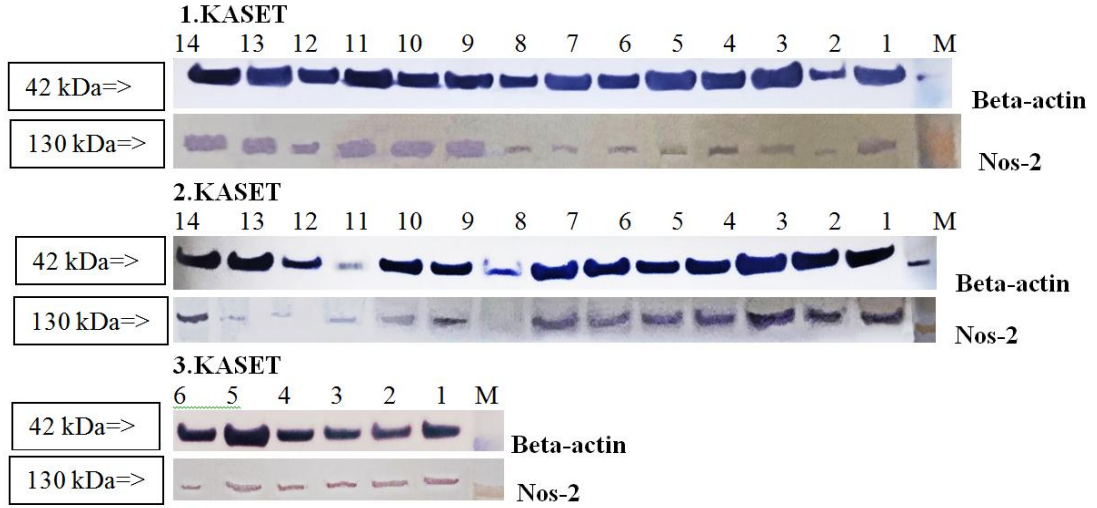
Şekil 9. ERİTROPOETİN grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri (kırmızı ok).



Şekil 10. RASAJİLİN grubuna ait retina dokusunda TUNEL pozitif RGH'leri (kırmızı ok).

3.2. NOS-2 Düzeyi Sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerine ait intraoküler doku örneklerindeki NOS-2'nin normalize edilmiş verileri tablo 4'de gösterilmiştir. Şekil 12'de izlendiği gibi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham 1 ve sham 2 gruplarında NOS-2 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttur ($p=0,02$; $p=0,011$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p=0,801$). Eritropoetin ile tedavi edilen grup sham 1 grubu ile karşılaştırıldığında NOS-2 düzeylerinde anlamlı olarak azalma vardır ($p=0,025$). Rasajilin ile tedavi edilen grup SHAM 2 grubu ile karşılaştırıldığında yine anlamlı şekilde düşük olduğu görülmüştür ($p=0,031$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,565$). Eritropoetin ve rasajilin grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p=0,949$; $p=806$).



Resimlerin tümünde; üstteki membranda Western Blot yöntemi ile elde edilmiş Beta-actin proteini bant görüntülerini, hemen altındaki membranda ise Western Blot yöntemiyle elde edilmiş NOS-2 protein bantları sergilenmektedir.

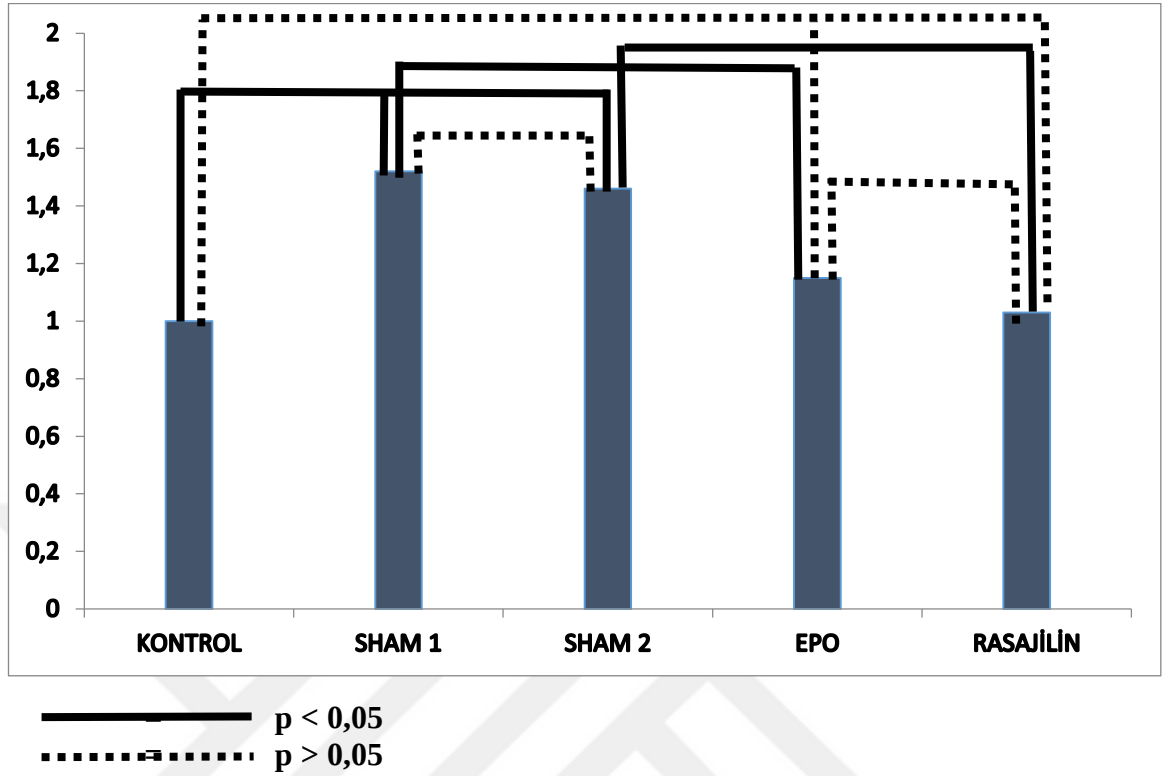
1.KASET; 1 ve 7. Bantlar arasındaki görüntüler Kontrol grubuna ait olup, 8 ile 14. Bantlar arası Sham1 grubunu ifade etmektedir,

2.KASET; 1 ve 6. Bantlar arasındaki görüntüler Sham2 grubuna ait olup, 7 ile 13. Bantlar arası Eritropoetin grubunu ifade etmektedir.

2.KASET; 14. Bant ve **3.KASET**de bulunan 6 bant ise Rasajilin grubunu ifade etmektedir.

Şekil 11. A-B-C Western Blot analizleri sonucu Beta-actin ve Nos-2 proteinlerine ait bant görüntüleri

NOS-2 Ortalama Expresyon Düzeyleri (Normalize edilmiş veriler)



Şekil 12. İntraoküler Dokularda Ortalama Nos-2 Expresyon düzeyi

Western Blot analiz sonuçlarına göre gruplar arasındaki alınan intraoküler dokularda Nos-2 protein ekspresyon düzeyleri. Kontrol grubu verileri ekspresyon değerleri %100 kabul edilmiştir buna göre sham1 grubunda ekspresyon %52 (1.52), sham2’de %46 (1.46), Eritropoetin grubunda %15 (1.15), Rasajilin grubunda %0.3 (1.03) artmıştır.

Tablo 4. Gruplara göre ortalama NOS-2 düzeyleri (Normalize edilmiş veriler)

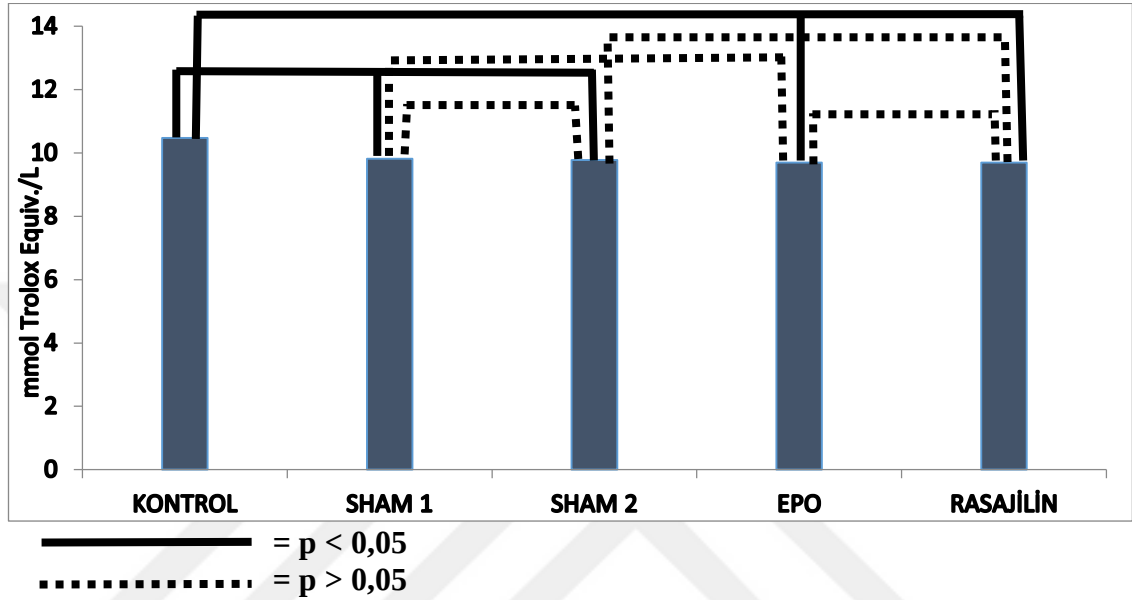
	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
NOS-2 (Ort.± SD)	1.00±0.22	1.52±0.46	1.46±0.31	1.15±0.90	1.03±0.30

3.3. Total Antioksidan (TAS) Düzeyi Sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerine ait intraoküler doku örneklerinde TAS düzeyleri tablo 5’de gösterilmiştir. Şekil 13’de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki TAS seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p=0,031, p=0,002$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,866$). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki örneklerde TAS düzeylerinde sham 1 grubuna göre anlamlı bir değişiklik görülmemiştir ($p=0,626$). Benzer olarak Rasajilin ile tedavi edilen gruptan alınan örnekler ile sham 2 grubu

karşılaştırıldığında TAS düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0,702$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,981$). Eritropoetin ve rasajilin gruplarına ait örneklerin TAS düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0,001$, $p=0,003$).

Total Antioksidan (TAS) Düzeyi Sonuçları (mmol Trolox Equiv./L)



Şekil 13. Gruplara göre ortalama TAS düzeyleri

Tablo 5. Gruplara göre ortalama TAS düzeyleri

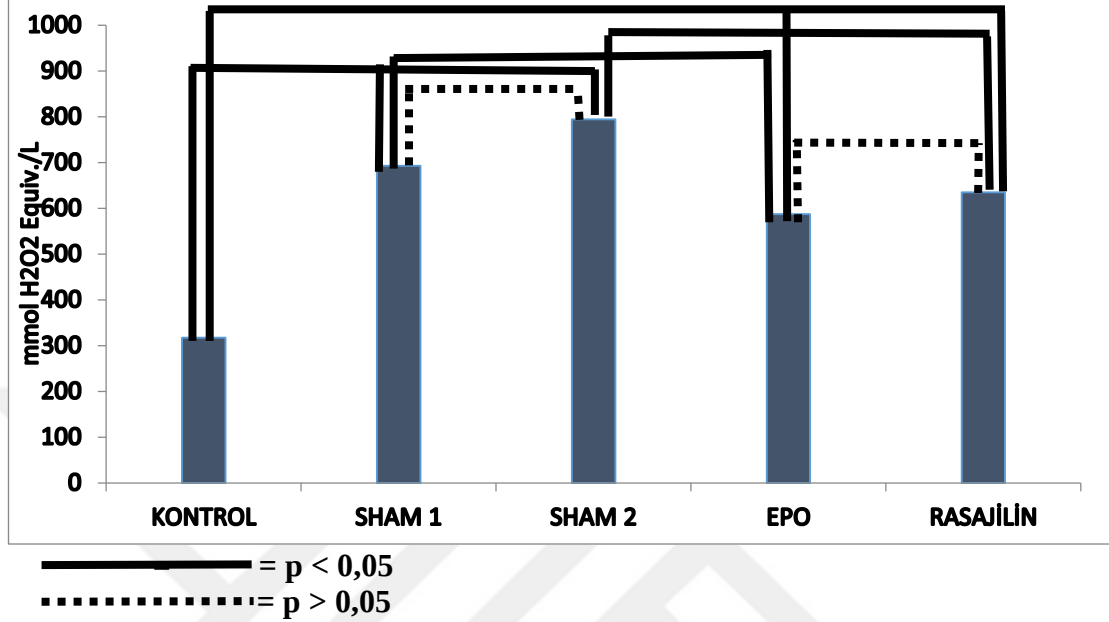
	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
TAS (mmol Trolox Equiv./L) (Ort.±SD)	10,47±0,29	9,82±0,57	9,78±0,32	9,70±0,20	9,70±0,40

3.4. Total Oksidan (TOS) Düzeyi Sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerine ait intraoküler doku örneklerinde TOS düzeyleri tablo 6’de gösterilmiştir. Şekil 14’de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki TOS seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttur ($p=0,010$; $p<0,001$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,406$). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki örneklerin TOS düzeyleri sham 1 grubuna göre anlamlı derecede düşük izlenmiştir ($p=0,048$). Rasajilin ile tedavi edilen gruptaki örneklerin TOS düzeylerinin sham 2 grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür ($p=0,004$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p=0,316$). Eritropoetin ve rasajilin grupları

ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TOS düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$; $p<0,001$).

Total Oksidan (TOS) Düzeyi Sonuçları (mmol H₂O₂ Equiv./L)



Şekil 14. Gruplara göre ortalama TOS düzeyleri

Tablo 6. Gruplara göre ortalama TOS düzeyleri

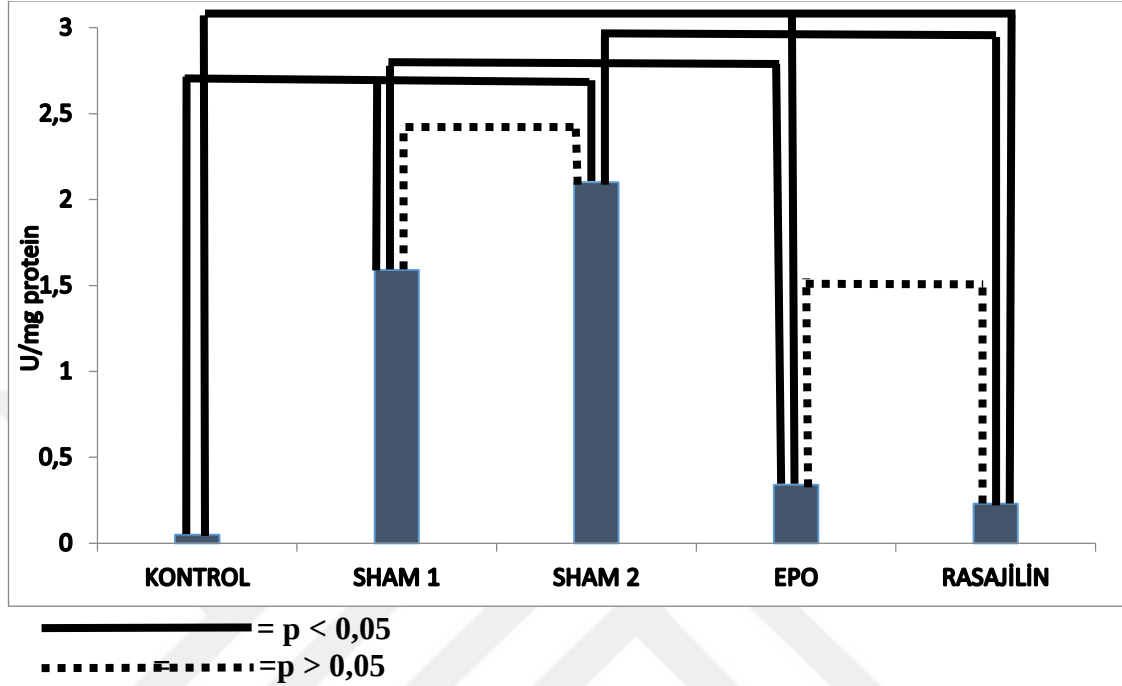
	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
TOS(mmol H ₂ O ₂	317,05	692,60	794,15	587,12	634,74
Equiv./L)(Ort.±SD)	±74,41	±174,66	±53,28	±58,27	±105,21

3.5. SOD Düzeyi Sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerine ait intraoküler doku örneklerinde SOD aktivite düzeyleri tablo 7’de gösterilmiştir. Şekil 15’de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki SOD aktivite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttur ($p=0,001$; $p=0,005$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,309$). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki örneklerde SOD aktivite düzeyleri sham 1 grubuna göre anlamlı derecede düşük izlenmiştir ($p=0,001$). Rasajilin ile tedavi edilen gruptaki örneklerde SOD aktivite düzeylerinin sham 2 grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür ($p=0,008$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir.

($p=0,481$). Eritropoetin ve rasajilin grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD aktivite düzeyi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,008$, $p=0,016$).

SOD Düzeyi Sonuçları (U/mg protein)



Şekil 15. Gruplara göre ortalama SOD düzeyleri

Tablo 7. Gruplara göre ortalama SOD düzeyleri

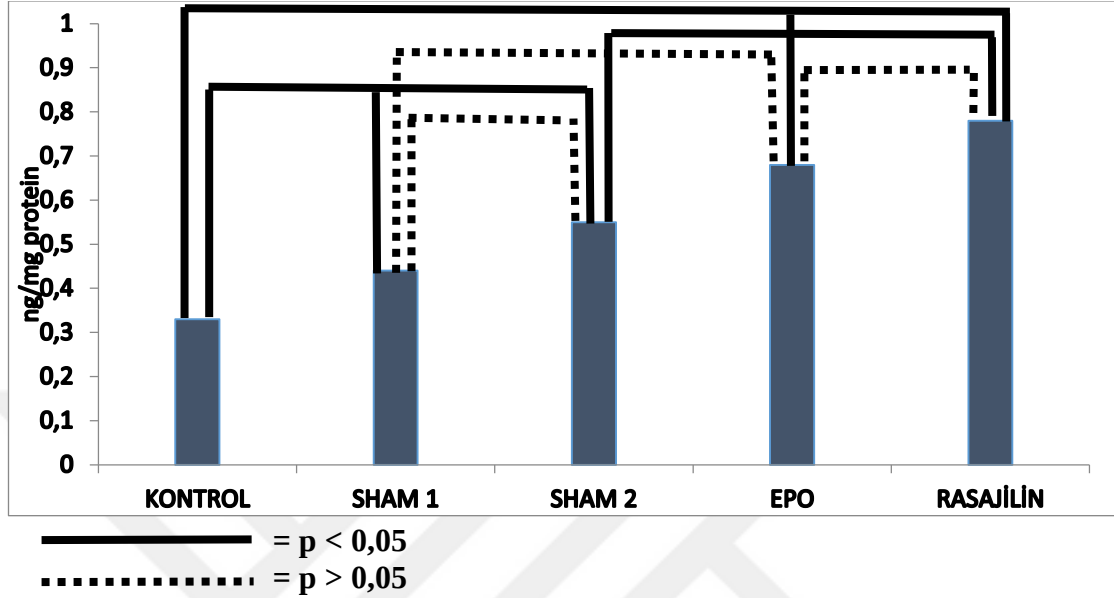
	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
SOD (U/mg protein) (Ort.± SD)	0.05±0.06	1,59±0,62	2,10±1.07	0.34±0.20	0,23±0,6

3.6. BDNF Düzeyi sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerine ait intraoküler doku örneklerinde BDNF düzeyleri tablo 8’de gösterilmiştir. Şekil 16’da görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki BDNF seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttur ($p=0,034$ $p=0,002$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,69$). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki örneklerde BDNF düzeyleri sham 1 grubuna göre görece olarak artış gösterse de anlamlı seviyeye ulaşamamıştır ($p=0,07$). Rasajilin ile tedavi edilen gruptaki örneklerde BDNF düzeyleri sham 2 grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ($p=0,02$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir

(p=0,20). Eritropoetin ve rasajilin grupları ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BDNF düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p=0,001, p<0,001).

İntraokuler Doku Örneklerinde BDNF Düzeyi Sonuçları (ng/mg protein)



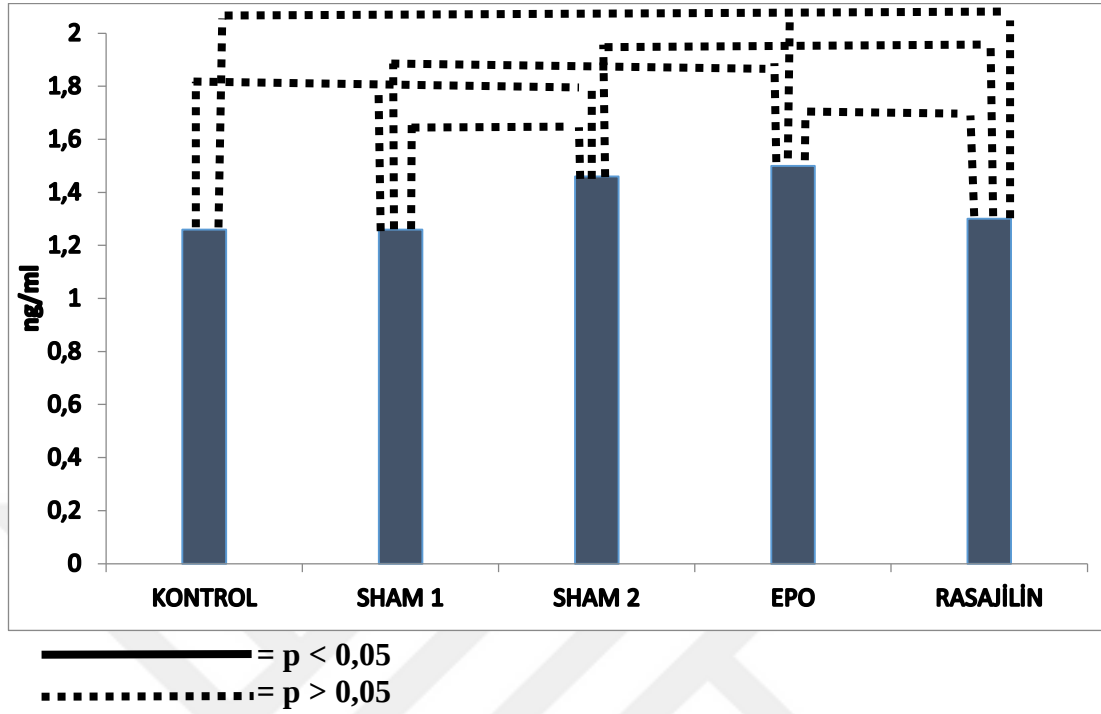
Şekil 16. Gruplara göre alınan intraoküler dokularda ortalama BDNF düzeyleri

Tablo 8. Gruplara göre alınan intraoküler dokulardaki ortalama BDNF düzeyleri

	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
BDNF(ng/mg protein)(Ort.± SD)	0,33±0,06	0,44±0,08	0,55±0,11	0,68±0,17	0,78±0,09

Gruplardan alınan kan serumu örneklerinde BDNF düzeyleri tablo 9’de gösterilmiştir. Şekil 17’de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki BDNF seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p=0,998; p=0,326). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur (p=0,310). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki kan serumu örneklerindeki BDNF düzeyleri ile sham 1 grubu arasında istatistiksel bir fark yoktur (p=0,243). Rasajilin ile tedavi edilen gruptaki kan serumu örneklerindeki BDNF düzeyleri ile sham 2 grubu arasında istatistiksel bir fark yoktur (p=0,121). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir (p=0,110). Eritropoetin ve rasajilin grupları ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BDNF düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (p=0,268, p=0,851).

Kanda BDNF Düzeyi Sonuçları (ng/ml)



Şekil 17. Gruplara göre kandaki ortalama BDNF düzeyleri

Tablo 9. Gruplara göre kandaki ortalama BDNF düzeyleri

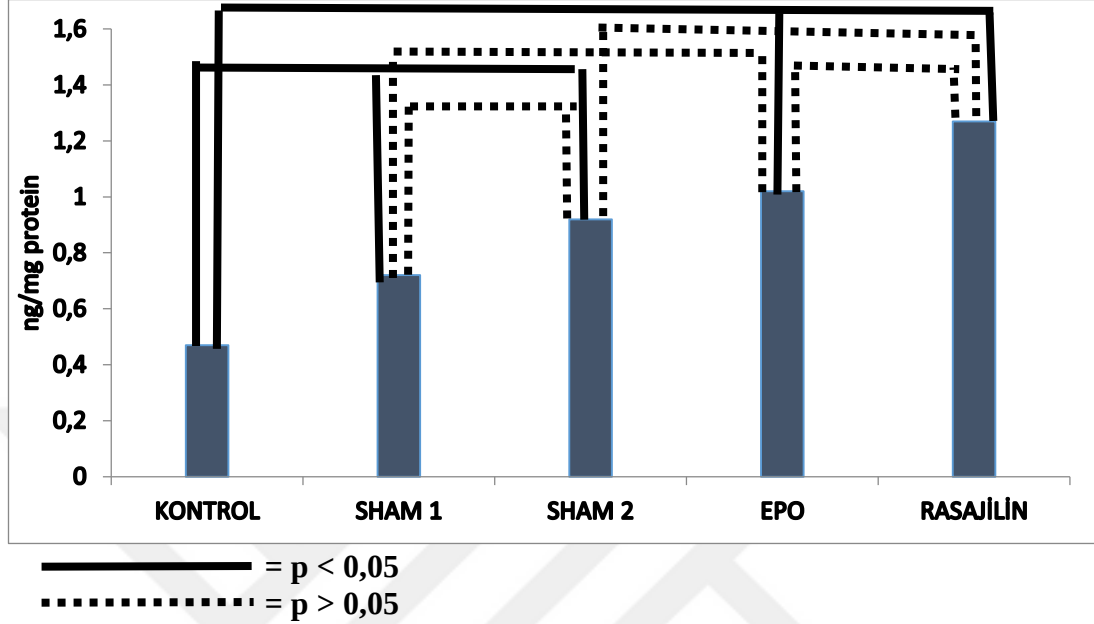
	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
BDNF(ng/ml)(Ort.± SD)	1,26±0,48	1,26±0,46	1,46±0,16	1,50±0,23	1,30±0,19

3.7. İrisin Düzeyi sonuçları

Gruplardan alınan ratların gözlerine ait intraoküler doku örneklerinde İrisin düzeyleri Tablo 10’de gösterilmiştir. Şekil 18’de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki irisin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttur ($p=0,009$; $p=0,046$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,283$). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki örneklerin irisin düzeyleri sham 1 grubuna göre görece olarak artış gösterse de anlamlı seviyeye ulaşamamıştır ($p=0,064$). Rasajilin ile tedavi edilen gruptaki örneklerin irisin düzeyleri sham 2 grubuna göre görece olarak artış gösterse de anlamlı seviyeye ulaşamamıştır ($p=0,207$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p=0,303$). Eritropoetin ve rasajilin grupları ile kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında irisin düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,004$, $p=0,006$).

İntraoküler Doku Örneklerinde İrisin Düzeyi Sonuçları (ng/mg protein)



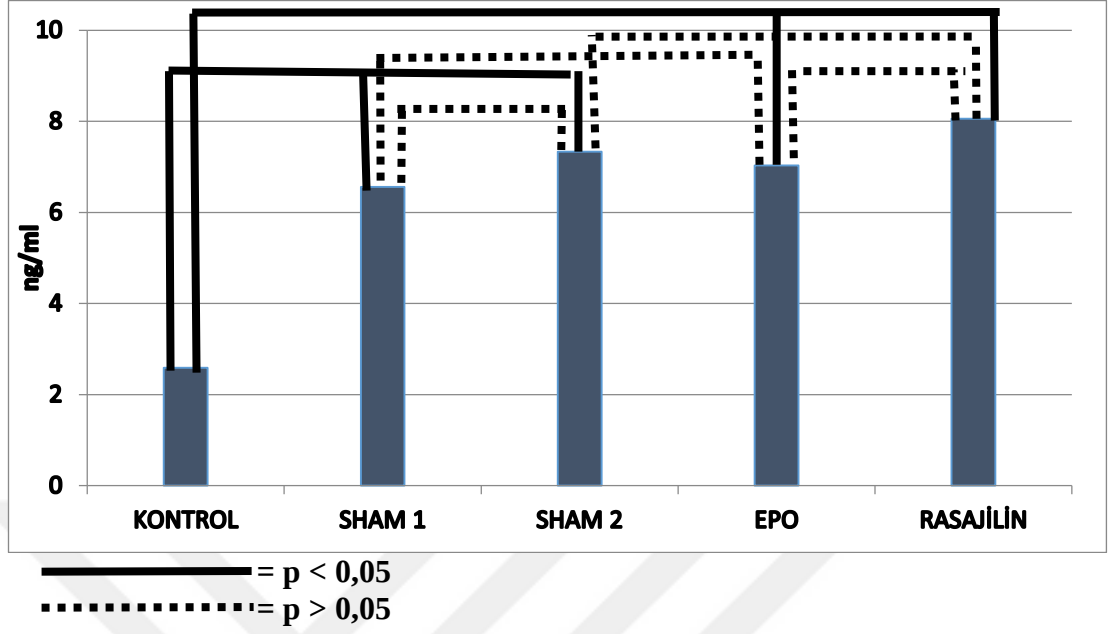
Şekil 18. Gruplara göre alınan intraoküler dokulardaki ortalama İrisin düzeyleri

Tablo 10. Gruplara göre alınan intraoküler dokulardaki ortalama İrisin düzeyleri

	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
İrisin(ng/mg protein)(Ort.± SD)	0,47±0,06	0,72±0,20	0,92±0,41	1,02±0,33	1,27±0,52

Gruplardan alınan kan serum örneklerinde İrisin düzeyleri Tablo11 'de gösterilmiştir. Şekil 19'de görüldüğü gibi kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarındaki irisin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış mevcuttur ($p<0,001$; $p<0,001$). Sham 1 ve sham 2 grupları arasında istatistiksel bir fark yoktur ($p=0,63$). Eritropoetin ile tedavi edilen gruptaki kan serumu örneklerinin irisin düzeyleri sham 1 grubuna göre görece olarak artış gösterse de anlamlı seviyeye ulaşamamıştır ($p=0,236$). Rasajilin ile tedavi edilen gruptaki kan serumu örneklerinin irisin düzeyleri sham 2 grubuna göre görece olarak artış gösterse de anlamlı seviyeye ulaşamamıştır ($p=0,170$). Eritropoetin ve rasajilin grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir ($p=0,62$). Eritropoetin ve rasajilin grupları ile kontrol grubu ile karşılaştırıldığında irisin düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

Kanda İrisin Düzeyi Sonuçları (ng/ml)



Şekil 19. Gruplara göre kandaki ortalama İrisin düzeyleri

Tablo 11. Gruplara göre kandaki ortalama İrisin düzeyleri

	KONTROL	SHAM 1	SHAM 2	ERİTROPOETİN	RASAJİLİN
İrisin(ng/ml) (Ort.± SD)	2,59±0,58	6,56±0,79	7,33±0,59	7,03±0,59	8,06±1.18

4. TARTIŞMA

Glokom dünyada körlük nedenleri arasında katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra 3. sırada yer almaktadır. Sinsice ilerleyen bu hastalık görme keskinliği ve GA'yı etkileyene kadar hastalar tarafından farkedilemediğinden erken tanı ve tedavinin önemi daha da artmaktadır. Glokomun ilerideki prevalansı artacak gibi görünmektedir ve büyük bir halk sağlığı problemi olarak gösterilmektedir. Populasyona dayalı çalışmalar her on kişiden birinde sonunda mutlaka glokom gelişeceğini ve bu durumun glokomu çok yaygın bir hastalık yaptığını göstermiştir (188)

Glokom, çok parametrelili ve kompleks bir hastalık olmasına rağmen, en önemli risk faktörü ve bugün için tedavide kontrol edilebilir tek faktör GİB yüksekliğidir. Ancak etkin bir GİB düşürücü tedaviye rağmen hastalarda görme kaybının devam etmesi söz konusudur (189). Mevcut durum glokom tedavisinde ek tedavi yöntemleri geliştirmeyi zorunlu hale getirmiştir. Bu nedenle günümüz araştırmalarında, RGH'ları ve santral görme yollarının nöronlarını korumaya yönelik nöroprotektif tedavi yaklaşımları üzerine yoğunlaşmıştır. Glokom tedavisinin amacı en az komplikasyon ve yan etki ile OD ve GA hasarını durduracak noktaya düşürerek görme fonksiyonlarını korumak olmalıdır.

Glokomun neden olduğu görme kaybı, RGH'leri ve aksonlarının dejenerasyonunun bir sonucudur. Önceki çalışmalarda glokomlu hastalarda ve deneysel glokom oluşturulan hayvan modellerinde vitreus glutamat düzeylerinin yüksek oluşu, etyopatogeneizde glutamat aracılı eksitotoksikite kavramını ortaya koymuştur (60, 63). Glutamat, santral sinir sistemi ve retinanın ana eksitatör nörotransmitteridir. RGH de yüksek oranda NMDA glutamat reseptörlerinin bulunması, bu hücreleri glutamat düzeylerindeki değişikliklere oldukça duyarlı hale getirir. Hücre dışı yüksek glutamat eksitotoksik nöron hasarına neden olabilir. Glokomda artan ekstraselüler glutamat düzeyleri, uzun bir süre hücre membranlarında bulunan iyon kanallarının açık kalmasını sağlar. Bu durumda hücre içerisine yüksek oranda kalsiyum akışı olur. Yüksek kalsiyum düzeyleri ROS'ların oluşumunu tetikler ve ROS'lar, hücrenin enerji deposu olan mitokondilerin fonksiyonlarını bozarak hücre çekirdeğinde kromatin kondansasyonuna sebep olur ve

apoptozisi başlatır (190). Biz de çalışmamızda glokom modeli oluşturmak için deneklere intravitreal NMDA enjekte ederek apoptozis indüksiyonu gerçekleştirdik.

Daha önceki çalışmalarda normal retinal dokuların histolojik hücre ölüm sırası incelendiğinde RGH tabakasından başlayıp iç ve dış nükleer tabakalara doğru ilerlediği görülmüştür (191). Glokomatöz hasara bağlı ölüm sırası da benzer şekilde; aksonal dejenerasyon, mikrogliyal dokularda aktivasyon, TNF- α salınımı, sitokinlerin salınımı ve kompleman yolunun aktivasyonu sonucunda RGH ölümü ile son bulmaktadır (192, 193). Bu nedenle biz de apoptozisi RGH hücrelerinde araştırdık ve TUNEL metodunu kullandık. Apoptozis yaygınlığı sham gruplarında daha fazla, Eritropoetin veya Rasajilinle tedavi edilen gruplarda sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az olarak görülmüştür. Eritropoetin ve Rasajilinin RGH üzerinde protektif etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Nitrik Oksit Sentaz -2 ekspresyonu sonucu meydana gelen NO, oksidasyon ve nitrasyona neden olarak sitotoksik ve inflamatuvar yanıtın gelişmesinde rol oynayarak yapmış olduğu DNA hasarının bir sonucu olarak p53'ü aktive ederek apoptozise neden olabilir (194). Erdurmuş ve ark. (195) psödoeksfolyasyon glokomu ve PAAG hastalarında serum NO düzeylerini anlamlı olarak yüksek oranda bulmuşlardır. NOS-2 inhibisyonunun görme kaybını önleyebileceği düşünülmektedir (131). Çalışmamızda glokomun gözde oluşturabileceği moleküler oksidasyonun tespit edilmesi amaçlanmış ve bu nedenle NOS-2 enzim miktarının tayini yapılmıştır. NOS-2 ekspresyonu kontrol grubuna göre sham gruplarında daha fazla görülmekteyken Eritropoetin ve Rasajilinle tedavi edilen gruplarda bu ekspresyonun anlamlı şekilde azaldığı, dolayısıyla RGH ölümünde önemli rolü olan NOS-2 düzeylerinin tedavi gruplarında düşük düzeylerde bulunması bize bu gruplardaki hasarın az olması ile ilgili olduğunu düşündürmektedir (196, 197). İntravitreal NMDA enjeksiyonu sonrasında retinal gangliyon hücrelerinde NMDA reseptörlerinin aşırı derecede doğrudan uyarılması sonucunda hücre içinde yüksek oranda Ca^{+} artışına bağlı olabilir ve bu artış NOS-2 enziminin ekspresyonunu tetiklemiş olabilir.

Eritropoetinin hipoksida eNOS (NOS-1) ekspresyonunu artarak cGMP yoluyla vazodilatasyon etkisiyle oksijen dağıtımını modüle ettiği bilinmektedir (198) ve bu nedenle dolaylı olarak travmatik beyin hasarında nöroprotektif etkisi olduğu

bildirilmiştir (199). EPO'nun NOS-2 (iNOS) üzerine etkisi henüz net olarak bilinmemekle beraber karotis arter oklüzyonu sonrası hipokampusta reperfüzyon hasarında ve inflamatuvar uyarı sonrası oligodentrosit hücreleri üzerinde NOS-2 ekspresyonunu azalttığına dair kanıtlar bulunmaktadır (200, 201). Biz de çalışmamızda EPO ile tedavi edilen grupta NOS-2 enzim düzeyini düşük bularak bu kanıtları destekler nitelikte sonuçlara ulaştık.

Rasajilinin NOS-2 üzerine olan etkisini inceleyen bir çalışma henüz literatürde bulunmamaktadır. Ancak diğer bir MAO-B inhibitörü olan selejilinin L-deprenyl parçasının EPO gibi eNOS'u uyararak cerebral arterlerde vazodilatasyon yaparak Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıklarda etkili olduğu bildirilmiştir (202). Yine aynı molekülün diyabetik rat modelinde beyin dokusunda NOS-2 ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (203). Bizim çalışmamızda rasajilin gözde apoptozis modelinde NOS-2 enziminin ekspresyonunu azaltmıştır.

Glokomun meydana getirdiği yapısal değişikliklerin temelini oksidatif hasarın oluşturduğunu gösteren birçok çalışma vardır (204, 205). Glokomda intraoküler dokularda oluşmuş olan oksidatif stres artışı engellenebilirse ve antioksidatif defans sistemi geliştirilip, oksidan-antioksidan denge korunabilirse görme kaybının ve RGH hasarının önüne geçilebileceği öne sürülmektedir (206).

Sham gruplarında TOS seviyesinin kontrol grubuna göre belirgin şekilde artmış olduğunu gördük. Bunun olası nedeni aşırı NO üretimi sonucu oluşan peroksinitrit anyonlarıdır (207). Bu sonuçla korele olarak SOD aktivitesinde sham gruplarında defans mekanizmalarının aktivasyonunabağlı olarak aşırı bir artış görüldü. TAS düzeyleri ise akut dönemde tüketime bağli olarak sham gruplarında düşük izlendi. Eritropoetin ve rasajilinle tedavi edilen gruplarda TOS seviyesi ve SOD aktivitesi sham gruplarına göre azalmış izlendi fakat TAS seviyelerinde anlamlı bir artış görülmedi. Bu sonuç muhtemelen Eritropoetin ve Rasajilinin antioksidan madde etkisinden değil NOS-2 enzimini inhibe ederek enzimatik yolla TOS düzeyini azaltıcı etkisinin olabileceğini düşündürdü. Böylece TOS düzeyi azalmasına bağli olarak SOD'a düşen iş yükü azalmasına bağli sentezinin azaldığını düşündük. Sonuç olarak tedavi gruplarında TOS düzeylerinin belirgin azaldığını SOD'a düşen iş yükünün azaldığını fakat TAS düzeylerinin değişmediğini gösterdik. TAS

düzeylerinin tedavi gruplarında değişmemesinin bir diğer nedeni de çalışmanın kısa dönemdeki değişiklikleri göstermesi olabilir.

Araştırmalar göstermiştir ki NTF'nin RGH'lara retrograd transportunun bozulması glokomun oluşum mekanizmasına katkıda bulunmaktadır. Transport blokajı optik sinir başı seviyesinde olur ve kemirgen ve primat hayvan modellerinde GİB yüksekliği ile bu blokaj gösterilmiştir (208-210). Buna göre, RGH'ları, ya doğrudan proteinin kendisi veya endojen salınımını indüklenerek NTF'ler ile desteklemenin optik sinir hastalıklarında ve glokom modellerinde nöron kaybını yavaşlattığı gösterilmiştir (134, 211-214)

Çalışmamızda NTF etkilerini incelemek amacıyla BDNF ve İrisin düzeyleri incelenmiştir. NMDA enjeksiyonu sonrasında gözde BDNF ekspresyonunun arttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (215, 217). Bizim çalışmamızda da alınan intraoküler doku örneklerine bakıldığında kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 grubunda anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Eritropoetin tedavi grubu sham 1 grubu ile karşılaştırıldığında görece olarak artış olsa da literatürdeki gibi anlamlı düzeye ulaşamamıştır (217-219). Rasajilinin santral sinir siteminde BDNF düzeyini arttırdığı daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (220). Bizim deneyimizde de Rasajilin tedavi grubu ile sham 2 grubu karşılaştırıldığında intraoküler dokularda da anlamlı bir artış olduğunu gözlemledik. Bu sonuçlara göre NMDA uygulandığı için BDNF düzeyi artmış olan gözlerde verdiğimiz tedavilerin rasajilinde anlamlı , eritropoetinde göreceli olarak bu artışı potansiyelize edip , bu artışı daha da arttırdığı sonucuna ulaştık. Kan örneklerine baktığımızda ise hiçbir grup arasında anlamlı bir değişiklik gözlemleyemedik. Bunun nedeni BDNF'nin kan beyin bariyerini geçememesi olarak literatürde gösterilmiştir (221).

İrisin düzeyi incelememizde alınan intraoküler doku örneklerinde kontrol grubuna göre sham 1 ve sham 2 gruplarında anlamlı bir artış olduğunu gördük. Eritropoetin ve Rasajilin tedavi grupları sham gruplarıyla karşılaştırıldığında ise yine her ikisinde de bir artış olsa da bu artışın anlamlı düzeylere ulaşamadığı görülmüştür. Kandaki irisin düzeyi incelememizde, göz örnek düzeyleri ile uyuşan sonuçlar elde ettik. Bunun nedeni irisinin BDNF nin aksine düşük molekül ağırlığına sahip olması (yaklaşık 12 kDa) nedeniyle kan beyin bariyerini geçebiliyor olmasına bağlı olabilir. Burada önemli olan ilk defa gözde irisin molekülünün tespit edilmesi ve intraoküler

düzeyinin sistemik düzeyi ile uyumlu olduğunun saptanmasıdır. Aynı zamanda NMDA ile glokomda apoptozis modeli oluşturulmuş ratlarda irisin düzeyinin BDNF ile uyumlu şekilde anlamlı artışının yine ilk defa gösterilmiş olmasıdır. Belki de BDNF ve irisin artışı nöronal dokularda aynı yoldan uyarılmaktadır veya birbirlerini pozitif feedback mekanizmaları ile desteklemektedirler (222). Bu sonuçlara göre irisin kan beyin bariyeri nedeniyle birçok nörodejeneratif hastalık (Alzheimer, Parkinson vs.) ve glokomda sistemik olarak kullanılamayan potent bir NTF olan BDNF'nin yerine yeni bir alternatif olarak umut vadetmektedir.

Glokomda RGH kaybının önüne geçilmesi tedavi stratejilerinin temel hedefidir. Yani temel hedef nöroproteksiyondur. Bu nöroproteksiyon antiglokomatözlerle GİB düşürerek asıl etkenin ortadan kaldırılmasına yönelik indirekt olarak günümüzde kullanılmaktadır. Ancak gerçek nöroprotektif tedavi görme alanı kaybına neden olan apoptozise uğramamış fakat fonksiyon da gösteremeyen RGH'ni ve henüz etkilenmemiş RGH'ni doğrudan hedef alan stratejilerdir. GİB düşürülse dahi ilerleyen veya GİB normal olsa dahi RGH kaybı gösteren glokom hastalarında bu tedavi stratejileri büyük önem arz etmektedir. Çalışmamızda eritropoetin ve rasajilin tedavilerinin stres altındaki RHG'lerinde NOS-2 enzim inhibisyonu ve muhtemel BDNF ekspresyonunu artırarak direkt olarak nöroprotektif etkisinin olduğunu ve irisin hormonunun nörotrofik etkide BDNF ile beraber veya tek başına rolü olabileceğini gösterdik. Eritropoetin ve Rasajilin konvansiyonel topikal tedavilerle birlikte nöroprotektif etki amacıyla sistemik olarak kullanılabilecek ilave tedavi seçenekleri olabilir. Bu çalışma başta büyük bir halk sağlığı sorunu olan glokom ve ilave olarak santral sinir sistemi hastalıklarına yönelik nöroprotektif tedavi çalışmalarına ışık tutar niteliktedir.

5. KAYNAKLAR

1. Quigley HA, Addicks EM. Chronic experimental glaucoma in primates. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. Invest Ophthalmol Vis Sci 1980; 19: 137-152.
2. Kamal D, Hitchings R. Normal tension glaucoma-a practical approach. Br J Ophthalmol 1998; 82: 835-40.
3. Önal M. Glokomda retina sinir lifleri ve peripapiller bölge. Ret Vit 1995; 3: 334-337.
4. Levin LA. Neuroprotection and regeneration in glaucoma. Ophthalmol Clin North Am 2005; 18: 585-596
5. Kaushik S, Pandav SS, Ram J. Neuroprotection in glaucoma. J Postgrad Med 2003; 49: 90-5.
6. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS Investigators. Am J Ophthalmol 2000; 130: 429-440.
7. Levin LA. Retinal ganglion cells and neuroprotection for glaucoma. Surv Ophthalmol 2003; 48: 21-24.
8. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SF. Oxidative stress markers in aqueous humor of glaucoma patients. Am J Ophthalmol 2004; 137: 62-69.
9. Derin N, Yargıçoğlu P, Aslan M, Elmas O, Agar A, Adıgüzel Y. The effect of sulfite and chronic restraint stress on brain lipid peroxidation and anti-oxidant enzyme activities. Toxicol Ind Health 2006; 22: 233-240.
10. Pang IH, Johnson EC, Jia L, Cepurna WO, Shepard AR, Hellberg MR, et al. Evaluation of inducible nitric oxide synthase in glaucomatous optic neuropathy and pressure-induced optic nerve damage. Invest Ophthalmol Vis Sci 2005; 46: 1313-1321.

11. Liu BA, Neufeld H. Expression of nitric oxide synthase-2 (NOS-2) in reactive astrocytes of the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000; 30: 178-186, 2000
12. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268: 12231-12234
13. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333: 664-666.
14. Lyons CR, Orloff GJ, Cunningham JM. Molecular cloning and functional expression of an inducible nitric oxide synthase from a murine macrophage cell line. *J Biol Chem* 1992; 267: 6370-6374.
15. Petros A, Lamb G, Leone A, Moncada S, Bennett D, Vallance P. Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 34-39
16. Becquet F, Courtois Y, Goureau O. Nitric oxide in the eye: multifaceted roles and diverse outcomes. *Surv Ophthalmol* 1997; 42: 71-82
17. Knowles RG, Moncada S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-258.
18. 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; 40: 2884-2889.
19. Goureau O, Bellot J, Thillaye B, Courtois Y, Kozak Y. Increased nitric oxide production in endotoxin-induced uveitis. Reduction of uveitis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Immunol* 1995; 154: 6518-6523.
20. Fechtner RD, Weinreb RN. Mechanisms of optic nerve damage in primary open angle glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994; 39: 23-42
21. Heneka MT, Loschmann PA, Gleichmann M, Weller M, Schulz JB, Wullner U, Klockgether T. Induction of nitric oxide synthase and nitric oxide-mediated apoptosis in neuronal PC12 cells after stimulation with tumor necrosis factor- α /lipopolysaccharide. *J Neurochem* 1998; 71: 88-94.

22. Hu J, Van Eldik LJ. S100 beta induces apoptotic cell death in cultured astrocytes via a nitric oxide-dependent pathway. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1313: 239-245
23. Sarih M, Souvannavong V, Adam A. Nitric oxide synthase induces macrophage death by apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191: 503-508.
24. Burgoyne CF. The optic nerve head as a biomechanical structure: a new paradigm for understanding the role of IOP-related stress and strain in the pathophysiology of glaucomatous optic nerve head damage. *Prog Retin Eye Res* 2005. 24: 39-73.
25. Greenfield DS. Glaucomatous versus nonglaucomatous optic disc cupping: clinical differentiation. *Semin Ophthalmol* 1999; 14: 95-108.
26. Jonas JB, Dichtl A, Budde WM, Lang P. Optic disc morphology in pigmentary glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1998; 82: 875-879.
27. Yamamoto T, Kitazawa Y. Vascular pathogenesis of normal-tension glaucoma: a possible pathogenetic factor, other than intraocular pressure, of glaucomatous optic neuropathy. *Prog Retin Eye Res* 1998; 17: 127-143.
28. Flammer J. The vascular concept of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994; 38: 3-6.
29. Sucher NJ, Lipton SA, Dreyer EB. Molecular basis of glutamate toxicity in retinal ganglion cells. *Vision Res* 1997; 37: 3483-3493.
30. Montoliu C, Llansola M, Monfort P, Corbalan R, Fernandez- Marticorena I, Hernandez-Viadel ML, Felipe V. Role of nitric oxide and cyclic GMP in glutamate-induced neuronal death. *Neurotox Res* 2001; 3: 179-188.
31. Lipton SA. Pathologically-activated therapeutics for neuroprotection: mechanism of NMDA receptor block by memantine and S-nitrosylation. *Curr Drug Targets* 2007; 8: 621-32.
32. Dreyer EB. A proposed role for excitotoxicity in glaucoma. *J Glaucoma* 1998; 7: 62-67.
33. Dong CJ, Guo Y, Agey P, Wheeler L, Hare WA. Alpha2 adrenergic modulation of NMDA receptor function as a major mechanism of RGC protection in experimental

- glaucoma and retinal excitotoxicity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 4515-4522.
34. Choi J, Kim KH, Jeong J, Cho HS, Lee CH, Kook MS. Circadian fluctuation of mean ocular perfusion pressure is a consistent risk factor for normal-tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 104-111.
 35. Mozaffarieh M, Grieshaber MJ. Flammer, Oxygen and blood flow: players in the pathogenesis of glaucoma. *Mol Vis* 2008; 14: 224-233.
 36. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999; 283: 1482-1488.
 37. Aslan M, Yucel I, Akar Y, Yucel G, Çiftçioğlu MA, Şanlıoğlu S. Nitrotyrosine formation and apoptosis in rat models of ocular injury. *Free Radic Res* 2006; 40: 147-153.
 38. 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; 46: 3177-3187.
 39. Richer SP, Rose RC. Water soluble antioxidants in mammalian aqueous humor: interaction with UV B and hydrogen peroxide. *Vision Res* 1998; 38: 2881-288.
 40. Behndig A, Svensson B, Marklund SL, Karlsson K. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 471-475.
 41. P. Peinado-Ramon, M. Salvador, M.P. Villegas-Perez, M. Vidal-Sanz, Effects of axotomy and intraocular administration of NT-4, NT-3, and brain-derived neurotrophic factor on the survival of adult rat retinal ganglion cells. A quantitative in vivo study, *Invest. Ophthalmol. Vis Sci* 1996; 37: 489–500.
 42. Unoki K, La Vail MM. Protection of the rat retina from ischemic injury by brain-derived neurotrophic factor, ciliary neurotrophic factor, and basic fibroblast growth factor, *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 907–915.
 43. Weibel D, Kreutzberg GW, Schwab ME, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents lesion-induced axonal die-back in young rat optic nerve. *Brain Res* 1995; 679: 249–254.

44. Mansour-Robaey S, Clarke DB, Wang YC, Bray GM, Aguayo AJ. Effects of ocular injury and administration of brain-derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1632–1636.
45. Ko ML, Hu DN, Ritch R, Sharma SC, Chen CF. Patterns of retinal ganglion cell survival after brain-derived neurotrophic factor administration in hypertensive eyes of rats. *Neurosci Lett* 2001; 305: 139–142.
46. Johnson EC, Guo Y, Cepurna WO, Morrison JC. Neurotrophin roles in retinal ganglion cell survival: lessons from rat glaucoma models. *Exp Eye Res* 2009; 88: 808–815.
47. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1α-dependent myokine that drives browning of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481: 463–468.
48. Wrann CD, White JP, Salogiannis J, Laznik-Bogoslavski D, Wu J, Ma D, et al. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1α/FNDC5 pathway. *Cell Metabolism* 2013; 18: 649–659.
49. Dun SL, Lyu RM, Chen YH, Chang JK, Luo JJ, Dun NJ. Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. *Neuroscience* 2013; 240: 155–162.
50. Piya MK, Harte AL, Sivakumar K, Tripathi G, Voyias PD, James S, et al. The identification of irisin in human cerebrospinal fluid: Influence of adiposity, metabolic markers, and gestational diabetes. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2014; 306: 512–518.
51. Shields MB. *Textbook of Glaucoma* 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins 1998: 108–136.
52. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol* 1996; 80: 389–393.
53. Bengtsson B. Incidence of manifest glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1989; 73: 483–487.
54. Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006; 90: 262–267.

55. Yan DB, Coloma FM, Metheetraitur A, Trope GE, Heathcote JG, Ethier CR. Deformation of the lamina cribrosa by elevated intraocular pressure. *Br J Ophthalmol* 1994; 78: 643-648.
56. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. The effectiveness of intraocular pressure reduction in the treatment of normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1998; 126: 498-505.
57. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. *Am J Ophthalmol* 1998; 126: 487-497.
58. Whitcup SM. Clinical trials in neuroprotection. *Clinical trials in neuroprotection*, New York, 2003; 291-301.
59. Casson RJ. Possible role of excitotoxicity in the pathogenesis of glaucoma. *Clin Experiment Ophthalmol* 2006; 34: 54-63.
60. Brooks DE, Garcia GA, Dreyer EB, Zurakowski D, Franco-Bourland RE. Vitreous body glutamate concentration in dogs with glaucoma. *Am J Vet Res* 1997; 58: 864-867.
61. Dreyer EB, Grosskreutz CL. Excitatory mechanisms in retinal ganglion cell death in primary open angle glaucoma (POAG). *Clin Neurosci* 1997; 4: 270-273.
62. Dreyer EB, Zhang D, Lipton SA. Transcriptional or translational inhibition blocks low dose NMDA-mediated cell death. *Neuroreport* 1995; 6: 942-944.
63. 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; 114: 299-305.
64. Osborne NN. Memantine reduces alterations to the mammalian retina, in situ, induced by ischemia. *Vis Neurosci* 1999; 16: 45-52.
65. WoldeMussie E, Yoles E, Schwartz M, Ruiz G, Wheeler LA. Neuroprotective effect of memantine in different retinal injury models in rats. *J Glaucoma* 2002; 11: 474-480.

66. Obrenovitch TP, Urenjak J, Zilkha E, Jay TM. Excitotoxicity in neurological disorders--the glutamate paradox. *Int J Dev Neurosci* 2000; 18: 281-287.
67. Obrenovitch TP. Neuroprotective strategies: voltage-gated Na⁺-channel down-modulation versus presynaptic glutamate release inhibition. *Rev Neurosci* 1998; 9: 203-211.
68. Obrenovitch TP, Urenjak J. Altered glutamatergic transmission in neurological disorders: from high extracellular glutamate to excessive synaptic efficacy. *Prog Neurobiol* 1997; 51: 39-87.
69. Obrenovitch TP, Urenjak J. Glutamate release inhibitors: a critical assessment of their action mechanism. *Amino Acids* 1998; 14: 143-150.
70. Yaksh TL. Spinal systems and pain processing: development of novel analgesic drugs with mechanistically defined models. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 329-337.
71. Suarez I, Bodega G, Fernandez B. Glutamine synthetase in brain: effect of ammonia. *Neurochem Int* 2002; 41: 123-142.
72. Palmada M, Centelles JJ. Excitatory amino acid neurotransmission. Pathways for metabolism, storage and reuptake of glutamate in brain. *Front Biosci* 1998; 3: 701-718.
73. Brown GC, Bal-Price A. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. *Mol Neurobiol* 2003; 27: 325-355.
74. Neitz J, Jacobs GH. Reexamination of spectral mechanisms in the rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 1986; 100: 21-29.
75. Taylor WR, Vaney DI. New directions in retinal research. *Trends Neurosci* 2003; 26: 379-385.
76. Quigley HA, Brown AE, Morrison JC, Drance SM. The size and shape of the optic disc in normal human eyes. *Arch Ophthalmol* 1990; 108: 51-57.
77. Apaydın A, Güllülü G, Ovalı T. Temel Göz Hastalıkları. Aydın P, Akova AY, editörler. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 2001.

78. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992; 119: 493-501.
79. Kressel M, Groscurth P. Distinction of apoptotic and necrotic cell death by in situ labelling of fragmented DNA. *Cell Tissue Res* 1994; 278: 549-556.
80. Aral H. Apoptotik hücrelerin tanınma yöntemleri. *Sendrom*, 1996; 38-42.
81. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35: 495-516.
82. Odberg T, Jacobsen JE, Hulkgren SJ, Halseide R. The impact of glaucoma on the quality of life of patients in Norway. 1. Results from a self-administrated questionnaire. *Acta Ophthalmol Scand* 2001; 79: 116-120.
83. Terminology and Guidelines for Glaucoma. 2. Edition European Glaucoma Society, 2003: 3-2.
84. Derich RC. Cholinergic agents. Morrison JC, Pollac IP (eds). *Glaucoma science and practice*. New York: Thieme, 2003: 383-390.
85. Shields MB. Cholinergic stimulators. *Textbook of Glaucoma*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998: 384-397.
86. Shields MB. Adrenergic stimulators. *Textbook of Glaucoma*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998: 398-412.
87. Shin BH, Glover BK, Cho SC, Kim YY, Kim C, Nguyen KD. Longterm brimonidine therapy in glaucoma patients with aproclonidine allergy. *Am J Oph* 1999; 127: 511-515.
88. Coakes RL, Brubaker RS. The mechanism of timolol in lowering intraocular pressure. *Arch Ophthalmol* 1978; 96: 2045-2048.
89. Levobunolol Study Group T. Levobunolol: a beta adrenoceptor antagonist effective in the long-term treatment of glaucoma. *Ophthalmology* 1985; 92: 1271-1276.
90. Kayaalp SO (ed). Beta adrenerjik reseptör blokörleri. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, İstanbul: Nobel Kitapevi, 1985: 1192-1220.

91. Singh K, Zimmerman TJ. Update on the status of topical beta blockers in the treatment of glaucoma. *Ophthalmology Clinics of North America*, New developments in glaucoma. Lee DA (Editor). Philadelphia: NB Saunders Company, 1995: 295-297.
92. Mao LK, Steward WC, Shields MB. Correlation between intraocular pressure control and progressive glaucomatous damage in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1991; 111: 51-54.
93. Dailey RA, Brubaker RF, Bourne WM. The effects of timolol maleate and acetazolamide on the rate of aqueous formation in normal human subjects. *Am J Ophthalmol* 1982; 93: 232.
94. Shields MB. Carbonic anhydrase inhibitors. *Textbook of Glaucoma*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1998: 431-439.
95. Lippo EA, Carlson LE, Ehinger B. Dose-response and duration of action of dorzolamide, a topical carbonic anhydrase inhibitor. *Arch Ophthalmol* 1992; 100: 495.
96. Schnyder CC, Tran VT, Mermoud A, Herbort CP. Sterile mucopurulent conjunctivitis associated with the use of dorzolamide eyedrops. *Arch Ophthalmol* 1999; 117: 1429-1431.
97. Turaçlı ME. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri. Turaçlı ME, Önel M, Yalvaç SI (edit). *Glokom*. Ankara: SFN Yayıncılık 2003; 179-183.
98. Camros CB. United States Latanoprost Study Group. Comparison of latanoprost and timolol in patients with ocular hypertension and glaucoma. A six month, masked, multi center trial in the United States. *Ophthalmology* 1996; 103: 138-47.
99. Kaufman PL, Mittag TW. Medical therapy of glaucoma. *Glaucoma Textbook of Ophthalmology* 1994; 86: 9-24.
100. Turaçlı ME. Prostaglandin Analogları. Turaçlı ME, Önel M, Yalvaç SI (edit). *Glokom*. Ankara: SFN Yayıncılık, 2003: 176-179.
101. Bill A. Uveoscleral drainage of aqueous humor: Physiology and Pharmacology. *Prog Clin Biol Res* 1989; 312: 417-427.

102. Camros CB. United States Latanoprost Study Group. Comparison of latanoprost and timolol in patients with ocular hypertension and glaucoma. A six month, masked, multi center trial in the United States. *Ophthalmology* 1996; 103: 138-147.
103. Alm A, Stjernschantz J, Scandinavian Latanoprost Study Group. Effects on intraocular pressure and side effects of 0.005 % latanoprost once daily, evening or morning. A comparison with timolol. *Ophthalmology* 1995; 102: 1743-1752.
104. Mc Kibbin M, Menage MJ. The effect of once-daily latanoprost on intraocular pressure and pulsatile ocular blood flow in normal tension glaucoma. *Eye* 1999; 13: 31-34.
105. Latanoprostun PAAG'da timolol ile sabit veya sabit olmayan kombinasyon şeklinde kullanımı belirgin GİB düşüşü sağlar (Hejkal TW, Comros CB. Prostaglandine analogs in the treatment of glaucoma. *Semin Ophthalmol* 1999; 14: 114-123.
106. Hejkal TW, Comros CB. Prostaglandine analogs in the treatment of glaucoma. *Semin Ophthalmol* 1999; 14: 114-123.
107. Cantor LB. Bimatoprost: A member of a new class of agents, the prostamides, for glaucoma menegment. *Ext Opin Invest Drugs* 2001; 10: 721-731.
108. Woodward DF, Kraus AH-P, Chen J. The pharmacology of bimatoprost. *Surv Ophthalmol* 2001; 45: 337-345.
109. Türker G. Hiperozmotikler. Ankara Oftalmoloji Derneği Akademik Eğitim Programı 12. Ulusal Oftalmoloji Kursu, Hasanreisoglu B (editör). Ankara: Yıldırım Basımevi, 1992: 114-116.
110. Schwartz M. Optic nerve crush: protection and regeneration. *Brain Res Bull* 2004; 62: 467-471.
111. Netland PA, Chaturvedi E, Dreyer B. Calcium channel blockers in the management of low-tension and open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1993; 115: 608-613.
112. Eschweiler GW, Bahr M. Flunarizine enhances rat retinal ganglion cell survival after axotomy. *J Neurol Sci* 1993; 116: 34-40.

113. Caprioli J. Neuroprotection of the optic nerve in glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 75: 364-367.
114. Wheeler DS, Jensen RA, Poss WB. A randomized, blinded comparison of chloral hydrate and midazolam sedation in children undergoing echocardiography. *Clin Pediatr (Phila)* 2001; 40: 381–387.
115. Kalapesi FB, Coroneo MT, Hill MA. Human ganglion cells express the alpha-2 adrenergic receptor: Relevance to neuroprotection. *Br J Ophthalmol* 2005; 89: 758–763.
116. Tatton W, Chen D, Chalmers-Redman R, Wheeler L, Nixon R, Tatton N. Hypothesis for a common basis for neuroprotection in glaucoma and Alzheimer's disease: Anti-apoptosis by alpha-2-adrenergic receptor activation. *Surv Ophthalmol* 2003; 48: 25–37.
117. Gao H, Qiao X, Cantor LB, WuDunn D. Up-regulation of brain-derived neurotrophic factor expression by brimonidine in rat retinal ganglion cells. *Arch Ophthalmol* 2002; 120: 797–803.
118. Donello JE, Padillo EU, Webster ML, Wheeler LA, Gil DW. Alpha(2)-Adrenoceptor agonists inhibit vitreal glutamate and aspartate accumulation and preserve retinal function after transient ischemia. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 296: 216–223.
119. Schwartz M, Beklin M, Yoles E, Solomon A. Potential treatment modalities for glaucomatous neuropathy: neuroprotection and neuroregeneration. *J Glaucoma* 1996; 5: 427-432.
120. Osborne NN, Wood JP, Chidlow G. Invited review: Neuroprotective properties of certain beta-adrenoceptor antagonists used for the treatment of glaucoma. *J Ocul Pharmacol Ther* 2005; 21: 175–181.
121. Melena J, Wood JP, Osborne NN. Betaxolol, a beta1-adrenoceptor antagonist, has an affinity for L-type Ca²⁺ channels. *Eur J Pharmacol* 1999; 378: 317–322.
122. Tan AY, LeVatte TL, Archibald ML, Tremblay F, Kelly ME, Chauhan BC. Timolol concentrations in rat ocular tissues and plasma after topical and intraperitoneal dosing. *J Glaucoma* 2002; 11: 134–142.

123. Osborne NN, DeSantis L, Bae JH, Ugarte M, Wood JP, Nash MS, et al. Topically applied betaxolol attenuates NMDA-induced toxicity to ganglion cells and the effects of ischaemia to the retina. *Exp Eye Res* 1999; 69: 331–342.
124. DeSantis L, Dahlin D, Barnes G. A role for the calcium channel blocking-like action of betaxolol for providing therapeutic benefit to glaucoma patients. Drance S, (ed). *Update to glaucoma, ocular blood flow, and drug treatment*. Amsterdam; New York: Kugler Publications, 1995: 137–143.
125. Goto W, Ota T, Morikawa N, Otori Y, Hara H, Kawazu K, et al. Protective effects of timolol against the neuronal damage induced by glutamate and ischemia in the rat retina. *Brain Res* 2002; 958: 10–19.
126. Vorwerk CK, Lipton SA, Zurakowski D, Hyman BT, Sabel BA, Dreyer EB. Chronic low-dose glutamate is toxic to retinal ganglion cells. Toxicity blocked by memantine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1618-1624.
127. Lagreze WA, Knorle R, Bach M, Feuerstein TJ. Memantine is neuroprotective in a rat model of pressure-induced retinal ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1063-1066.
128. Hare WA, WoldeMussie E, Lai RK, Ton H, Ruiz G, Chun T, Wheeler L. Efficacy and safety of memantine treatment for reduction of changes associated with experimental glaucoma in monkey, I: Functional measures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2625-2639.
129. Yucel YH, Gupta N, Zhang Q, Mizisin AP, Kalichman MW, Weinreb RN. Memantine protects neurons from shrinkage in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2006; 124: 217-225.
130. Naskar R, Dreyer EB. New horizons in neuroprotection. *Surv Ophthalmol* 2001; 3: 250-276.
131. Neufeld AH, Sawada A, Becker B. Inhibition of nitric-oxide synthase 2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9944-9948.

132. Ji JZ, Elyaman W, Yip HK, Lee VW, Yick LW, Hugon J, et al. CNTF promotes survival of retinal ganglion cells after induction of ocular hypertension in rats: the possible involvement of STAT3 pathway. *Eur J Neurosci* 2004; 19: 265-272.
133. Chidlow G, Wood JP, Casson RJ. Pharmacological neuroprotection for glaucoma. *Drugs* 2007; 67: 725-759.
134. Fu QL, Li X, Yip HK, Shao Z, Wu W, Mi S, et al. Combined effect of brain-derived neurotrophic factor and LINGO-1 fusion protein on long-term survival of retinal ganglion cells in chronic glaucoma. *Neuroscience* 2009; 162: 375-382.
135. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1986; 58: 61-97.
136. De La Paz MA, Epstein DL. Effect of age on superoxide dismutase activity of human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1849-1853.
137. Riley MV. Physiologic neutralization mechanisms and the response of the corneal endothelium to hydrogen peroxide. *Clao J* 1990; 16: 16-21.
138. Asregadoo ER. Blood levels of thiamine and ascorbic acid in chronic openangle glaucoma. *Ann Ophthalmol* 1979; 11: 1095-1100.
139. Ko ML, Peng PH, Ma MC, Ritch R, Chen CF. Dynamic changes in reactive oxygen species and antioxidant levels in retinas in experimental glaucoma. *Free Radic Biol Med* 2005; 39: 365-373.
140. Kang JH, Pasquale LR, Willett W, Rosner B, Egan KM, Faberowski N, Hankinson SE. Antioxidant intake and primary open-angle glaucoma: a prospective study. *Am J Epidemiol* 2003; 158: 337-346.
141. Genc S, Koroglu TF, Genc K. Erythropoietin and the nervous system. *Brain Res* 2004; 1000: 19-31.
142. Fried W, Kilbridge T, Krantz S, McDonald TP, Lange RD. Studies on extrarenal erythropoietin. *J Lab Clin Med* 1969; 73: 244-248.

143. Chang ZY, Yeh MK, Chiang CH, Chen YH, Lu DW. erythropoietin protects adult retinal ganglion cells against NMDA-, trophic factor withdrawal-, and TNF- α -induced damage. *PLoS One* 2013; 8: 55291.
144. Bogoyevitch Marie A. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection. *Cardiovasc Research* 2004; 63: 208-210.
145. Kawachi K, Iso Y, Sato T, Wakabayashi K, Kobayashi Y. Effects of erythropoietin on angiogenesis after myocardial infarction in porcine. *Heart and Vessels* 2012; 27: 79–88.
146. Wang Q, Gorbey S, Pfister F, Hoyer S, Dorn-Beineke A. Long-term treatment with suberythropoietic Epo is vaso- and neuroprotective in experimental diabetic retinopathy. *Cell Physiol Biochem* 2011; 27: 769–782.
147. Villa P, Bigini P, Mennini T, Agnello D, Laragione T. Erythropoietin selectively attenuates cytokine production and inflammation in cerebral ischemia by targeting neuronal apoptosis. *J Exp Med* 2003; 198: 971–975.
148. Wang ZY, Shen LJ, Tu L, Hu DN, Liu GY, Zhou ZL. Erythropoietin protects retinal pigment epithelial cells from oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 2003; 2009; 46: 1032–1041.
149. Zhao Y, Niu YJ, Zhou ZY, Liu FL, Wang JB, Xu J, Gong HM. Hydrogen peroxide induces expression and transcription of erythropoietin in the human retinal pigment epithelium cells (in Chinese). *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2007; 43: 44–48.
150. Hu LM, Luo Y, Zhang J, Lei X, Shen J, Wu Y, et al. EPO reduces reactive gliosis and stimulates neurotrophin expression in Muller cells. *Front Biosci (Elite Ed)* 2011; 3: 1541–1555.
151. Alural B, Duran GA, Tufekci KU. EPO mediates neurotrophic, neuroprotective, anti-oxidant, and anti-apoptotic effects via downregulation of miR-451 and miR-885-5p in SH-SY5Y neuron-like cells. *Front Immunol* 2014; 5: 475.
152. Buemi M, Cavallaro E, Floccari F. Erythropoietin and the brain: from neurodevelopment to neuroprotection. *Clin Sci (Lond)* 2002; 103: 275-282.

153. Juul S. Erythropoietin in the central nervous system, and its use to prevent hypoxic-ischemic brain damage. *Acta Paediatr Suppl* 2002; 91: 36-42.
154. Buemi M, Caccamo C, Nostro L, Cavallaro E, Floccari F, Grasso G. Brain and cancer: the protective role of erythropoietin. *Med Res Rev* 2005; 25: 245-259.
155. Maiese K, Chong ZZ, Shang YC, Wang S. Erythropoietin: new directions for the nervous system. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 11102-11129.
156. Ghezzi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ* 2004; 11: 37-44.
157. Yu X, Shacka JJ, Eells J. Erythropoietin receptor signaling is required for normal brain development. *Development* 2002; 129: 505-516.
158. Digicaylioglu M, Lipton SA. Erythropoietin-mediated neuroprotection involves cross-talk between Jak2 and NF- κ B signalling cascades. *Nature* 2001; 412: 641-647.
159. Brines ML, Ghezzi P, Keenan S. Erythropoietin crosses the bloodbrain barrier to protect against experimental brain injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10526-10531.
160. Xie Z, Wu X, Qiu Q. Expression pattern of erythropoietin and erythropoietin receptor in experimental model of retinal detachment. *Curr Eye Res* 2007; 32: 757-764.
161. Yamasaki M, Mishima HK, Yamashita H. Neuroprotective effects of erythropoietin on glutamate and nitric oxide toxicity in primary cultured retinal ganglion cells. *Brain Res* 2005; 1050: 15-26.
162. Zhu B, Wang W, Gu Q, Xu X. Erythropoietin protects retinal neurons and glial cells in early-stage streptozotocin-induced diabetic rats. *Exp Eye Res* 2008; 86: 375-382.
163. Zhang J, Wu Y, Jin Y. Intravitreal injection of erythropoietin protects both retinal vascular and neuronal cells in early diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 732-742.
164. Mowat FM, Gonzalez F, Luhmann UF. Endogenous erythropoietin protects neuroretinal function in ischemic retinopathy. *Am J Pathol* 2012; 180: 1726-1739.

165. Tsai JC, Wu L, Worgul B, Forbes M, Cao J. Intravitreal administration of erythropoietin and preservation of retinal Ganglion cells in an experimental rat model of glaucoma. *Curr Eye Res* 2005; 30: 1025-1031.
166. Xie Z, Chen F, Wu X. Safety and efficacy of intravitreal injection of recombinant erythropoietin for protection of photoreceptor cells in a rat model of retinal detachment. *Eye (Lond)* 2012; 26: 144-152.
167. Kilic U, Kilic E, Soliz J, Bassetti CI, Gassmann M, Hermann DM. Erythropoietin protects from axotomy-induced degeneration of retinal ganglion cells by activating ERK-1/-2. *FASEB J* 2005; 19: 249-251.
168. Morita M, Ohneda O, Yamashita T. HLF/HIF-2alpha is a key factor in retinopathy of prematurity in association with erythropoietin. *EMBO J* 2003; 22: 1134-1146.
169. Gawad AE, Schlichting L, Strauss O, Zeitz O. Antiapoptotic properties of erythropoietin: novel strategies for protection of retinal pigment epithelial cells. *Eye (Lond)* 2009; 23: 2245-2250.
170. Gong Y, Qiu Y, Song Z, Gu Q, Wu X, Sun X. Effects of single intravitreal rhEPO injection on light-induced retinal injury in rats. *Curr Eye Res* 2011; 36: 739-746.
171. Diem R, S€attler MB, Merkler D. Combined therapy with methylprednisolone and erythropoietin in a model of multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128: 375-378.
172. Livny E, Livnat T, Yakimov M, Masoud M, Weinberger D, Bahar I. Effect of erythropoietin on healing of corneal epithelial defects in rabbits. *Ophthalmic Res* 2013; 50: 129-133.
173. Guay DR. Rasagiline (TVP-1012): a new selective monoamine oxidase inhibitor for Parkinson's disease. *Am J Geriatr Pharmacother* 2006; 4: 330-346.
174. Akao Y, Maruyama W, Yi H. An anti-Parkinson's disease drug, N-propargyl-1(R)-aminoindan (rasagiline), enhances expression of anti-apoptotic bcl-2 in human dopaminergic SH-SY5Y cells. *Neurosci Lett* 2002; 326: 105-108.
175. Eliash S, Dror V, Cohen S. Neuroprotection by rasagiline in thiamine deficient rats. *Brain Res* 2009; 1256: 138-148.

176. Eliash S, Speiser Z, Cohen S. Rasagiline and its (S) enantiomer increase survival and prevent stroke in salt-loaded strokeprone spontaneously hypertensive rats. *J Neural Transm* 2001; 108: 909–923.
177. Speiser Z, Katzir O, Rehavi M. Sparing by rasagiline (TVP-1012) of cholinergic functions and behavior in the postnatal anoxia rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 60: 387–393.
178. Speiser Z, Levy R, Cohen S. Effects of N-propargyl- 1-(R)aminoindan (rasagiline) in models of motor and cognition disorders. *J Neural Transm Suppl* 1998; 52: 287–300.
179. Mandel S, Weinreb O, Amit T. Mechanism of neuroprotective action of the anti-Parkinson drug rasagiline and its derivatives. *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 48: 379–387.
180. Youdim MB, Weinstock M. Molecular basis of neuroprotective activities of rasagiline and the anti-Alzheimer drug TV3326 [(N-propargyl-(3R)aminoindan-5-YL)-ethyl methyl carbamate]. *Cell Mol Neurobiol* 2001; 21: 555–573.
181. Weinreb O, Amit T, Sagi Y. Genomic and proteomic study to survey the mechanism of action of the anti-Parkinson's disease drug, rasagiline compared with selegiline, in the rat midbrain. *J Neural Transm* 2009; 116: 1457–1472.
182. Youdim MB, Bar AO, Yogev-Falach M. Rasagiline: neurodegeneration, neuroprotection, and mitochondrial permeability transition. *J Neurosci Res* 2005; 79: 172–179.
183. Weinreb O, Amit T, Bar-Am O. Induction of neurotrophic factors GDNF and BDNF associated with the mechanism of neurorescue action of rasagiline and ladostigil: new insights and implications for therapy. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1122: 155–168.
184. Halliwell B, Gutteridge J. *Free radicals in biology and medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press Inc., 1989: 1–35.
185. Sies H. *Oxidative stress*. San Diego: Academic Press, 1985: 1–7.
186. Behnding A, Svensson B, Marklund S, Karisson K. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 471–475.

- 187.** Enghild J, Thogersen I, Oury T, Valnickova Z, Hojrup P, Crapo J. The heparin binding domain of extracellular superoxide dismutase is proteolytically processed intracellularly during biosynthesis. *J Biol Chem* 1999; 274: 14818–14822.
- 188.** Wensor MD, McCarty CA, Stanislavsky YL, Livingston PM, Taylor HR. The prevalence of glaucoma in the Melbourne visual impairment project. *Ophthalmology* 1998; 105: 733-739.
- 189.** Gupta N, Yucel YH. Glaucoma in the brain: a piece of the puzzle. *Can J Ophthalmol* 2006; 41: 541-542.
- 190.** 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; 114: 299-305.
- 191.** Beazley LD, Perry VH, Baker B and Darby JE. An investigation into the role of ganglion cells in the regulation of division and death of other retinal cells. *Dev Brain Res* 1987; 33: 169-184.
- 192.** Ju KR, Kim HS, Kim JH, Lee NY, Park CK. Retinal glial cell responses and Fas/FasL activation in rats with chronic ocular hypertension. *Brain Res* 2006; 1122: 209-221.
- 193.** Kuehn MH, Kim CY, Ostojic J, Bellin M, Alward WL, Stone EM, Sakaguchi DS, Grozdanic SD, Kwon YH. Retinal synthesis and deposition of complement components induced by ocular hypertension. *Exp Eye Res* 2006; 83: 620-628.
- 194.** Kim YM, Bombeck CA, Billiar TR. Nitric oxide as a bifunctional regulator of apoptosis. *Circ Res* 1999; 84: 253-256.
- 195.** Erdurmuş M, Yağcı R, Atış Ö, Karadağ R, Akbaş A, Hepşen IF. Antioxidant status and oxidative stress in primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma. *Curr Eye Res* 2011; 36: 713-718.
- 196.** Cleary C, Buckley CH, Henry E, McLoughlin P, O'Brien C, Hadoke PW. Enhanced endothelium derived hyperpolarising factor activity in resistance arteries from normal pressure glaucoma patients: implications for vascular function in the eye. *Br J Ophthalmol* 2005; 89: 223-228.

197. Grieshaber MC, Flammer J. Blood flow in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2005; 16: 79-83.
198. Beleslin-Cokic BB, Cokic VP, Yu X, Weksler BB, Schechter AN, Noguchi CT. Erythropoietin and hypoxia stimulate erythropoietin receptor and nitric oxide production by endothelial cells. *Blood* 2004; 104: 2073–2080.
199. H.H. Marti, M. Bernaudin, E. Petit, C. Bauer, Neuroprotection and angiogenesis: dual role of erythropoietin in brain ischemia. *News Physiol Sci* 2000; 15: 225–229.
200. Calapai G, Marciano MC, Corica F. Erythropoietin protects against brain ischemic injury by inhibition of nitric oxide formation. *Eur J Pharmacol* 2000; 401: 349–356.
201. Genc K, Genc S, Baskin H, Semin I. Erythropoietin decreases cytotoxicity and nitric oxide formation induced by inflammatory stimuli in rat oligodendrocytes. *Physiol Res* 2006; 55: 33–38.
202. Thomas T, McLendon C, Thomas G. L-Deprenyl: nitric oxide production and dilation of cerebral blood vessels. *Neuroreport* 1998; 9: 2595–2600.
203. Irer SV. The effect of l-deprenyl on tissue mRNA expressions of NOS isoforms and NO levels in an experimental diabetes mellitus model. *J Neural Transm* 2007; 114: 811–815.
204. 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; 123: 458-463.
205. Moreno MC, Campanelli J, Sande P, Sanes DA, Keller MI. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure. *Free Radic Biol Med* 2004; 37: 803-812.
206. Ferreira SM, Lerner SF, Brunzini R, Reides CG, Evelson PA, Llesuy SF. Time course changes of oxidative stress markers in a rat experimental glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 4635-4640.
207. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1620–1624.

- 208.** Murphy JA, Clarke DB. Target-derived neurotrophins may influence the survival of adult retinal ganglion cells when local neurotrophic support is disrupted: Implications for glaucoma. *Med Hypotheses* 2006; 67: 1208-12.
- 209.** Martin KR, Quigley HA, Valenta D, Kielczewski J, Pease ME. Optic nerve dynein motor protein distribution changes with intraocular pressure elevation in a rat model of glaucoma. *Exp Eye Res* 2006; 83: 255-262.
- 210.** Iwabe S, Moreno-Mendoza NA, Trigo-Tavera F, Crowder C, Garcia- Sanchez GA. Retrograde axonal transport obstruction of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its TrkB receptor in the retina and optic nerve of American Cocker Spaniel dogs with spontaneous glaucoma. *Vet Ophthalmol* 2007; 10: 12-19.
- 211.** Ko ML, Hu DN, Ritch R, Sharma SC, Chen CF. Patterns of retinal ganglion cell survival after brain-derived neurotrophic factor administration in hypertensive eyes of rats. *Neurosci Lett* 2001; 305: 139-142.
- 212.** Martin KR, Quigley HA, Zack DJ, Levkovitch-Verbin H, Kielczewski J, et al. Gene therapy with brain-derived neurotrophic factor as a protection: retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44: 4357-4365.
- 213.** Martin KR, Quigley HA. Gene therapy for optic nerve disease. *Eye (Lond)* 94 2004; 18: 1049-1055.
- 214.** Pease ME, Zack DJ, Berlinicke C, Bloom K, Cone F, Wang Y, et al. Effect of CNTF on retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50: 2194-2200.
- 215.** Vecino E, Ugarte M, Nash MS, Osborne NN. NMDA induces BDNF expression in the albino rat retina in vivo. *Neuro Report* 1999; 10: 1103-1106.
- 216.** Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H. Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci* 2002; 5: 405-414.
- 217.** Viviani B, Bartesaghi S, Corsini E, Villa P, Ghezzi P, Garau A, et al. Erythropoietin protects primary hippocampal neurons increasing the expression of brain-derived neurotrophic factor. *J Neurochem* 2005; 93: 412-421.

- 218.** Liu-Mei Hu. EPO reduces reactive gliosis and stimulates neurotrophin expression in Muller cells. *Frontiers in Bioscience* 20011; 3: 1541-1555.
- 219.** Wang L, Zhang Z, Wang Y, Zhang R, Chopp M. Treatment of stroke with erythropoietin enhances neurogenesis and angiogenesis and improves neurological function in rats. *Stroke* 2004; 35: 1732–177.
- 220.** Weinreb O. Involvement of multiple survival signal transduction pathways in the neuroprotective, neurorescue and APP processing activity of rasagiline and its propargyl moiety. *J Neural Transm Suppl* 2006; 70: 457–465.
- 221.** Wu D, Pardridge WM. Neuroprotection with noninvasive neurotrophin delivery to the brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 254–259.
- 222.** Liu P, Zou D, Yi L, Chen M, Gao Y, Zhou R. Quercetin ameliorates hypobaric hypoxia-induced memory impairment through mitochondrial and neuron function adaptation via the PGC-1alpha pathway. *Restorative Neurology and Neuroscience* 2015; 33: 143–157.

6. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Malatya’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Malatya’da tamamladım. 2012 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. 2013 yılında Nisan TUS sınavı sonrası Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Anabilim Dalı’nda ihtisas eğitimine başladım.

