

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**RADYOTERAPİYE BAĞLI KATARAKT GELİŞİMİNDE  
VİTRÖZ SIVININ ÖNEMİ**

**Dr. Ecem YİĞİT**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2024**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**RADYOTERAPİYE BAĞLI KATARAKT GELİŞİMİNDE  
VİTRÖZ SIVININ ÖNEMİ**

**Dr. Ecem YİĞİT**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**Danışman Öğretim Üyesi  
Prof. Dr. Mustafa CENGİZ**

**ANKARA**

**2024**

## TEŞEKKÜR

Anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Gökhan Özyiğit başta olmak üzere engin tecrübelerinden faydalanma şansına eriştiğim ve birlikte çalışma fırsatı bulmaktan onur duyduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Fadıl Akyol, Prof. Dr. Murat Gürkaynak, Prof. Dr. Faruk Zorlu, Prof. Dr. Ferah Yıldız, Prof. Dr. Melis Gültekin, Prof. Dr. Pervin Hürmüz ve Doç. Dr. Sezin Yüce Sarı'ya,

Bu süreçte her aşamada bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan tez danışmanım sayın Prof. Dr. Mustafa Cengiz'e ve bu çalışmanın tüm aşamalarında bir an olsun desteğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Gözde Yazıcı'ya,

Asistanlık hayatıma başladığım ilk günden itibaren kendisinden çok şey öğrendiğim ve her zaman desteğini hissettiğim sevgili Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur Elmalı başta olmak üzere, değerli arkadaşım Dr. Alper Kahvecioğlu ve çalışma ortamımızı aile gibi hissetmemi sağlayan tüm asistan doktor arkadaşlarıma,

Birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım medikal fizik uzmanları, radyoterapi teknikerleri, tıbbi sekreterler, hemşireler ve tüm iş arkadaşlarıma,

Son olarak, başta yol arkadaşım annem ve kıymetli büyüklerim İnci-Remzi Aydın olmak üzere tüm aile bireylerime, üzerimdeki emekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma, THD-2023-20808 proje numarası ile Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

**Ecem Yiğit, Radyoterapiye Bağlı Katarakt Gelişiminde Vitröz Sıvının Önemi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Uzmanlık Tezi, Ankara, 2024.** Radyasyona bağlı kataraktın patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Oksidatif stresin arttığı durumlarda katarakt gelişiminin indüklendiği bilinmektedir. Vitröz sıvı oksijen basıncını düzenleyici etkisi ve içerdiği antioksidanlar ile lensin hipoksik koşullarda kalmasına katkı sağlamaktadır. Bu çalışmada radyasyon maruziyeti sonrasında vitröz sıvıda meydana gelen değişikliklerin lens üzerindeki, özellikle kataraktojenik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla 8 ila 10 haftalık Yeni Zelanda tavşanlarının sol göz vitröz sıvılarına lens korunarak tek doz 20 Gy radyoterapi uygulanmış, sağ gözleri kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Üç aylık izlemde aylık periyotlar ile oftalmolojik muayene yapılmıştır. Takip süresi sonunda orbitaya yönelik manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yapılmış, enükleasyon sonrasında vitröz sıvı numunelerinde total oksidan ve antioksidan düzeyleri spektrofotometrik yöntemle incelenmiştir. Yapılan oftalmolojik muayenelerde izlem süresi sonunda hayatta olan sekiz tavşanın ikisinde (%25) radyoterapi uygulanan tarafta katarakt geliştiği saptanmıştır. Orbita MRG'de uygulama tarafındaki aköz sıvılarda kontrastsız sekanslarda azalmış ( $p = 0,03$ ), geç dönem post-kontrast sekanslarda ise artmış sinyal intensitesi saptanmıştır ( $p = 0,04$ ). Vitröz sıvılardaki total oksidan düzeyleri ( $p = 0,04$ ) ve oksidatif stres indeksinin ( $p = 0,04$ ) ise kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu izlenmiştir. Çalışmamızın bulguları radyasyona bağlı gözün posterior yapılarında gerçekleşen değişikliklerin, ön kamara üzerinde etkilerinin olduğunu ve radyasyona bağlı katarakt gelişiminde bu değişikliklerin rolü olabileceğini desteklemektedir.

**Anahtar Kelimeler:** katarakt, lens, radyoterapi, vitröz sıvı.

Bu proje, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. Yerel Etik Kurulu tarafından 11.04.2023 tarihinde 668 protokol numarası ile onaylanmış, THD-2023-20808 proje numarası ile Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

## ABSTRACT

**Ecem Yigit, The Importance of Vitreous Humor in Radiation-Induced Cataracts, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Radiation Oncology, Ankara, 2024.** The mechanism underlying radiation-induced cataracts has not been fully elucidated to date. An increase in oxidative stress induces cataract formation. Vitreous humor contributes to maintaining hypoxic conditions in the lens with its regulatory effect on oxygen pressure and the antioxidants it contains. This study aimed to investigate the impact of radiation-induced changes in vitreous humor on the lens, particularly its cataractogenic effect. Eight to ten-week-old New Zealand rabbits were used, and a single dose of 20 Gy of radiotherapy was applied to the left eye's vitreous humor, while the right eye served as the control group. Ophthalmological examinations were performed at monthly intervals during the three-month follow-up. At the end of the follow-up period, orbital magnetic resonance imaging (MRI) was conducted. Total oxidant and antioxidant levels were assessed using spectrophotometric methods within the vitreous humor samples. Cataracts developed in two of the eight surviving rabbits' irradiated eyes (25%). In orbital MRI, decreased signal intensity was observed in the left aqueous humor in non-contrast sequences ( $p = 0,03$ ), while increased signal intensity was detected in late post-contrast sequences ( $p = 0,04$ ). Total oxidant levels ( $p = 0,04$ ) and oxidative stress index ( $p = 0,04$ ) in the vitreous humor samples were significantly lower in the control group. These findings support that the alterations in the posterior structures of the eye due to radiation had effects on the anterior chamber and may contribute to the development of radiation-induced cataracts.

**Key Words:** lens, cataract, radiotherapy, vitreous humor.

This project was approved by Kobay Experimental Animals Laboratory Inc. Local Ethics Committee, on April 11, 2023, with the 668 protocol number and supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Coordination Unit with the THD-2023-20808 project number.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	viii
ŞEKİLLER.....	ix
TABLolar.....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Radyoterapi .....	2
2.2. Radyasyonun Oküler Yapılar Üzerindeki Etkileri.....	3
2.3. Lens .....	4
2.4. Katarakt .....	6
2.4.1. PatogeneZ .....	6
2.4.2. Katarakt Tipleri .....	6
2.5. Radyasyon Kataraktı .....	7
2.5.1. PatogeneZ .....	7
2.5.2. Epidemiyolojik Kanıtlar.....	8
2.5.3. Etkileyen Faktörler.....	9
2.6. Vitröz Sıvı .....	12
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	15
3.1. Çalışma Türü, Etik Kurul İzni ve Proje Desteği.....	15
3.2. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanlarının Özellikleri.....	15
3.3. Radyoterapi Uygulaması .....	15
3.4. Deney Hayvanlarının Takibi.....	18

3.5.	Orbita Manyetik Rezonans Görüntülemesi .....	19
3.6.	İnsani Sonlandırma, Enükleasyon ve Doku Örneklerinin Alınması.....	21
3.7.	Toplam Protein Miktar Tayini .....	23
3.8.	Toplam Antioksidan Durumu (TAS) .....	24
3.9.	Toplam Oksidan Durumu (TOS).....	24
3.10.	Oksidatif Stres İndeksi (OSI).....	25
3.11.	İstatistiksel Analizler.....	25
4.	BULGULAR.....	26
4.1.	Radyoterapi Plan Parametreleri.....	26
4.2.	Oftalmolojik Muayene Bulguları .....	30
4.3.	Orbita Manyetik Rezonans Görüntüleme Bulguları.....	34
4.3.1.	Hacim Ölçümleri.....	34
4.3.2.	Görsel Değerlendirme .....	34
4.3.3.	Sinyal İntensitesi Ölçümleri.....	35
4.4.	Histopatolojik İncelemeler .....	36
4.5.	BCA Toplam Protein Miktarı Tayini .....	37
4.6.	Toplam Antioksidan Durumu (TAS) .....	38
4.7.	Toplam Oksidan Durumu (TOS).....	41
4.8.	Oksidatif Stres İndeksi (OSI) .....	43
5.	TARTIŞMA.....	45
5.1.	Kısıtlılıklar.....	49
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER .....	51
	KAYNAKLAR.....	52
	EKLER	
	Ek 1. Etik kurul onam formu.	

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>BCA:</b>	Bikinkoninik asit
<b>BT:</b>	Bilgisayarlı tomografi
<b>COMS:</b>	<i>Collaborative Ocular Melanoma Study</i>
<b>CTV:</b>	<i>Clinical target volume</i>
<b>ÇAA:</b>	Çeyrekler arası aralık
<b>ÇYK:</b>	Çok yapraklı kolimatör
<b>DICOM:</b>	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
<b>DNA:</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>ICRP:</b>	<i>International Commission on Radiological Protection</i>
<b>MLC:</b>	<i>Multi Leaf Collimator</i>
<b>MRG:</b>	Manyetik rezonans görüntüleme
<b>NRF2:</b>	Nükleer faktör-eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
<b>OSI:</b>	Oksidatif stres indeksi
<b>PSK:</b>	Posterior subkapsüler katarakt
<b>PRV:</b>	Planlanan risk altındaki organ hacmi
<b>RBE:</b>	Rölatif biyolojik etkinlik
<b>RT:</b>	Radyoterapi
<b>TAS:</b>	Toplam antioksidan durumu
<b>TOS:</b>	Toplam oksidan durumu
<b>USRT:</b>	<i>United States Radiologic Technologists Cohort</i>

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Lensin anatomik yapısı. ....	4
Şekil 2.2. Vitroz sıvı ve göze ait yapılar. ....	13
Şekil 3.1. Hedef ve risk altındaki organların kontrolması.....	16
Şekil 3.2. Radyoterapi alanlarının 3 boyutlu düzlemde görüntüsü. ....	17
Şekil 3.3. Tedavi planına ait ÇYK pozisyonları.....	17
Şekil 3.4. Tedavi masasında prone pozisyonda uzanmakta olan tavşan. ....	18
Şekil 3.5. El biyomikroskobu ile muayene esnasında tavşan.....	19
Şekil 3.6. Orbita MRG çekimi esnasında tavşan.....	20
Şekil 3.7. Orbita MRG üzerinden bilateral lens, aköz sıvı ve vitroz sıvının segmentasyonu. ....	21
Şekil 3.8. Enükleasyon sonrası uygulamalar. A: Sklerotomi. B: Vitroz sıvının aspirasyonu.....	22
Şekil 3.9. Lensin makroskobik görüntüsü.....	23
Şekil 4.1. Tedavi planına ait doz dağılımının görüntüleri. A: Koronal düzlem, B: Sagittal düzlem.....	26
Şekil 4.2. Sol lense ait doz-hacim histogramı. ....	27
Şekil 4.3. Sol vitroz sıvıya ait doz-hacim histogramı. ....	28
Şekil 4.4. Sağ lense ait doz-hacim histogramı. ....	29
Şekil 4.5. Sağ vitroz sıvıya ait doz-hacim histogramı.....	30
Şekil 4.6. 2 numaralı tavşanda izlenen katarakt görüntüsü (3. ay). ....	31
Şekil 4.7. 7 numaralı tavşanda izlenen katarakt görüntüsü (3. ay). ....	32
Şekil 4.8. Kontrast sonrası geç fazda (45. dk) alınan T2-SPACE sekansında sol göz ön kamarada izlenen kontrast madde birikimi. ....	35
Şekil 4.9. Aköz sıvıdaki sinyal intensitelerinin fazlar arasındaki değişimi.....	36
Şekil 4.10. BCA protein tayini deneyinde standart çözeltiler ile elde edilen absorbanlar ile oluşturulmuş standart doğru ve denklemi. ....	37
Şekil 4.11. TAS tayini deneyinde standart çözeltiler ile elde edilen absorbanlar ile oluşturulmuş standart doğru ve denklemi. ....	39
Şekil 4.12. Kontrol ve uygulama gruplarının TAS/protein (mmol/g) değerlerinin karşılaştırılması. ....	40
Şekil 4.13. TOS standartlarının derişime karşı absorban standart eğri grafiği. ....	41

Şekil 4.14. Kontrol ve uygulama gruplarının TOS/protein (mmol/g) değerlerinin karşılaştırılması. .... 42

Şekil 4.15. Kontrol ve uygulama gruplarının OSI değerlerinin karşılaştırılması. .... 44



**TABLULAR**

Tablo 4.1. Oftalmolojik muayene bulguları. ....	33
Tablo 4.2. Uygulama ve kontrol grupları arasında göze ait yapıların hacimlerinin karşılaştırılması. ....	34
Tablo 4.3. Lens, aköz sıvı ve vitröz sıvıda T2-SPACE sekanslarda sinyal intensitesi ölçümleri. ....	36
Tablo 4.4. Vitröz sıvı numunelerinin toplam protein derişimleri.....	38
Tablo 4.5. Vitröz sıvı numunelerinin TAS/protein (mmol/g) değerleri.....	39
Tablo 4.6. Vitröz sıvı numunelerinin TOS/protein (mmol/g) değerleri. ....	42
Tablo 4.7. Vitröz sıvı numunelerinin oksidatif stres indeksleri. ....	43



## 1. GİRİŞ

Başta kanser tanılı hastalarda olmak üzere tedavi amacıyla etkin bir şekilde kullanılan radyoterapi (RT) kaçınılmaz bazı yan etkilere neden olabilmektedir. Gözün RT alanı içerisinde veya RT alanına yakın olduğu durumlarda göze ait çeşitli alt yapıların hasarı ile ilişkili görme bulanıklığı, kuru göz, katarakt, glokom, retinopati, optik nöropati, makülopati gibi yan etkiler meydana gelebilir. Bu yan etkilerden birisi olan radyasyon ilişkili kataraktın ortaya çıkma mekanizması hakkında günümüze kadar birtakım görüşler öne sürülmüş olmakla birlikte, kesin gelişim mekanizması henüz net olarak aydınlatılamamıştır.

Fizyolojik koşullarda lensin oksijen basıncı düşük seviyelerdedir.<sup>1</sup> Lensteki oksijen basıncı arttıkça oksidatif stres artmakta ve bu durum katarakt gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır.<sup>2</sup> Göz anatomisinde yoğun vasküler yapıların bulunduğu retina dokusu en yüksek oksijen konsantrasyonuna sahipken, bu oran ön kısımlara doğru ilerledikçe vitröz sıvının oksijen seviyelerindeki düzenleyici etkisi sayesinde azalmakta, dolayısıyla lens yüksek oksijen seviyelerinden korunmaktadır.<sup>3</sup> Vitröz sıvının yapısının bozulması, oksijen tüketim kabiliyetinde azalmaya ve anterior bölgeye doğru oksijen difüzyon oranında artışa neden olmaktadır. Sonuç olarak lensin aşırı oksidasyona maruz kalması nedeniyle katarakt gelişimi indüklenmektedir.<sup>3</sup> Vitröz sıvının yaşlanma ile doğru orantılı olarak yapısının bozulduğu veya çeşitli nedenler ile vitrektomi yapıldığı durumlardaki klinik sonuçlar göz önüne alındığında, lensin fizyolojik fonksiyonlarının sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi için vitröz sıvının da önemli olduğu düşünülmektedir.<sup>4,5</sup> Literatürde RT sonrası vitröz sıvının yapısı ve metabolik içeriğinde değişiklikler rapor edilmiş olsa da, bu değişikliklerin radyasyon kataraktogenezi üzerinde bir etkisinin olup olmadığına dair herhangi bir veri bulunmamaktadır.<sup>6</sup>

Bu çalışmada radyasyon maruziyeti sonrasında vitröz sıvıda meydana gelen değişikliklerin lens üzerindeki etkilerinin araştırılması için bir hayvan deneyi modellenmesi yapılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Radyoterapi

İyonizan radyasyonun terapötik amaçla kullanıldığı RT, başta kanser tanılı hastalarda olmak üzere geçmişten günümüze sıklıkla tercih edilen ve yüksek etkinlik gösteren bir tedavi yöntemidir. Her ne kadar yüksek tedavi etkinliği gösterse de, vücuttaki çeşitli doku ve organların iyonizan radyasyona maruz kalması, kaçınılmaz bazı yan etkiler ile sonuçlanabilmektedir. Radyasyon Onkolojisi disiplininin en önemli amaçlarından biri, terapötik pencere adı verilen tümör kontrol olasılığı ile yan etki gelişme potansiyeli arasındaki farkı arttırmaktır. Terapötik penceredeki genişleme ise mevcut radyobiyojoloji bilgilerinin, gelişmiş teknolojiler ile kombine bir şekilde incelendiği detaylı araştırmalar aracılığıyla elde edilebilecektir.

Radyasyonun biyolojik etkileri temel olarak deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına bağlıdır. DNA'da meydana gelen zincir kırıkları, radyasyona bağlı hücre ölümünde baskın olan temel mekanizmadır. Hücrelerde, dokularda ve organlarda gerçekleşen değişiklikler, radyasyonun şiddeti ve diğer önemli nicelikleri ile her zaman korele değildir. Hücre hasar tamir mekanizmalarının kapasitesi, doku farklılıkları, oksijenizasyon düzeyi gibi çok sayıda faktör, DNA hasarının nasıl sonuçlanacağı ile yakından ilişkilidir. RT ile tümörisidal etki oluşturulmaya çalışılırken, normal dokuların radyasyon maruziyeti uygulanan tedavi tekniğine göre farklı şiddetlerde olmakla birlikte kaçınılmazdır.

Radyasyonun normal doku üzerindeki etkileri, deterministik ve stokastik etki olarak iki sınıfta değerlendirilir. Doku reaksiyonu olarak da tanımlanan deterministik etkide, hücre ölümü gerçekleşir ve ölen hücreler doku veya organdan uzaklaştırılır. Az sayıda hücre ölümü ile anlamlı etki görülmeyebilir ancak çok sayıda hücre ölümü ile doku hasarı gelişir. DNA hasarının anlamlı bir şekilde doku değişikliklerine yol açabilmesi için bir eşik doz vardır. Eşik dozun altında deterministik etki izlenmezken, eşik doz üzerinde gelişme olasılığı ve şiddeti hızla artarak sigmoidal bir eğri çizer. Stokastik etkide ise, hücrelerde gerçekleşen hasar hücre ölümünün gerçekleşmesi için yetersiz kalmaktadır. Fakat çeşitli mutasyonlar görülebilir. Stokastik etki için eşik doz tanımı yoktur. Doz arttıkça gelişme olasılığı artar. Radyasyon ilişkili katarakt, literatürde genellikle deterministik etki sınıfında değerlendirilmiştir.<sup>7</sup> Ancak katarakt gelişimini indükleyen eşik dozun oldukça düşük olabileceğini gösteren çalışmaların

takibinde, katarakt gelişimi için bir eşik doz tanımının olmayabileceği, kataraktın tek bir lens fibrili veya epitel hücrelerinin etkilenmesi ile gelişen bir stokastik etki sonucu da gerçekleşebileceği öne sürülmüştür.<sup>8</sup>

## 2.2. Radyasyonun Oküler Yapılar Üzerindeki Etkileri

RT oldukça komplike bir anatomiye sahip olan oküler bölgede de birçok farklı hastalığın tedavisinde sıklıkla tercih edilen bir tedavi yaklaşımıdır. Perioküler yapılar, orbita, retina, uvea ve optik sinirlerin malign ve benign hastalıklarının yanı sıra, nazal, paranasal sinüs ve intrakraniyal hastalıkların tedavisi için de uygulanan RT, fonksiyonel ve kozmetik anlamda önem teşkil eden oküler yapılarda çeşitli oftalmolojik yan etkilere neden olabilir.

RT sırasında ve sonrasındaki ilk 3 ayda gelişen yan etkiler akut, 3-6 aydan sonra gelişen yan etkiler ise kabaca geç dönem toksisite sınıfında değerlendirilir. Akut yan etkiler hızlı çoğalan hücre hasarı sonucu gelişmekle birlikte uygun medikal tedavi yaklaşımları ile genellikle iyileşir. Geç toksisitelerin ise ortaya çıkması yıllar sürebilir. Sıklıkla vasküler hasar ve buna bağlı olarak gelişen iskemi ve fibrozis ile ilişkilendirilirler, kalıcı olarak tedavi edilmeleri mümkün olmayabilir. Bu yan etkiler radyasyon tipi, dozu, süresi gibi faktörlere bağlı olmakla birlikte, farklı dokuların radyoduyarlılık seviyeleri de yan etki gelişimi açısından kritik bir rol oynamaktadır.

Orbital yapıların radyasyon toleranslarıyla ilgili çok sayıda klinik çalışma yapılmış ve bu yapıların çoğunun radyasyon doz toleransları belirlenmiştir.<sup>9</sup> Genel olarak göz içerisinde anteriordan posteriora doğru radyasyona karşı direnç artar. Ön kompartmanda bulunan lens vücutta radyasyona en duyarlı yapılardan biri iken, optik sinirlerin radyasyona daha dirençli yapılar olduğu bilinmektedir.<sup>10,11</sup>

Uygulanan radyasyonun dozuna bağlı olarak, akut dönemde kirpiklerde dökülme, göz yaşarması veya kseroftalmi (göz kuruluğu), konjonktivit, palpebral eritem, keratit, korneal ülserasyon, üveit gibi komplikasyonlar gelişebilir.<sup>12</sup> Lens, retina ve optik sinir ile ilişkili ciddi akut dönem toksisite ise rapor edilmemiştir.

Geç dönemde ise yine göze ait yapıların maruz kaldığı RT dozuna bağlı olarak, göz kapaklarında ve konjonktivada telenjektaziler, atrofi, glom, kirpiklerde kalıcı dökülme ve/veya depigmentasyon, subkonjonktival hemorajiler, kseroftalmi, katarakt, kronik konjonktivit, keratit, üveit, retinopati, optik nöropati ve görme kaybı izlenebilir.

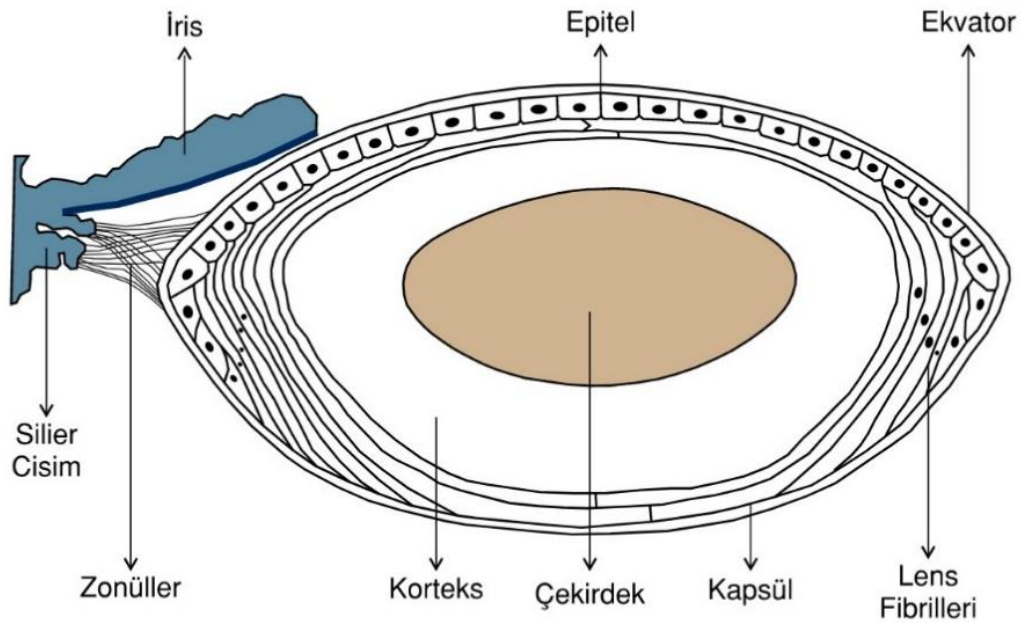
Bu yan etkiler arasında insidansı en yüksek olanlardan birisi, radyasyona oldukça duyarlı olan lensin etkilenmesi sonucu gelişen kataraktır.<sup>13</sup>

### 2.3. Lens

Lens gözün ön segmentinde bulunan, şeffaf ve bikonveks bir yapıdır. İrisin posteriorunda, vitröz sıvının ise anteriorunda yer alır. Gözdeki anatomik konumu ile optik sistemde önemli bir rol oynar. Temel fonksiyonu göze gelen ışığın kırılarak retina üzerinde odaklanmasıdır. Bunun yanı sıra, gözün farklı mesafelerdeki nesnelere odaklanma yeteneği olarak tanımlanan akomodasyon refleksinde görev alan temel yapıdır.

Lenste damar ve sinir yapısı bulunmaz. Etrafını çevreleyen kapsüle yeni hücreler eklenmesi ile yaşam boyunca büyür.<sup>14</sup> Metabolizması ve nutrisyonel gereksinimleri aköz ve vitröz sıvılar aracılığı ile sağlanır. Lensin şeffaf olmasının nedenleri, avasküler yapısı, içeriğindeki hücrelerin organelden fakir olması ve yapısındaki fibrillerin düzenli yerleşimleridir.<sup>15,16</sup>

Lensin anatomik yapısı Şekil 2.1’de sunulmuştur. Ön ve arka olmak üzere iki yüzeyi mevcuttur. Ön yüzeyin konveksitesi arka yüzeye göre daha azdır. Ön ve arka yüzeyin birleştiği yer ekvator, her iki yüzeyin orta noktası ise sırasıyla ön kutup ve arka kutup olarak isimlendirilir. Bu iki kutbu birleştiren hayali çizgi ise lensin eksenini olarak adlandırılır.



Şekil 2.1. Lensin anatomik yapısı.

Lens kapsül, epitel ve fibriller olmak üzere üç ana yapıdan oluşmaktadır.

**Kapsül:** Lens yüzeyi kapsül olarak tanımlanan ekstrasellüler bir matriks tarafından çepeçevre sarılır. Kapsül tip I, III ve IV kollajen, glikozaminoglikan ve glikoproteinlerden oluşur. Kollajen içeriği lensin akomodasyonda önemli rol oynayan elastisitesini sağlar. Kapsül kalınlığı ise pozisyona ve yaşa bağlı olarak değişkenlik gösterir.<sup>17,18</sup> Ekvator da en kalın (21-23 µm), arka kutupta ise en ince (2-3 µm) formundadır.<sup>18</sup> Anteriyorda lens epiteline, posteriorda ise lens fibrillerine bağlanır. Kapsül temel olarak lensin anteriorundaki epitel hücrelerinden köken alır. Pürüzsüz bir optik yüzey sağlamanın yanı sıra lensin göz içinde asılı kalması için de bir bağlantı noktası görevi görür. Lens asıcı ligamentler (zonüler fibriller) aracılığı ile uveanın bir parçası olan silier cisme bağlanır ve bu şekilde stabilitesini korur.

**Epitel:** Lens epiteli kapsül ve fibrillerin arasında yer alarak lensin ön yüzeyini kaplar. Basit kübik epitel hücrelerinden oluşur. Ekvator hizasındaki kapsülün altında yer alan epitel hücreleri mitokondriden zengindir ve aktif proliferasyon gösterirler. Bu bölge germinal zon olarak adlandırılır.<sup>19</sup>

**Fibriller:** Lens fibrilleri ise epitel hücrelerinin zamanla uzayıp düzleşmesi ile oluşur. Birbirlerine desmozomlar aracılığıyla mekanik olarak bağlanırlar. Lens fibrillerinin oluşumu sırasında, epitel hücrelerinin apikal uzantıları ön kutba, bazal uzantıları ise arka kutba doğru uzanırlar. Ardından hücre çekirdekleri mikrotübül, mikrofilament ve ara filamentler gibi sitoskeletal yapıların artışı ile ön yüzeye doğru göç ederler. Hücreler ön ve arka yüzeylere doğru uzanmaya devam ettikçe bu süreçte hücre çekirdeği parçalanır, tüm organeller ön veya arka yüzeylere doğru göç ederek ortadan kaybolurlar. Bu değişimlerin sonucunda epitel hücreleri fibrillere dönüşür. Bu süreç sürekli tekrarlandığından daha eski fibriller, yeni fibriller tarafından sürekli merkeze doğru itilirler.

Kesitsel bir incelemede ekvator ve lens yüzeyine yakın olan fibriller çekirdekli olarak izlenirken, derine doğru ilerlendiğinde ise hücre çekirdeğini ve organellerinin çoğunu kaybetmiş olarak izlenirler. Fibrillerin yapısındaki bu değişiklik genç fibrilleri içeren kortikal bölge ve yaşlı fibrilleri içeren merkezi (santral) bölge ayrımını belirginleştirir. Döngüsü tamamlanan hücreler parçalanmaz, merkeze doğru göç ederek burada birikirler. Bu göç dış korteksin metabolizmasının devamına katkı

sağlarken aynı zamanda retinada görüntüyü odaklamaya yardımcı olur ancak ilerleyen yaşlarda katarakt patogenezinde rol alır.<sup>20</sup>

## **2.4. Katarakt**

Katarakt fizyolojik koşullarda saydam olması gereken lens dokusunun veya kapsülünün çeşitli endojen ve/veya eksojen nedenler aracılığıyla saydamlığını yitirmesi olarak tanımlanır. İnfantları, yetişkinleri ve daha sık olmak üzere de ileri yaştaki bireyleri etkilemektedir.<sup>21</sup> Kataraktın görme duyusu üzerindeki etkileri yaygınlığına, opasite pozisyonuna ve morfolojik görünümüne göre değişiklik göstermektedir. Bu faktörlere bağlı olarak klinik olarak asemptomatik olabileceği gibi bulanık görme, ışığa karşı hassasiyet gibi semptomlara da neden olabilir. Tedavisiz kalan progrese olgularda ise kalıcı körlük ile sonuçlanma ihtimali mevcuttur. Katarakt dünya çapında körlüğün önemli bir nedenidir.<sup>22</sup> Fakat katarakt cerrahisinin yaygınlaşması ile katarakta bağlı körlük oranları giderek azalmaktadır.<sup>23</sup>

### **2.4.1. Patogenez**

Diğer epitellerden farklı olarak lens epitel hücreleri yaşam döngüsünü tamamladıktan sonra ortadan kaldırılmaz. Bunun yerine buldukları tabakadan lensin merkezine doğru göç ederler. Bu hücreler lens merkezinde devamlı olarak birikir ve sıkışır, zaman geçtikçe nükleer skleroz ve opasite oluştururlar. Buna bağlı olarak lensin şeffaflığını kaybetmesi katarakt patogenezinin temel mekanizması olarak kabaca özetlenebilir. Etiyolojik faktörler incelendiğinde katarakt gelişimine yol açan faktörlerin genellikle reaktif oksijen türevlerinin oluşumuna, dolayısı ile hücrelerde oksidatif strese yol açan nedenler olduğu görülmektedir.<sup>24</sup> Bu nedenle oksidatif stresin lipid peroksidasyonu, DNA ve/veya protein hasarını indükleyerek lenste değişikliklere neden olduğu ve kataraktogenezin başlamasında rol oynadığı ileri sürülmüştür.

### **2.4.2. Katarakt Tipleri**

Kataraktlar lens içerisindeki opasitenin lokasyonuna göre nükleer, kortikal ve posterior subkapsüler katarakt (PSK) olmak üzere üç sınıfa ayrılır. Nükleer ve kortikal kataraktlar lens fibrilleri üzerinden gelişirken PSK lensin germinatif tabakasından köken alır.<sup>25,26</sup>

## 2.5. Radyasyon Kataraktı

İyonize radyasyon maruziyeti sekonder katarakt nedenleri içerisindeki önem arz eden etiyojilerden biridir. Radyasyon ile ilişkili kataraktın tanımlanması X ışınlarının ve radyoaktif maddelerin keşfi sonrasında, 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. Radyasyon kataraktı ilk olarak 1905 yılında bir radyoloji teknisyeninde rapor edilmiştir.<sup>27</sup> Özellikle Hiroşima ve Nagazaki'deki nükleer patlamaların ardından sağ kalan popülasyonda radyasyon ilişkili kataraktların sıklıkla izlenmesi ile bu konudaki çalışmalar yoğunlaşmış ve lensin radyasyondan korunması ile ilgili stratejiler önem kazanmıştır.<sup>28</sup>

### 2.5.1. Patogenez

İyonizan radyasyon maruziyeti ile en sık ilişkilendirilen katarakt çeşidi PSK'dır. Bunu kortikal katarakt takip eder. PSK gelişimine zemin hazırlayan temel mekanizmanın germinatif bölgedeki yüksek proliferasyon indeksine sahip epitel hücrelerde gerçekleşen hasar olduğu düşünülmektedir.<sup>26</sup> Radyasyon bazal membranda kısa süreli olarak mitozu inhibe eder. Ardından kompanzasyon için düzensiz ve anormal mitoz gelişir.<sup>29,30</sup> Bu durum piknotik çekirdekli, şekli ve düzeni bozuk hasarlı hücrelerin posterior subkapsüler bölgede birikmesi ile sonuçlanır.

Erken dönemde lens ile ilişkili değişiklikler genellikle posterior kutupta küçük santral bir opasitenin eşlik ettiği vakuollerini içermektedir. Opasiteler zamanla birleşerek konglomere hale gelip doz ile de ilişkili olarak granüler opasiteler ve vakuoller şeklinde ön subkapsüler alanda dahi görünür hale gelebilirler. Bu morfoloji radyasyona bağlı katarakt için patognomonik olmamakla birlikte kişide radyasyon maruziyeti öyküsü mevcut ise radyasyon ilişkili katarakt lehine güçlü bir kanıt oluşturur. Katarakt formasyonunun daha da ilerlemesi ile radyasyon ilişkili katarakt diğer katarakt çeşitlerinden ayırt edilemez hale gelebilir.

Bu patolojik değişiklikleri açıklayabilmek için günümüze kadar birçok hipotez ortaya atılmıştır. Hipotezlerin bir kısmında katarakt gelişiminin doğrudan lens ve/veya alt birimlerinin radyasyon maruziyetine bağlı olduğu, diğer bir kısmında ise lens ile yakın komşulukta bulunan yapıların radyasyon maruziyetinin kataraktogenezini indüklediği öne sürülmüştür. Ancak günümüzde bu hipotezler hala doğrulanamamış ve kataraktogenez üzerinde esas belirleyici olan faktörler net olarak belirlenememiştir.

Hayvan deneylerinde kataraktojenik dozlarda radyasyon maruziyeti sonrası erken dönemde inflamasyon bulgularının izlenmesi kataraktogenez patofizyolojisinde inflamatuvar süreçlerin rol oynadığını düşündürmüştür.<sup>31</sup> Fakat radyasyon maruziyeti ile inflamasyonun belirgin olarak indüklenmediği daha düşük dozlarda dahi katarakt formasyonu gelişebildiği bildirilmiştir.<sup>32</sup> Bu bulgular inflamasyonun radyasyona bağlı katarakt gelişiminden sorumlu temel faktör olmadığını düşündürmüştür.

Radyasyon kataraktının erken döneminde anormal lens fibrillerinin kapsül arkasında biriktiği izlenmektedir. Bu bulgu üzerinden üretilen diğer bir hipotez ise radyasyon maruziyeti sonucu doğrudan lens fibrillerinin dejenere olup yapılarının bozulmasıdır. Deneysel bir çalışmada ışınlama esnasında hali hazırda mevcut olan lens fibrillerinin radyasyon maruziyeti sonrasında posteriora doğru göç etmedikleri ve yapılarında herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır.<sup>33</sup> Öte yandan radyasyon maruziyeti öncesinde trityumlu timidin ile işaretlenen germinatif bölgedeki epitel hücrelerinin, ışınlamayı takiben farklılaşarak posterior kutba doğru göç etmeleri ile kataraktogenezi başlattıkları gösterilmiştir.

Literatürde lens içi yapıların radyasyon maruziyetinin ayrı olarak değerlendirildiği deneysel çalışmalar da mevcuttur. Lensin periferinin korunup sadece santralının radyasyona maruz bırakıldığı çalışmalarda yüksek dozlarda dahi katarakt gelişiminin izlenmediği rapor edilmiştir.<sup>34,35</sup> Lensin bir kısmının korunduğu uygulamalarda ise radyasyona maruz kalan alanda parsiyel opasitelerin gelişimi görülmekle birlikte matür katarakt gelişiminin izlenmediği bildirilmiştir.<sup>34-36</sup>

### 2.5.2. Epidemiyolojik Kanıtlar

Geçmişte katarakt gelişimine yol açabilecek lens radyasyon dozu için eşik değer akut maruziyette 2 Gy, uzun süreli maruziyette 5 Gy olarak tanımlanmıştır.<sup>37-39</sup> Fakat nükleer kazalar ve patlamalar sonrası sağ kalan popülasyonun izlemi lensin radyoduyarlılığının sanılandan daha yüksek olduğuna dair kanıtlar ortaya çıkarmıştır. Atom bombası sonrası sağ kalan popülasyonda maruz kalınan radyasyon dozu ile radyasyon kataraktı gelişimi arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada 1 Gy'lik radyasyon maruziyetinde katarakt prevalansının 1,39 kat arttığı bildirilmiştir.<sup>40</sup> Çernobil bölgesinde çalışan temizlik işçilerinin nükleer patlama sonrası 12. ila 14. yıllarda yapılan oftalmolojik muayenelerinde ise PSK veya kortikal katarakt gelişme oranı %25 olarak rapor edilmiştir.<sup>41</sup> Çalışma kohortunun yalnızca %6'sında lens

dozunun 0.4 Gy'in üzerinde olduğu göz önünde bulundurulduğunda önceden tanımlanan eşik dozların altında da radyasyona bağlı katarakt gelişebileceği kanısına varılmıştır. Mevcut kanıtların artması ile Uluslararası Radyasyondan Korunma Komisyonu (*International Commission on Radiological Protection, ICRP*) tarafından lens için önerilen doz limitleri modifiye edilmiştir. ICRP'nin 2011 yılında yayınlanan kılavuzunda mesleki maruziyet için lensin maksimum absorbe doz limiti 150 mSv/yıldan 20 mSv/yıla düşürülmüştür (5 yılın ortalaması, herhangi bir yılda 50 mSv'i aşmayacak şekilde).<sup>42</sup>

Eski Sovyetler Birliği'ndeki ilk plütonyum üretim merkezi olan Mayak Üretim Birliği'ndeki çalışanların mesleki radyasyon maruziyetlerinin katarakt ile ilişkisini değerlendiren bir çalışmada katarakt gelişimi için rölatif riskin 2 Gy üzerindeki dozlara maruz kalanlarda en yüksek olduğu, 0.25 Gy ve üzerinde ise katarakt gelişim riskinin lineer olarak arttığı rapor edilmiştir.<sup>43</sup> Radyasyon ile ilişkili en sık PSK gelişse de kortikal ve nükleer kataraktın da radyasyon maruziyeti ile korele olarak artış gösterdiği dikkat çekmiştir. Bu çalışmada ek olarak kadınlarda radyasyon ilişkili katarakt gelişim riskinin PSK baskın olmak üzere tüm katarakt tiplerinde daha yüksek olduğu saptanmıştır. Öte yandan Amerika Birleşik Devletleri Radyoloji Teknikerleri Kohort Çalışmaları (*USRT, Rad Tech Study*) mesleki radyasyon maruziyetinin etkileri üzerine önemli bilgiler sağlamıştır. Ortanca 12 yıl üzerindeki izlem süresinde 0.1 Gy'in altındaki dozlarda dahi radyasyon ilişkili katarakt izlenebileceği rapor edilmiştir.<sup>44,45</sup>

Tanısal amaçlı radyasyona maruz kalan bireylerde katarakt gelişim olasılığı ise maruz kalınan radyasyon dozu, maruziyet süresi, bireyin yaşına ve genetik yatkınlığına bağlı olarak değişebilir. Bu hasta grubu ile ilgili literatürdeki veriler sınırlı olmakla birlikte baş boyun bölgesine yönelik tekrarlayan bilgisayarlı tomografi (BT) çekimlerinde ve girişimsel nörovasküler işlemlerdeki anjiyografi uygulamalarında katarakt riskinin arttığı rapor edilmiştir.<sup>46,47</sup>

### **2.5.3. Etkileyen Faktörler**

#### **Radyasyon Dozu ve Fraksinyasyon**

Fraksiyon dozu arttıkça katarakt gelişme olasılığı artarken katarakt gelişimine kadar geçen interval dönem kısalmır.<sup>48</sup> Toplam tedavi süresi uzadıkça ve fraksiyon sayısı arttıkça lensin radyasyon toleransı artmaktadır. Fraksiyon dozunun radyasyon

kataraktogenezi üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile birçok hayvan deneyi modellenmesi yapılmıştır. Di Paola ve ark.<sup>8</sup>'in 250-kVp X-ışınları ve 14-MeV nötronların fare lenslerindeki opasite gelişimi üzerindeki etkilerini incelediği bir çalışmada artan radyasyon dozu ile katarakt gelişimi arasında lineer, eşik dozdan bağımsız bir ilişki olduğu gösterilmiş ve kataraktın stokastik bir etki sonucu gerçekleşebileceği öne sürülmüştür.

Radyasyona bağlı katarakt ile ilgili klinik veriler ise başlıca orbitaya yönelik RT uygulanan hastaların takibinde rapor edilmiştir. Literatürde üveal melanom tanısı ile plak brakiterapisi uygulanan hastaların 5 yıllık izleminde %25-69 oranında katarakt gelişimi rapor edilmiştir.<sup>49-51</sup> Orta boyutlu (2,5-10 mm kalınlık, <16 mm bazal çap) lezyonların tedavisinde enükleasyon ve <sup>125</sup>I ile plak brakiterapisinin karşılaştırıldığı prospektif, randomize COMS (*Collaborative Ocular Melanoma Study*) çalışmasının analizinde, plak brakiterapisi uygulanan 532 hastanın 49'unda (%9) cerrahi gerektiren olmak üzere toplam 362'sinde (%68) katarakt gelişimi rapor edilmiştir.<sup>52</sup> Lens dozunun 12 Gy'in altında olduğu olgularda 5 yıllık kümülatif katarakt gelişim insidansı %65 iken, 24 Gy ve üzeri dozlarda %92 olarak saptanmıştır. Orbital lenfoma tanısı ile göz bölgesine yönelik konvansiyonel şemalar ile 25-30 Gy RT uygulanan hastalarda 58 ay üzerinde izlemi olan çalışmalarda katarakt oranları %25-52 oranlarında bildirilmiştir.<sup>53-55</sup> Retinoblastom tanısı ile RT uygulanan pediatrik popülasyonda lens dozu ile katarakt ilişkisinin incelendiği bir çalışmada 7 Gy'lik ortalama lens dozunun 5 yıl içerisinde %20 ila %25 oranda radyasyon ilişkili katarakt gelişimine yol açacağı öngörülmüştür.<sup>56</sup> Deeg ve ark.<sup>57</sup> ise, hematolojik malignensi tanısı ile tek fraksiyonda 10 Gy veya fraksiyone (12-15.75 Gy, 6-7 fraksiyonda) tüm beden ışınlanması yapılan hastaların 1-12 yıllık izlemlerinde tek fraksiyon ile tedavi edilen hastalarda %80, fraksiyone tedavi uygulananlarda ise %18 oranında katarakt gelişimi bildirmişlerdir. Aynı zamanda fraksiyone tedavi uygulanan hastalar ile RT uygulanmayıp sadece kemoterapi uygulanan olgularda katarakt gelişim insidansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Preklinik ve klinik çalışmalardan elde edilen veriler ışığında literatürde lens ile ilgili farklı doz sınırlama önerileri bulunmaktadır. Konvansiyonel doz şemaları için lens maksimum dozunun 5 ila 10 Gy altında tutulması önerilmektedir.<sup>9,58,59</sup> Emami ve ark.<sup>60</sup> lensin 10 Gy ve üzeri doz aldığı durumlarda 5 yıl içinde hastaların %5'inde (TD

5/5), 18 Gy ve üzeri dozlarda ise 5 yıl içinde hastaların %50'sinde (TD 50/5) tedavi gerektiren katarakt gelişeceğini ön görmüşlerdir.

### **Zaman**

Klinik olarak anlamlı ve görmeyi etkileyen katarakt gelişimine kadar geçen latent dönem temel olarak radyasyon dozu ile ilişkilidir.<sup>61</sup> Radyasyon maruziyeti ile katarakt gelişimi arasındaki latent dönem toplam radyasyon dozu ile ters orantılıdır. Göz bölgesine yönelik 2.5-6.5 Gy RT alan hastalarda ortanca latent dönem 8 yıl iken, 6.51-11.5 Gy gibi daha yüksek dozlarda bu dönem 4 yıla kadar geriler.<sup>12</sup>

Latent dönem fraksiyon sayısı ile ise doğru orantılı bir ilişki göstermektedir. Bir hayvan deneyi modellemesinde göz bölgesine yönelik 250 kVp X-ışınları ile 5, 10, 15 ve 20 Gy'lik dozların tek fraksiyon ve üç fraksiyonda uygulanmasının sonuçları karşılaştırılmış, fraksiyone RT uygulanan sıçanlarda katarakt gelişiminin daha yavaş olduğu rapor edilmiştir.<sup>62</sup> Tek fraksiyonda 20 Gy uygulanan deneklerde RT sonrası 9. haftada lens opasiteleri ve 19. haftada dens katarakt formasyonu izlenirken, fraksiyone 20 Gy uygulanan kolda ilk opasiteler 12. haftada saptanmış ve dens katarakt formasyonunun oluşması 40 haftayı bulmuştur. Toplam 5 Gy RT uygulanan sıçanlarda ise 18 aylık izlemde tek veya fraksiyone uygulamada dens katarakt formasyonu izlenmemiş olup tek fraksiyon ile 22. haftada, fraksiyone kolda ise 35. haftada lenste değişiklikler not edilmiştir.

Hipofraksiyone ve konvansiyonel şemaların doğrudan karşılaştırıldığı bir klinik çalışma bulunmamakla birlikte farklı çalışmaların sonuçları incelendiğinde hayvan deneyi modellemelerine benzer şekilde hipofraksinyon ile katarakt gelişim intervalinin kısaldığı görülmektedir. Orbital lenfoma tanısı ile göz bölgesine yönelik konvansiyonel şemalar ile 30 Gy RT uygulanan hastaların incelendiği bir çalışmada, cerrahi gerektiren katarakt gelişimine kadar geçen ortanca süre 43 ay olarak rapor edilmiştir.<sup>53</sup> Üveal melanom tanısı ile hipofraksiyone RT uygulanan olguların incelendiği bir çalışmada ise cerrahi gerektiren katarakt gelişimine dek geçen ortanca süre 28 ay olarak bildirilmiştir.<sup>63</sup>

### **Yaş**

Lensin erken yaşta radyasyon maruziyetine daha hassas olduğunu rapor eden deneysel çalışmalar mevcuttur. Hayvan deneyi modellemelerinde 9 Gy ve üzerindeki

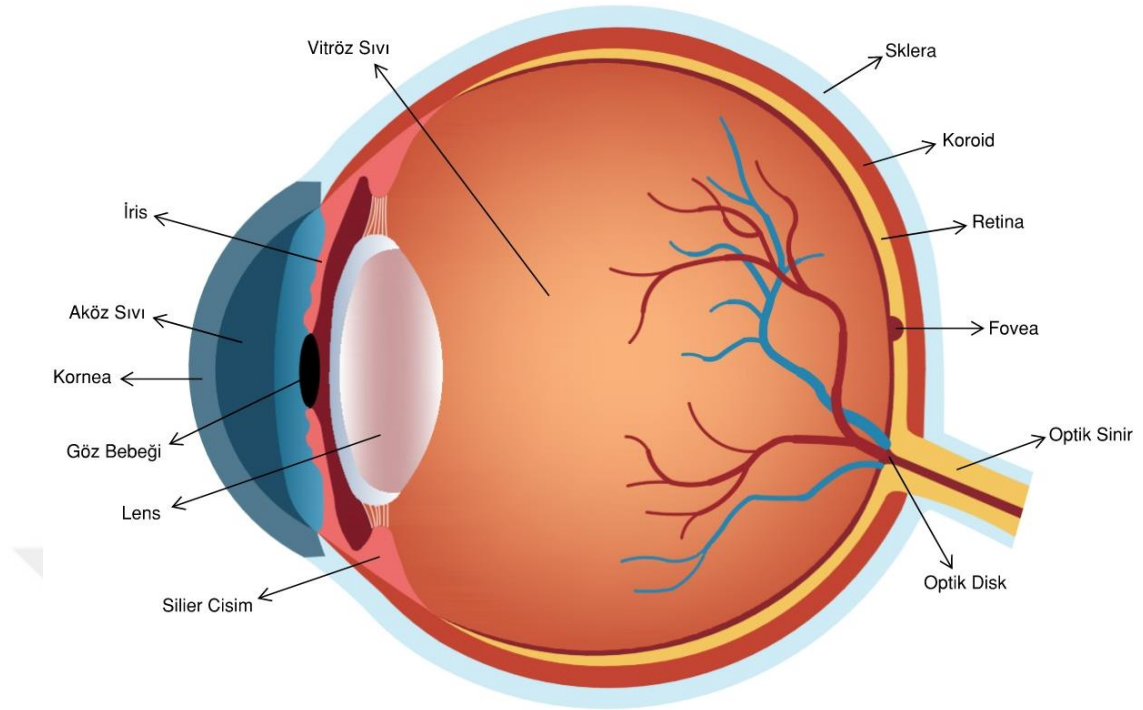
fraksiyon dozlarında genç sıçanların lenslerinde erişkinlere kıyasla opasitelerin daha erken dönemde gelişerek daha hızlı progrese oldukları bildirilmiştir.<sup>64,65</sup> Beş ila altı haftalık Yeni Zelanda tavşanlarında ise tek doz 20 Gy lens ışınlaması sonrası beklenen yavaş ve progresif seyrin aksine 2,5-3 aylık hızlı bir periyotta lenste matür opasiteler geliştiği izlenmiştir.<sup>66-68</sup>

### **Radyasyon Türü**

Aynı enerjiye sahip farklı radyasyon tiplerinin doku üzerindeki biyolojik etkileri farklıdır. Sıçanlarda Kobalt-60 gama ve 200 kVp X-ışınlarının lens opasitelerinin gelişimi üzerinde eşit rölatif biyolojik etkinliğe (RBE) sahip oldukları rapor edilmiştir.<sup>69</sup> Fakat nötronlar aynı dozdaki X-ışınlarına kıyasla 4 ila 10 kat daha fazla katarakt gelişimine yol açarlar.<sup>70</sup> Öte yandan astronotlar ise yüksek enerjili protonların yanı sıra ağır yüklü parçacıkların uzay aracı ve dokularla çarpışması sonucu ortaya çıkan ikincil parçacıklardan oluşan kozmik radyasyona maruz kalmaktadırlar. Yapılan hayvan deneyi modellemelerinde, kozmik radyasyonun X-ışınlarına kıyasla 3,5 ila yaklaşık 100 kat daha fazla kataraktojenik olabileceği, RBE'nin ise azalan dozla birlikte arttığı gösterilmiştir.<sup>71,72</sup>

### **2.6. Vitröz Sıvı**

Vitröz sıvı lens ile retina arasındaki boşluğu dolduran şeffaf ve visko-elastik bir yapıdır. Temel fonksiyonları gözün şeklini korumak, optik iletimi sağlamak ve göz içi yapılara mekanik destek oluşturmaktır.<sup>3,73</sup> Avasküler ve hiposellüler bir yapıya sahip olan vitröz sıvı, temel nutrisyonel desteğini retinadaki damarsal yapılardan difüzyon yolu ile sağlar. Yapısının yaklaşık %99'unu su oluşturur. Geri kalan kısımda ise kollajen, glikozaminoglikanlar, elektrolitler ve hyalüronik asit yer alır. İçerdiği bileşenler sayesinde, göz içi basınç regülasyonuna destekte bulunur. Ayrıca, yüksek oksidatif strese maruz kalan retina, lens gibi göz alt yapılarının antioksidan sistemlerine yönelik de katkılarının olduğu gösterilmiştir.<sup>74</sup> Vitröz sıvının yapısal ve işlevsel özellikleri, göz sağlığını etkileyen birçok durumun anlaşılmasında ve tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır. Vitröz sıvının yerleşimi ve göz içerisindeki diğer alt yapılar ile ilişkisi Şekil 2.2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.2. Vitroz sıvı ve göze ait yapılar.

Retinal perfüzyon ile elde olunan yüksek oksijen konsantrasyonu vitroz sıvının oksijen tüketimi sayesinde azaltılarak lensin hipoksik koşullarda kalmasına olanak sağlanır.<sup>75</sup> Oksijen gradientinin lense doğru arkadan öne ilerledikçe azaltılmasında, vitroz sıvının yüksek viskozitesi ve antioksidan içeriği önemli rol oynar. Gözdeki yüksek oksidatif stres düzeylerinin etkilerini ortadan kaldırabilmek için vitroz sıvıda süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi kuvvetli antioksidan enzimler çözülmüş halde bulunmaktadır. Bu antioksidan enzimler reaktif oksijen türlerini metabolize ederek göz içerisindeki oksijen seviyesini düşük seviyelerde tutmaktadır. Lensin oksidatif stres yükü arttıkça oksidasyon ile ilişkili sekonder tabloların gelişim riskinin arttığı bilinmektedir.<sup>4,5</sup> Dolayısıyla vitroz sıvının çeşitli nedenlerle harabiyete uğraması katarakt gibi çeşitli göz patolojilerine neden olabilmektedir.<sup>76,77</sup>

Elmalı ve ark.<sup>6</sup>, vitroz sıvıda iyonizan radyasyon maruziyeti sonrasında kollajen çatısında bozulma, tip II, V ve XI kollajenlerde azalma ve metabolit düzeylerinde değişiklikler meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ancak literatürde bu değişikliklerin radyasyon kataraktı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Vitroz sıvının radyasyon maruziyeti sonrası harabiyetinin, lensin

hipoksik koşullarda kalma gerekliliğini de bozarak kataraktogenez üzerinde etkili olabileceği düşünölmektedir.

Bütün bu bilgiler ışığında, vitröz sıvının radyasyon kataraktogenezi üzerindeki rolünü incelemek amacıyla mevcut çalışma dizayn edilmiştir.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Çalışma Türü, Etik Kurul İzni ve Proje Desteği

Bu çalışma, prelinik deneysel bir hayvan çalışması olarak tasarlanmıştır. Araştırma Ağustos 2023-Ocak 2024 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Çalışma protokolü 11.04.2023 tarihinde Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. Yerel Etik Kurulu tarafından '668' protokol numarası ile onaylanmıştır. Etik kurul onayı ekte sunulmuştur (Bkz. EK 1).

Çalışmamız THD-2023-20808 proje numarası ile Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

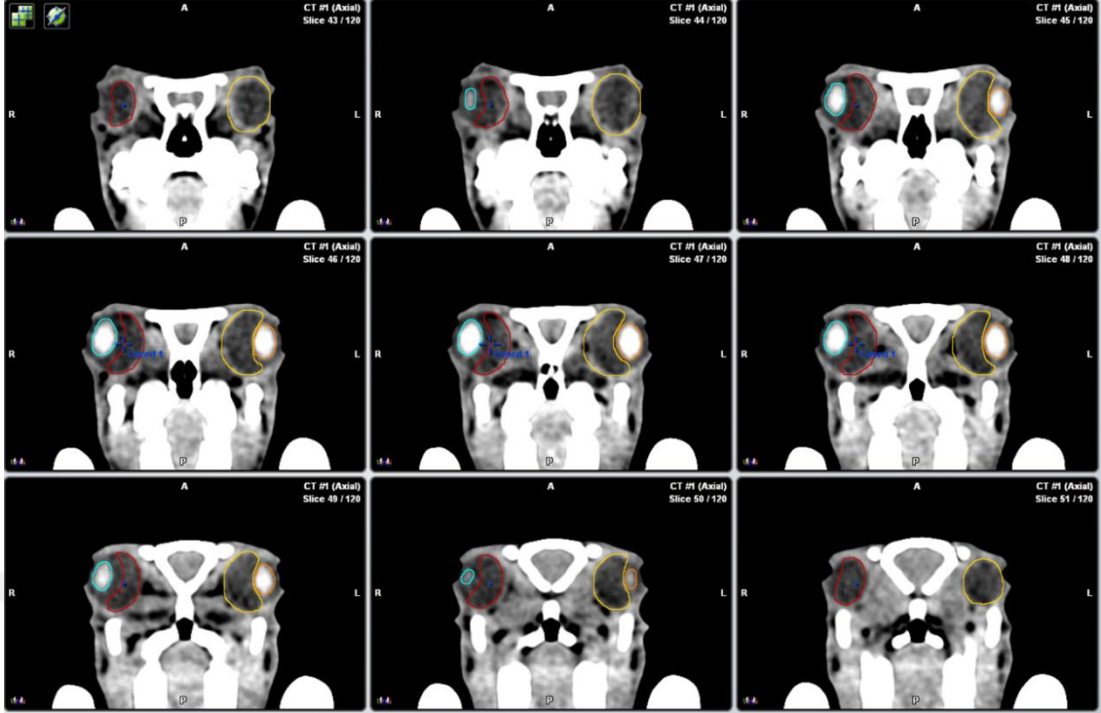
#### 3.2. Çalışmada Kullanılan Deney Hayvanlarının Özellikleri

Deneyle için Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan 8-10 haftalık, 12 adet erkek, sağlıklı, albino, Yeni Zelanda tavşanı temin edilmiştir. Tavşanlar, oküler yapılarının gerek anatomik gerekse fizyolojik açıdan insan gözü ile oldukça benzer özellik taşımalarının yanı sıra, büyük göz hacimlerinin RT uygulaması sırasında lensin aldığı dozu azaltabilmek için tercih edilmişlerdir.

#### 3.3. Radyoterapi Uygulaması

Tavşanlara Hacettepe Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda bulunan GE Healthcare Brightspeed BT Simülatör (Şikago, İllinois, Amerika Birleşik Devletleri) ile prone pozisyonda planlama BT çekilmiştir. Planlama BT ve RT uygulaması esnasında hareketsiz kalmaları için işlem öncesinde tavşanlara intramuskuler 5 mg/kg, %2 ksilazin ve 35 mg/kg ketamin ile genel anestezi uygulanmıştır.

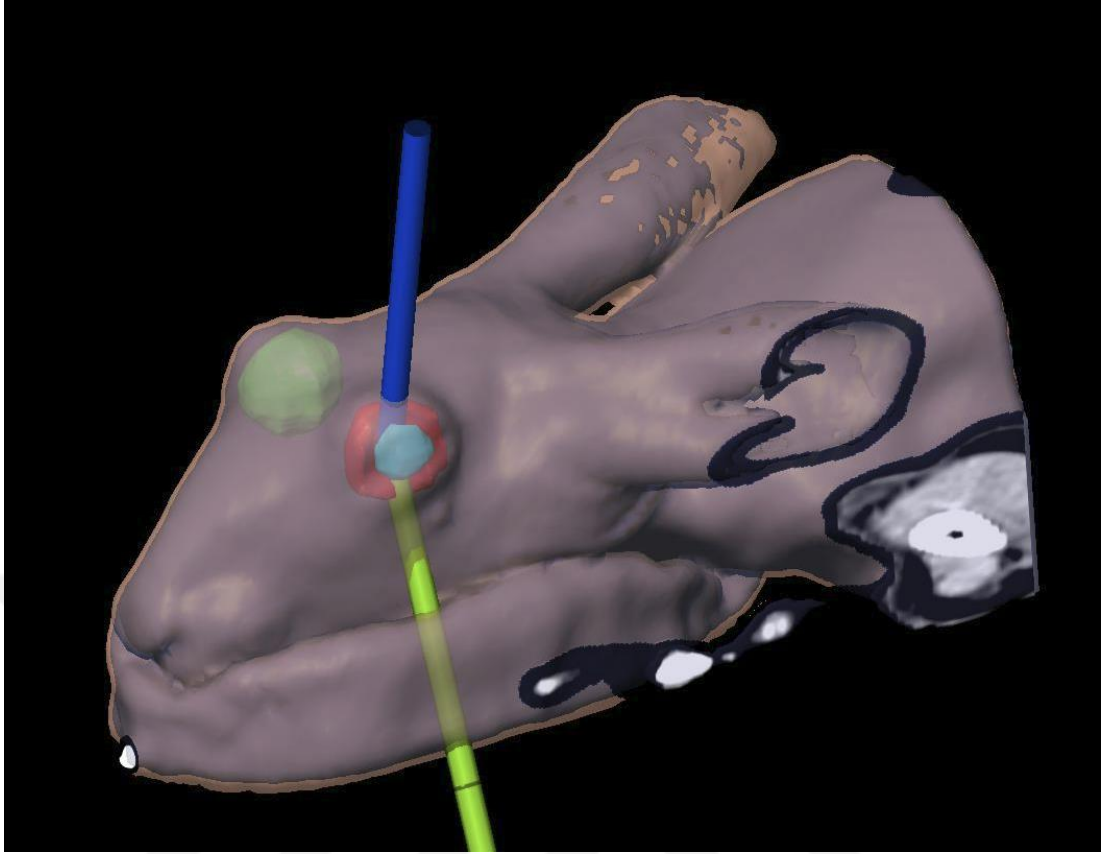
Planlama BT çekiminin ardından görüntüler iPlan RT® versiyon 4.5 (BrainLab, Feldkirchen, Almanya) tedavi planlama sistemine aktarılmıştır. Sol göz vitröz sıvısı klinik hedef hacim (*clinical target volume*, CTV) olarak belirlenirken, bilateral lensler, sağ vitröz sıvı ve sağ lens risk altındaki organlar olarak konturlanmıştır (Şekil 3.1). Uygun doz düşüşü sağlayabilmek amacı ile lense 2 mm emniyet verilerek planlanan risk altındaki organ hacmi (*planning organ at risk volume*, PRV) tanımlanmıştır. Sol göz vitröz sıvı hacminden oluşturulan sol lens PRV'si çıkarılarak CTV oluşturulmuştur.



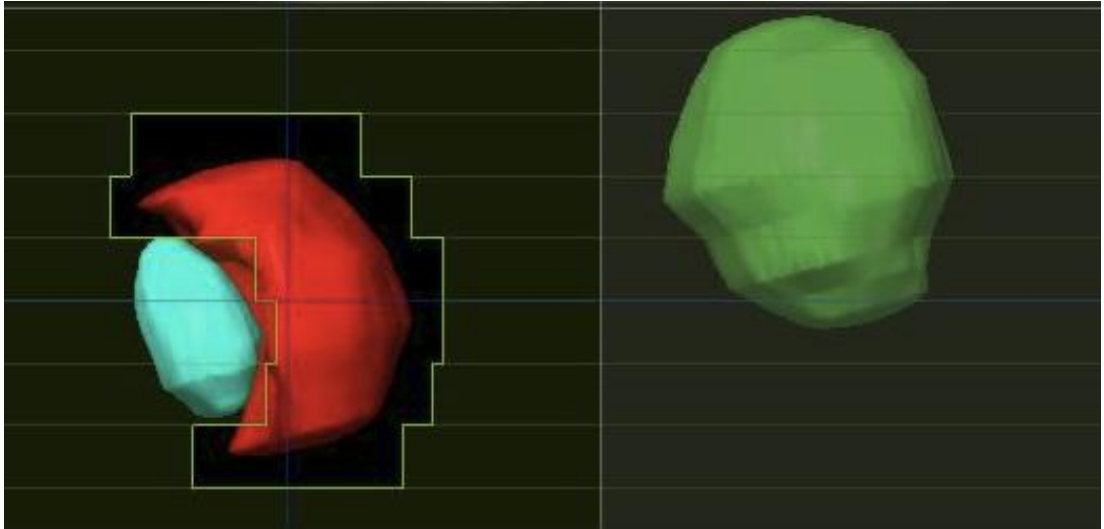
Şekil 3.1. Hedef ve risk altındaki organların konturlanması. (Kırmızı: hedef-sol vitröz sıvı, turkuaz: sol lens, sarı: sağ vitröz sıvı, turuncu: sağ lens)

Konturlamanın ardından hedef olarak belirlenen sol göz vitröz sıvısına yönelik tek fraksiyonda 20 Gy doz reçetelendirilmiştir. Bu doz şeması literatürde radyasyon kataraktogenezi ile ilişkili hayvan deneyi modellemelerinde sıklıkla kullanılmasının yanı sıra klinik pratikte üveal malign melanom tanılı olgularda da uygulanması nedeniyle tercih edilmiştir.<sup>31,68,78</sup> Tedavi planlamasında iki adet oblik alan ile 3 boyutlu konformal RT tekniği kullanılmıştır (Şekil 3.2). Tedavi cihazı olan Novalis®'e (BrainLab, Almanya) ait çok yapraklı kolimatör (*Multi Leaf Collimator*, MLC, ÇYK) kalınlığı 3 mm'dir. Konturlanan CTV'ye 1.5 mm ÇYK emniyet marjı eklenmiş, sol lens hizasındaki ÇYK'ler kapatılmıştır (Şekil 3.3).

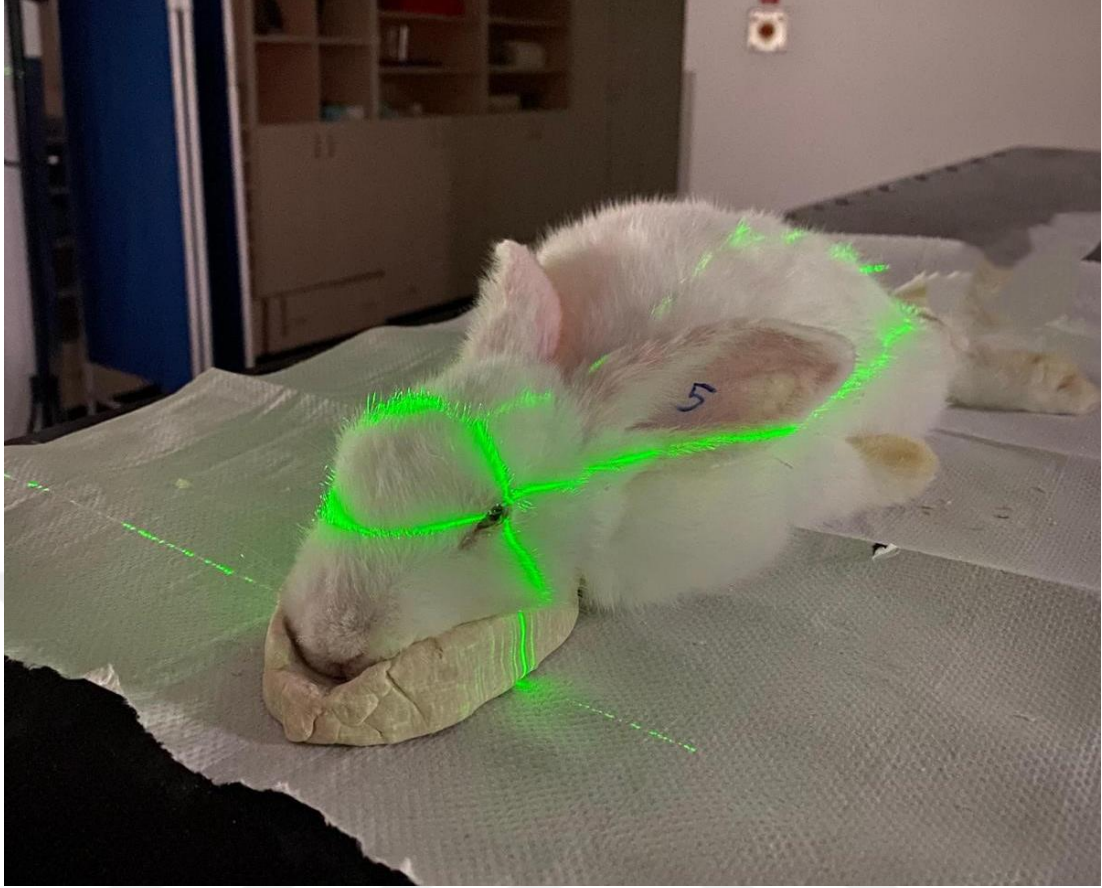
Tavşanlara tedavi cihazı ünitesinde bulunan ExacTrac® portal görüntüleme sistemi ile pozisyon doğrulamasının yapılmasının ardından, 400 MU/dk doz hızında, 6 MV foton enerjisi ile, tek doz 20 Gy RT uygulanmıştır. Tavşanların tedavi esnasındaki pozisyonu Şekil 3.4'de görülmektedir. Uygulama sonrası tüm tavşanlar uygun taşıma koşulları ile Kobay Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'na transfer edilmişlerdir.



Şekil 3.2. Radyoterapi alanlarının 3 boyutlu düzlemde görüntüsü.



Şekil 3.3. Tedavi planına ait ÇYK pozisyonları. (Kırmızı: CTV, turkuaz: sol lens, yeşil: sağ göz)

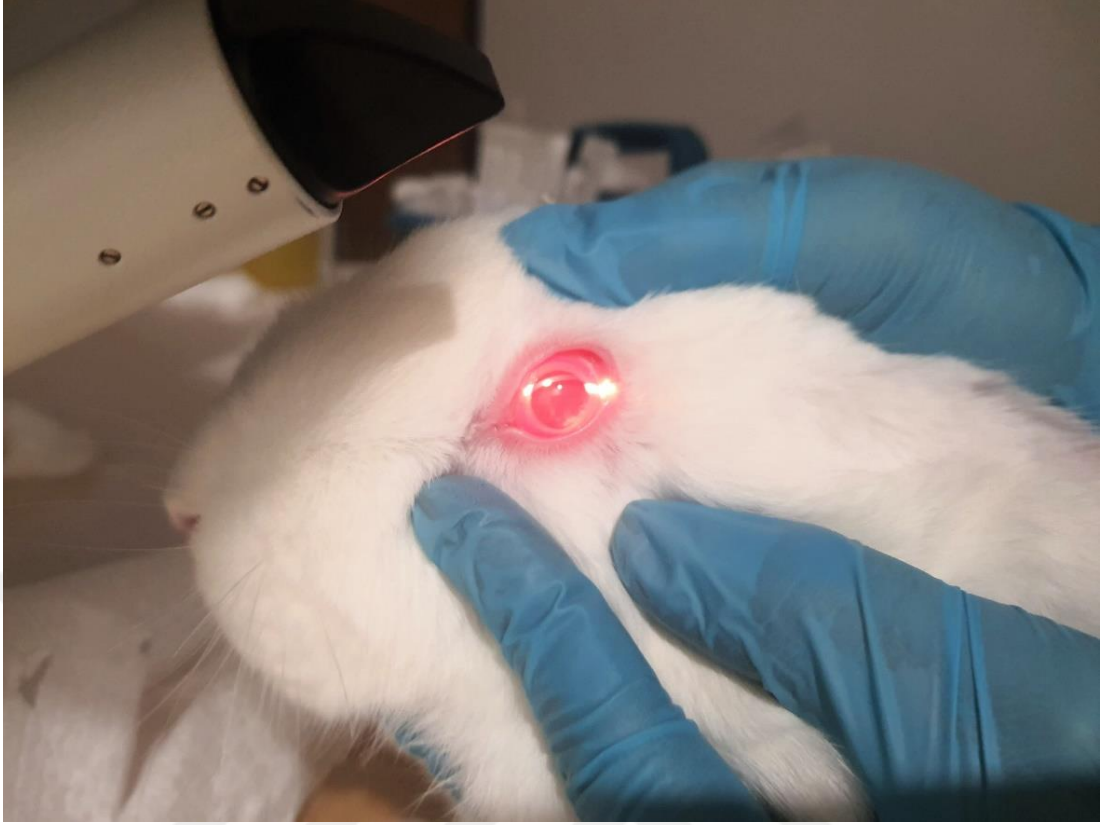


Şekil 3.4. Tedavi masasında prone pozisyonda uzanmakta olan tavşan.

#### 3.4. Deneysel Hayvanların Takibi

Literatürde 6 haftalık tavşanlarda tek doz 20 Gy RT uygulamasını takiben ilk birkaç günden bir aya kadar geçen süreçte lenste mikroskopik değişikliklerin başladığı, ilk 3 ayda ise makroskopik katarakt geliştiği rapor edilmiştir.<sup>68</sup> Bu bilgi ışığında deneyimizin takip süresi 3 ay olarak belirlenmiştir. Bu süreçte tavşanlar Kobay Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nda, 12'şer saatlik gece-gündüz döngüsü sağlanan odalarda, 22-24°C oda sıcaklığında, kafeslerde bölmeler şeklinde ayrılmış halde, bir kafeste en fazla iki tavşan olacak şekilde barındırılmışlardır. Beslenmeleri standart su ve yem ile *ad libitum* olarak sağlanmıştır.

Tavşanlara aylık periyotlar ile toplam 3 kez oftalmolojik muayene yapılmıştır. Katarakt muayenesi için el biyomikroskobu kullanılmıştır (Şekil 3.5). Muayene esnasında hem pupil dilatasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen bulgular değerlendirilmiştir. Pupil dilatasyonu sağlamak için her iki göze birer damla %0.5 tropikamid ve %1.0 siklopentolat hidroklorür uygulanmıştır.



Şekil 3.5. El biyomikroskobu ile muayene esnasında tavşan.

### 3.5. Orbita Manyetik Rezonans Görüntülemesi

Tüm görüntüleme çalışmaları Bilkent Üniversitesi, Ulusal Manyetik Rezonans Araştırma Merkezi 3 Tesla klinik manyetik rezonans görüntüleme (MRG) sisteminde (Magnetom Trio, Siemens Healthcare, Erlangen, Almanya), tavşan kafasına uyumlu tek kanallı alıcı sargı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). Tavşanlarda immobilizasyon sağlanması amacı ile RT planlama ve uygulama aşamasındaki anestezi prosedürü tekrarlanmış, tavşanlar MRG-uyumlu hayvan yatağına konulmuş ve alıcı sargı her iki gözü de kapsayacak şekilde kafa üzerine yerleştirilmiştir.

Her tavşana kulak veninden kontrast madde uygulanmış olup kontrast madde verilmeden önce ve verildikten sonra görüntülemeler yapılmıştır. Kontrast madde olarak gadolinyum bazlı gadobutrol (1 mmol/ml; Gadovist, Bayer AG), 0.1 ml/kg dozda kullanılmıştır.

Kontrast madde verilmeden önce ve verildikten sonra kullanılan görüntüleme sekansları; koronal T1-ağırlıklı TSE sekansı (TE/TR: 12/550 ms, 16 kesit, görüntü matrisi: 320×320, çözünürlük: 0.2 × 0.2 × 2 mm<sup>3</sup>) ve 3 boyutlu T2-ağırlıklı SPACE

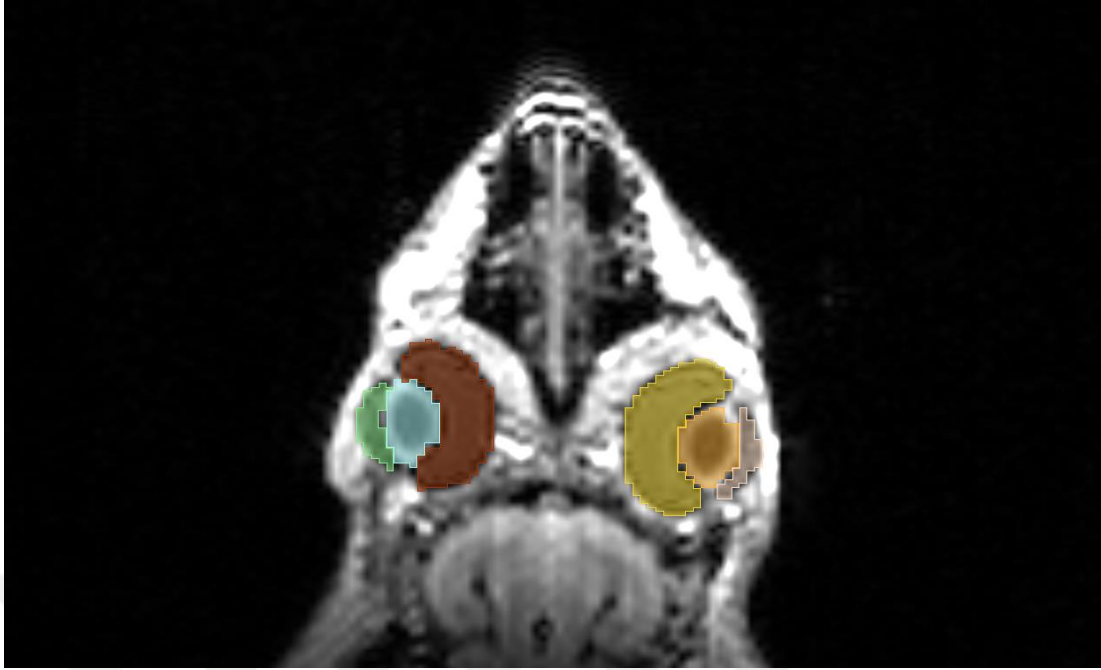
sekansıdır (TE/TR: 502/8000 ms, TI: 2200 ms; görüntü matrisi:  $160 \times 512 \times 384$ , çözünürlük:  $0.47 \times 0.47 \times 0.9 \text{ mm}^3$ ). T2-ağırlıklı SPACE sekansı, düşük dozlardaki kontrast maddenin gösterilmesine daha duyarlı olduğundan çalışma protokolüne eklenmiştir.

**Sinyal intensitesi ölçümleri:** *Digital Imaging and Communications in Medicine* (DICOM) formatında indirilen görüntüler MRICroGL programı kullanılarak .nifti formatında kaydedilmiştir.<sup>79</sup> Daha sonra açık yazılım programı olan 3D Slicer, versiyon 5.6.1. *segment editor* modülü kullanılarak kontrastsız, erken dönem ve geç dönem T2-SPACE sekanslarda her iki tarafta ön kamara, lens ve vitröz sıvı yarı otomatik segmente edilmiştir (Şekil 3.7).<sup>80</sup> Segmente edilen alanların ortalama ve ortanca değerleri hesaplanmıştır.

MRG sekansları nöroradyoloji alanında deneyimli uzman bir radyolog tarafından görsel olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6. Orbita MRG çekimi esnasında tavşan.

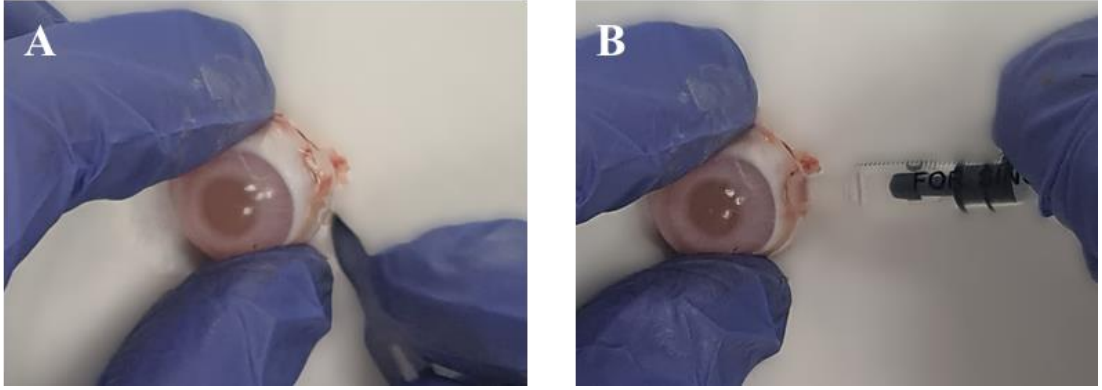


Şekil 3.7. Orbita MRG üzerinden bilateral lens, aköz sıvı ve vitröz sıvının segmentasyonu. (Yeşil: sol aköz sıvı, turkuaz: sol lens, kırmızı: sol vitröz sıvı, pembe: sağ aköz sıvı, turuncu: sağ lens, sarı: sağ vitröz sıvı.)

### 3.6. İnsani Sonlandırma, Enükleasyon ve Doku Örneklerinin Alınması

Deney tavşanları MRG çekimi ardından uygun koşullar ile Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'na transfer edilmişlerdir. Yüksek dozda genel anestezi ile insani sonlandırma yapıldıktan sonra bilateral gözler enükle edilmiştir.

Enükleasyon sonrası göz lateralindeki skleraya 2 mm'lik bir kesi yapılmış, ardından bu bölgeden enjektör aracılığı ile vitröz sıvı aspire edilmiştir (Şekil 3.8). Gözlerden aspire edilen 2'şer cc'lik vitröz sıvı numuneleri, tavşan numarası ve örnek alınan tarafa göre (sağ-sol) etiketlenen Eppendorf tüplerine aktarılmış, azot tankı içerisinde Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na ulaştırılmış ve incelemeye kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmişlerdir.



Şekil 3.8. Enükleasyon sonrası uygulamalar. A: Sklerotomi. B: Vitröz sıvının aspirasyonu.

Vitröz sıvı aspire edildikten sonra lens çıkarılmıştır. Bir tavşandan çıkarılan lensin makroskopik görüntüsü Şekil 3.9’da sunulmuştur. Lensler, histomorfolojik değişikliklerin değerlendirilebilmesi amacıyla mikroskopik inceleme yapılmak üzere içerisinde %3 gluteraldehit bulunan, uygun şekilde etiketlenen Eppendorf tüplerine aktarılmış, 48 saat boyunca 4°C’de bekletilmişlerdir. Ardından tampon çözeltide fikse edilerek incelemeye kadar bu şekilde muhafaza edilmişlerdir. Spesmenlerin öncelikle ışık mikroskobu kullanılarak görüntülenmesi ve elektron mikroskobisi ile inceleneceği kesitlerin alınacağı kısımların belirlenmesi amaçlanmıştır.



Şekil 3.9. Lensin makroskobik görüntüsü.

### 3.7. Toplam Protein Miktar Tayini

RT uygulamasından sonra vitröz sıvıda protein ekspresyonunun değiştiği bilinmektedir.<sup>6</sup> Bu nedenle, örneklerdeki toplam antioksidan ve oksidan değerleri gram protein miktarına bölünerek karşılaştırma yapılmıştır.

Tavşan vitröz sıvısından alınan örneklerdeki toplam protein miktarı, bikinkoninik asit (BCA) protein tayin kiti (A.B.T. Biosciences, Kat. No. P011) protokolü doğrultusunda belirlenmiştir.

BCA deneyi için 9 farklı konsantrasyonda (0, 25, 125, 250, 500, 750, 1000, 1500 ve 2000  $\mu\text{g/ml}$ ) standart çözelti hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu plakaya her standart ve örnekten 20  $\mu\text{L}$  eklenmiştir. Her kuyucuğa 200  $\mu\text{L}$  BCA çalışma reaktifi eklenmiştir (BCA çalışma reaktifi: 50 kısım reaktif A ve 1 kısım reaktif B). Plaka 30 saniye süreyle yatay çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra plaka 37 °C'de 30 dk inkübe edilmiştir. Plakanın oda sıcaklığına soğutulmasını takiben 562 nm'de absorban ölçümü yapılmıştır. Standart derişimlerine denk gelen absorbanlar ile standart doğru çizilerek, doğrunun denkleminde örnek derişimleri belirlenmiştir.

### 3.8. Toplam Antioksidan Durumu (TAS)

Tavşan vitröz sıvısından alınan örneklerde TAS belirlenmiştir. TAS kalorimetrik test kiti (Elabscience, Kat. No. E-BC-K801-M) üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda spektrofotometrik ölçüm için kullanılmıştır.

Standartlar 6 farklı konsantrasyonda (0, 0.4, 0.8, 1.6, 1.8, 2 mmol/L) olacak şekilde kit içerisindeki 2 mmol/L stok çözeltinin %60 etanol ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

96 kuyucuklu plakaya her standart ve örnek 10 µL eklenmiştir. Her birinin üzerine 200 µL tampon çözelti eklenerek 660 nm'deki absorbans ölçülmüş, sonuçlar  $A_1$  olarak kaydedilmiştir. Ölçüm sonrasında her bir kuyucuğa 20 µL kromojenik ajan eklenip karıştırılmıştır. Plaka 37 °C'de 5 dk inkübe edildikten sonra 660 nm'de tekrar absorbans ölçülmüştür. Sonuçlar  $A_2$  olarak kaydedilmiştir. Standart absorbansları  $A_1$ - $A_2$  olarak hesaplanarak standart eğri çizilerek denklemi belirlenmiştir.

Örnek absorbansları ( $A_2$ - $A_1$ ) elde edilen denklemde yerine koyularak örnek derişimleri hesaplanmıştır. Örneklerdeki TAS değerleri (mmol/L) ilgili örneğe ait total protein tayini sonucuna bölünerek TAS/protein (mmol/g) şeklinde hesaplanmıştır.

### 3.9. Toplam Oksidan Durumu (TOS)

Tavşan vitröz sıvısından alınan örneklerde TOS belirlenmiştir. TOS kalorimetrik test kiti (Elabscience, Kat. No. E-BC-K802-M) üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda spektrofotometrik ölçümde kullanılmıştır.

Standartlar 7 farklı konsantrasyonda (0, 10, 20, 40, 50, 80, 100 µmol/L) olacak şekilde kit içerisindeki 200 µmol/L hidrojen peroksit stok çözeltisinin saf su ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır.

96 kuyucuklu plakaya her standart ve örnek 20 µL eklenmiştir. Her birinin üzerine 200 µL kromojenik ajan eklenmiştir. Daha sonra 590 nm'deki absorbans ölçülmüş, sonuçlar  $A_1$  olarak kaydedilmiştir. Ölçüm sonrasında her bir kuyucuğa 50 µL substrat eklenip karıştırılmıştır. Plaka 37°C de 5 dk inkübe edildikten sonra 590 nm'de absorbans okunmuştur. Sonuçlar  $A_2$  olarak kaydedilmiştir. Standart absorbansları  $A_2$ - $A_1$  olarak hesaplanarak standart doğru çizilerek denklemi bulunmuştur. Doğru denkleminde örnek absorbansları ( $A_2$ - $A_1$ ) yerine koyularak örnek

derişimleri hesaplanmıştır. Örneklerdeki TOS değerleri (mmol/L) ilgili örneğe ait total protein tayini sonucuna bölünerek TOS/protein (mmol/g) şeklinde hesaplanmıştır.

### 3.10. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

OSI redoks dengesinin kapsamlı olarak değerlendirmesi için kullanılır. Yüzde TOS/TAS oranı olarak tanımlanır.<sup>81</sup>

Her bir örnek için  $TOS/TAS \times 100$  formülü kullanılarak OSI hesaplanmıştır.

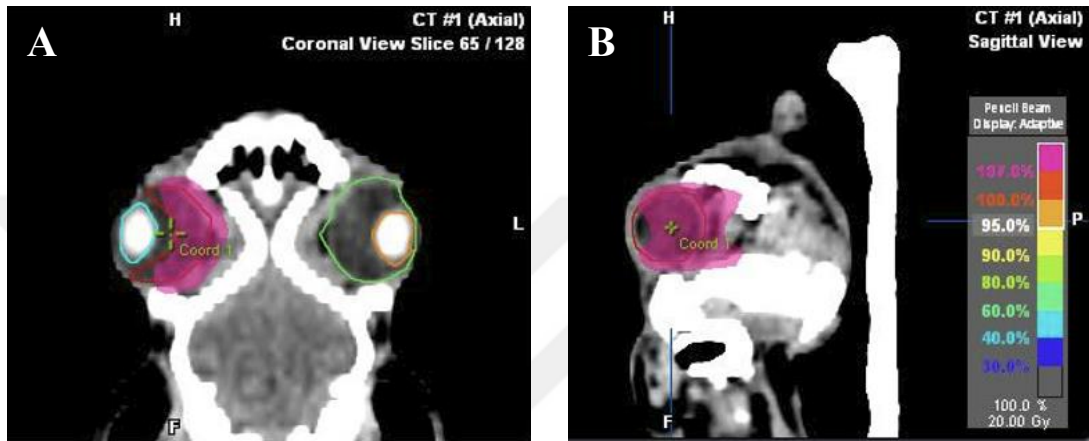
### 3.11. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 21.0 (IBM, Armonk, New York, Amerika Birleşik Devletleri) yazılımı kullanılmıştır. Sayısal değişkenlerin normal dağılım özellikleri normalite testleri, varyasyon katsayısı ve dağılım özelliklerini gösteren grafikler (histogram, detrended plot) incelenerek değerlendirilmiştir. Normal dağılan değişkenler için tanımlayıcı analizler ortalama  $\pm$  standart sapma ile, normal dağılmayan değişkenler için ise ortanca ve çeyrekler arası aralık (AA) değerleri ile belirtilmiştir. Normal dağılım gösteren bağımlı değişkenler arasındaki fark eşleştirilmiş örneklem t testi, bağımsız değişkenler arasındaki fark bağımsız örneklem t testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen bağımlı değişkenler arasındaki farkı belirlemek için Wilcoxon testi, bağımsız değişkenler arasındaki farkı değerlendirmek için Mann Whitney U testi kullanılmıştır.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

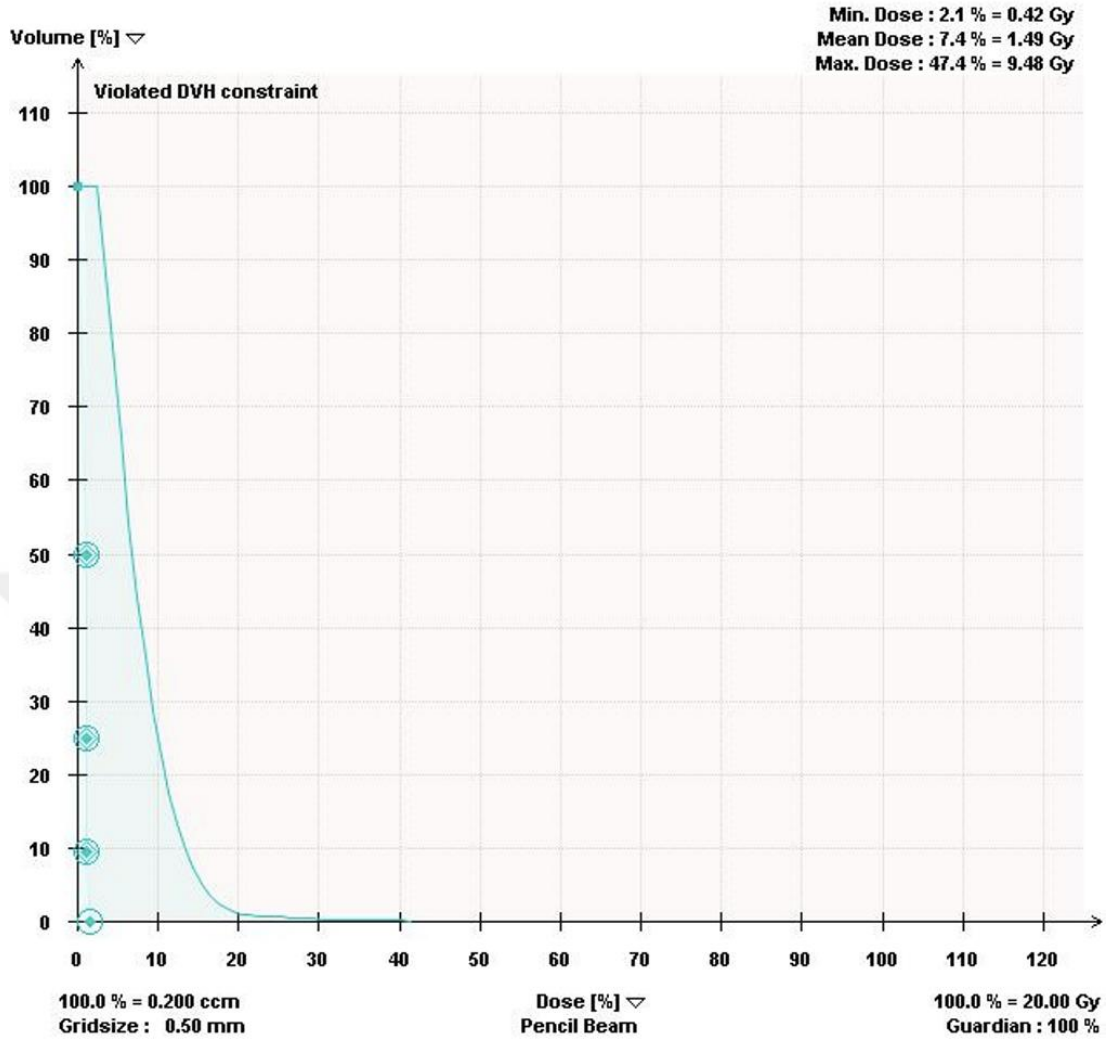
## 4. BULGULAR

### 4.1. Radyoterapi Plan Parametreleri

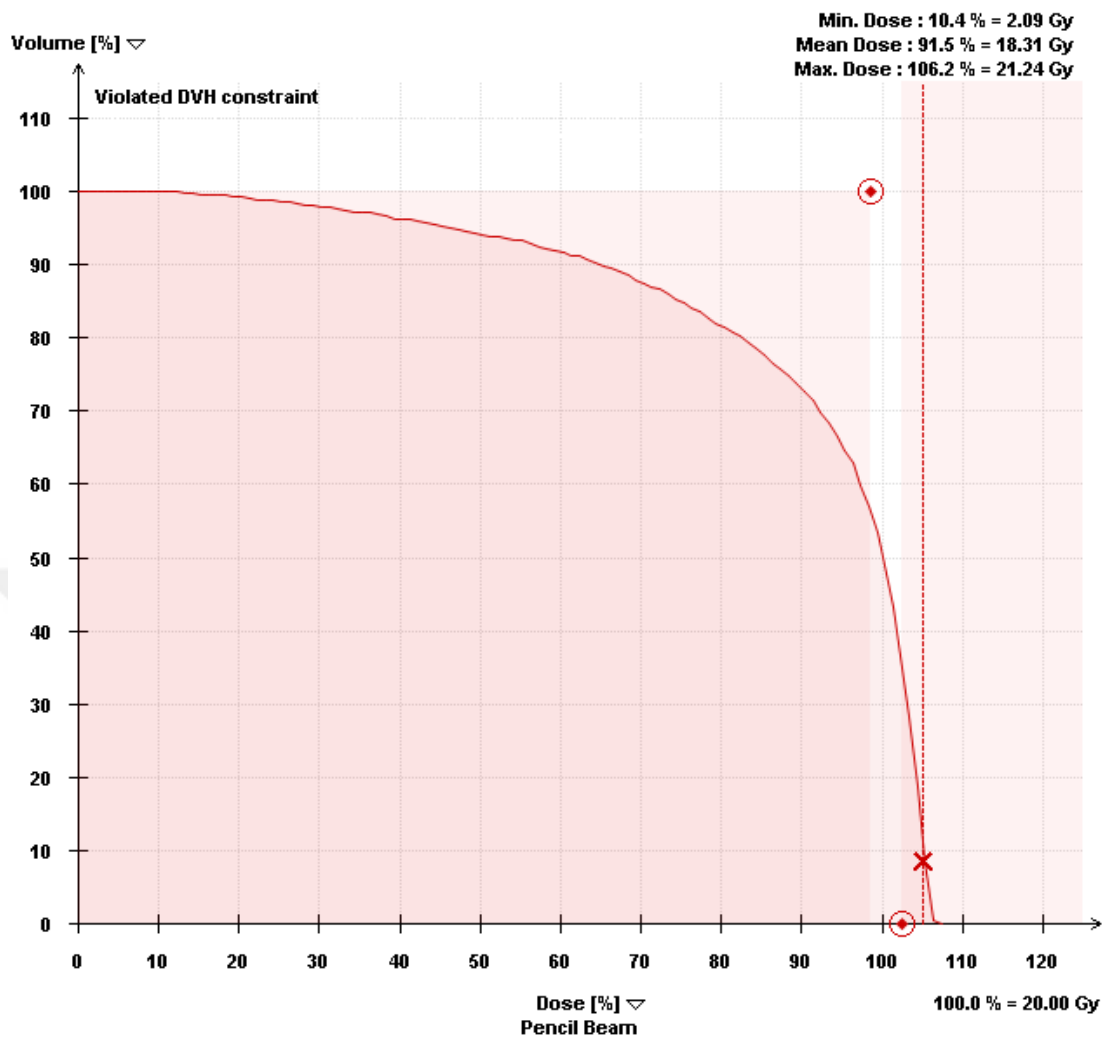
Çalışmamızda oluşturulan tedavi planında CTV (sol vitröz) ortalama dozu 18.31 Gy, sol lens ortalama dozu 1.49 Gy, sol lens maksimum dozu ise 9.48 Gy olarak hesaplanmıştır. Tedavi planına ait doz dağılımının görüntüsü Şekil 4.1’de, doz-hacim histogramları ise Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’te sunulmuştur.



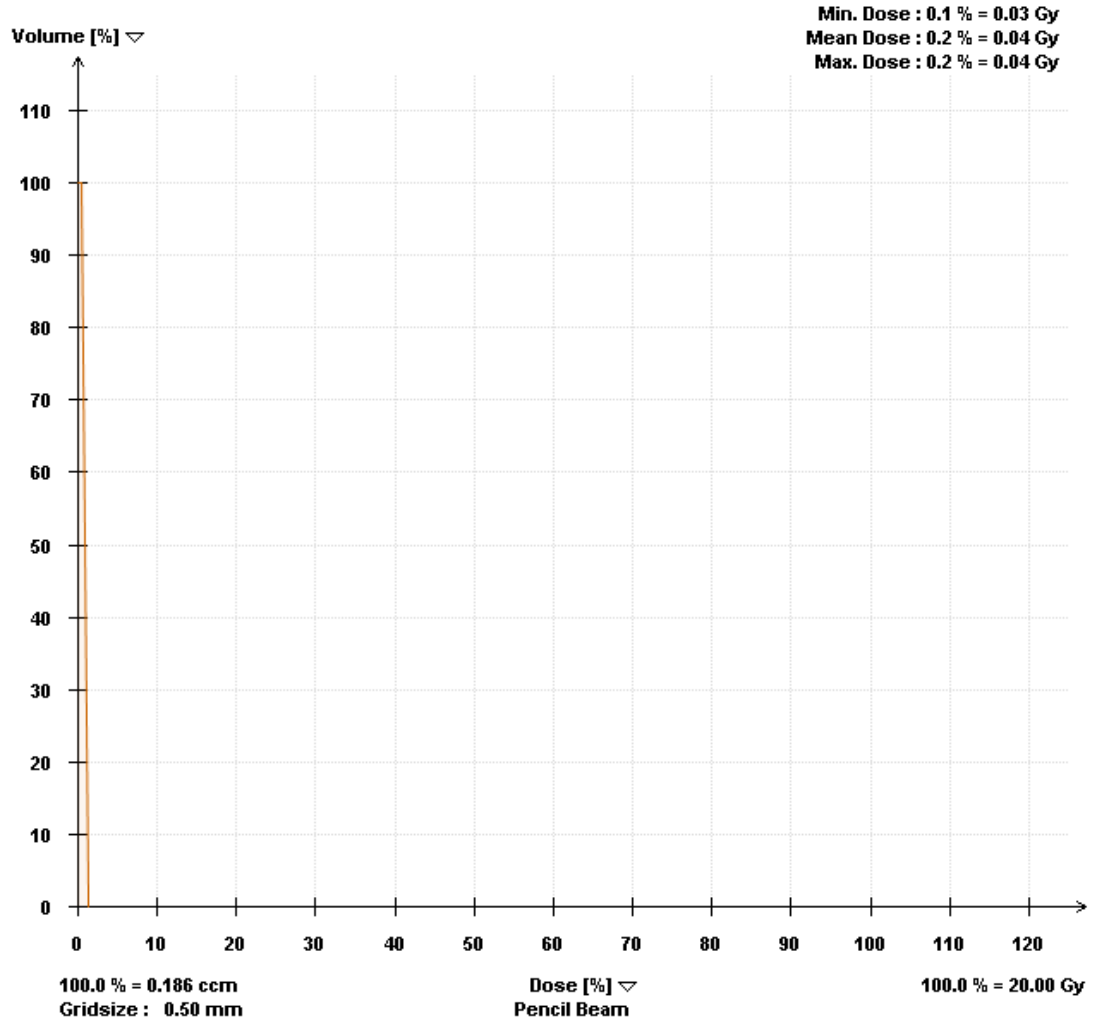
Şekil 4.1. Tedavi planına ait doz dağılımının görüntüleri. A: Koronal düzlem, B: Sagittal düzlem. (Pembe ile boyalı kısım %95’lik izodozu, kırmızı kontur CTV’yi, açık mavi kontur sol lensi, turuncu kontur sağ lensi, yeşil kontur sağ gözü temsil etmektedir.)



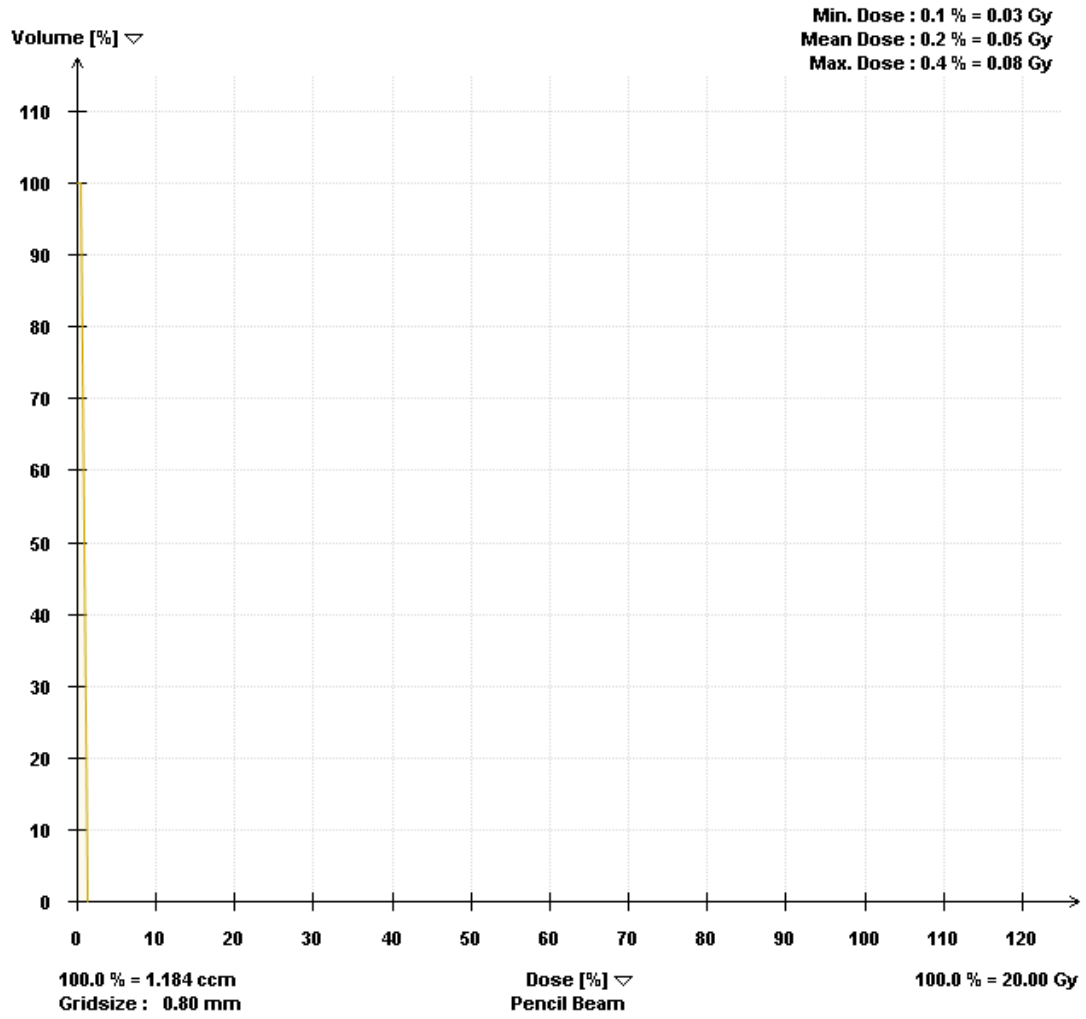
Şekil 4.2. Sol lense ait doz-hacim histogramı.



Şekil 4.3. Sol vitröz sıvıya ait doz-hacim histogramı.



Şekil 4.4. Sağ lense ait doz-hacim histogramı.



Şekil 4.5. Sağ vitröz sıvıya ait doz-hacim histogramı.

#### 4.2. Oftalmolojik Muayene Bulguları

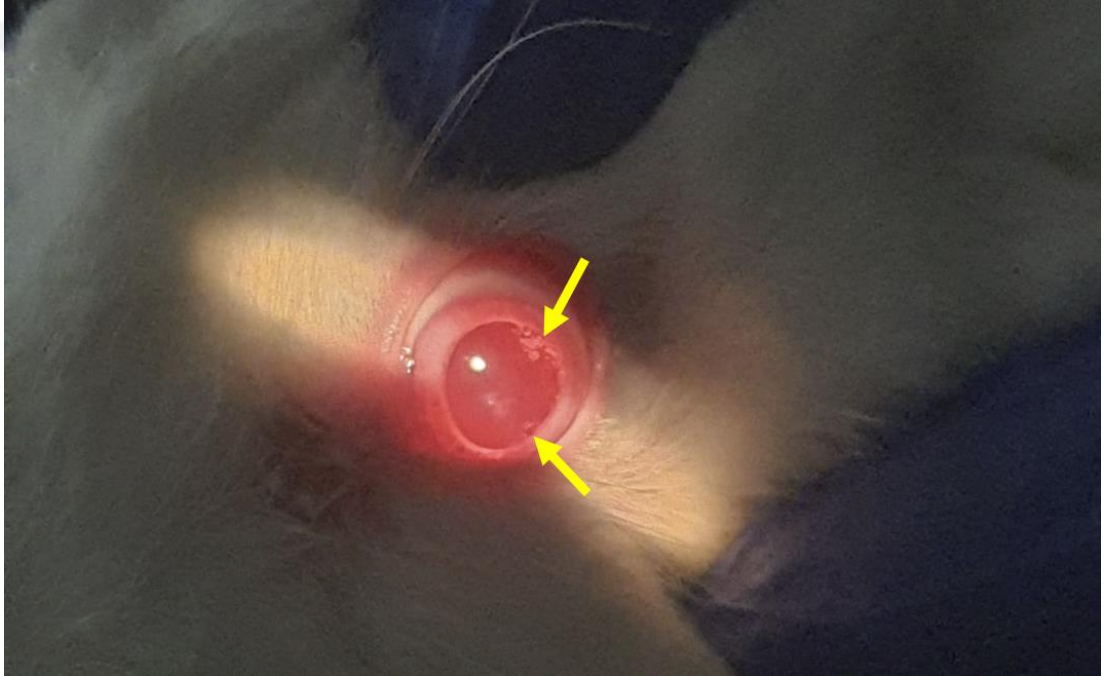
Işınlama sonrası 3, 11 ve 12 numaralı tavşanlar ilk bir hafta içerisinde, 8 numaralı tavşan ise ışınlamayı takiben 42. günde deney prosedürü dışı nedenler ile kaybedilmiştir. Bu nedenle bulgular toplam 8 tavşan üzerinde incelenmiştir. Oftalmolojik muayene bulguları detaylı olarak Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Hiçbir tavşanda RT sonrası klinik izlem sırasındaki inspeksiyon muayenelerinde RT ile ilişkili belirgin erken dönem toksisite bulgusu izlenmemiştir.

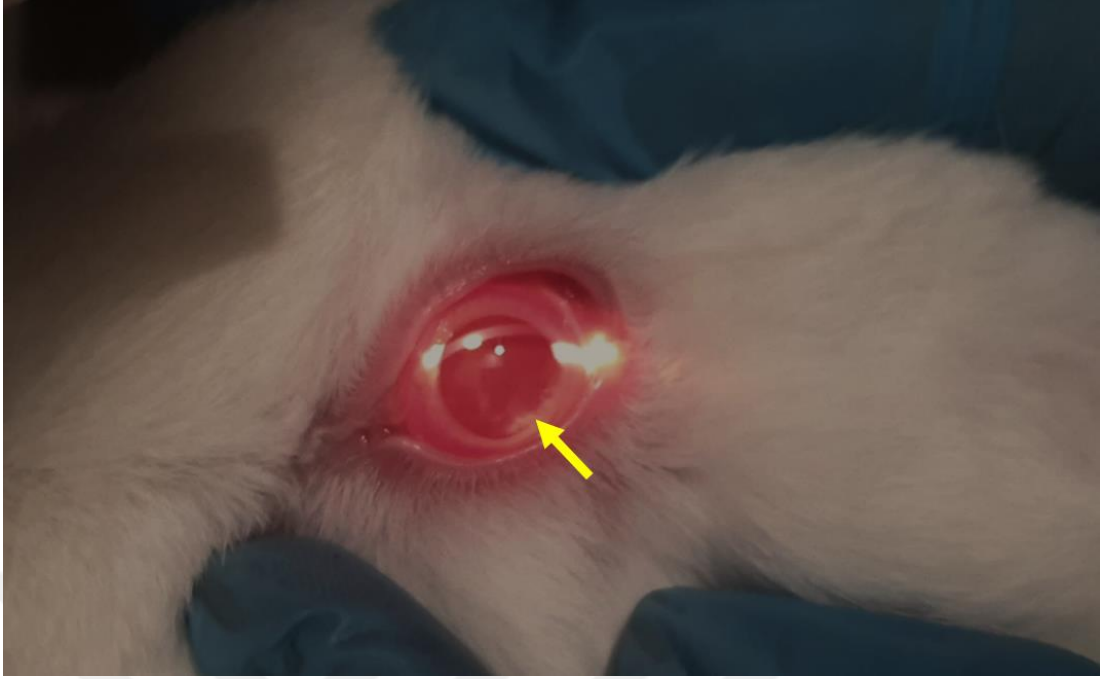
Yapılan muayenelerde hiçbir tavşanda nükleer veya kortikal katarakt bulgusu saptanmamıştır.

Birinci ay sonunda yapılan oftalmolojik muayenede, 2 numaralı tavşanın sol lensinde pupil dilatasyonu sonrası periferik sektörel şekilde PSK ile uyumlu opasiteler izlenmiştir (Şekil 4.6). İkinci ay muayenesinde opasite alanları genişlemiş, hem

dilatasyon öncesi, hem de dilatasyon sonrası muayenelerde görünür hale gelmiştir. Üçüncü ay sonunda yapılan oftalmolojik muayenede ise opasite alanlarında önceki muayene kıyasla progresyon izlenmiştir. 7 numaralı tavşanda ise birinci ay oftalmolojik muayenesinde katarakt lehine anlamlı bulgu izlenmezken, ikinci ay sonunda yapılan muayenede dilatasyon sonrası periferik sektörel şekilde PSK ile uyumlu minör opasiteler izlenmiştir. Üçüncü ay sonunda yapılan muayenede ise dilatasyon sonrası opasite alanının önceki incelemeye göre genişlediği görülmüştür (Şekil 4.7). Sonuç olarak takip süresinin sonunda hayatta olan 8 tavşanın 2'sinde (%25) klinik oftalmolojik muayene sırasında katarakt gelişimi saptanmıştır.



Şekil 4.6. 2 numaralı tavşanda izlenen katarakt görüntüsü (3. ay).



Şekil 4.7. 7 numaralı tavşanda izlenen katarakt görüntüsü (3. ay).

Tablo 4.1. Oftalmolojik muayene bulguları.

	1. ay		2. ay		3. ay	
	D. Ö.	D.S.	D. Ö.	D.S.	D. Ö.	D.S.
1-Sağ	--	--	--	--	--	--
1-Sol	--	--	--	--	Kuru göz	Kuru göz
2-Sağ	--	--	--	--	--	--
2-Sol	--	PSK	PSK	PSK	PSK, kuru göz	PSK, kuru göz
3-Sağ	Exitus					
3-Sol						
4-Sağ	--	--	--	--	--	--
4-Sol	--	--	--	--	Kuru göz	Kuru göz
5-Sağ	--	--	--	--	--	--
5-Sol	--	--	--	--	Kuru göz	Kuru göz
6-Sağ	--	--	--	--	--	--
6-Sol	--	--	--	--	Kuru göz	Kuru göz
7-Sağ	--	--	--	--	--	--
7-Sol	--	--	--	PSK	Kuru göz	PSK, kuru göz
8-Sağ	--	--	Exitus			
8-Sol	--	--				
9-Sağ	--	--	--	--	--	--
9-Sol	--	--	--	--	Kuru göz	Kuru göz
10-Sağ	--	--	--	--	--	--
10-Sol	--	--	--	--	Kuru göz	Kuru göz
11-Sağ	Exitus					
11-Sol						
12-Sağ	Exitus					
12-Sol						

Kısaltmalar: D. Ö.: Dilatasyon öncesi, D. S.: Dilatasyon sonrası, PSK: Posterior subkapsüler katarakt.

### 4.3. Orbita Manyetik Rezonans Görüntüleme Bulguları

#### 4.3.1. Hacim Ölçümleri

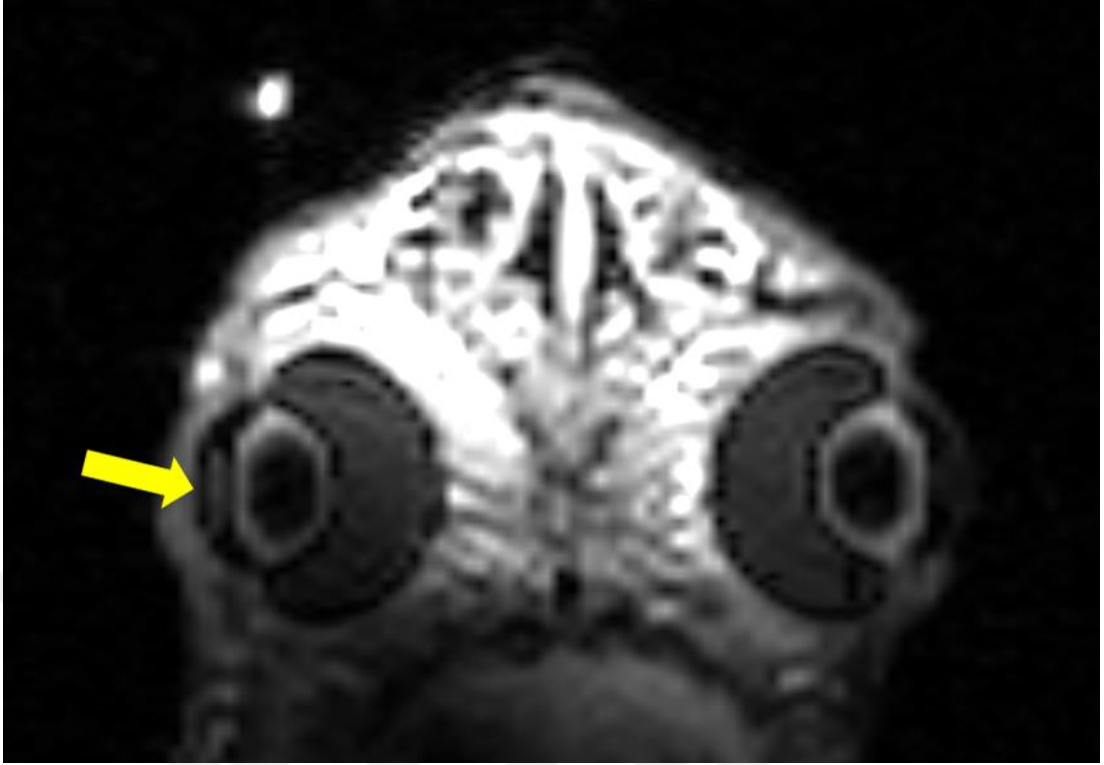
Tavşanların RT sonrası 3. ayda çekilen MRG'lerinde uygulama (sol) ve kontrol (sağ) gözlerindeki alt yapılar karşılaştırılmıştır. Her iki lens, aköz ve vitröz sıvı hacimleri kontrastsız sekanslar üzerinden ayrı ayrı ölçülmüş olup, uygulama ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir hacimsel farklılık izlenmemiştir (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Uygulama ve kontrol grupları arasında göze ait yapıların hacimlerinin karşılaştırılması.

Hacim	Kontrol (Sağ)	Uygulama (Sol)	p
<b>Lens (mm<sup>3</sup>, ortalama, standart sapma)</b>	439,65 (± 47,16)	402,67 (± 54,32)	0,19
<b>Vitröz (mm<sup>3</sup>, ortalama, standart sapma)</b>	1442,29 (± 171,01)	1382,02 (± 152,13)	0,49
<b>Aköz (mm<sup>3</sup>, ortalama, standart sapma)</b>	205,69 (± 35,21)	197,66 (±58,98)	0,76

#### 4.3.2. Görsel Değerlendirme

Yapılan görsel değerlendirmeler sonucunda tavşanların ışınlanan ve ışınlanmayan gözleri karşılaştırıldığında kontrastsız ve erken post-kontrast sekanslarda her iki orbita ve göze ait alt yapılar arasında belirgin bir farklılık veya patolojik bir bulgu izlenmemiştir. Fakat geç post-kontrast sekanslarda tavşanların %87.5'inde (n=7) RT uygulanan sol gözlerinin ön kamaralarında karşı gözlerden farklı olarak değişken düzeylerde kontrast madde tutulumu olduğu izlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Kontrast sonrası geç fazda (45. dk) alınan T2-SPACE sekansında sol göz ön kamarada izlenen kontrast madde birikimi.

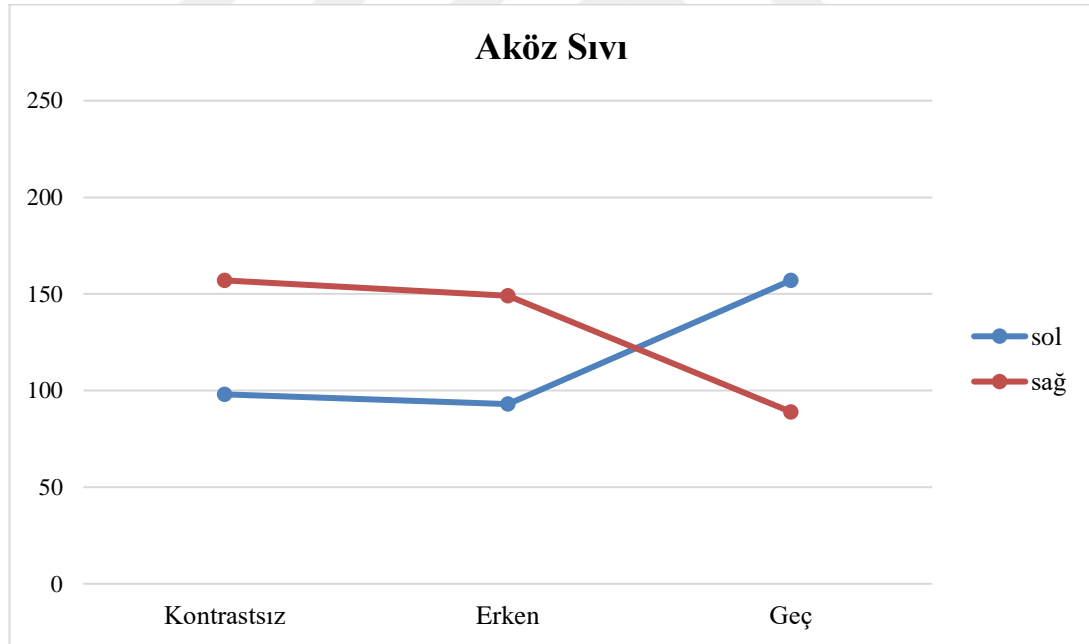
### 4.3.3. Sinyal İntensitesi Ölçümleri

Farklı göz alt birimlerinin farklı MRG sekanslarındaki ortanca sinyal intensite değerleri Tablo 4.3'te özetlenmiştir. Bilateral vitröz sıvılar ve lensler arasında kontrastsız, erken dönem ve geç dönem post-kontrast sekanslarda sinyal intensiteleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. Aköz sıvılar değerlendirildiğinde ise kontrastsız sekanslarda sol aköz sıvının ortanca sinyal intensite değerinin sağ aköz sıvıya kıyasla anlamlı düzeyde daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca görsel değerlendirme bulguları ile uyumlu olarak, post-kontrast geç dönem sekanslarda sol aköz sıvıda karşı tarafa kıyasla ortanca sinyal intensite değerinde anlamlı düzeyde artış saptanmıştır. Aköz sıvının ortanca sinyal intensite değerlerinin sekanslar arasındaki değişimi grafiksel olarak Şekil 4.9'da sunulmuştur.

Tablo 4.3. Lens, aköz sıvı ve vitröz sıvıda T2-SPACE sekanslarda sinyal intensitesi ölçümleri.

	Kontrastsız	p	Erken PK	p	Geç PK	p
<b>Lens</b>						
<b>Sağ</b>	293 (271-323)	0,18	309 (283-323)	0,07	312 (153-337)	0,63
<b>Sol</b>	262 (231-301)		262 (249-289)		283 (263-309)	
<b>Vitröz</b>						
<b>Sağ</b>	170 (156-177)	0,38	171 (153-180)	0,16	174 (105-183)	0,31
<b>Sol</b>	160 (146-166)		159 (147-164)		153 (135-158)	
<b>Aköz</b>						
<b>Sağ</b>	157 (115-169)	0,03	149 (115-172)	0,09	89 (40-137)	0,04
<b>Sol</b>	98 (86-131)		93 (83-129)		157 (118-275)	

Kısaltma: PK: post-kontrast.



Şekil 4.9. Aköz sıvıdaki sinyal intensitelerinin fazlar arasındaki değişimi.

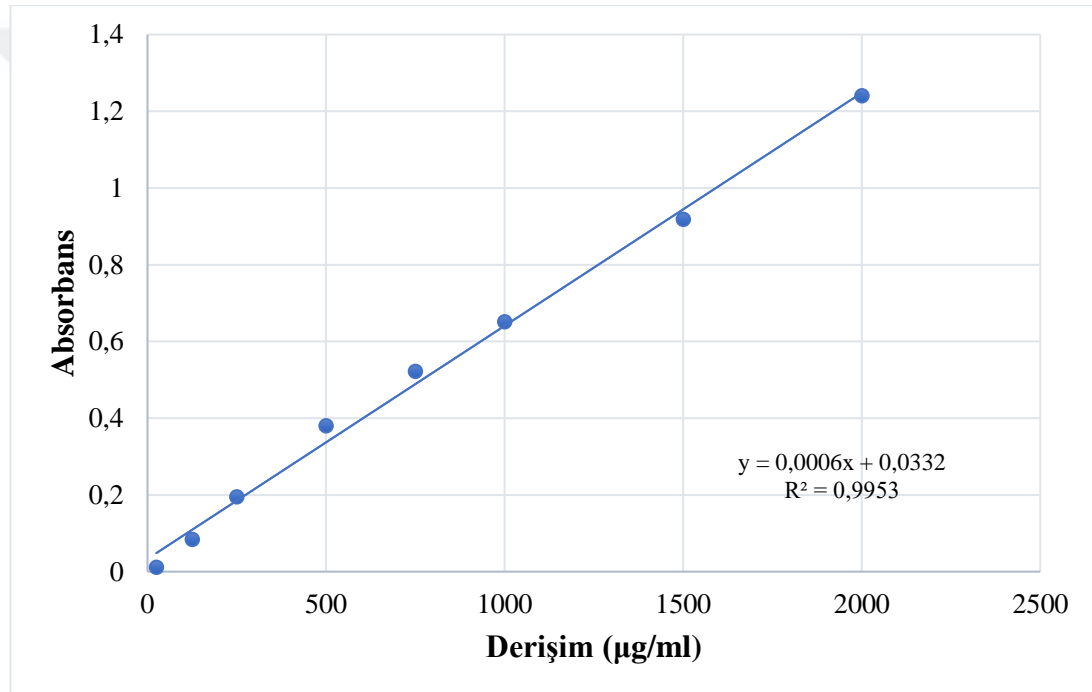
#### 4.4. Histopatolojik İncelemeler

Işık mikroskopisi incelemesinde esas değişikliklerin beklendiği lens dokularının kapsüllerinin fiksasyon sürecindeki bozulma nedeni ile intakt yapıda olmadıkları, sadece nükleusların değerlendirilmeye uygun yapıda olduğu görülmüştür.

Bu nedenle PSK gelişiminin değerlendirilmesi açısından materyaller yetersiz kalmıştır. Lens nükleusları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, histomorfolojik bulgular arasında belirgin bir farklılık olmadığı izlenmiştir. Klinik muayenede PSK gelişimi saptanan iki tavşanın da lens nükleuslarının, diğer nükleuslar ile benzer özellikte olduğu izlenmiştir.

#### 4.5. BCA Toplam Protein Miktarı Tayini

BCA toplam protein tayini için hazırlanan standart çözeltilerin derişime karşı absorbands standart eğri grafiği Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Standart eğri yardımıyla örneklerin toplam protein miktarı tayini yapılmıştır.



Şekil 4.10. BCA protein tayini deneyinde standart çözeltiler ile elde edilen absorbands ile oluşturulmuş standart doğru ve denklemi.

Vitröz sıvı örneklerinin absorbandsları ve standart doğru denklemi ile hesaplanan örneklerdeki toplam protein derişimleri

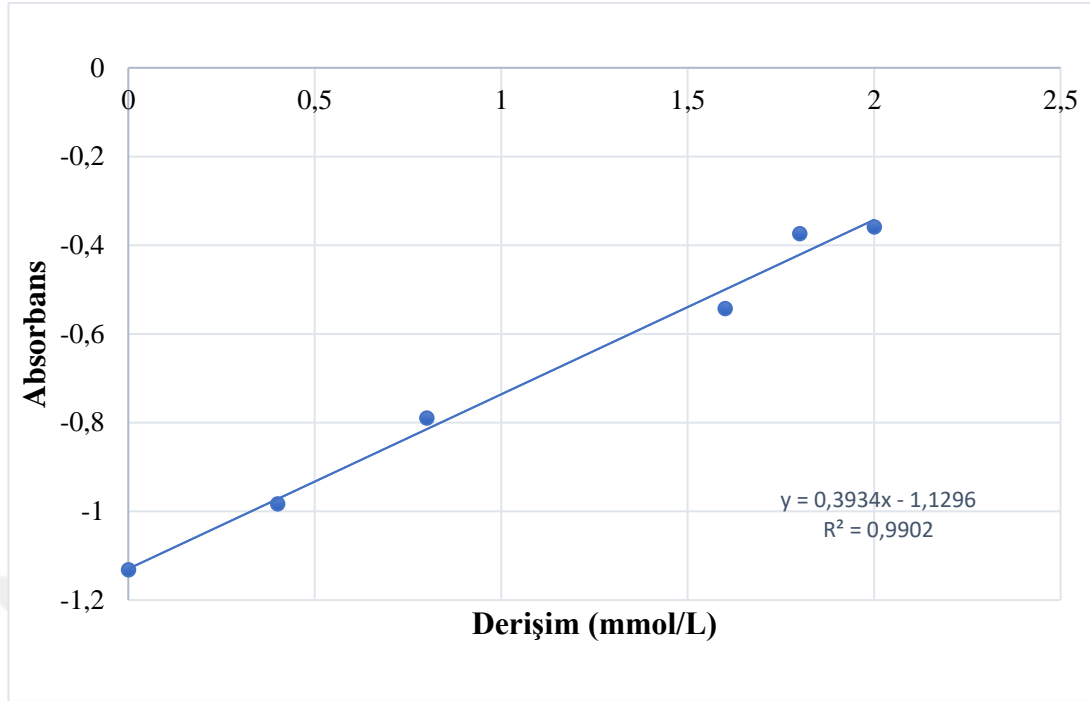
Tablo 4.4'te sunulmuştur.

Tablo 4.4. Vitröz sıvı numunelerinin toplam protein derişimleri.

Numune	Absorbans (562 nm)		Derişim (g/L)	
	Kontrol (Sağ)	Uygulama (Sol)	Kontrol (Sağ)	Uygulama (Sol)
1	0,208	1,064	0,29	1,72
2	0,51	0,391	0,79	0,60
4	0,565	0,668	0,89	1,06
5	3,402	0,759	5,61	1,21
6	0,305	0,666	0,45	1,05
7	0,705	0,586	1,12	0,92
9	1,126	0,483	1,82	0,75
10	1,11	1,081	1,79	1,75

#### 4.6. Toplam Antioksidan Durumu (TAS)

TAS için hazırlanan standart çözeltilerin derişime karşı absorbans standart eğri grafiği Şekil 4.11'de yer almaktadır.



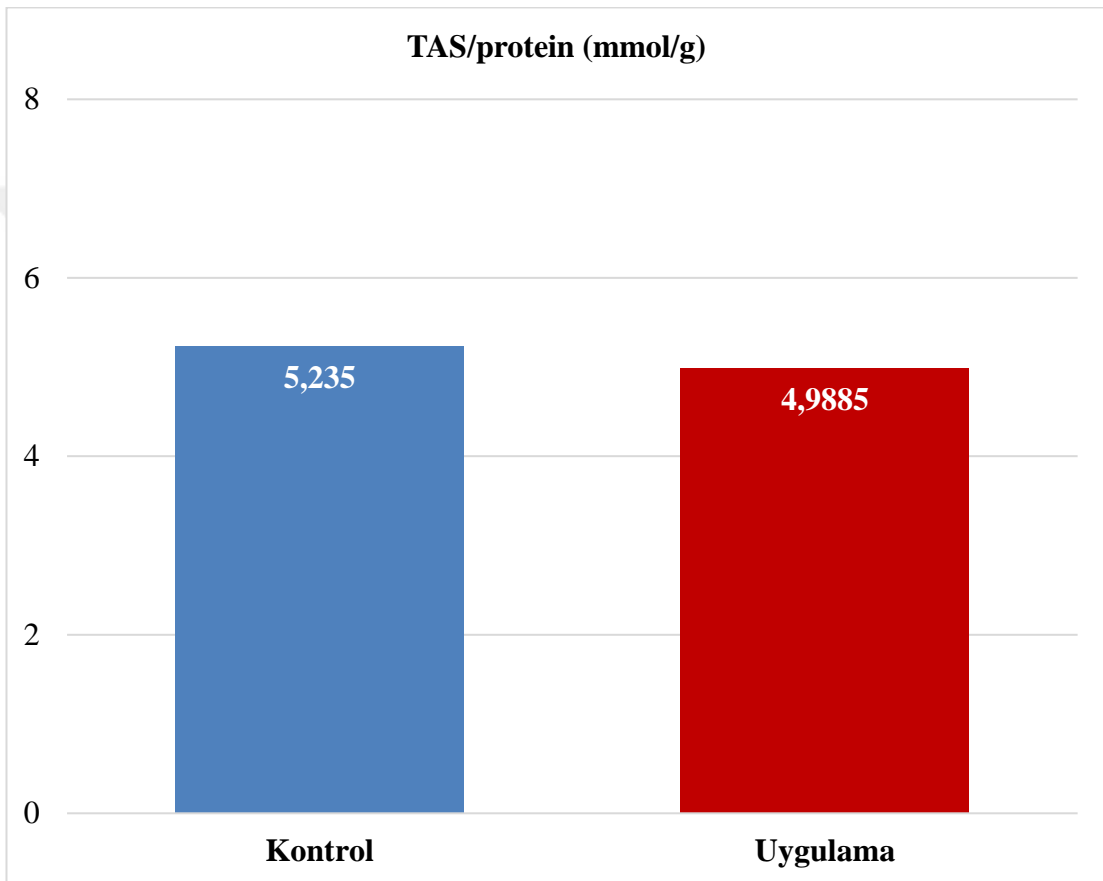
Şekil 4.11. TAS tayini deneyinde standart çözeltiler ile elde edilen absorbanşlar ile oluşturulmuş standart doğru ve denklemi.

Standart eğri yardımıyla örneklerdeki TAS belirlenmiştir. Örneklerin TAS değerleri toplam protein derişimlerine (g/L) bölünerek g protein başına TAS değerleri elde edilmiştir (Tablo 4.5). Vitröz sıvı örneklerinin TAS /protein (mmol/g) değerleri Tablo 4.5'te yer almaktadır. RT uygulanan (sol) gözden alınan vitröz sıvı örnekleri (1L, 2L, 4L, 5L, 6L, 7L, 9L, 10L) uygulama grubunu, RT uygulanmayan (sağ) gözden alınan vitröz sıvı örnekleri ise (1R, 2R, 4R, 5R, 6R, 7R, 9R, 10R) kontrol grubunu oluşturmaktadır. Kontrol ve uygulama gruplarında ortanca ve ÇAA TAS/protein değerleri sırasıyla 5,235 mmol/g (2,88-9,24 mmol/g) ve 4,988 mmol/g (3,399-6,267 mmol/g) olarak hesaplanmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarının TAS/protein (mmol/g) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p = 0,91$ , Şekil 4.12).

Tablo 4.5. Vitröz sıvı numunelerinin TAS/protein (mmol/g) değerleri.

Numune	TAS / protein (mmol / g)	
	Kontrol (Sağ)	Uygulama (Sol)
1	18,716	3,122
2	5,669	8,752

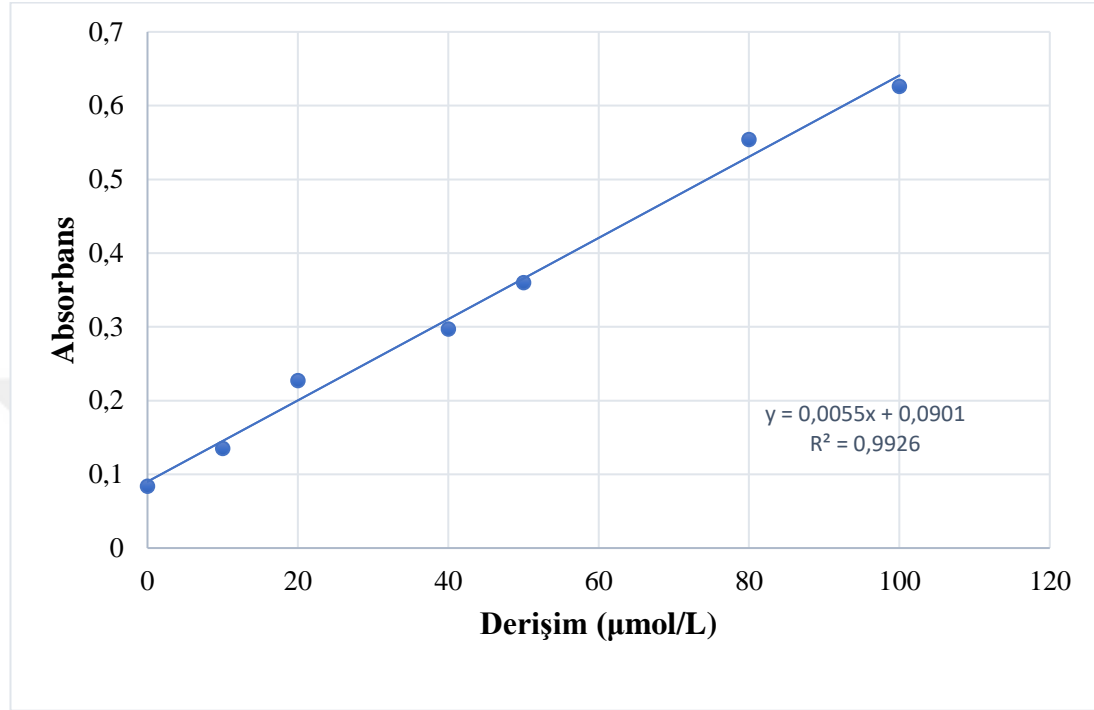
4	6,376	5,043
5	0,708	3,677
6	12,104	4,934
7	4,801	5,550
9	2,909	6,985
10	2,851	2,614



Şekil 4.12. Kontrol ve uygulama gruplarının TAS/protein (mmol/g) değerlerinin karşılaştırılması.

#### 4.7. Toplam Oksidan Durumu (TOS)

TOS için hazırlanan standart çözeltilerin derişime karşı absorbans standart eğri grafiği Şekil 4.13'te yer almaktadır.



Şekil 4.13. TOS standartlarının derişime karşı absorbans standart eğri grafiği.

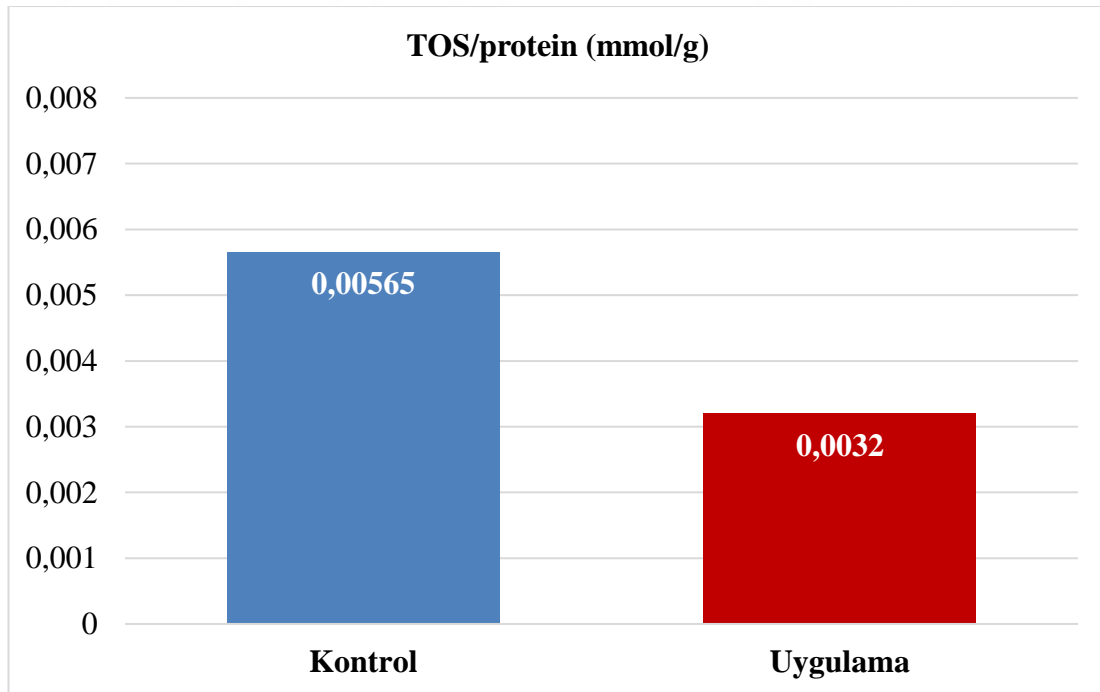
Standart eğri yardımıyla örneklerdeki TOS belirlenmiştir. Örneklerin TOS değerleri toplam protein derişimlerine (g/L) bölünerek g protein başına TOS değerleri elde edilmiştir.

Sol gözden alınan vitröz sıvı numuneleri (1L, 2L, 4L, 5L, 6L, 7L, 9L, 10L) uygulama grubunu, sağ gözden alınan vitröz sıvı numuneleri ise (1R, 2R, 4R, 5R, 6R, 7R, 9R, 10R) kontrol grubunu oluşturmaktadır. Vitröz sıvı örneklerinin TOS/protein (mmol/g) değerleri Tablo 4.6'da sunulmuştur.

Tablo 4.6. Vitröz sıvı numunelerinin TOS/protein (mmol/g) değerleri.

Numune	TOS/protein (mmol/g)	
	Kontrol (Sağ)	Uygulama (Sol)
1	0,0202	0,0013
2	0,0054	0,0035
4	0,0059	0,0038
5	0,0021	0,0036
6	0,0044	0,0004
7	0,0075	0,0029
9	0,0263	0,0102
10	0,0033	0,0011

Kontrol ve uygulama gruplarında ortanca ve ÇAA TOS/protein değerleri sırasıyla 0,0057 mmol/g (0,0039-0,0139 mmol/g) ve 0,0032 mmol/g (0,0012-0,0037 mmol/g) olarak hesaplanmıştır. Uygulama grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük TOS/protein değerleri elde edilmiştir ( $p = 0,04$ ).



Şekil 4.14. Kontrol ve uygulama gruplarının TOS/protein (mmol/g) değerlerinin karşılaştırılması.

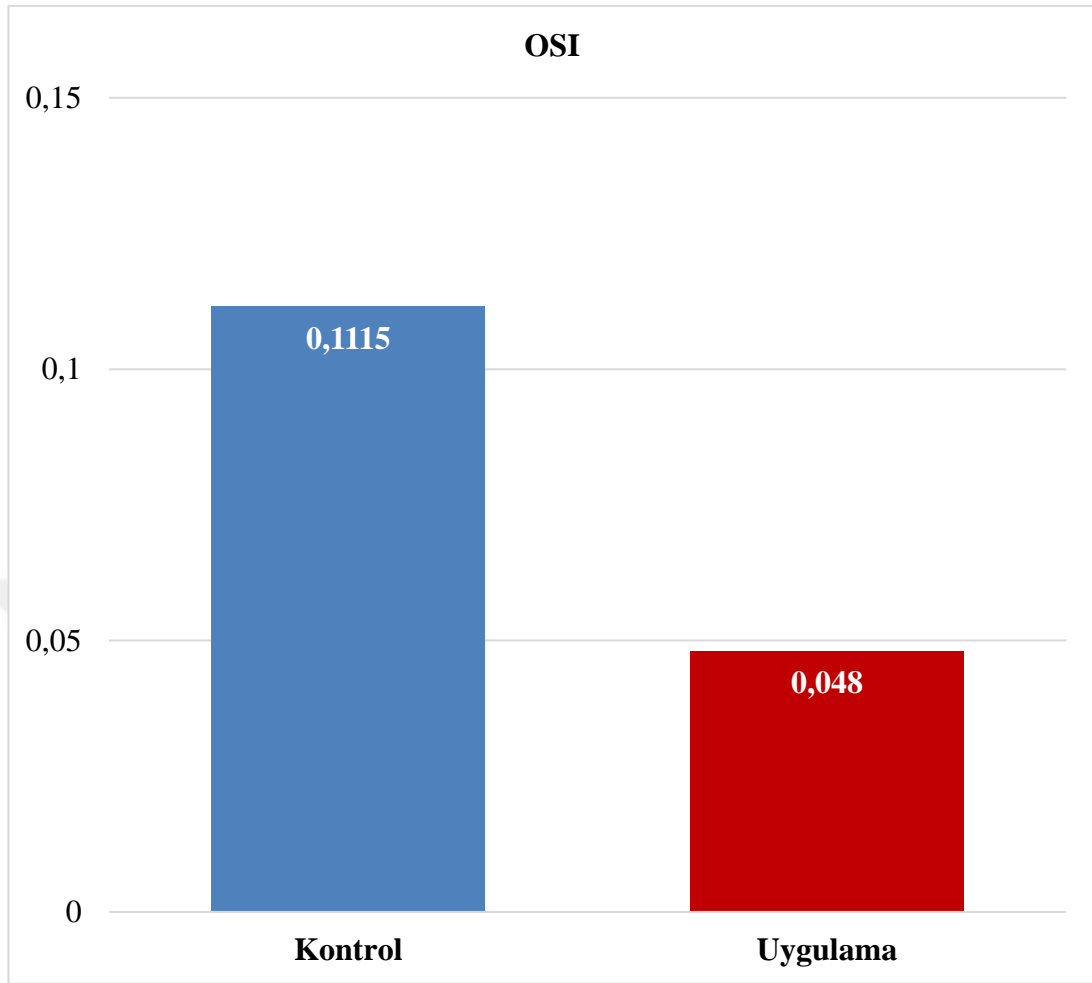
#### 4.8. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Örneklerin TOS ve TAS değerlerinin oksidatif stres indeksi sonuçları Tablo 4.7'de sunulmuştur.

Tablo 4.7. Vitröz sıvı numunelerinin oksidatif stres indeksleri.

Numune	OSI (TAS/TOS*100)	
	Kontrol (Sağ)	Uygulama (Sol)
1	0,108	0,042
2	0,094	0,040
4	0,093	0,075
5	0,292	0,098
6	0,036	0,008
7	0,157	0,053
9	0,906	0,145
10	0,115	0,043

Kontrol grubundaki uygulama grubundaki örneklerin OSI değerlerinin karşılaştırıldığı grafik Şekil 4.15'te yer almaktadır. Kontrol ve uygulama gruplarında ortanca ve ÇAA OSI değerleri sırasıyla 0,1115 (0,0935-0,2245) ve 0,048 (0,041-0,0865) olarak hesaplanmıştır. Uygulama grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük OSI değerleri elde edilmiştir ( $p = 0,04$ ).



Şekil 4.15. Kontrol ve uygulama gruplarının OSI değerlerinin karşılaştırılması.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda sol vitröz sıvıya lens korunarak tek fraksiyonda 20 Gy RT uygulanan tavşanların 3 aylık izleminde uygulama grubunda %25 oranında klinik muayenede saptanabilen PSK, izlem süresi sonunda yapılan orbita MRG'de %87.5 oranında geç sekanslarda izlenen ön kamara kontrastlanması ve vitröz sıvının spektrofotometrik incelemesinde azalmış TOS/protein ve OSI değerleri izlenmiştir. Bu veriler ışığında radyasyonla ilişkili katarakt patogenezi temel faktör olduğu düşünülen lens dozuna ek olarak hacimsel olarak büyük bir kısmının vitröz sıvı tarafından oluşturulduğu gözün posterior yapılarındaki radyasyonla ilişkili değişikliklerin de kataraktogenezi etkisinin olabileceği saptanmıştır.

Radyasyon kataraktı patogenezi için oluşturulan hipotezler doğrudan lensin radyasyon hasarına bağlı katarakt gelişmesi ve lens ile yakın komşulukta bulunan diğer yapıların (silier cisim, aköz humör vb.) radyasyon hasarına sekonder katarakt gelişimi olarak kabaca iki ana grupta değerlendirilebilir. Lens komşuluğundaki yapıların radyasyon ilişkili katarakt ile ilişkisini inceleyen günümüze kadar yapılan çalışmalarda bildiğimiz kadarıyla pozitif bir bulgu saptanamamıştır.<sup>82,83</sup> Puntenney ve ark.<sup>83</sup> radyasyon ilişkili kataraktın gelişiminde silier cismin maruz kaldığı radyasyon dozunun da bir etkisi olabileceği hipotezinden yola çıkarak bir hayvan deneyi modellemesi yapmışlardır. Çalışmada, tek gözlerinin silier cisim bölgelerine yönelik düşük enerjili X-ışınları ile ve lens koruyucu kurşun bloklar kullanılarak tek fraksiyonda 40 Gy RT uygulanan tavşanlarda matür katarakt gelişiminin izlenmediği rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmada 220 kV enerjiye sahip düşük giricilikte X-ışını demetleri kullanılmasının yanı sıra çalışma zamanı 3 boyutlu planlama dönemi öncesine tekabül etmektedir. Derin oküler yapıların maruz kaldığı radyasyon dozları hakkındaki belirsizlikler de göz önünde bulundurulduğunda bu çalışmanın sonuçlarına göre kataraktogenezi üzerinde esas rolü olan alt birim veya birimler hakkında net bir çıkarımda bulunulamayacağı düşünülmüştür. Mevcut çalışmamızda ise vitröz sıvının katarakt gelişimindeki rolü incelenmiş ve lens korunarak vitröz sıvıya tek fraksiyonda 20 Gy doz reçetelendirilmiştir. Tedavi planında lensin maruz kaldığı radyasyon dozunu en aza indirmek amacıyla vitröz sıvı ortalama dozu 18.31 Gy, reçetelendirilen dozun %95'ini alan hacim (D95) ise %68 olarak sağlanabilmiştir. Vitröz sıvı doz kapsamından feragat edilmesine rağmen deneklerde %25 oranında oftalmolojik

muayenede saptanabilen katarakt gelişimi izlenmiştir. Çalışmamız literatürde lens dışı dokuların radyasyon maruziyeti ile katarakt gelişimi arasında anlamlı bir ilişki saptayan ilk çalışmadır.

İyonizan radyasyon maruziyeti ile en fazla ilişkisi bulunan katarakt çeşidi PSK'dır.<sup>84,85</sup> Çalışmamıza dahil edilen tavşanlarda ışınlamayı takiben ilk katarakt gelişimi birinci ay sonunda, PSK şeklinde ve bir tavşanda izlenmiştir. İkinci ayda yapılan oftalmolojik muayenede ise, PSK gelişen tavşan sayısının ikiye çıktığı ve her iki tavşanın da gelişmiş olan katarakt şiddetlerinin üçüncü ayda yapılan oftalmolojik muayenelerde önceki incelemeye kıyasla progrese olduğu saptanmıştır. Bu durum radyasyon ilişkili kataraktın literatürde bildirilen progresif seyri ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.<sup>48</sup>

Katarakt gelişiminin zamanlaması üzerinde akselere edici bir etkisi olduğu bilinen diğer faktör ise fraksinyasyon ve toplam radyasyon dozudur. Radyasyon maruziyeti sonrası katarakt gelişimine kadar geçen süre olarak tanımlanan latent sürenin, fraksiyon dozu azaldıkça arttığı bilinmektedir.<sup>12,61</sup> Çalışmamızda her ne kadar deney grubundaki gözlemlere ait lens dokularının radyasyon dozları oldukça düşük seviyelerde tutulmuş olsa da, 1-3 ay gibi erken zaman zarfında dahi tavşanların %25'inde katarakt gelişmiş olması, kataraktogenez zemininde yer alan tek ve belirleyici risk faktörün lens dokusunun maruz kaldığı radyasyon dozu olmadığını düşündürmüştür.

Orbita ve komşuluğundaki yapılarda RT sonrasında dermatit, alopesi, konjonktivit, periorbital ödem gibi akut dönem yan etkiler görülebilir. Çalışmamıza dahil edilen tavşanların RT sonrası izleminde ise herhangi bir akut toksisite bulgusu saptanmamıştır. Bu durum, lensi koruma amacı taşıyan tedavi planında ön kamara ve perioküler dokuların dozunun olabildiğince sınırlanması ile açıklanabilir. Ön kamara ve perioküler dokuların radyasyon dozlarının düşük seviyelerde tutulması, erken dönemde inspeksiyon muayenesi ile tespit edilebilen dermatit, konjonktivit gibi yan etkilerin gelişimi üzerinde profilaktik bir rol oynamış olabilir.

Kataraktın temel tanı ve takip yönteminin klinik muayene olması nedeniyle günümüzde farklı patolojilerde sıklıkla kullanılan MRG, BT gibi radyolojik tetkiklerdeki katarakt bulguları hakkındaki literatür verileri oldukça sınırlıdır. MRG'de lenste hacim artışı, azalmış T1 sinyal intensitesi ve muhtemel ozmotik etkilere bağlı

olarak artmış T2 sinyal intensitesi, spesifik olmamakla birlikte katarakt bulguları arasında yer almaktadır.<sup>86</sup> Çalışma protokolümüze MRG'nin entegre edilmesinin ana nedeni, katarakt gelişen olgulardaki klinik, patolojik ve radyolojik bulguların birbirleri ile korelasyonunun ve olası diğer oküler birimlerin hasarının değerlendirilmesidir. Çalışmamızda takip süresinin sonunda yapılan orbita MRG tetkikinde, ışınlanan ve ışınlanmayan lens ve vitröz sıvılar arasında belirgin bir radyolojik değişiklik bulgusu izlenmemiştir. Ancak MRG üzerinden elde olunan bir bulgu, tavşanların %87.5'inde RT uygulanan gözlerde ön segment kontrastlanması izlenmesidir. Gözün posterior segmentinin radyasyon maruziyeti sonrası izlemde ön kamarada geç dönemde kontrast tutulumu literatürde daha önce tanımlanmayan bir bulgudur. Literatürde ön kamarada kontrast tutulumu ile en fazla ilişkilendirilen klinik tablo retinoblastomdur.<sup>87</sup> Retinoblastom tanılı olguların MRG'lerinin retrospektif olarak incelendiği birçok çalışmada ön kamarada kontrastlanma olması bu bulgunun gelişim mekanizmaları ve klinik önemi hakkında çeşitli araştırmalar yapılmasını sağlamıştır. Farklı çalışmalarda ön kamara kontrastlanması ile çeşitli histopatolojik ve klinik faktörler ilişkilendirilmiş olmakla birlikte çalışmaların hasta sayısının düşük olması ve retrospektif dizaynlar kesin bir kaniye varılması için yetersiz kalmıştır.<sup>88</sup> Normal göz yapısında üveal traktlardan irise kadar kontrast tutulumu beklenmektedir. Ancak özellikle çeşitli nedenlerle indüklenmiş bir anjiogenez varlığında bu kontrastlanmalar belirginleşmektedir. Şayet oluşan yeni damarsal yapılar matüritesini henüz tamamlamamış veya çeşitli endojen ve/veya eksojen nedenler ile harabiyete uğramış ise, ekstrasellüler alana doğru damar içeriğinin kaçışının gerçekleşmesi mümkündür. İris anjiogenezi, inflamasyon, koroidal veya optik disk invazyonu yapan retinoblastom gibi tabloların sonucunda ön kamara kontrastlanması görülebilmektedir.<sup>89</sup> Radyasyon aracılığıyla gelişen endotel hasarının tek başına dahi hipoksik bir ortama ve dolayısıyla neoanjiogeneze neden olduğu bilinmektedir.<sup>90</sup> Özellikle endotel hasarı sonrası yüksek konsantrasyonlarda salgılanan vasküler endotelial büyüme faktörü neoanjiogenezi indükleyen en önemli faktörlerdendir.<sup>91</sup> Çalışmamızda gözün anterior segmenti korunarak posterior segmentin yüksek dozda radyasyona maruz bırakıldığı tavşanların önemli bir kısmında gözlenen bu bulgunun esas olarak hangi göz alt biriminin hasarı neticesinde oluştuğunu saptamak çalışma dizaynı itibarıyla mümkün değildir. Fakat radyasyona bağlı oküler hasarda çeşitli yolakların ve göz alt birimlerinin kombine

olarak etkilenmelerinin sonucu olarak retinopati, vitreopati, iridopati gibi klinik tabloların bir arada yer aldığı göz önünde bulundurularak bu durumun ön segment kontrastlanmasına yol açmış olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak literatürde radyasyon hasarı net bir şekilde tanımlanmış olan vitröz sıvının ve olası diğer posterior segment göz alt birimlerinin gördüğü hasarın ön segment üzerinde etkileri olabileceği gösterilmiştir.

X- ve gama ışınları gibi indirekt iyonizan etkili radyasyon çeşitlerinin hücre ve dokular üzerinde yaptığı hasarın büyük bir kısmının serbest radikal oksijen türevleri aracılığıyla olduğu bilinmektedir.<sup>74</sup> Literatürde çeşitli göz patolojilerinde oksidatif stresin artması sonucunda vitröz sıvının antioksidan düzeyleri azalırken oksidan düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.<sup>92</sup> Ancak oksidatif hasar sonrası yanıt olarak gelişen antioksidan cevabın başlama zamanı ve başlayan zincirleme kaskadların sonlanım noktaları literatürde net olarak tanımlanmamıştır. Radyasyon maruziyeti sonrası hücre sel cevabı inceleyen çalışmaların çoğunda maruziyet sonrasındaki oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan cevabın değerlendirilmesi ilk bir veya iki hafta içerisinde yapılmıştır.<sup>93,94</sup> Çalışmamızın protokolü gereğince radyasyonla ilişkili vitreopatinin ve kataraktın gerçekleşebilmesi amacıyla iyonize radyasyon maruziyeti sonrasında 12 hafta beklenmiş ve vitröz sıvı örnekleri bu sürenin sonunda temin edilebilmiştir. Dolayısıyla beklenenin aksine RT uygulanan vitröz sıvılardaki azalmış oksidatif stres belirteçlerinin, radyasyon maruziyeti sonrası erken hücre sel cevabı temsil etmek için uygun olmayabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle vitröz sıvıdaki hasara sekonder lens dokusundaki olası oksidatif stres belirteçlerini ve antioksidan enzim düzeylerini maruziyet sonrası farklı zamanlarda araştıran ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bulgularımızı etkilemiş olabilecek bir diğer faktörün ise nükleer faktör-eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (NRF2) aktivasyonu olabileceği düşünülmüştür. NRF2 antioksidan tepki yolunu düzenleyen, kronik oksidatif strese karşı koruyucu rolü olduğu bildirilmiş olan bir protein ve gen regülatörüdür.<sup>95,96</sup> Antioksidan tepki yolu, hücrelerin oksidatif stresle başa çıkmasına ve hidrojen peroksit gibi serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize etmesine yardımcı olmaktadır.<sup>97,98</sup> İyonizan radyasyon maruziyeti sonucunda NRF2 sinyal aktivasyonunun, fibroblastlarda, bronş epitel hücrelerinde, prostat kanseri hücrelerinde ve glioblastomda hücre içi reaktif oksijen türevlerini düşük düzeyde tutarak radyasyona karşı direnç oluşturduğu bildirilmiştir.<sup>98</sup> Çalışmamızda

antioksidan düzeylerinin RT uygulanan vitröz sıvıda beklendiği gibi azalmadığının tespit edilmesi de muhtemel NRF2 aktivasyonu ile açıklanabilir. Uygulama grubunda iyonize radyasyon maruziyeti sonrası oksidan düzeylerinin başlangıçta arttığı, zaman içerisinde ise NRF2 gibi faktörler aracılığıyla azaldığı düşünülmüştür. NRF2'nin vitröz sıvıdaki iyonize radyasyona karşı koruyucu rolünün kanıtlanması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

### 5.1. Kısıtlılıklar

Literatürdeki hayvan deneyi modellerinde daha genç yaşlarda radyasyon maruziyeti ile daha erken dönemde kataraktogenez başladığı rapor edilmiştir.<sup>66-68</sup> Çalışmamızda, kataraktogenezin erken dönemde saptanabilmesi amacıyla erken yaşta temsil eden 8-10 haftalık tavşanlar tercih edilmiş ve takip süresi ise 3 ay olarak belirlenmiştir. Ancak referans edilmiş çalışmalarda lens dozlarının çalışmamıza kıyasla daha yüksek olduğu göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda takip süresi daha uzun olsaydı klinik olarak saptanabilen katarakt oranının artabileceği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle görece kısa takip süresi çalışmamızın önemli kısıtlılıklarından biridir.

Çalışmamızda mikroskopik düzeyde patolojik lens bulgularının saptanabilmesi amacıyla histopatolojik değerlendirme yapılması amaçlanmıştır. Ancak doku kaynaklı nedenler ile mikroskopik değerlendirme yapılamamış ve lens histomorfolojileri değerlendirilememiştir. Dolayısıyla klinik katarakt gelişimi izlenmeyen tavşanların lenslerinde katarakt lehine mikroskopik bir değişiklik olup olmadığı değerlendirilememiştir.

Son olarak, vitröz sıvının radyasyon maruziyeti sonrası katarakt oluşumunu doğrulamak amacıyla tasarladığımız deney modelinde, gelişen katarakt formasyonunu vitröz sıvının aldığı doz ile ilişkilendirsek de, retina, optik sinir, silier cisim gibi komşu diğer yapıların da radyasyona maruz kalmış olması bulgularımızı etkilemiş olabilir. Bu nedenle yüksek teknolojik imkanlarla vitröz sıvıyı ışınlarken komşu diğer yapıların mümkün olduğunca korunarak bulgularımızın doğruluğunu teyit eden ek çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda dozu oldukça düşük tutulmasına rağmen yine de lens radyasyona maruz kalmıştır. Tedavi süresinin uzunluğu ve buna bağlı olarak uzun süreli anestezi gereksinimi nedeniyle daha iyi bir doz dağılımı sağlayabilecek

radyoterapi cihazları kullanılmamıştır. Aynı sebeple izlem süresi sonunda yapılan orbita MRG tetkikinde sınırlı sayıda sekans alınabilmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Radyasyonla ilişkili katarakt patogenezinde, vitröz sıvının radyasyon maruziyetinin de süreci tetikleyen bir etkisinin olabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda lens dozunun 2 Gy'in altında tutularak vitröz sıvının ışınlandığı 8 tavşanın 2'sinde (%25), 3 ay gibi kısa bir süre zarfında klinik olarak saptanabilen katarakt gelişimi izlenmiştir. Ancak bu bulgunun etraf dokuların daha iyi korunduğu tedavi teknikleri ve histopatolojik incelemeyi de içeren çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.
- Vitröz sıvının radyasyona bağlı hasarının incelendiği insan çalışmaları kataraktogenez ve diğer oküler RT komplikasyonlarının patogenezi hakkında umut vaat eden bir konu olarak görünmektedir.
- İzlem süresi sonunda yapılan orbita MRG incelemesinde, tavşanların %87.5'inde saptanan ön kamara kontrastlanması, gözün posterior yapılarının radyasyon maruziyetinin anterior yapılarda değişikliklere yol açabileceğinin bir göstergesidir. Bu bulgu, ilerleyen zamanlarda gelişebilecek olan kataraktın bir ön göstergesi olabileceği gibi, ek diğer patolojiler ile de ilişkili olabilir. Bu nedenle, daha uzun takip süresine sahip çalışmaların dizayn edilmesi, ön kamara kontrastlanma bulgusunun nasıl sonuçlanacağına gösterilebilmesi adına önemlidir.
- Çalışmamızda beklenenin aksine ve literatürden farklı olarak RT uygulanan vitröz sıvıda oksidatif stres belirteç düzeyleri anlamlı bir şekilde kontrol gurubundan daha düşük olarak saptanmıştır. Bu durum takip süresinin literatüre kıyasla daha uzun olması ile ilişkilendirilmiştir.
- Dokuların oksidatif strese karşı verdikleri yanıtın maruziyet sonrası geç dönem incelemelerde beklenilenden farklı şekilde sonlanabileceği spektrofotometrik olarak gösterilmiştir. Maruziyet sonrası farklı zaman intervallerinde yapılacak çalışmalar ile antioksidan yanıt mekanizmalarının süreci aydınlatılabilir.

## KAYNAKLAR

1. Holekamp NM, Shui YB, Beebe D. Lower intraocular oxygen tension in diabetic patients: possible contribution to decreased incidence of nuclear sclerotic cataract. *Am J Ophthalmol.* 2006;141(6):1027-1032.
2. Shui YB, Fu JJ, Garcia C, et al. Oxygen distribution in the rabbit eye and oxygen consumption by the lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(4):1571-1580.
3. Shui YB, Holekamp NM, Kramer BC, et al. The gel state of the vitreous and ascorbate-dependent oxygen consumption: relationship to the etiology of nuclear cataracts. *Arch Ophthalmol.* 2009;127(4):475-482.
4. Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res.* 2005;80(5):709-725.
5. Barbazetto IA, Liang J, Chang S, Zheng L, Spector A, Dillon JP. Oxygen tension in the rabbit lens and vitreous before and after vitrectomy. *Exp Eye Res.* 2004;78(5):917-924.
6. Elmali A, Koc I, Ciftci SY, et al. Radiotherapy-induced alterations in vitreous humor: A new potential critical structure. *Exp Eye Res.* 2021;212:108802.
7. Thome C, Chambers DB, Hooker AM, Thompson JW, Boreham DR. Deterministic Effects to the Lens of the Eye Following Ionizing Radiation Exposure: is There Evidence to Support a Reduction in Threshold Dose? *Health Phys.* 2018;114(3):328-343.
8. Di Paola M, Bianchi M, Baarli J. Lens opacification in mice exposed to 14-MeV neutrons. *Radiat Res.* 1978;73(2):340-350.
9. Timmerman R. A Story of Hypofractionation and the Table on the Wall. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2022;112(1):4-21.
10. Ainsbury EA, Bouffler SD, Dorr W, et al. Radiation cataractogenesis: a review of recent studies. *Radiat Res.* 2009;172(1):1-9.
11. Brown NP. The lens is more sensitive to radiation than we had believed. *Br J Ophthalmol.* 1997;81(4):257.
12. Jeganathan VS, Wirth A, MacManus MP. Ocular risks from orbital and periorbital radiation therapy: a critical review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;79(3):650-659.
13. Durkin SR, Roos D, Higgs B, Casson RJ, Selva D. Ophthalmic and adnexal complications of radiotherapy. *Acta Ophthalmol Scand.* 2007;85(3):240-250.
14. Augusteyn RC. On the growth and internal structure of the human lens. *Exp Eye Res.* 2010;90(6):643-654.

15. Bassnett S. On the mechanism of organelle degradation in the vertebrate lens. *Exp Eye Res.* 2009;88(2):133-139.
16. Cvekl A, Ashery-Padan R. The cellular and molecular mechanisms of vertebrate lens development. *Development.* 2014;141(23):4432-4447.
17. Dische Z, Zelmenis G. The Content and Structural Characteristics of the Collagenous Protein of Rabbit Lens Capsules at Different Ages. *Invest Ophthalmol.* 1965;4:174-180.
18. Parmigiani CM, McAvoy JW. A morphometric analysis of the development of the rat lens capsule. *Curr Eye Res.* 1989;8(12):1271-1277.
19. Boulton M, Albon J. Stem cells in the eye. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(4):643-657.
20. Chen W, Tan X, Chen X. Anatomy and Physiology of the Crystalline Lens. In: Liu Y, ed. *Pediatric Lens Diseases*. Singapore: Springer Science+Business Media; 2017:21-28.
21. Liu YC, Wilkins M, Kim T, Malyugin B, Mehta JS. Cataracts. *Lancet.* 2017;390(10094):600-612.
22. Lee CM, Afshari NA. The global state of cataract blindness. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017;28(1):98-103.
23. Lansingh VC, Carter MJ, Martens M. Global cost-effectiveness of cataract surgery. *Ophthalmology.* 2007;114(9):1670-1678.
24. Vinson JA. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology.* 2006;13(3):151-162.
25. Asbell PA, Dualan I, Mindel J, Brocks D, Ahmad M, Epstein S. Age-related cataract. *Lancet.* 2005;365(9459):599-609.
26. Kleiman NJ. Radiation cataract. *Ann ICRP.* 2012;41(3-4):80-97.
27. ROLLINS W. This Effect of X-Light on the Crystalline Lens. *The Boston Medical and Surgical Journal.* 1903;148(14):364-365.
28. Cogan DG, Martin SF, Kimura SJ. Atom bomb cataracts. *Science.* 1949;110(2868):654.
29. Von Sallmann L. Experimental studies on early lens changes after roentgen irradiation. III. Effect of x-radiation on mitotic activity and nuclear fragmentation of lens epithelium in normal and cysteine-treated rabbits. *AMA Arch Ophthalmol.* 1952;47(3):305-320.

30. Von Sallmann L, Tobias CA, Anger HO, et al. Effects of high-energy particles, X-rays, and aging on lens epithelium. *AMA Arch Ophthalmol*. 1955;54(4):489-514.
31. Worgul BV, Bito LZ, Merriam GR, Jr. Intraocular inflammation produced by X-irradiation of the rabbit eye. *Exp Eye Res*. 1977;25(1):53-61.
32. Worgul BV, Merriam GR, Jr. The role of inflammation in radiation cataractogenesis. *Exp Eye Res*. 1981;33(2):167-173.
33. Worgul BV, Merriam GR, Szechter A, Srinivasan D. Lens epithelium and radiation cataract. I. Preliminary studies. *Arch Ophthalmol*. 1976;94(6):996-999.
34. Pirie A, Flanders PH. Effect of x-rays on partially shielded lens of the rabbit. *AMA Arch Ophthalmol*. 1957;57(6):849-854.
35. Puntteney I, Schoch D. Studies on the mechanism of lens injury in radiation cataract. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1953;51:285-300.
36. Leinfelder PJ, Riley EF. Further studies of effects of x-radiation on partially shielded lens of rabbit. *AMA Arch Ophthalmol*. 1956;55(1):84-86.
37. Abdelkawi S. Lens crystallin response to whole body irradiation with single and fractionated doses of gamma radiation. *Int J Radiat Biol*. 2012;88(8):600-606.
38. Merriam GR, Jr., Focht EF. A clinical study of radiation cataracts and the relationship to dose. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. 1957;77(5):759-785.
39. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103. *Ann ICRP*. 2007;37(2-4):1-332.
40. Neriishi K, Nakashima E, Minamoto A, et al. Postoperative cataract cases among atomic bomb survivors: radiation dose response and threshold. *Radiat Res*. 2007;168(4):404-408.
41. Worgul BV, Kundiyevev YI, Sergiyenko NM, et al. Cataracts among Chernobyl clean-up workers: implications regarding permissible eye exposures. *Radiat Res*. 2007;167(2):233-243.
42. Authors on behalf of I, Stewart FA, Akleyev AV, et al. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs--threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context. *Ann ICRP*. 2012;41(1-2):1-322.
43. Azizova TV, Bragin EV, Hamada N, Bannikova MV. Risk of Cataract Incidence in a Cohort of Mayak PA Workers following Chronic Occupational Radiation Exposure. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164357.

44. Little MP, Kitahara CM, Cahoon EK, et al. Occupational radiation exposure and risk of cataract incidence in a cohort of US radiologic technologists. *Eur J Epidemiol.* 2018;33(12):1179-1191.
45. Little MP, Patel A, Hamada N, Albert P. Analysis of Cataract in Relationship to Occupational Radiation Dose Accounting for Dosimetric Uncertainties in a Cohort of U.S. Radiologic Technologists. *Radiat Res.* 2020;194(2):153-161.
46. Cheng KL, Huang JY, Su CL, Tung KC, Chiou JY. Cataract risk of neuro-interventional procedures: a nationwide population-based matched-cohort study. *Clin Radiol.* 2018;73(9):836 e817-836 e822.
47. Yuan MK, Tsai DC, Chang SC, et al. The risk of cataract associated with repeated head and neck CT studies: a nationwide population-based study. *AJR Am J Roentgenol.* 2013;201(3):626-630.
48. Merriam GR, Jr., Worgul BV. Experimental radiation cataract--its clinical relevance. *Bull N Y Acad Med.* 1983;59(4):372-392.
49. Gunduz K, Shields CL, Shields JA, Cater J, Freire JE, Brady LW. Plaque radiotherapy of uveal melanoma with predominant ciliary body involvement. *Arch Ophthalmol.* 1999;117(2):170-177.
50. Puusaari I, Heikkonen J, Kivela T. Effect of radiation dose on ocular complications after iodine brachytherapy for large uveal melanoma: empirical data and simulation of collimating plaques. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45(10):3425-3434.
51. Quivey JM, Char DH, Phillips TL, Weaver KA, Castro JR, Kroll SM. High intensity 125-iodine (125I) plaque treatment of uveal melanoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1993;26(4):613-618.
52. Collaborative Ocular Melanoma Study G. Incidence of cataract and outcomes after cataract surgery in the first 5 years after iodine 125 brachytherapy in the Collaborative Ocular Melanoma Study: COMS Report No. 27. *Ophthalmology.* 2007;114(7):1363-1371.
53. Fukutsu K, Kase S, Ishijima K, Kinoshita R, Ishida S. The clinical features of radiation cataract in patients with ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Radiat Oncol.* 2018;13(1):95.
54. Goda JS, Le LW, Lapperriere NJ, et al. Localized orbital mucosa-associated lymphoma tissue lymphoma managed with primary radiation therapy: efficacy and toxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(4):e659-666.
55. Harada K, Murakami N, Kitaguchi M, et al. Localized ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma treated with radiation therapy: a long-term outcome in 86 patients with 104 treated eyes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;88(3):650-654.

56. Nguyen SM, Sison J, Jones M, et al. Lens Dose-Response Prediction Modeling and Cataract Incidence in Patients With Retinoblastoma After Lens-Sparing or Whole-Eye Radiation Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019;103(5):1143-1150.
57. Deeg HJ, Flourney N, Sullivan KM, et al. Cataracts after total body irradiation and marrow transplantation: a sparing effect of dose fractionation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1984;10(7):957-964.
58. Piroth MD, Pinkawa M, Holy R, et al. Integrated-boost IMRT or 3-D-CRT using FET-PET based auto-contoured target volume delineation for glioblastoma multiforme--a dosimetric comparison. *Radiat Oncol.* 2009;4:57.
59. Scoccianti S, Detti B, Gadda D, et al. Organs at risk in the brain and their dose-constraints in adults and in children: a radiation oncologist's guide for delineation in everyday practice. *Radiother Oncol.* 2015;114(2):230-238.
60. Emami B, Lyman J, Brown A, et al. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1991;21(1):109-122.
61. Belkacemi Y, Touboul E, Meric JB, Rat P, Warnet JM. [Radiation-induced cataract: physiopathologic, radiobiologic and clinical aspects]. *Cancer Radiother.* 2001;5(4):397-412.
62. Merriam GR, Jr., Focht EF. A clinical and experimental study of the effect of single and divided doses of radiation on cataract production. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1962;60:35-52.
63. Thariat J, Jacob S, Caujolle JP, et al. Cataract Avoidance With Proton Therapy in Ocular Melanomas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(12):5378-5386.
64. Merriam GR, Jr., Szechter A. The effect of age on the radiosensitivity of rat lenses. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1973;71:88-108; discussions 108-110.
65. Merriam GR, Jr., Szechter A. The relative radiosensitivity of rat lenses as a function of age. *Radiat Res.* 1975;62(3):488-497.
66. Giblin FJ, Charkrapani B, Reddy VN. High molecular weight protein aggregates in x-ray-induced cataract. *Exp Eye Res.* 1978;26(5):507-519.
67. Matsuda H, Giblin FJ, Reddy VN. The effect of x-irradiation on cation transport in rabbit lens. *Exp Eye Res.* 1981;33(3):253-265.
68. Worgul BV, Medvedovsky C, Merriam GR, Jr. Cataractogenesis in the X-irradiated rabbit eye. *Curr Eye Res.* 1981;1(5):275-280.
69. Focht EF, Merriam GR, Jr., Schwartz MS, Parsons RW. The relative biologic effectiveness of cobalt 60 gamma and 200 kv. X radiation for cataract induction. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med.* 1968;102(1):71-80.

70. Merriam GR, Jr., Biavati BJ, Bateman JL, et al. The Dependence of Rbe on the Energy of Fast Neutrons. Iv. Induction of Lens Opacities in Mice. *Radiat Res.* 1965;25:123-138.
71. Worgul BV. Cataract analysis and the assessment of radiation risk in space. *Adv Space Res.* 1986;6(11):285-293.
72. Worgul BV, Brenner DJ, Medvedovsky C, Merriam GR, Jr., Huang Y. Accelerated heavy particles and the lens. VII: The cataractogenic potential of 450 MeV/amu iron ions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34(1):184-193.
73. Foulds WS. Is your vitreous really necessary? The role of the vitreous in the eye with particular reference to retinal attachment, detachment and the mode of action of vitreous substitutes. *Eye (Lond).* 1987;1 ( Pt 6):641-664.
74. Obrador E, Montoro A. Ionizing Radiation, Antioxidant Response and Oxidative Damage: Radiomodulators. *Antioxidants (Basel).* 2023;12(6).
75. Linsenmeier RA, Goldstick TK, Blum RS, Enroth-Cugell C. Estimation of retinal oxygen transients from measurements made in the vitreous humor. *Exp Eye Res.* 1981;32(4):369-379.
76. Izuta H, Chikaraishi Y, Adachi T, et al. Extracellular SOD and VEGF are increased in vitreous bodies from proliferative diabetic retinopathy patients. *Mol Vis.* 2009;15:2663-2672.
77. Ankamah E, Sebag J, Ng E, Nolan JM. Vitreous Antioxidants, Degeneration, and Vitreo-Retinopathy: Exploring the Links. *Antioxidants (Basel).* 2019;9(1).
78. Schmelter V, Schneider F, Guenther SR, et al. Local Recurrence in Choroidal Melanomas following Robotic-Assisted Radiosurgery (CyberKnife). *Ocul Oncol Pathol.* 2023;8(4-6):221-229.
79. <http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricrogl/home>.
80. Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, et al. 3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging.* 2012;30(9):1323-1341.
81. Janion K, Strzelczyk JK, Walkiewicz KW, et al. Evaluation of Malondialdehyde Level, Total Oxidant/Antioxidant Status and Oxidative Stress Index in Colorectal Cancer Patients. *Metabolites.* 2022;12(11).
82. Alter AJ, Leinfelder PJ. Roentgen-ray cataract; effects of shielding of the lens and ciliary body. *AMA Arch Ophthalmol.* 1953;49(3):257-260.
83. Puntteney I, Shoch D. The ciliary body in radiation cataract. *Am J Ophthalmol.* 1954;38(5):673-682.

84. Dauer LT, Ainsbury EA, Dynlacht J, et al. Guidance on radiation dose limits for the lens of the eye: overview of the recommendations in NCRP Commentary No. 26. *Int J Radiat Biol.* 2017;93(10):1015-1023.
85. Bouffler S, Ainsbury E, Gilvin P, Harrison J. Radiation-induced cataracts: the Health Protection Agency's response to the ICRP statement on tissue reactions and recommendation on the dose limit for the eye lens. *J Radiol Prot.* 2012;32(4):479-488.
86. Barakat E, Ginat DT. Magnetic resonance imaging (MRI) features of cataracts in pediatric and young adult patients. *Quant Imaging Med Surg.* 2020;10(2):428-431.
87. de Graaf P, van der Valk P, Moll AC, et al. Contrast-enhancement of the anterior eye segment in patients with retinoblastoma: correlation between clinical, MR imaging, and histopathologic findings. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2010;31(2):237-245.
88. de Graaf P, Barkhof F, Moll AC, et al. Retinoblastoma: MR imaging parameters in detection of tumor extent. *Radiology.* 2005;235(1):197-207.
89. Deike-Hofmann K, von Lampe P, Eerikaeinen M, et al. Anterior chamber enhancement predicts optic nerve infiltration in retinoblastoma. *Eur Radiol.* 2022;32(11):7354-7364.
90. Grabham P, Sharma P. The effects of radiation on angiogenesis. *Vasc Cell.* 2013;5(1):19.
91. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer.* 2011;2(12):1097-1105.
92. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, et al. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Mol Vis.* 2011;17:1298-1304.
93. Aras S, Tanzer IHO, Karacavus S, et al. Effect of melatonin on low and high dose radiotherapy induced thyroid injury. *Biotech Histochem.* 2023;98(5):346-352.
94. Tripathi AM, Khan S, Chaudhury NK. Radiomitigation by Melatonin in C57BL/6 Mice: Possible Implications as Adjuvant in Radiotherapy and Chemotherapy. *In Vivo.* 2022;36(3):1203-1221.
95. Gehl Z, Bakondi E, Resch MD, et al. Diabetes-induced oxidative stress in the vitreous humor. *Redox Biol.* 2016;9:100-103.
96. Xu Z, Wei Y, Gong J, et al. NRF2 plays a protective role in diabetic retinopathy in mice. *Diabetologia.* 2014;57(1):204-213.

97. Schae D, Micewicz ED, Ratikan JA, et al. NRF2 Mediates Cellular Resistance to Transformation, Radiation, and Inflammation in Mice. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(9).
98. Sekhar KR, Freeman ML. Nrf2 promotes survival following exposure to ionizing radiation. *Free Radic Biol Med*. 2015;88(Pt B):268-274.



## EKLER

## Ek 1: Etik kurul onam formu.



KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI (KOBAY DHL A.S. LOCAL ETHICS COMMITTEE APPLICATION APPROVAL)		
BAŞVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	Protokol Numarası (Protocol number)	668
	Protokol Adı (Protocol Name)	Radyoterapiye bağlı katarakt gelişiminde vitröz sıvısının önemi <b>The importance of vitreous fluid in the development of cataract due to radiotherapy</b>
	Başvuru Tarihi (Application date)	07.04.2023
	Sorumlu Araştırmacı Adı-Urvanı (Principal Investigator Name-Title)	Mustafa CENGİZ
	Sorumlu Araştırmacı Çalıştığı Kurum (Principal Investigator Institution)	Hacettepe Üniversitesi Hacettepe University
	Yardımcı Araştırmacılar (Associate Researchers)	Ecem YİĞİT Gözde YAZICI Samiye YABANOĞLU ÇİFTÇİ Hayyam KIRATLI İrem KOÇ Ekim GÜMELER
KARAR BİLGİLERİ (DECISION INFORMATION)	Onay Numarası (Confirmation number)	668
	Onay Tarihi (Approval date)	11.04.2023
	Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı (Approved Animal Type and Number)	New Zealand,12 adet, erkek, tavşan <b>(New zealand,12 pcs, male, rabbit)</b>
	Onay Bilgileri (Confirmation Information)	Proje amaç, gerekeç, yaklaşım ve yöntem yönünden incelenmiş, çalışmanın gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir. <b>The project was examined in terms of purpose, justification, approach and method, and it was decided that there was no ethical objection to the realization of the study.</b>
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ	Etik Kurul Başkanı (Ethics Committee Chairman) A.Begüm BUĞDAYCI AÇIKKOL	e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Başkan Yardımcısı (Ethics Committee Vice President) Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI	e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi (Ethics Committee Member) Prof. Dr. Belma GÜMÜŞEL	e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi (Ethics Committee Member) Doç. Dr. M. Kürşat DERİCİ	e- imzalı/ e-signed
	Sorumlu Veteriner Hekim (Responsible Veterinarian) Orkun TARKUN	-

Etikimza Belge No : j1js0109p5e3728edd31 Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır

Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş. (KOBAY Experimental Animals Laboratory Industry and Trade Inc.)  
Merkez Ofis: Uzay Çağı Caddesi, 1308. Sokak No:6 (Odtü Teknokent) Yenimahalle - Ankara  
Center Office: Uzay Çağı Street, 1308. Street Number:6 (Odtü Teknokent) Yenimahalle- Ankara  
Şube Ofis : İ.O.S.B 21.Cadde 520.Sokak No:2/2 Yenimahalle – Ankara  
Branch Office: İ.O.S.B 21.Street 520.Street Number:2/2 Yenimahalle – Ankara  
Telefon/Phone : 0 (312) 394 70 94 | Faks : 0(312) 995 06 94  
www.kobay.com.tr- [bilgi@kobay.com.tr](mailto:bilgi@kobay.com.tr)

KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI (KOBAY DHL A.S. LOCAL ETHICS COMMITTEE APPLICATION APPROVAL)		
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ  (KOBAY DHL Inc. LOCAL ETHICS COMMITTEE MEMBERS)	Etik Kurul Üyesi Biyolog <b>(Ethics Committee Member Biologist)</b> Fatma Nur İNÇEH	 e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi Veteriner <b>(Ethics Committee Member Veterinarian)</b> Murat Okan HATİPOĞLU	 e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi <b>(Ethics Committee Member)</b> Zeynep AYDIN TARAKÇI	 e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi <b>(Ethics Committee Member)</b> Adil KIŞ	 e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi <b>(Ethics Committee Member)</b> Uzman/Expert Diğdem YÖYEN ERMİŞ	 e- imzalı/ e-signed
	Etik Kurul Üyesi <b>(Ethics Committee Member)</b> Ali VAROL	 e- imzalı/ e-signed