

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PSÖDOEKSFOLİASYON SENDROMLU KATARAKT
OLGULARININ HÜMÖR AKÖZ VE SERUM
ÖRNEKLERİNDE ETYOPATOGENEZ İLE İLİŞKİLİ
OLABİLECEK METABOLİK YOLAKLARDA GÖREV
ALAN ENZİM AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Büşra ÇALIŞKAN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. İlknur AKYOL SALMAN

ERZURUM-2020

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR.....	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
ŞİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Psödoeksfoliasyon Sendromu.....	5
2.1.1. Tarihçe.....	5
2.1.2. Epidemiyoloji	6
2.1.3. PEM Yapısı ve Patogenezi	7
2.1.4. Genetik	8
2.1.5. Klinik Bulgular	9
2.1.6. Sistemik Tutulum.....	14
2.2. PES'in Etyopatogenezi İle İlişkili Olabilecek, Çalışmamızda Yer Alan Enzim, Element ve Moleküller	15
2.2.1. Glutasyon Redüktaz.....	15
2.2.2. Selenyum	17
2.2.3. Aldoz Redüktaz.....	18
2.2.4. Paraoksonaz	19
2.2.5. Prolidaz.....	20

2.2.6. Karbonik Anhidraz.....	21
3. MATERYAL ve METOD	24
3.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Alınması.....	24
3.2. Karbonik Anhidraz Hidrataz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	25
3.2.1. Karbonik Anhidraz Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi.....	25
3.2.2. Karbonik Anhidraz Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar.....	26
3.2.3. Karbonik Anhidraz Hidrataz Aktivite Ölçüm İşlemi	26
3.3. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	26
3.3.1. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi	26
3.3.2. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar	27
3.3.3. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivite Ölçüm İşlemi	28
3.4. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi.....	28
3.4.1. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi.....	28
3.4.2. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar	29
3.4.3. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçüm İşlemi	29
3.5. Paraoksonaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi	30
3.5.1. Paraoksonaz Enziminin Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi	30
3.5.2. Paraoksonaz Enziminin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar ..	30
3.5.3. Paraoksonaz Enziminin Aktivite Ölçüm İşlemi	31
3.6. Prolidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	31
3.6.1. Prolidaz Enzimi Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi.....	31
3.6.2. Prolidaz Enzimi Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar	32
3.6.3. Prolidaz Enzimi Aktivite Ölçüm İşlemi	33
3.7. Glutatyon Redüktaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	35

3.7.1. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi.....	35
3.7.2. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar	35
3.7.3. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Ölçüm İşlemi	36
3.8. Serumda Selenyum, HDL, LDL, Total Kolesterol Tayini	36
3.9. İstatistiksel Analiz Yöntemi:	37
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA	68
6. SONUÇ.....	78
KAYNAKLAR	81

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile kendime örnek aldığım, birlikte çalışmaktan onur duyduğum çok kıymetli hocam, tez danışmanım sayın Prof. Dr. İlknur AKYOL SALMAN'a,

Tezimde çalışılan enzim aktivite ölçümlerini gerçekleştiren sayın Dr. Öğr. Üyesi. Serhat ÖZASLAN ve Arş. Gör. Dr. Mine AKSOY'a,

Eğitimim boyunca iyi bir göz hekimi olarak yetişmem için yardım, bilgi ve tecrübeleri ile desteklerini esirgemeyen çok değerli hocalarım; başta Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Orhan BAYKAL'a, Prof. Dr. İbrahim KOÇER'e, Prof. Dr. Orhan ATEŞ'e, Doç. Dr. Sadullah KELEŞ'e, Dr. Öğr. Üyesi. Emine ÇİNİCİ'ye ve Dr. Öğr. Üyesi. Mustafa YILDIRIM'a teşekkürü bir borç bilirim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çok değerli asistan arkadaşlarıma; desteklerini esirgemeyen değerli klinik hemşire ve çalışanlarına ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Maddi, manevi destek ve öğretileri ile bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve her koşulda yanımda olan çok sevgili annem ve bunların yanında bilimsel katkılarını da esirgemeyip tezimin her aşamasında bana yardımcı olan ve kendime örnek aldığım çok sevgili babama, her zaman desteğini yanımda hissettiğim sevgili eşime, üzerimde emeği geçen herkese sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Psödoeksfoliasyon Sendromlu Katarakt Olgularının Hümör Aköz ve Serum Örneklerinde Etyopatogenez ile İlişkili Olabilecek Metabolik Yolaklarda Görev Alan Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Psödoeksfoliasyon sendromlu katarakt olgularının aköz ve serum örneklerinde, etyopatogenez ile ilişkili olabilecek çeşitli metabolik yolaklarda görev alan; prolidaz, paraoksonaz (PON), karbonik anhidraz (CA), aldoz redüktaz (AR), glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitelerinin belirlenmesi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya dahil edilen 66 hasta iki ayrı gruba ayrıldı. Psödoeksfoliasyon sendrom birlikteliğinde kataraktı bulunan 33 olgu birinci grubu oluştururken (PES'li grup), yaşa bağlı kataraktı olan, PES'i olmayan 33 olgu ise ikinci grubu (Kontrol grubu) oluşturdu. Hastaların aköz ve serum örneklerinde paraoksonaz, prolidaz, aldoz redüktaz, glutatyon redüktaz, karbonik anhidraz hidrataz ve esteraz aktiviteleri çalışıldı. Ayrıca serum örneklerinde; selenyum, LDL, HDL ve total kolesterol düzeyleri çalışıldı.

Bulgular: PES'li grubun aköz örneklerinde çalışılan prolidaz enzim aktivite değerlerinde, kontrol grubuna göre belirgin derecede artış tespit edildi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. ($p < 0.05$) PES'li grubun serum prolidaz seviyelerinde, kontrol grubuna göre yaklaşık 3 katında bir artış saptanmasına rağmen, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildi. ($p > 0.05$) PES'li grubun serum CA hidrataz enzim aktivite düzeylerinde, kontrol grubuna göre belirgin derecede artış saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. ($p < 0.05$) Aköz CA hidrataz seviyelerinde ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ($p > 0.05$) Her iki grubun aköz ve serum örneklerinde çalışılan; PON, AR, GR, CA esteraz enzim aktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. ($p > 0.05$) Her iki grubun aköz örneklerinde aldoz redüktaz enzim aktivitesi tespit edilmedi. Serum selenyum, HDL, LDL seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. ($p > 0.05$) Serum total kolesterol seviyeleri PES'li grupta kontrol grubuna göre daha düşük seviyelerde tespit edilmiş olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. ($p < 0.05$) PES'li grubun; aköz GR-PON ile aköz CA esteraz ve hidrataz aktiviteleri arasında negatif korelasyon tespit edildi. ($p < 0.05$)

Sonuç: PES'li hastaların aköz örneklerinde, prolidaz enzim aktivitesinin yüksek olması, kollajen döngüsünün hızlanması ile ekstrasellüler matriks homeostazisinin birikim yönünde bozulmuş olabileceğini; GR-PON antioksidan enzim aktiviteleri ile CA enzim aktiviteleri arasındaki negatif korelasyon ve serum CA hidrataz enzim aktivitesindeki artış; antioksidan enzim aktivite yetersizliğinin CA enzim aktivitesindeki artışla sonuçlanabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar PES'in oluşum mekanizmasını anlamada yol gösterici olabilir.

Anahtar Kelimeler: Prolidaz, aldoz redüktaz, glutatyon redüktaz, karbonik anhidraz, paraoksonaz, selenyum, psödoeksfoliasyon sendromu, etyopatogenez

ABSTRACT

Evaluation of Enzyme Activities Involved in Metabolic Pathways that may be Associated with Etiopathogenesis in Humor Aqueous and Serum Samples of Cataract Cases with Pseudoexfoliation Syndrome

Background and aim: The aim of this study is to investigate the levels of prolidase, paraoxonase (PON), carbonic anhydrase (CA), aldose reductase (AR), glutathione reductase (GR) enzyme activities in patients' serum and aqueous sample and compare them with control group.

Materials and Methods: In this study, 66 patients were divided into two groups. While 33 patients with cataracts in pseudoexfoliation syndrome coexistence formed the first group (group with PES), the second group consisted of 33 cases without PES with age-related cataracts. (control group) Paraoxonase, prolidase, aldose reductase, glutathione reductase, carbonic anhydrase hydratase and esterase activities were studied in serum and aqueous samples of the patients. In addition levels of selenium and LDL, HDL, total cholesterol were studied in serum samples.

Results: There was a significant increase in aqueous prolidase levels of the PES group and a statistically significant difference was found between the two groups. ($p < 0.05$) Although an increase in serum prolidase levels of the group with PES was approximately 3 times higher than the control group, no statistically significant difference was observed between the two groups ($p > 0.05$). There was a significant increase in serum CA hydratase enzyme activity levels of the PES group compared to the control group. Additionally, a statistically significant difference was observed between these groups ($p < 0.05$). Besides, no statistically significant difference was found between the two groups in aqueous CA hydratase levels ($p > 0.05$). There was no statistically significant difference between PON, GR, AR, CA esterase enzyme activity levels studied in serum and aqueous samples of both groups. ($p > 0.05$) Aldose reductase enzyme activity was not detected in aqueous samples in both groups. In addition, there was no statistically significant difference in serum selenium-HDL-LDL levels between the two groups ($p > 0.05$). Serum total cholesterol levels were found lower in the PES group than the control group, and a statistically significant difference was found between these groups ($p < 0.05$). In aqueous samples taken from PES group, negative correlation between GR and CA esterase-hydratase activity, and negative correlation between PON and CA esterase- hydratase activity. ($p < 0.05$)

Conclusions: The high prolidase enzyme activity in aqueous samples of patients with PES suggests that collagen turnover accelerates and extracellular matrix homeostasis deteriorates in the direction of accumulation. Also; the high CA hydratase enzyme activity in serum samples and a negative correlation between GR-PON antioxidant enzyme activities and CA activities in aqueous samples of patients with PES suggest that the insufficiency of antioxidant enzyme activities may result in an increase in carbonic anhydrase enzyme activity. These results can be a guide for understanding the formation mechanisms of PES.

Key Words: Prolidase, aldose reductase, glutathione reductase, carbonic anhydrase, paraoxonase, selenium, pseudoexfoliation syndrome, etiopathogenesis

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AK	:	Aköz Kontrol
AP	:	Aköz PES’li
CA	:	Karbonik Anhidraz
ECM	:	Ekstraselüler Matriks
GİB	:	Göz İçi Basıncı
GSH	:	Redükte Glutasyon
GPx	:	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	:	Okside Glutasyon
HDL	:	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
H₂O₂	:	Hidrojen Peroksit
LDL	:	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LOXL-1	:	Lizil Oksidaz-Benzeri-1
PAAG	:	Primer Açık Açılı Glokom
PEG	:	Psödoeksfolyatif Glokom
PEM	:	Psödoeksfolyatif Materyal
PES	:	Psödoeksfolyatif Sendrom
PG-F2a	:	Prostaglandin F2 Alfa
PON	:	Paraoksonaz
ROS	:	Reaktif Oksijen Türevleri
SK	:	Serum Kontrol
SP	:	Serum PES’li
TGF-B	:	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Lens Ön Kapsülü; PEM'in Karakteristik Görüntüsü	11
Şekil 2.2. Pupil Kenarında PEM Görüntüsü.....	12
Şekil 4.1. Kontrol ve PES'li grupta serum CA hidrataz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.2. Kontrol ve PES'li grupta aköz CA hidrataz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.....	43
Şekil 4.3. Kontrol ve PES'li grupta serum CA esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.....	45
Şekil 4.4. Kontrol ve PES'li grupta aköz CA esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.....	46
Şekil 4.5. Kontrol ve PES'li grupta serum PON enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	48
Şekil 4.6. Kontrol ve PES'li grupta aköz PON enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	49
Şekil 4.7. Kontrol ve PES'li grupta serum AR enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	51
Şekil 4.8. Kontrol ve PES'li grupta serum GR enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	53
Şekil 4.9. Kontrol ve PES'li grupta aköz GR enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	54
Şekil 4.10. Kontrol ve PES'li grupta serum prolidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	56

Şekil 4.11. Kontrol ve PES’li grupta aköz prolidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	57
Şekil 4.12. Kontrol ve PES’li grupta serum selenyum seviyelerinin karşılaştırılması	59
Şekil 4.13. Kontrol ve PES’li grupta serum HDL seviyelerinin karşılaştırılması	61
Şekil 4.14. Kontrol ve PES’li grupta serum LDL seviyelerinin karşılaştırılması	62
Şekil 4.15. Kontrol ve PES’li grupta serum Total Kolesterol seviyelerinin karşılaştırılması	63

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Karbonik anhidraz esteraz aktivite ölçüm kuvvet içerikleri.....	28
Tablo 3.2. Aldoz redüktaz enziminin aktivite ölçüm kuvvet içerikleri	29
Tablo 3.3. Paraoksonaz enziminin aktivite ölçüm kuvvet içerikleri	31
Tablo 3.4. Prolidaz aktivite ölçümünün inkübasyon basamağında tüp içerikleri	33
Tablo 3.5. Prolidaz enzimi aktivite ölçümünün spektrofotometrik ölçüm basamağında tüp içerikleri.....	34
Tablo 3.6. Glutasyon redüktaz enziminin aktivite ölçüm kuvvet içerikleri	36
Tablo 3.7. Normallik testi ve varyansların homojenliği testi.....	38
Tablo 4.1. Hastaların cinsiyet özellikleri (%)	39
Tablo 4.2. Hastaların yaş ortalamaları	39
Tablo 4.3. Serum numunelerine ilişkin grup karşılaştırmaları.....	40
Tablo 4.4. Aköz numunelerine ilişkin grup karşılaştırmaları	40
Tablo 4.5. Karbonik anhidraz hidrataz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)	41
Tablo 4.6. Karbonik anhidraz esteraz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)	44
Tablo 4.7. Paraoksonaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml).....	47
Tablo 4.8. Aldoz redüktaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml).....	50
Tablo 4.9. Glutasyon redüktaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml).....	52
Tablo 4.10. Prolidaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/lt)	55
Tablo 4.11. Serum selenyum düzeyleri (mikrog/lt).....	58
Tablo 4.12. Serum HDL LDL ve total kolesterol düzeyleri (mg/dl)	60
Tablo 4.13. Korelasyon-1	64
Tablo 4.14. Korelasyon-2.....	65
Tablo 4.15. Korelasyon-3.....	66
Tablo 4.16. Korelasyon-4.....	67

1. GİRİŞ

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES); etyolojisi tam olarak bilinmeyen, ileri yaşlarda görülen, oküler dokular ve visseral organlarda ekstraselüler materyal birikimi ile karakterize sistemik bir hastalıktır. PES insidansı yaşla birlikte artmakta ve prevalansı toplumdan topluma farklılık göstermektedir.¹

Psödoeksfolyatif materyal (PEM) gözde; kornea endotelinde, iris yüzeyinde ve pupiller kenarda, lens ön kapsülünde ve sık olarak silier proseslerin üzerinde birikir. İriste ve pupil kenarında biriken materyal depigmentasyona ve zayıf pupiller dilatasyona neden olur. Zonüllerde biriken PEM ise zonül destek gücünü azaltır, fakodonezis ve lens subluksasyonuna neden olabilir. PEM'in trabeküler ağda birikmesi ise hümör aközün dışı akımını bozarak açık açılı veya kapalı açılı glokoma sebebiyet verebilir. Sekonder açık açılı glokomun en sık nedenleri arasında psödoeksfoliasyon sendromu gösterilmektedir.^{2,3}

PEM'in ; kalp, böbrek, akciğer, serebral meninks gibi ekstraoküler dokularda da bulunduğu tespit edilmiştir. PES; koroner arter hastalığı, inme, hipertansiyon ve anjina gibi sistemik hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir.⁴

Yapılan çalışmalara rağmen PES etyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber artan oksidatif hasar ile hücre koruma mekanizmasının azalmasının önemli patogenetik faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla oksidan-antoksidan sistemler arasındaki denge ve oksidatif hasarı gösteren biyobelirteçler üzerinde çeşitli çalışmalar sürdürülmektedir.⁵

Glutatyon redüktaz (GR) en önemli antioksidan enzimlerden biridir. Glutatyon redüktaz, heksoz monofosfat yolağı ile elde edilen NADPH'ı kullanarak okside formdaki glutatyonu redükte forma dönüştürür. Bu mekanizmada oluşabilecek herhangi bir eksiklik

normal şartlarda aköz hümörde bulunan ve birçok sinyal iletim yolları için gerekli olan hidrojen peroksit (H_2O_2) düzeyinin fizyolojik değerler üzerine çıkmasına sebep olur.^{6,7}

Lenste çeşitli faaliyetlerin sürdürülebilmesi için gerekli metabolik enerji glukoz metabolizmasından karşılanır. Lens enerjisinin büyük bir kısmını anaerobik glikolizden sağlar. Glukoz; heksozmonofosfat (pentoz fosfat yolu) yolu ile metabolize edilir. Pentoz fosfat yolu; hücrelerde metabolik işlemlerin sürdürülebilmesi için elzem olan NADPH 'ın önemli bir kaynağıdır. Bu yolaktaki bozukluk glutatyon metabolizmasının bozulmasına bağlı oksidatif stres oluşumuna neden olur.^{8,9,10,11}

Ayrıca aldoz redüktaz (AR) enziminin ve oksidan-antioksidan yollarının her ikisinin NADPH bağımlı olarak çalışması, PES'li hastalarda AR enzim aktivitesinin normal popülasyona göre farklı olabileceği düşüncesinden yola çıkarak çalışmamıza eklenmiştir.

Selenyum (Se) ; birçok enzimin yapısına katılarak kofaktör rolü oynayan esansiyel bir elementtir. Çeşitli enzim grupları ile beraber antioksidan enzim sistemlerinin de düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır.^{12,13}

Önemli antioksidan enzim gruplarından biri; paraoksonaz (PON) enzim ailesidir ve Ca^{+2} bağımlı bir esteraz grubudur. PON enzim ailesinin PON1, PON2 ve PON3'ten oluşan üç üyesi mevcuttur. Bu üyelerin tümü antioksidan özelliğe sahiptir. Yapılan çalışmalar serum PON enzim aktivitesindeki azalmanın, artan oksidatif stres ile ilişkili olduğunu göstermektedir.¹⁴ PON1; antiaterojenik etkilere sahip olduğu bilinen HDL'lerin yapısına katılır. HDL'nin bu koruyucu özellikleri göstermesinde PON1 enziminin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.¹⁵ Bu bilgiler doğrultusunda PON enzimi, PES patogenezinde rol oynayabileceği düşüncesi ile çalışmamıza eklenmiştir.

PES'in oluşum mekanizması hakkında üzerinde durulan diğer hipotez ise, PEM'in ekstrasellüler matriks materyalinin üretim ve yıkımındaki dengesizlik sonucu ortaya çıktığı yönündedir.¹⁶

PEM'in yapısı incelendiğinde; içerisinde birer proteoglikan olan heparan sülfat, kondroitin sülfat gibi bazal membran yapıları, entaktin (nidojen), laminin, elastin, fibrilin-1, amiloid p epitoplari, dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF-B) ve fibronektinin bulunduğu gösterilmiştir.¹⁶

Prolidaz; kollajenin intrasellüler ve ekstrasellüler yıkımından elde edilen, imidodipeptitleri yıkan sitozolik bir matriks metalloproteinazdır. Prolidaz, kollajen katabolizmasının son aşamasını katalize eden bir enzimdir. Kollajen biyosentezi, hücre büyümesi ve ekstrasellüler matriksin yeniden şekillenmesinde önemli bir role sahiptir.^{17,18} Serum prolidaz aktivitesi, kollajen döngüsü ile orantılıdır.¹⁹

Anormal matriks yeniden şekillenmesine bağlı aşırı birikim, psödoeksfoliasyon sendromunun patogenezinde önemli rol oynayabilir.^{20,21} Bu nedenle, serum prolidaz aktivitesi hastalığın patogenezi için muhtemel bir adaydır.

Karbonik anhidraz (CA); yapısında Zn^{+2} iyonu içeren ve vücutta yaygın olarak bulunan bir metaloenzimdir. CA; silier epitelde HCO_3^- ve CO_2 arasında hızlı bir dönüşüm yolu ile bikarbonat transportunu gerçekleştirir. Bikarbonat oluşumu; Na^+ 'un aktif transportu için pH'ı düzenlemesi yolu ile sıvı transportunu etkilemektedir.²² Böylece aköz üretimi ile doğrudan ilişkilidir.

PES, katarakt, ciddi görme kayıpları ile sonuçlanan yüksek intraoküler basınç ve glokomatöz optik nöropati, korneal endotelyopati, santral retinal ven okluzyonu gibi bir çok oküler patoloji ile ilişkilidir. Aynı zamanda PES varlığı katarakt olgularında zonül diyalizi, arka kapsül rüptürüne bağlı vitreus kaybı, korneal endotelyal dekompanasyon, post operatif inflamasyon ve intraoküler basınç artışı, sekonder katarakt, anterior kapsuler

fibrozis, intraoküler lens implantının luksasyonu gibi yaygın komplikasyonlara da neden olabilen bir patolojidir. Miyokard infarktüsü, hipertansiyon, serebrovasküler hadise gibi sistemik hastalıklarla olan bağlantısı da önemli bir sendrom olduğunu göstermektedir. Dolayısı ile epidemiyolojisi, etyolojisi, klinik bulguları, komplikasyonları, sistemik hastalıklarla olan bağı, glokom geliştirme mekanizması ve tedavi stratejileri bu sendrom ile ilgili yapılan kapsamlı araştırmaların artışına neden olmuştur. Tüm çalışmalara rağmen PES patogenezi hala tam anlamıyla açığa çıkarılamamıştır.

Çalışmamızda; Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Güz Hastalıkları Kliniđinde katarakt cerrahisi planlanan ve cerrahi yapılan PES'li hastaların, operasyon esnasında elde edilen hümör aköz materyalinden ve cerrahi öncesinde alınan serum örneklerinden, psödoekfoliasyon sendrom etyopatogenezi ile ilişkili olabilecek; paraoksonaz, prolidaz, karbonik anhidraz, aldoz redüktaz, glutatyon redüktaz enzim aktivitelerinin, serum selenyum düzeylerinin ve serum LDL, HDL, total kolesterol düzeylerinin belirlenmesi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Psödoeksfoliasyon Sendromu

Psödoeksfoliasyon Sendromu; etyolojisi tam olarak bilinmeyen, ileri yaşlarda görülen, oküler dokular ve visseral organlarda ekstraselüler matriks materyali birikimi ile karakterize sistemik bir hastalıktır.¹

PES tanısı oftalmolojik muayene sırasında, pupil kenarında ve lensin ön kapsülü üzerinde gri-beyaz renkli birikim olarak görülen psödoeksfoliatif materyalin direkt olarak gözlenebilmesi ile konur.

2.1.1. Tarihçe

PES ilk kez 1917 yılında Finli oftalmolog Lindberg tarafından tanımlanmıştır. Lindberg kronik glokomlu hastalara yaptığı biyomikroskopik muayenede hastaların yaklaşık %50'sinin pupil kenarında mavi-beyaz birikimlerin olduğunu tespit etmiş ve bu birikimlerin yaş ilerledikçe daha yaygın görüldüğünü göstermiştir.²³

Bir diğer araştırmacı Vogt ise; bu biriken materyalin lens kapsülünden kaynaklandığını düşünerek sendroma 'Lens Kapsülünün Senil Eksfoliasyonu ve Kapsüler Glokom' ismini vermiştir.²⁴

Dvorak-Theobald; bu biriken materyalin, cam üfleyici kişilerde görülen gerçek eksfoliasyon materyalinden farklı olduğunu düşünerek "Psödoeksfoliasyon" ismini vermiştir. 1979 yılında ise Eagle; PES'in anormal bazal membran sekresyonu olduğunu düşünerek bu hastalığa "Membran Eksfoliyasyon Bazal Sendromu" ismini vermiştir.¹

Schlotzer ise PES'li hastaların vorteks venleri, okülomotor kaslar ve orbita bağ dokusu gibi göz dışı dokularında da eksfoliyatif materyal varlığını saptayarak sistemik tutulumun olduğunu göstermiştir.¹

2.1.2. Epidemiyoloji

Psödoeksfolyasyon Sendromu'nun prevalansı dünyada popülasyonlar arasında önemli oranda farklılıklar göstermektedir. PES; İskandinavya ülkelerinde daha sık izlenmekte iken Alaska, Grönland ve Eskimolarda ise çok daha az görülmektedir.^{25,26}

Populasyonlar arasında görülen bu prevalans farklılıklarının nedenleri arasında; irksal ve genetik özellikler, hastaların cinsiyet ve yaş dağılımları, muayene edenlerin tanı kriterlerindeki farklılıklar ve pupil dilatasyonu yapılmadan gerçekleştirilen muayeneler sayılabilir.^{27,28}

PES; ülkemizde de sık görülen önemli oküler problemler arasında sayılabilmektedir. Ülkemizde PES prevalansı ile ilgili tüm bölgeleri içeren geniş çaplı bir çalışma yapılmamıştır. Fakat küçük bölgelerde sürdürülen çalışmaların sonuçları doğrultusunda, PES prevalansının %11.0 ila %16.5 arasında olduğu tespit edilmiştir.^{29,30,31}

Aynı ülkenin farklı bölgelerinde de PES prevalansında farklı sonuçlar görülebilmektedir. Bütün bu farklılıkların nedeni tam olarak bilinemezken; iris rengi, güneş ışığına maruziyet, nutrisyonel farklılıklar, enfeksiyöz ajanlar ve otoimmünite gibi çeşitli faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir.³²

Cinsiyet dağılımı ile ilgili yapılan çalışmaların bir kısmı PES'in kadınlarda daha sık görüldüğü yönünde iken bir kısmı ise erkeklerde daha fazla oranda görüldüğü yönündedir. Bunların aksine PES prevalansının her iki cinsiyette eşit oranda görüldüğüne dair yapılan çalışmalar da mevcuttur. Ortalama yaşam süresinin daha uzun olması nedeni ile yaşlı nüfusun çoğunluğunu kadınların oluşturması, kadınlarda PES'in daha yüksek oranlarda görülmesini açıklayabilir. Erkeklerde ise psödoeksfolyatif glokomun (PEG) kadınlara oranla daha sık görüldüğü, daha ciddi seyrettiği ve erken dönemde oluştuğuna dair çalışmalar mevcuttur.^{33,34,35,36}

Farklı cinsiyet dağılımları tespit edilmiş olsa da yapılan tüm çalışmalar; PES'in prevalansının yaşla birlikte ciddi oranda artış gösteren bir bozukluk olduğunu göstermiştir.³⁷

PES ilk tanı anında genellikle unilateral seyreder, ancak 5-10 yıl içerisinde bilateral olma özelliği kazanabilir. Bilateral tutulumu olan hastalar unilateral tutulum olanlara nazaran artmış glokom prevalansına sahip olmaya eğilimlidirler. Ayrıca ileri yaş ile de bilateralite daha sık görülmektedir.³⁸

Bir diğer görüş; tek taraflı görülen PES'in, tek taraflı bir tutulum olmasından ziyade hastalığın asimetric klinik bir tutulumu olduğu yönündedir.³⁹ Elektron mikroskopisi ile yapılan çalışmalarda; hem tutulan gözde hem de diğer gözde, konjonktiva ve diğer peribulber dokularda PEM'in biriktiği saptanmıştır.^{40,41} Bu durum göstermiştir ki; muayenede klinik olarak asimetric bir tutulum görülse de PES; aslında bilateral tutulum gösteren bir bozukluktur.

2.1.3. PEM Yapısı ve Patogenezi

Yapılan çalışmalar sonucunda PEM'in; preekvatoryal lens epitel hücreleri, iris pigment epitel hücreleri, non-pigmente siliyer epitel hücreleri, trabeküler ağ, konjonktiva tarafından üretildiği gösterilmiştir.⁴²

PEM'in yapısal kompozisyonu yapılan kapsamlı araştırmalara rağmen, tam olarak bilinmemektedir.⁴³ Işık mikroskopisinde PAS+ boya tutulumu gösteren, eozinofilik agregatlar olarak tespit edilmiştir.⁴⁴ Yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda ise PEM'in bir glikoprotein-proteoglikan kompleksi olduğu gösterilmiştir. Yapısında birer proteoglikan olan heparan sülfat, kondroitin sülfat gibi bazal membran yapılarının ve entaktin (nidogen), laminin, elastin, fibrilin-1, amiloid p epitoplari, TGF-B, fibronektin bulunduğu gösterilmiştir.¹⁶

PES oluşumundaki mekanizmalardan birisi; glikozaminoglikanların anormal üretim ve anormal metabolizması sonucu dokularda birikerek meydana geldiği yönündedir.¹⁶

PEM'in bazal membran yapısına olan benzerliği, patogenezinin bir bazal membran metabolizma bozukluğu ile ilişkili olabileceği teorisinin ortaya çıkmasına neden olmuştur.⁴⁵

Diğer bir teori ise; ortamda artan hipoksi ve oksidatif stresin çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımında artışa neden olarak, anormal ekfoliasyon fibril sentezini stimüle etmesi sonucu hastalığın oluştuğu yönündedir.⁴⁶

Yapılan çalışmalar PES'li hastaların aköz örneklerinde askorbik asit seviyelerinde azalmalar olduğunu tespit etmiştir. Bir anti-oksidan olan askorbik asit düzeylerindeki bu azalmalar, serbest radikallerin PES etyopatogenezinde önemli rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu düşünceden yola çıkarak çalışmalar geliştirilmiş ve hastaların aköz hümorlerinde bir oksidatif stres göstergesi olan 8-iso prostaglandin F2 alfa (PG-F2a) 'nın konsantrasyonuna bakılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; PES'li hastalarda bu konsantrasyonun 5 kat daha fazla artmış olduğu görülmüştür. Bütün bu çalışmalar serbest radikallere bağlı oksidatif hasarın patogeneizde önemli bir rol üstlendiğini kanıtlamıştır.^{47,48}

2.1.4. Genetik

PES etyopatogenezi ile ilgili birçok genetik çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalara; lizil oksidaz-benzeri-1 (LOXL-1) geninde meydana gelen 3-nükleotid polimorfizmi örnek olarak gösterilebilir.⁴⁹ Bu polimorfizm ile PEG arasında yakın bir ilişki mevcuttur. Lizil oksidaz (LOX), lizin ve hidroksilizin yan zincirlerinin oksidatif deaminasyonu ile bağ dokuda elastin ve kollajenin kovalent çapraz bağlanmasını hızlandıran enzim

ailesidir. Bu aile lizil oksidaz ve lizil oksidaz benzeri 1-4 (LOXL1-4) olmak üzere 5 üyeden oluşmaktadır.^{50,51}

Son yıllarda yapılan bu çalışmada kromozom 15q24'deki LOXL1 bölgesinde meydana gelen bu polimorfizmin PES ve PEG ile birliktelik gösterdiği tespit edilmiştir.⁴⁸ LOXL1 polimorfizmi, PES ve PEG gelişiminde majör risk faktörlerinden biri olarak görülmektedir. Ancak hastalığın gelişimini ve progresyonunu farklı genetik faktörler ve çevresel faktörler de etkilemektedir.⁵²

2.1.5. Klinik Bulgular

PEM gözde; kornea endotelinde, iris yüzeyinde ve pupiller kenarda, lensin ön kapsülünde ve trabeküler ağda ve en sık olarak da silier proseslerin üzerinde birikir.

2.1.5.1. Konjunktiva ve Gözyaşı Film Tabakası

Elektron mikroskopisi ile yapılan çalışmalarda, konjunktival örneklerde PEM varlığı tespit edilmiştir ancak biyomikroskopik muayenede konjunktiva normal görünümündedir. Unilateral PES olan hastaların klinik olarak PES görülmeyen diğer gözleri incelendiğinde PEM benzeri depozitlerin olduğu görülmüştür.⁵³

Konjunktivada PEM birikiminin; goblet hücreleri ve aksesuar bezlerin tutulumu ile gözyaşı film tabakasını ve gözyaşı stabilitesini olumsuz yönde etkileyeceği düşünülmüştür. Bu olumsuz etkilerin araştırılması amacı ile kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda; hastalara Schirmer testi yapılmış ve sonucunda PES'li hastalarda schirmer skoru kontrol grubuna nazaran belirgin olarak düşük tespit edilmiştir.⁵⁴

2.1.5.2. Kornea

Biyomikroskopik muayenede görülmesi oldukça zor olsa da PEM'in, kornea endotelinde ve descemet membranında biriktiği gösterilmiştir.⁵⁵ PES'li gözlerde kornea endotelinin speküler mikroskopisi ile yapılan incelemelerinde normalden daha düşük

hücre yoğunluğu tespit edilmiş ayrıca hücre pleomorfizmi ve polimegatizminde değişimler dikkat çekmiştir. Bütün bu bulgulara ‘Psödoeksfoliasyon Keratopatisi’ adı verilmiştir.⁵⁶

PES’li hastalarda kornea endotelinde meydana gelen hücre sayısındaki azalma; intraoküler cerrahi gerektiğinde, postoperatif endotel hücre hasarını artıracak için ileride keratoplasti gerektirecek korneal dekompanzasyona yol açabilir. Bu nedenle PES’li hastaların muayenesi cerrahi öncesinde dikkatlice yapılmalıdır.^{57,58}

2.1.5.3. Lens, Zonül ve Silier Cisim Değişiklikleri

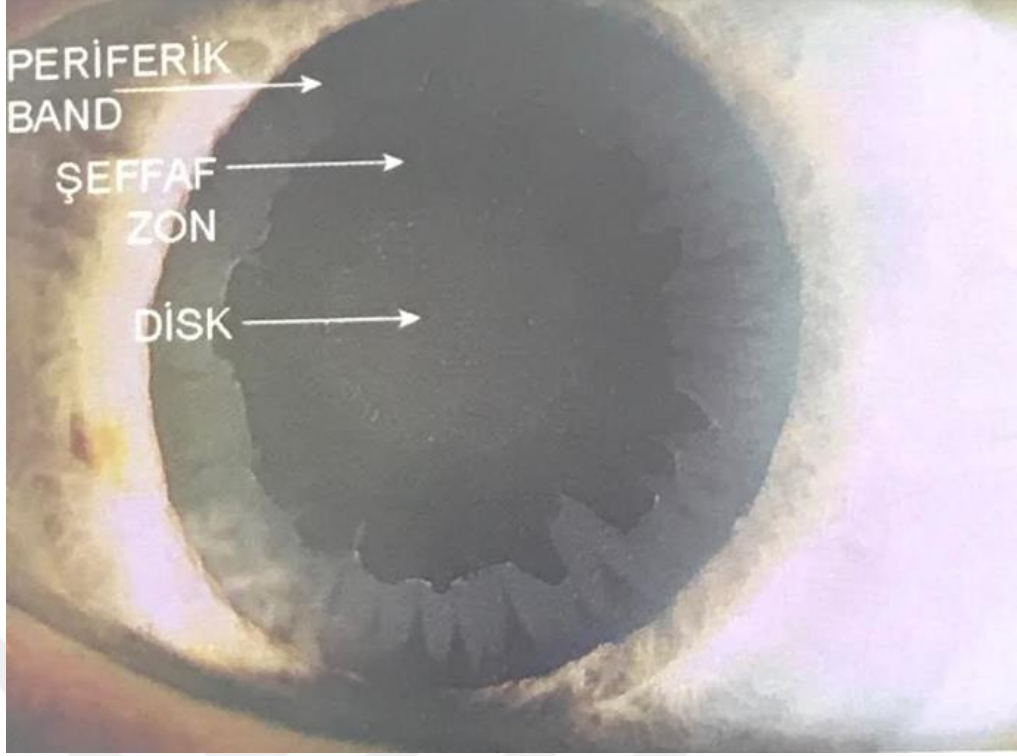
Lens ön kapsülünde görülen gri-beyaz renkli eksfoliatif materyal, PES’in en önemli ve en sık görülen bulgusudur. Ayrıca en önemli tanı kriterlerinden biridir.

Lensin ön kapsülünde biriken eksfoliatif materyal üç ayrı zondan oluşan karakteristik bir görünüme neden olur. (Şekil-2.1)

Bu karakteristik görünümün sebebi; irisin hareketleri esnasında lensin ön kapsülü ile temas etmesidir.⁵⁹ Üç ayrı zondan oluşan bu klasik paterni görebilmek için pupilla tam dilate hale getirilip muayene edilmelidir. Ancak uzun ve kronik bir prelinik dönemden sonra bu klasik paternin oluşabilmesi mümkün olabilir.

Bu üç zon; homojen yapıya sahip, çapı genellikle fizyolojik pupil çapından hafif küçük olan santral zon (disk), periferde granüler yapıda, beyazımsı renkte ve radial strialardan oluşan periferal zon ve bu iki bölgeyi birbirinden ayıran şeffaf zondan oluşur. Şeffaf zon; irisin fizyolojik hareketlerinin meydana getirdiği sürtünme kuvveti etkisiyle kapsülün PEM’den temizlenmesi ile oluşmaktadır.^{60,61,62}

Lens ön kapsülünde her zaman santral zon oluşmayabilir ama periferal zon daima mevcuttur.⁶³



Şekil 2. 1. Lens Ön Kapsülü; PEM'in Karakteristik Görüntüsü (Shields Textbook Of Glaucoma, 2014'ten uyarlanmıştır.)

Kontrol grubuna oranla PES'li hastalarda sekonder katarakt daha sık görülür ve daha çok nükleer kesafet şeklinde karşımıza gelir. PES'in sıklığı yaşla beraber artmaktadır ve görülen bu katarakt sıklığı hastaların yaşıyla ve yaşlanma süreci ile ilişkilendirilmektedir. Fakat unioküler PES'li gözlerde etkilenen gözdeki kataraktın diğer göze nazaran daha ileri düzeyde olduğu görülmektedir. Dolayısıyla PES'li hastalarda oluşan katarakt; yaşlanma süreci ile birlikte oluşan oküler iskemi, artan oksidatif stress, ultraviyole ışınlar maruziyet gibi nedenlere de bağlanabilir.⁶⁴

PEM sıklıkla lens zonüllerinde ve siliyer proseslerin non-pigmente epitelinde birirmektedir.⁶⁴ PEM içerisinde bulunan proteolitik enzimler siliyer cisim ve zonüllerde enzimatik zonülolizise neden olur ve zonüler hasar meydana getirir. Bu nedenle PES'li hastalarda cerrahi esnasında zonül ve arka kapsül üzerine fazla stresten kaçınmak gerekir.

Aksi takdirde kapsül perforasyonu ve vitreus kaybı, zonül diyalizi, lens dislokasyonu ya da nükleus-iol drop gibi intraoperatif komplikasyonlar oluşabilir.⁶⁵

PES'li gözlerde post-operatif komplikasyon olan fibrinoid reaksiyon ve arka kapsül opasifikasyonu oranı normal kataraktlı gözlere oranla daha sık görülmektedir.⁶⁶ Bu nedenle ameliyat öncesinde tüm katarakt olguları pupil dilatasyonu yapılarak biyomikroskop ile dikkatlice muayene edilmelidir.⁶⁵

2.1.5.4. İris Değişiklikleri

Yapılan çalışmalarda; dilatatör ve sfinkter kası, kan damarları, posterior pigment epiteli, stromal yapılar gibi irisin neredeyse tüm yapılarında PEM varlığı tespit edilmiştir.⁶⁷

Eksfoliyatif materyal klinik olarak en sık lens ön yüzeyi ve irisin pupilla kenarında gri-beyaz pulcuklar şeklinde görülebilir. (Şekil 2.2)



Şekil 2.2. Pupil Kenarında PEM Görüntüsü (Shields Textbook Of Glaucoma, 2014'ten uyarlanmıştır.)

PES’de irisin dilatasyon potansiyeli çok azalmıştır. PEM; sfinkter ve dilatatör kaslardan oluşan iris stromasında birikerek dejenerasyona sebep olur. Bu dejenerasyon pupil dilatasyonunda zorluğa neden olabilmektedir.²⁷ PES’de pupil dilatasyonundaki zayıflık, irisin dilatatör ve sfinkter kaslarında meydana gelen hipoksiye sekonder atrofiyle de açıklanmıştır. Floresan anjiyografi çalışmalarında; iriste hipoperfüzyon, neovaskülarizasyon gibi vasküler bozukluklar tespit edilmiştir. Bu vasküler bozukluklar sonucu ortaya çıkan doku hipoksisi; iris pigment epiteli, stroma ve de kaslarda atrofiye neden olarak zayıf midriazise neden olmaktadır.⁶⁸

2.1.5.5. Trabekülum ve İridokorneal Açığı, PEG

Trabeküler ağda PEM birikimi diğer klinik bulgulardan daha önce görülebilir. PEM birikimi daha çok schlemm kanalı ve juksta-kanaliküler ağda meydana gelir. Zamanla artan PEM birikimi juksta-kanaliküler ağda ve schlemm kanalında progresif bir dejenerasyon ve obstrüksiyona neden olarak kanallarda yapısal bozukluğa yol açar. Bu durum dışı akım kanallarını tıkayarak; dışı akım direncini artırır ve göz içi basıncının yükselmesine neden olur. Zamanla artan birikim miktarı ile paralel olarak optik sinir harabiyeti de artmaktadır.⁶⁹

PES’in önemli bulgularından biri de artmış trabeküler ağ pigmentasyonudur. Pigmentasyon schwalbe çizgisinin önünde meydana gelebilir. Bu pigmentasyonun sonucunda yeni bir çizgi meydana gelir ve bu çizgi; ‘Sampaolesi çizgisi’ olarak isimlendirilmektedir.⁷⁰

PEG’li hastaların trabeküler ağında meydana gelen pigmentasyon normal göz içi basıncına sahip PES’li hastalara nazaran daha yoğun biçimde gözlenmiştir.⁷¹

PES’li hastaların kan-aköz bariyerindeki bozulmalar nedeni ile aköz sıvılarında total protein, albümin gibi protein konsantrasyonunda yükselme mevcuttur ve bu nedenle flare artışı tespit edilmiştir.⁷²

Sonuç olarak; trabeküler ağda PEM birikimine ek olarak açığı pigmentasyonu ve hümeör aközde artmış protein konsantrasyonu dışı akım direncini arttırır. Aköz üretimi ile aközün dışı akımı arasındaki dengenin bozulması; uzun vadede göz içi basınç artışına ve glokoma neden olmaktadır.⁷²

2.1.6. Sistemik Tutulum

PES; oküler tutulumun yanısıra sistemik tutulumla da karakterizedir.

İlk olarak; Schlötzer-Schrehardt’ın 1992 yılında elektron mikroskobu ile yaptığı bir çalışmasında, PES’i olduğu tespit edilen hastalardan alınan otopsi örneklerinde; akciğer, karaciğer, kalp, böbrek, mesane ve meninkslerde PEM varlığı saptanmıştır.¹

Bu ve benzeri çalışmalar PES’in sadece oküler tutulumla sınırlı bir hastalık olmadığı, aynı zamanda sistemik bir ekstrasellüler matriks bozukluğu olduğunu düşündürmüştür. PES’li hastalara başka komorbiditelerin eşlik edebileceği düşüncesi ile sistemik hastalıklarla olabilecek ilişkilerine yönelik çalışmalar yapılmıştır.⁷³ Çalışmaların çoğu miyokard infarktüsü, hipertansiyon, aort anevrizması, serebrovasküler hadise, alzheimer gibi yüksek mortalite ve morbiditeye sebep olabilen kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklara yöneliktir.

Abdominal aort anevrizmasına sahip donörlerden alınan aort duvar örneklerinin histopatolojik incelemelerinde yüksek oranlarda psödoeksfoliatif materyal birikimi olduğu görülmüş ve bu hastalıklar arasında yakın bir bağlantı olabileceği gösterilmiştir.⁷⁴ Yapılan bir diğer çalışmada; PES’li hastalara yapılan doppler ekokardiyografi ile miyokard fonksiyonlarında diastolik disfonksiyon ve miyokard iskemisine ait bulgular

gözlemlenmiştir. Yine bir başka çalışmada ise anjiyografi sonucu koroner arter hastalığı tanısı alan hastalarda PES sıklığının daha fazla olduğu gösterilmiştir.⁷⁵

Psödoeksfoliasyon varlığında kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra serebrovasküler hastalık riskinin de arttığı düşünülmektedir. Trans iskemik atak geçiren hastalar incelendiğinde bu hastalarda PEM varlığının ve iris transilluminasyon defektinin daha fazla görüldüğü saptanmıştır.⁷⁶ Tutulmuş gözlerde transilluminasyon defekti, iris hipoperfüzyonuna bağlı kan akımında patolojik değişikliklerin olduğunu düşündürmüştür. Tüm bunlar PES gelişiminde hipoperfüzyonun rolünü de desteklemektedir. PES ile demansla karakterize Alzheimer hastalığı arasında da pozitif korelasyon saptanmıştır.^{77,78}

Yapılan tüm çalışmalara rağmen PES'li hastalarda görülen PEM'in sistemik birikiminin, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile kesin ilişkisi bilinmemektedir. Fakat sistemik vasküler hastalık riski için PES'in önemli bir gösterge olabileceği unutulmamalı ve oftalmolojik muayene esnasında psödoeksfoliyasyon materyali tespit edilen hastalar sistemik muayene için yönlendirilmelidirler.

2.2. PES'in Etyopatogenezi İle İlişkili Olabilecek, Çalışmamızda Yer Alan Enzim, Element Ve Moleküller

2.2.1. Glutatyon Redüktaz

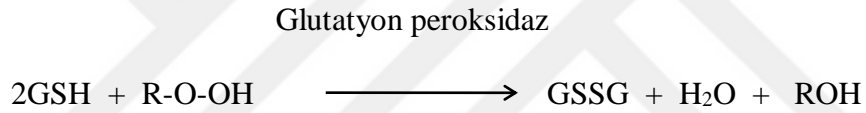
Psödoeksfoliasyon sendromunun etyolojisi tam olarak bilinmese de; artan oksidatif hasar ile hücre koruma mekanizmalarının azalmasının anahtar patogenetik faktörlerden olduğu düşünülmektedir. Bu doğrultuda vücuttaki oksidatif stres biyobelirteçlerini belirlemek için birçok çalışma sürdürülmektedir.⁵

Oksidatif strese karşı koruma mekanizması olarak görev alan en önemli antioksidan enzimlerden; glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz

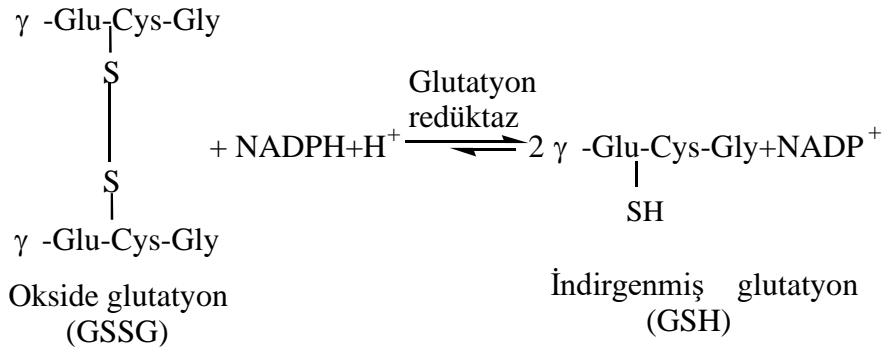
ve katalaz sayılabilir.⁵ Bakır, selenyum, çinko gibi elementler ise bu enzimlerin fonksiyonlarını sürdürebilmeleri için gerekli eser elementlerdir.

GR en önemli antioksidan enzimlerden biridir. Oksidatif stresin neden olduğu hastalıkların oluş mekanizmalarının glutatyon üzerinden yürüdüğü düşünülmektedir.

Glutatyon hücre içi redoks reaksiyonlarının majör düzenleyicisidir. Oksidatif stresin en iyi göstergesi; redükte ve okside glutatyondur. Yüksek oksidatif streste redükte glutatyon (GSH) azalırken, okside glutatyon (GSSG) artar. GSH, oksidan hasara sebep olan reaktif oksijen türevlerinin (ROS) indirgenmesinde görev alır. Glutatyon peroksidaz (GPx) yardımı ile peroksitler ve özellikle H₂O₂ suya dönüştürülürken, indirgenmiş glutatyon, okside glutatyona çevrilir:



GSSG'nin tekrar oluşacak olan oksidan radikallerin indirgenmesinde görev alabilmesi için redükte forma dönüştürülmesi gerekmektedir. Burada görev alan enzim ise glutatyon redüktazdır. Glutatyon redüktaz, heksoz monofosfat sistemi yolu ve/veya asetil coA'ların mitokondriden sitozole taşınmasında görev alan NADP⁺ bağımlı malat dehidrojenaz enzimi vasıtasıyla elde edilen NADPH'ı kullanarak okside formdaki glutatyonu redükte forma dönüştürür:



Bu mekanizmada oluşabilecek herhangi bir eksiklik; normalde aköz hüümörde bulunan ve birçok sinyal iletim yolları için gerekli olan H₂O₂ düzeyinin fizyolojik değer üzerine çıkmasına sebep olur. Bu mekanizmanın PES materyali toplanmasında etkili olabileceği düşünülmektedir.^{6,7}

Artan oksidatif stresinin PES patogenez ve progresyonuna ilaveten glokom patogenezinde de önemli etkileri vardır. Oksidatif stres; trabeküler ağ dejenerasyonu ile göz içi basınç (GİB) artışında etkili mekanizmalardan biridir. Endojen oksidatif stres vasküler disregülasyonu tetikleyerek iskemi ve reperfüzyon hasarına neden olur ve glokom gelişimine katkı sağlar. Organizmada artan oksidatif stresin yarattığı bu hasara karşı anti-oksidan enzimler ve moleküller devreye girer.

2.2.2. Selenyum

Selenyum; birçok enzimin yapısına katılarak kofaktör görevi gören esansiyel bir elementtir. Antioksidan enzim sistemi, immün sistemin düzenlenmesi, tiroid hormon sistemi gibi birçok metabolik olayda görev almaktadır.⁷⁹

Antioksidan savunma sisteminde önemli rolü olan selenoproteinler; aktif bölgelerinde selenosistein şeklinde selenyum içeren proteinlerdir. Bu proteinlerin fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için selenyum, olmazsa olmaz elementtir.

Antioksidan özellikteki GPx enzimi önemli selenoproteinlerdendir. GPx, hücre içinde H₂O₂'nin suya indirgenmesinde rol oynar. GPx enziminin her alt ünitesinde

selenosistein şeklinde bir adet Se atomu bulunur. Se; enzimin kofaktörü olarak görev alır.⁸⁰

2.2.3. Aldoz Redüktaz

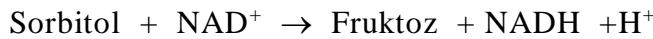
Aldoz redüktaz enzimi ; NADPH kofaktörüne bağımlı substrattaki aldehit grubunun indirgenmesinden sorumlu aldo-keto redüktaz süper ailesinin bir üyesidir. ⁸

Aldoz redüktaz enzimi: çeşitli aldehitlerin NADPH'a bağımlı olarak indirgenmesini katalizlemektedir. Glukozun sorbitole dönüşümünü NADPH'a bağımlı olarak katalizler:



Lensin yapısal komponentlerinin yapım ve yıkımı, aktif transport gibi çeşitli reaksiyonlarının devamlılığı için gerekli metabolik enerji glukoz metabolizmasından karşılanır. Lense giren glukoz hemen metabolize edilir. Lens enerjisinin büyük bir kısmını anaerobik glikolizden sağlar. Glukoz; heksozmonofosfat (pentoz fosfat yolu) yolu ile de metabolize edilerek çeşitli metabolik işlemlerde gerekli olan NADPH'ın sağlanmasına katkıda bulunmaktadır. Bu yolaktaki bozukluk glutasyon metabolizmasının bozulmasına bağlı oksidatif stres oluşumuna neden olmaktadır.

Diğer bir yol da sorbitol yoludur. Polioli yolunun birinci enzimi olan aldoz redüktaz; NADPH varlığında glukozu sorbitole dönüştürür. Polioli yolunun diğer bir enzimi olan sorbitol dehidrogenaz ile sorbitol fruktoza dönüştürülür:



Sorbitol kuvvetli ozmotik etkisi ile katarakt oluşumuna neden olur.

Mekanizması henüz tam olarak anlaşılammış olsa da AR hücre büyümesiyle ilgili sinyal anahtarlarında da görev almaktadır. ^{8,9,10,11}

Aldoz redüktaz enziminin ve oksidan-antioksidan yolakların her ikisinin NADPH bağımlı olarak çalışması, PES'li hastalarda AR enzim aktivitesinin normal popülasyona göre farklı olabileceğinden yola çıkılarak çalışmamıza eklenmiştir.

2.2.4. Paraoksonaz

Paraoksonaz vücutta yer alan antioksidan enzimlerdendir ve kalsiyum bağımlı bir esterazdır.¹³ PON gen ailesi PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyeden oluşmaktadır. PON1 ve PON3'ün karaciğer ve plazmada, PON2'nin ise; karaciğer, beyin, böbrek, kalp, aortik düz kas hücreleri ve testis endotel tabakasında bulunduğu gösterilmiştir.⁸¹ Paraoksonaz enzim ailesinin detoksifiye, antiaterojenik ve antioksidan özellikleri bilinmektedir.

PON1; organik uçucuların, halojenlerin ve zararlı insektisitlerin, vücuda alınması sırasında nötralizasyonunu sağlayan önemli bir enzimdir.⁸²

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan yağda çözünür karsinojenik serbest radikaller, vücuttaki endojen antioksidan enzim sistemlerinden biri olan paraoksonaz tarafından elimine edilirler.⁸³

PON enzim aktivitesindeki azalmanın serumda artmış oksidatif stresle ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁴ PON enzim ailesinin tüm üyeleri antioksidan özelliktedir. PON1 enziminin LDL'yi oksidasyondan koruyucu etkisinin olması ve hidrojen peroksit gibi diğer radikalleri nötralize etme kapasitesi nedeni ile antioksidan işlevi bulunmaktadır.⁸² H₂O₂'nin PON1'in güçlü bir inaktivatörü olduğu gösterilmiştir. PON1 enzim aktivitesinin yaş arttıkça azaldığına da dikkat çekilmiştir.¹⁴

Diyabet, hiperkolesterolemi gibi ateroskleroza yatkın bireylerle yapılan çeşitli çalışmalarda; serum PON 1 aktivitesi düşük olarak tespit edilmiştir.⁸⁴ Antiaterojenik etkisi olduğu bilinen HDL'lerin bu koruyucu etkilerinin kendilerine bağlı olan çeşitli enzim gruplarından kaynaklandığı bilinmektedir.¹⁵ PON1'in; HDL'nin bu antioksidan

etkiyi göstermesinde önemli rol üstlenen enzimlerden biri olduğu bilinmektedir.⁸⁴ PON1 ve PON3'ün, HDL ile ilişkili ve LDL'nin oksidasyonunu önlemede etkili olduğu görülmüşken, PON2 enziminin böyle bir özelliği görülmemiştir.⁸⁵

Bu bilgiler doğrultusunda PON enziminin PES patogenezinde rol oynayabileceği düşünülmektedir.

2.2.5. Prolidaz

PES'in oluşum mekanizması hakkında üzerinde durulan bir diğer hipotez elastik mikrofibril hipotezidir. Bu hipotez; ekstraselüler matriks elemanlarından elastik mikrofibril materyallerinin aşırı üretim veya yıkımındaki dengesizlik sonucu dokularda kronik olarak birikmesi ile karakterizedir.⁸⁶ PEM'in yapısı incelendiğinde birer proteoglikan olan heparan sülfat, kondroitin sülfat gibi bazal membran yapıları, entaktin, laminin, elastin, fibrilin-1, amiloid p epitoplari, TGF- β , fibronektin gibi yapıları içerdigi gösterilmiştir.¹⁶

Ekstraselüler matriksin yapım ve yıkımından sorumlu proteinlerde ve bu proteinleri regüle eden genlerde meydana gelebilecek bozukluklar bu anormal birikim ile ilişkili olabilir.

PES'in ekstrasellüler matriksin anormal sentezi ile ilgili bir patoloji olduğu yönündeki hipotezi destekleyen çeşitli çalışmalar mevcuttur.

PES'li hastaların aköz örneklerinde birer büyüme faktörü olan TGF- β 1/TGF- β 2 düzeyleri normalden yüksek bulunmuştur. TGF- β 1'in; mikrofibrillerin enzimatik çapraz bağlanmasını ve post-translasyonel glikolizasyonunu sağlayarak onların aşırı üretimini ve birikimini tetiklediğini düşündürmektedir.^{16,87}

Yine elastik mikrofibril metabolizmasında görev alan LOXL-1 enzimi; kollojen ve elastin çapraz bağlanmasını sağlayarak fibrillerin oluşum, stabilizasyon ve yeniden

şekillenmesinde fonksiyon gören önemli bir enzimdir. LOXL1 enzimini kodlayan gendeki polimorfizmlerin PES ve PEG ile ilişkili olduğu görülmüştür.^{50,51,52}

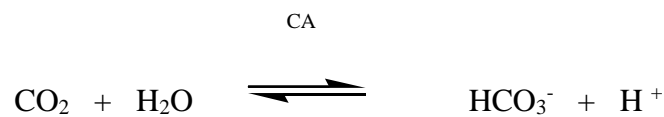
Prolidaz enzimi; C-terminalinde prolin ve hidroksiprolin içeren, kollajenin intrasellüler ve ekstrasellüler yıkımından elde edilen, imidodipeptitleri yıkan sitozolik bir matriks metalloproteinazdır. Prolidaz, kollajen katabolizmasının son aşamasını katalize eden bir enzimdir ve kollajen biyosentezi, hücre büyümesi ve matriksin yeniden şekillenmesinde önemli bir role sahiptir.^{17,18}

Prolidaz enzimi ile açığa çıkan prolin ve hidroksiprolin amino asitleri, ekstrasellüler matriksin devamlılığının sağlanması için gereklidirler. Prolidaz enzimi kollajen döngüsünde ve hücre büyümesinde önemli role sahiptir. Serum prolidaz aktivitesi, kollajen döngüsü ile orantılıdır.¹⁹ Kollojen ve elastinlerde çapraz bağların yapılmasından sorumlu olan enzim; lizil oksidaz benzeri-1 (LOXL1) geninde meydana gelen polimorfizm ile de ilişkilendirilmiştir.

Anormal matriks yeniden şekillenmesine bağlı aşırı birikim, PES'in patogenezinde önemli rol oynayabilir.²¹ Bu nedenle, serum prolidaz aktivitesi hastalığın patogenezi için muhtemel bir aday olabilir.

2.2.6. Karbonik Anhidraz

Karbonik anhidraz bütün organizmalarda yaygın olarak bulunan ve aktif bölgesinde Zn^{+2} iyonu içeren bir metaloenzimdir. Karbonik anhidraz, canlılarda CO_2 'nin hidratasyonu ve HCO_3^- 'in dehidratasyonu reaksiyonlarını tersinir olarak katalizleyen önemli bir enzimdir.²²



CA enzimi eritrositleri de içine alan pek çok dokuda pH düzenleyici enzim olarak görev almaktadır. Başta asit-baz dengesi olmak üzere birçok metabolik olayda rol oynamaktadır.

Karbonik anhidraz'ın 16 izoenzimi vardır. Gözde; lens, kornea ve silier epitelde CA-II ve CA-IV izoenzimleri bol miktarda bulunmaktadır. Glokom hastalığı tedavisi için yapılan araştırmalar sonucu bu dokularda bulunan CA-II izoenziminin önemi ortaya çıkarılmıştır⁸⁸

Hümör aköz kornea ile lens arasını dolduran bikarbonattan zengin sıvıdır. Göz içi basıncı aköz hümörün salınımı ve dışa akımı arasındaki denge ile belirlenir. Siliyer cisim tarafından sürekli olarak salınır ve siliyer cisimden ön kamaraya doğru geçer. Ön kamaradan da, trabeküler ağ örgüsünden schlemm kanalına ve oradan da venöz dolaşıma geçer. GİB artışı bu aköz salınım-dışa akım yolları arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır.

Karbonik anhidraz, silier epitel boyunca HCO_3^- ve CO_2 arasında hızlı bir dönüşüm yolu ile bikarbonat transportunu gerçekleştirir. Bikarbonat oluşumu, Na^+ 'un optimum aktif transportu için pH'ı düzenlemesi yolu ile sıvı transportunu etkilemektedir. Böylece aköz üretimi ile doğrudan ilişkilidir.²²

Psödoeksfolyasyon sendromu; glokomun en sık nedenlerinden biridir. PES'in neden olduğu glokoma psödoeksfolyatif glokom adı verilir. PEG, en sık görülen sekonder açık açılı glokomdur. PES en çok açık açılı glokoma yol açsa da açılı kapanması glokomuna da yol açabilir. Tüm glokom olgularının yaklaşık %25'ini PEG oluşturur.^{4,24,43}

PEG ile açık açılı glokom karşılaştırıldığında; PEG daha kötü bir prognoza sahiptir. PEG'de göz içi basıncı daha yüksek seyrederek ve GİB'inde daha fazla diurnal fluktuasyon görülür. Bundan dolayı tanı anında optik sinir hasarı ve görme alanı kaybı

daha belirgindir. Medikal tedaviye yanıtızsılık daha fazladır ve daha sık cerrahiye gidiş görölür. Progresyonu azaltmak için de ulaşılması gereken hedef göz içi basıncının daha düşük seviyelerde tutulması gerekmektedir.⁸⁹

Hümör aköz, göz içinde sürekli devri daim halindedir. Daha önceden de bahsedildiği gibi aköz üretimi ile dışa akımı arasındaki dengenin bozulması sonucu kronik göz içi basınç artışı meydana gelmektedir. Psödoeksfolyasyon birikimi aközün dışa akımını sağlayan schlemm kanalı ve jukstakanaliküler dokularda obstruksiyon ve dejenerasyona yol açarak kronik basınç artışına neden olmaktadır.²⁴ Bunun yanında kronik basınç artışına neden olan ek patogenetik faktörler; açığı pigmentasyonu, vasküler problemler, lamina kribrozada meydana gelen bağ doku değişiklikleri ve hümör aközde artan protein konsantrasyonu sayılabilir.⁹⁰

Tek taraflı tutulum gösteren PES'li olgularda her iki gözde de glokom görülebilmesi veya PEM saptanan her gözde glokom görölmemesi, altta yatan sebebin farklı nedenlere bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Dolayısı ile çalışmamızda aköz üretiminde görevli olan karbonik anhidraz enzim aktivitesi incelenecektir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Hasta Seçimi ve Örneklerin Alınması

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Polikliniği'ne görme azlığı şikayeti ile başvuran ve oftalmolojik muayene esnasında katarakt tespit edilen, cerrahi planlanan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen hastalar iki ayrı gruba ayrıldı. PES birlikteliğinde klinik olarak anlamlı kataraktı bulunan olgular birinci grubu oluştururken (PES'li Grup) , ikinci grubu ise aynı zaman diliminde polikliniğimize yaşa bağlı katarakt nedeniyle başvuran ve PES ya da herhangi bir oküler hastalığı bulunmayan, katarakt operasyonu planlanmış olgular oluşturdu. (Kontrol Grubu) Her bir grupta 33'er hasta olacak şekilde toplamda 66 hasta çalışmaya dahil edildi.

Bütün hastaların operasyon öncesi düzeltilmiş görme keskinlikleri, biyomikroskop muayeneleri, intra-oküler basınç ölçümleri, ayrıntılı fundus muayeneleri yapıldı.

Birinci grubu (PES'li grup) oluşturacak hastaların seçiminde pupil dilatasyonu sonrası yapılan muayenede;

-Opere edilecek gözün lens ön kapsülünde ve/veya pupil kenarında eksfoliasyon materyali görülmesi,

-Her iki gözün göz içi basıncının (GİB) 21 mmHg'nın altında olması,

-Her iki gözde glokomatöz optik disk değişimleri olmaması şartı arandı.

İkinci grubu (kontrol grubu) oluşturacak hasta seçiminde midriyazis sonrası yapılan muayenede;

-Her iki göz lens ön kapsülü ve/veya iris kenarında eksfoliatif materyal bulunmaması,

- Her iki gözde glokomatöz optik disk değişimleri bulunmaması,

- Herhangi bir gözünde GİB değerlerinin 21 mmHg ve üzerinde olmaması şartı arandı.

Çalışmamız için seçilen hasta popülasyonunda diabetes mellitus, tiroid fonksiyon bozukluğu, karaciğer-böbrek yetmezliği olan olgulara yer verilmedi.

Materyal toplarken rutin katarakt cerrahisinin ilk aşaması olan korneadan yan giriş açma işlemi öncesinde 30 gauge kanül takılmış insülin enjektörüne yaklaşık 100-150 µl aköz hüümör aspire edilerek eppendorf tüplerine aktarıldı.

Eşzamanlı olarak hastaların ön kolundan alınan venöz kan iki ayrı tüpe alındı. İlk tüp hastaların serum HDL, LDL, total kolesterol ve selenyum düzeyleri çalışılmak üzere hastane biyokimya laboratuvarına gönderildi. İkincisi ise vakumlu EDTA'lı ve jelli antikoagülansız tüplerde santrifüj edildi. Santrifüj edilen serum örnekleri 3 eppendorf tüpüne dağıtıldı. Gerek serum içeren gerekse de aköz içeren eppendorf tüpleri, numuneler alındıktan en kısa süre sonra çalışma yapılacak zamana kadar -80°C derin dondurucuda saklandı.

Daha sonra -80°C de bekletilen materyaller çalışılmaya başlamadan önce uygun koşullarda çözümleri sağlandı. Paraoksonaz, prolidaz, aldoz redüktaz, glutatyon redüktaz enzim aktiviteleri ile karbonik anhidraz enziminin hidrataz ve esteraz aktiviteleri Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı alt yapısı kullanılarak; bölüm 3.2-3.7'de belirtilen metodlara göre çalışıldı. Bütün serum örnekleri için enzim aktivite ölçümleri üç tekrarla çalışıldı.

3.2. Karbonik Anhidraz Hidrataz Aktivitesinin Belirlenmesi

3.2.1. Karbonik Anhidraz Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi

Aktivite tayini Wilbur Anderson metodu ile yapıldı. Bu yöntemde; CO₂'in hidratasyonu sonucu açığa çıkan H⁺ sebebiyle pH'nın 8,2'den 6,3'e düşmesi için geçen süre, brom timol mavisi indikatörü kullanılarak bulunur.

Bu yönteme göre CA aktivitesi için bir enzim nitesi (EU) enzimsiz olarak meydana gelen CO₂ hidratasyonu süresini yarıya indiren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır. Yani; $EU = (t_0 - t_c) / t_c$ formülüne göre kullanılan enzim çözeltisi hacmi için enzim nitesi hesaplandı. ^{91,92}

3.2.2. Karbonik Anhidraz Aktivite lmnde Kullanılan Ayıraçlar

0,025 M Veronal tamponu; 0,025 mol sodyum barbitalin 900 ml suda çözülüp pH=8,2'ye kadar 1 M HCl ile titrasyonundan sonra saf su ile 1 litreye tamamlandı.

CO₂ zeltisi 0°C'de yarım saat süreyle saf suyun içerisinden CO₂ gazı geçirilerek hazırlandı.

%0,04'lk brom timol mavisi çözeltisi (indikatör olarak kullanılan çözelti) 0,1 g indikatörün 16 ml 0,01 N NaOH içerisinde zldkten sonra hacminin saf suyla 250 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlandı.

3.2.3. Karbonik Anhidraz Hidrataz Aktivite lm İşlemi

Kr olarak hazırlanan tüpe 1 ml 0,025 M veronal tamponu (pH:8,2); 0,1 ml % 0,04'lk brom timol mavisi, 0,6 ml saf su ve 2,5 ml CO₂ zeltisi ilave edildi. Böylece aktivite ölçüm ortamında toplam hacim 4,2 ml oldu. Daha sonra bir kronometre yardımıyla CO₂ zeltisi katıldığı andan itibaren indikatörün mavi renginin sarımsı yeile dönüşmesi (pH: 6,3) için geçen süre belirlendi (t₀). Numune tüpüne ise sudan 0,05 ml azaltarak bunun yerine enzim çözeltisi ilave edildi ve yine en son olarak CO₂ zeltisi ilave edilir edilmez, indikatörün mavi renginin sarımsı yeile dönüşmesi (pH: 6,3) için geçen süre bir kronometre vasıtasıyla belirlendi (t_c).

3.3. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivitesinin Belirlenmesi

3.3.1. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivite lm Yöntemi Prensibi

Bu yöntem, karbonik anhidrazın esteraz aktivitesine sahip olması esasına dayanmaktadır. Prensip olarak karbonik anhidraz, substrat olarak kullanılan p-nitro fenil

asetatı, p-nitro fenol veya p-nitro fenolat'a hidroliz etmekte ve bu da 348 nm'de absorpsiyon vermektedir.⁹³ Aktivite birimi 25°C'da 1 dakikada 1 mikromol p-nitro fenil asetatı hidroliz eden enzim miktarı olarak tanımlandı. Ekstinksiyon katsayısı dikkate alınarak aşağıdaki formülden aktivite birimi hesaplandı:

$$\text{EU/ml} = \frac{\Delta\text{OD}}{5} \times \frac{V_T}{V_N} \times S_F$$

EU/ml: 1 mL'deki enzim ünitesi

ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi

5: Ekstinksiyon katsayısı

V_T = Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi

V_N = Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim nümunesinin hacmi

S_F =Seyrelme faktörü

3.3.2. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

0,05 M Tris-SO₄, pH=7,4 (Esteraz aktivitesinde kullanılan tampon çözelti); 6,055 g Tris 950 ml destile su içerisinde çözülerek, 1 N H₂SO₄ ile pH'sı 7,4'e getirildikten sonra hacim saf su ile 1 litreye tamamlandı.

P-nitrofenil asetat çözeltisi (Substrat çözeltisi); 27 mg p-nitrofenil asetat tartılarak 1 ml aseton içinde çözüldü ve hızlıca karıştırılan 49 ml saf suya yavaş yavaş ilave edildi. Bu çözelti günlük hazırlandı. Çözelti hazırlanırken beher alüminyum folyoyle sarılarak ışıktan korundu.

3.3.3. Karbonik Anhidraz Esteraz Aktivite Ölçüm İşlemi

Karbonik anhidraz enziminin esteraz aktivite ölçüm kuvvet içerikleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Karbonik anhidraz esteraz aktivite ölçüm kuvvet içerikleri

Çözeltiler/ Numune	Kontrol Tüpü (µl)	Numune Tüpü (µl)
Tris-SO ₄ Tampon çözelti	1000	400
p-nitrofenil asetat çözeltisi	-	360
Saf su	-	230
Serum veya aköz numunesi	-	10

Yukarıdaki pipetlemeler yapıldıktan sonra 25°C’da 3 dakika sonra 348 nm’de absorpsiyon ölçüldü. Enzim ünitesi bölüm 3.3.1’deki gibi hesaplandı.

3.4. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi

3.4.1. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi

AR enziminin aktivite ölçümü Cerelli ve arkadaşlarının (1986) kullandığı prosedürün modifiye edilmesiyle gerçekleştirildi. Substrat olarak DL-gliseraldehitin kullanıldığı reaksiyon ortamında harcanan NADPH miktarının 340 nm’de absorbans azalması dikkate alınarak aktivite ölçümü gerçekleştirildi. Aşağıdaki formül uygulanarak enzimin aktivitesi EU/ml cinsinden hesaplandı. ⁹⁴

$$\text{EU/ml} = \frac{\Delta\text{OD}}{6,22} \times \frac{V_T}{V_N} \times S_F$$

EU/ml: 1 mL'deki enzim ünitesi

Δ OD: Bir dakikadaki absorbans değişimi

6,22: Ekstinksiyon katsayısı

V_T = Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi

V_N = Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim nümunesinin hacmi

S_F =Seyrelme faktörü

3.4.2. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

0,01 M Na-fosfat tamponu (pH=5,5); 0,12 g NaH_2PO_4 tartılarak 90 ml saf suda çözüldü, pH=5,5'e ayarlandı ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

0,11 mM NADPH çözeltisi; 0,0045 g NADPH tartılarak 5 ml saf suda çözüldü.

4,7 mM DL-gliseraldehit çözeltisi; 0,021 g DL-gliseraldehit tartılarak 10 ml saf suda çözüldü.

3.4.3. Aldoz Redüktaz Enziminin Aktivite Ölçüm İşlemi

Aldoz redüktaz enziminin aktivite ölçüm küvet içerikleri Tablo 3.2'de verilmiştir

Tablo 3.2. Aldoz redüktaz enziminin aktivite ölçüm küvet içerikleri

Çözeltiler/Numune	Kontrol Tüpü (μ l)	Numune Tüpü (μ l)
Na-fosfat tamponu pH=5,5	250	250
NADPH çözeltisi	100	100
DL-gliseraldehit çözeltisi	100	100
Saf su	550	500
Serum veya aköz numunesi	-	50

Yukarıdaki pipetlemeler yapıldıktan sonra 25°C'da 3 dakika sonra 340 nm'de absorpsiyon ölçüldü. Enzim ünitesi bölüm 3.4.1'deki gibi hesaplandı.

3.5. Paraoksonaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi

3.5.1. Paraoksonaz Enziminin Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi

Aktivite ölçümü paraokson ile paraoksonaz reaksiyonu sonucu oluşan paranitrofenol'ün 412 nm'de absorpsiyon vermesi esasına dayanır. Paranitrofenol'ün molar ekstinksiyon katsayısı (18,29 M⁻¹ cm⁻¹ pH 10,5) aktivitenin hesaplanması için kullanıldı. Paraoksonazın enzim ünitesi 1 dakikada hidroliz olan paraokson'un mikromol sayısıdır.⁹⁵ Paraoksonaz enzimi için aktivite hesabı aşağıdaki gibi yapıldı:

$$\text{EU/ml} = \frac{\Delta\text{OD}}{18,29} \times \frac{V_T}{V_N} \times 1000$$

Bu denklemde:

- EU/ml : 1 ml'deki enzim ünitesi
OD : Bir dakikadaki absorbans değişimi
18,290 : p-nitrofenolün pH: 10,5 daki molar ekstinksiyon katsayısı
V_T : Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi
V_E : Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim numunesinin hacmi
1000: Enzim ünitesi çevirme faktörü

3.5.2. Paraoksonaz Enziminin Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

1 mM CaCl₂ içeren 50 mM Glisin/NaOH tamponu (pH=10,5); 0,375 g glisin ve 0,011 g CaCl₂ alınarak 90 ml saf suda çözüldü. NaOH çözeltisi ile pH 10,5'e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Substrat çözeltisi; 18 µl paraokson alınarak 1ml asetonda çözüldü. Karışım 25 ml suya manyetik karıştırıcı eşliğinde yavaş yavaş ilave edilerek karıştırıldı. Çözelti hazırlanırken beher alüminyum folyoyla sarılarak ışıktan korundu.

3.5.3. Paraoksonaz Enziminin Aktivite Ölçüm İşlemi

Paraoksonaz enziminin aktivite ölçüm küvet içerikleri Tablo 3.3'te verilmiştir:

Tablo 3.3. Paraoksonaz enziminin aktivite ölçüm küvet içerikleri

Çözeltiler/ Numune	Kontrol Tüpü (µl)	Numune Tüpü (µl)
50 mM Glisin/NaOH - 1mM CaCl ₂ (pH:10,5)	500	500
1mM Paraokson	330	330
Saf su	170	120
Serum veya aköz numunesi	-	50

Yukarıdaki pipetlemeler yapıldıktan sonra 25°C'da 3 dakika sonra 412 nm'de absorpsiyon ölçüldü. Enzim ünitesi bölüm 3.5.1'deki gibi hesaplandı.

3.6. Prolidaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

3.6.1. Prolidaz Enzimi Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi

Bu çalışmada prolidaz aktivitesi ölçümü, Chinard'ın yönteminin⁹⁶ modifikasyonu ile Myara^{97,98} tarafından önerilen yöntemle yapılmıştır. Aktivite ölçümünde substrat olarak glisil-prolin substrat olarak kullanılır ve prolidazın peptid bağını parçalaması sonucunda ortamda oluşan prolin, ninhidrinle reaksiyona girer ve oluşan ürün 515 m'de spektrofotometrik olarak ölçülür. Aktivite birimi, 37 °C ve 1

dakikada 1 litrede 1 milimol substratı, değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak tanımlandı. Sonuçlar EU/L olarak verildi. ⁹⁹

Enzim ünitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$\text{Enzim ünitesi/ L} = (A-B)/30 \times [S]/ S \times SF$$

A : İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B : Sıfır zaman tüpü absorbans değeri

30: İnkübasyon süresi (dakika)

[S]: Standart konsantrasyonu (mmol/L)

S : Standart absorbans değeri

SF: Preinkübasyon ortamındaki seyreltme x İnkübasyon ortamındaki seyreltme x Ninhidrin reaksiyonundaki seyreltme (SF= 200x15x5= 8.000)

3.6.2. Prolidaz Enzimi Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

Prolin standardı (1 mmol/l); 0,012gr L-Prolin saf suda çözünüp son hacim 100 ml olacak şekilde seyreltildi. Çalışma çözeltisi olan 0,15 mmol/l, günlük standart olarak bu stoktan hazırlandı.

Ninhidrin çözeltisi; % 85' lik orto fosforik asitten 16,28 ml alınıp, saf su ile 40 ml' ye tamamlanıp 6 M fosforik asit çözeltisi hazırlandı. 60 ml glasiyel asetik asit, 40 ml 6 M' lik fosforik asit çözeltisi ile karıştırıldı. 2,5 gr ninhidrin çözelti içinde manyetik karıştırıcı ısıtarak çözüldü. Bu çözelti 4 °C' de saklandı.

Substrat çözeltisi (Glisil-Prolin: 100 mmol/l); 0,172 g Glisil-Prolin alınarak Ph 8.0 Tris-HCl tamponunda çözüldü.

Mangan (II) Klorür ($MnCl_2 \times 4H_2O$) çözeltisi (5 mmol/l); 0,25 g mangan (II) klorür saf suda çözülüp son hacim 250 ml' ye tamamlandı.

Tris-HCl çözeltisi: (100 mmol/l pH:8); 7,88 g Tris saf suda çözüldü ve 1M HCl ile pH 8.0'a ayarlandı. İşlem sonunda çözeltinin son hacmi 500 ml'ye tamamlandı.

Triklorasetik asit (% 30'lik) çözeltisi; Bu çözelti için 30 gr triklorasetik asit kullanıldı. Triklorasetik asit saf suda çözüldü ve çözeltinin son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

3.6.3. Prolidaz Enzimi Aktivite Ölçüm İşlemi

Kontrol ve PES'li hasta gruplarına ait serum örnekleri ve aközler derin dondurucudan alınıp oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.

1. Öncelikle, 50 µl serum veya aköz örnekleri, 9,95 ml 2,5 mmol/l MnCl₂ ile karıştırıcı yardımıyla karıştırıldı ve 2 saat 37 °C su banyosunda preinkübe edildi.

2. Hasta ve kontrol gruplarının örnekler iki tüpe alındı ve inkübasyon basamağına geçildi. (Tablo 3.4)

Tablo 3.4. Prolidaz enzimi aktivite ölçümünün inkübasyon basamağında tüp içerikleri

Çözeltiler/Numune	1.tüp (0 zaman)	2.tüp (30.dk)
100 mM substrat (µl)	400	400
100 mM tampon (µl)	400	400
Saf su (µl)	100	100
Preinkübe edilmiş numune (µl)	100	100

Bu aşamada inkübasyona bırakılan tüplerde tüplerin ağzı parafilm ile kapatıldı ve tüpler vorteks ile karıştırıldı. Karışım sonunda tüpler 30 dakika boyunca 37°C'de bulunan su banyosunda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sırasında meydana gelen reaksiyonu

durdurmak, enzimi çöktürmek için tüplere 500 µl TCA ilave edildi. Sıfır zaman tüplerine inkübasyon dönemi olmadığından reaktifler katılır katılmaz 500 µl TCA ilave edildi. TCA ilavesinden sonra sıfır zaman ve 30 dakika tüpleri 5 dakika 5000 rpm’de santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan süpernatandan 1ml alındı ve prolidaz aktivitesinin ölçümü için spektrofotometrik analizler yapıldı.

3. Spektrofotometrik ölçüm: Prolidaz aktivitesinin ölçümü sırasında her örnek için 2 ölçüm tüpü hazırlandı. Ayrıca kör ve standart tüpleri hazırlandı. Her tüpün hazırlanma şekli Tablo 3.5’deki gibidir.

Tablo 3.5. Prolidaz enzimi aktivite ölçümünün spektrofotometrik ölçüm basamağında tüp içerikleri

Çözeltiler/Örnek	Kör	Standart	0 zaman	İnkübasyon (30.dk)
Glasiyel asetik asit (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5
Süpernatant (ml)	-	-	1	1
Standart (ml)	-	1	-	-
Distile su (ml)	1	-	-	-
Ninhidrin (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5

Ölçüm hazırlanan tüpler vorteks yardımı ile iyi karıştırıldıktan sonra 20 dakika 95°C’lik su banyosunda bekletildi. Su banyosundan alınan tüplerdeki reaksiyonu durdurmak için tüpler 10 dakika buzlu su banyosunda soğutuldu. Standart, 0. zaman ve inkübasyon ayrı ayrı köre karşı 515 nm’de ölçümler gerçekleştirildi. Enzim ünitesi bölüm 3.6.1’deki formül kullanıldı. Standartın konsantrasyonu 0,15 mmol/L olduğundan;

$$EU/L = (A-B)/30 \times 0,15/S \times 8000 = (A-B)/S \times 40 \text{ formülünden hesaplandı.}$$

Burada S, standart absorbans değeri’dir.

3.7. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

3.7.1. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Ölçüm Yöntemi Prensibi

Glutasyon redüktaz enziminin aktivite ölçümünde spektrofotometrik metod kullanıldı. Carlberg and Mannervik'in tanımladığı gibi 1 mL'lik küvetlerle yapıldı. Bu metod GSSG varlığında 340 nm'de NADPH'ın yükseltgenmesinden dolayı azalan NADPH'ın absorbans vermesi esasına dayanır. 1 dakikalık zaman aralıklarında absorbans azalışı kaydedildi. Enzim aktivitesi aşağıdaki formülden hesaplandı.^{100,101}

$$E\ddot{U}/ml = \frac{\Delta OD}{6,22} \times \frac{V_T}{V_N} \times S_F$$

EU/ml: 1 mL'deki enzim ünitesi

ΔOD : Bir dakikadaki absorbans değişimi

6,22: Ekstinksiyon katsayısı

V_T = Ölçümün yapıldığı toplam küvet hacmi

V_N = Ölçümün yapıldığı küvete ilave edilen enzim nümunesinin hacmi

S_F =Seyrelme faktörü

3.7.2. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

0,1 M Tris-HCl, 1 mM EDTA (pH=8,0) çözeltisi; 1,21 g Tris ve 0,037 g EDTA alınarak 95 mL destile suda çözündürüldü. 1 M HCl çözeltisi ile pH 8,0 yapıldı. Toplam hacim su ile 100 mL'ye tamamlandı.

2 mM NADPH Çözeltisi; 16,6 mg NADPH alınarak hacmi suyla 10 mL'ye tamamlandı.

20 mM GSSG Çözeltisi: 123,76 mg GSSG tartılarak bir miktar saf suda çözündü.

Son hacmi 10 mL olana kadar saf su ilave edildi

3.7.3. Glutasyon Redüktaz Enzim Aktivite Ölçüm İşlemi

Glutasyon redüktaz enziminin aktivite ölçüm küvet içerikleri Tablo 3.6. da verilmiştir:

Tablo 3.6. Glutasyon redüktaz enziminin aktivite ölçüm küvet içerikleri

Çözeltiler	Kontrol küveti (µL)	Numune küveti (µL)
Tris-HCl/EDTA (pH=8,0)	200	200
NADPH Çözeltisi	100	100
GSSG Çözeltisi	100	100
Saf su	600	590
Enzim örneği	-	10

Yukarıdaki pipetlemeler yapıldıktan sonra 25°C’da 1 dakika zaman aralıklarında 340 nm’de absorpsiyon azalışları ölçüldü. Enzim ünitesi bölüm 3.7.1’deki gibi hesaplandı.

3.8. Serumda Selenyum, HDL, LDL, Total Kolesterol Tayini

Kontrol grubu ve PES’li hastalardan alınan serum örneklerinden HDL, LDL, total kolesterol ve selenyum düzeyi analizleri Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarı alt yapısında çalışıldı.

3.9. İstatistiksel Analiz Yöntemi:

Her bir değişken için mevcut olan numunelerde kontrol grubu ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığı test edilmiştir.

Bağımsız gruplar t-testi prosedürü, her iki gruba ilişkin popülasyon varyanslarının eşit olup olmaması durumuna bağlı olarak kendi içerisinde bir değişim ihtiva etmektedir. Dolayısıyla grup ortalamalarının karşılaştırmasına geçmeden önce grupların normal dağılımlı olup olmadığı ve grupların alındığı popülasyonun varyanslarının eşit olup olmadığına testine ilişkin sonuçlara yer verilmiştir. Normallik Shapiro-Wilk normallik testi ile varyansların homojenliği ise F-testi ile test edilmiştir.

Normallik testlerine göre yalnızca CA esteraz aköz numunesi, selenyum serum numunesi ve total kolesterol serum numunesine ilişkin gruplar normal dağılmaktadır. ($p > 0.05$, Tablo 3.7). Dolayısıyla belirtilen numuneler bazında bu üç değişkenin grup karşılaştırması için bağımsız gruplar iki örnek t-testi kullanılmıştır. Özel olarak total kolesterol serum numunesine ilişkin gruplara dair popülasyon varyansları eşit olmadığından ($p < 0.05$, Tablo 3.7), bu değişken için Welch iki örnek t-testi uygulanmıştır. Diğer tüm değişkenler için ise iki örnek Wilcoxon işaretli sıralar testi kullanılmıştır.

Tablo 3.7. Normallik testi ve varyansların homojenliği testi

Değişken	Numuneler	Gruplar	Shapiro-Wilk testi		F-testi	
			W	p-değeri	F	p-değeri
CA ESTERAZ	Serum	SK	0.9202	0.01856	1.3587	0.3906
		SP	0.95958	0.2515		
	Aköz	AK	0.94583	0.1005	0.89875	0.7646
		AP	0.94421	0.0901		
CA HİDRATAZ	Serum	SK	0.90526	0.007312	0.36245	0.005258
		SP	0.88312	0.001999		
	Aköz	AK	0.9565	0.2054	0.51173	0.06244
		AP	0.92964	0.03418		
PON	Serum	SK	0.90494	0.007173	0.99841	0.9964
		SP	0.97432	0.608		
	Aköz	AK	0.65821	1.61e-07	1.4146	0.3316
		AP	0.79135	2.217e-05		
AR	Serum	SK	0.92692	0.02861	0.61508	0.1747
		SP	0.89593	0.004185		
GR	Serum	SK	0.95785	0.2245	0.76814	0.4598
		SP	0.92223	0.02114		
	Aköz	AK	0.89801	0.004732	1.0491	0.893
		AP	0.9664	0.3876		
PROLİDAZ	Serum	SK	0.7014	6.855e-07	0.067901	1.703e-11
		SP	0.6817	3.487e-07		
	Aköz	AK	0.39132	1.391e-10	0.05143	3.186e-13
		AP	0.30499	2.254e-11		
SELENYUM	Serum	SK	0.95593	0.1978	1.0013	0.9971
		SP	0.95156	0.1478		
HDL	Serum	SK	0.89191	0.003308	1.6466	0.1638
		SP	0.93899	0.06347		
LDL	Serum	SK	0.90318	0.006447	1.0623	0.8654
		SP	0.92831	0.03134		
TOTAL KOLESTROL	Serum	SK	0.98098	0.8156	0.27412	0.0004366
		SP	0.94445	0.09156		

Çalışmamızda çoklu parametreler arasındaki ilişkiyi incelemek için Spearman korelasyon testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil olan 66 hastanın; 23'ü kadın (% 34.8) , 41'i erkekti (% 65.15). Gruplara göre cinsiyet dağılımları ise; kontrol grubundaki hastaların 12'si kadın (% 36.3), 21'i erkekti (% 63.6). PES'li hastaların 11'i kadın (% 33.3), 22'si ise erkekti (% 66.6). (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Hastaların cinsiyet özellikleri (%)

Grup	Erkek	Kadın
Kontrol	21 (% 63,6)	12 (% 36,3)
PES	22 (% 66,6)	11 (% 33,3)

Çalışmaya dahil edilen PES'li gruptaki kadınların yaş ortalamaları 74.2 iken, erkeklerin yaş ortalaması 74.3 idi. Kontrol grubundaki kadınların yaş ortalamaları 70.3 iken erkeklerin yaş ortalaması 66.4 idi. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2. Hastaların yaş ortalamaları

Grup	Yaş ortalaması (Erkek)	Yaş ortalaması (Kadın)
Kontrol	66	70,3
PES +	74.3	74.2

Serum numunelerine ilişkin her bir değişken için grup karşılaştırmalarına ait test sonuçları Tablo 4.3'te sunulmaktadır.

Tablo 4.3. Serum numunelerine ilişkin grup karşılaştırmaları

Değişken	Gruplar	Ortalama	Std.sapma	Grup karşılaştırması	
				Test istatistiği	p-değeri
CA ESTERAZ	SK	0.695	0.210	458*	0.2698
	SP	0.759	0.180		
CA HİDRATAZ	SK	27.3	16.0	274*	0.0003967
	SP	46.5	26.6		
PON	SK	36.9	19.3	458.5*	0.2728
	SP	41.5	19.3		
AR	SK	0.137	0.0390	594.5*	0.5235
	SP	0.140	0.0497		
GR	SK	0.269	0.0623	502*	0.5885
	SP	0.279	0.0711		
PROLİDAZ	SK	0.332	0.358	418*	0.09265
	SP	0.978	1.37		
SELENYUM	SK	80.2	36.1	-0.033443**	0.9734
	SP	80.5	36.1		
HDL	SK	43.0	11.6	408.5*	0.08183
	SP	45.8	9.06		
LDL	SK	134	34.4	544.5*	>0.9999
	SP	133	33.3		
TOTAL KOLESTROL	SK	196	36.8	4.5567**	3.546-10 ⁻⁵
	SP	133	70.2		

*: Wilcoxon rank sum test, **: Two sample t-test
(SK: Serum kontrol -SP: Serum PES'li)

Aköz numunelerine ilişkin her bir değişken için grup karşılaştırmalarına ait test sonuçları ise Tablo 4.4'te sunulmaktadır.

Tablo 4.4. Aköz numunelerine ilişkin grup karşılaştırmaları

Değişken	Gruplar	Ortalama	Std.sapma	Grup karşılaştırması	
				Test istatistiği	p-değeri
CA ESTERAZ	AK	0.0606	0.0209	0.80197**	0.4255
	AP	0.0564	0.0221		
CA HİDRATAZ	AK	29.1	13.8	439*	0.1781
	AP	34.8	19.3		
PON	AK	11.4	1.88	458.5*	0.2728
	AP	11.7	1.58		
GR	AK	0.454	0.124	501.5*	0.5849
	AP	0.462	0.121		
PROLİDAZ	AK	0.303	0.492	357.5*	0.01349
	AP	0.921	2.17		

*: Wilcoxon rank sum test, **: Two sample t-test
(AK: Aköz kontrol-AP: Aköz PES'li)

CA hidrataz değişkeni:

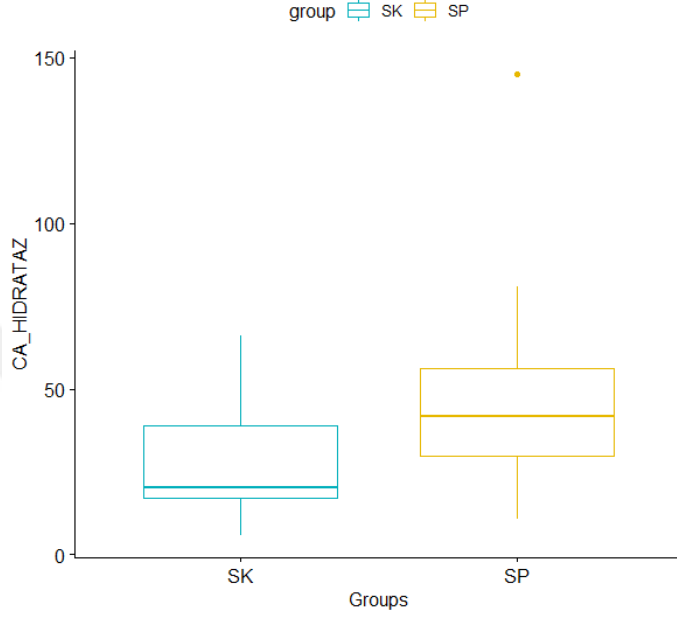
Serum ve aköz numunelerinde karbonik anhidraz hidrataz aktivitesi bölüm 3.2’de belirtildiği şekilde tayin edildi. Enzim üniteleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.5’te verilmiştir.

Tablo 4.5. Karbonik anhidraz hidrataz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)

SK1	66,01	SP1	80,97	AK1	28,78	AP1	17,01
SK2	42,41	SP2	53,67	AK2	29,91	AP2	44,8
SK3	45,12	SP3	144,93	AK3	27,79	AP3	17,29
SK4	20,39	SP4	67,14	A4K	19,11	AP4	24,6
SK5	5,91	SP5	28,36	AK5	29,04	AP5	21,69
SK6	9,12	SP6	29,91	AK6	18,06	AP6	34,6
SK7	17,14	SP7	16,41	AK7	17,08	AP7	18,36
SK8	12,02	SP8	69,01	AK8	19,03	AP8	30,4
SK9	24,1	SP9	70,95	AK9	24,04	AP9	38,4
SK10	29,34	SP10	41,61	AK10	33,03	AP10	50,2
SK11	19,71	SP11	56,31	AK11	27,05	AP11	18
SK12	27,12	SP12	30,81	AK12	30	AP12	24
SK13	13,12	SP13	13,48	AK13	20,05	AP13	30,4
SK14	13,01	SP14	41,73	AK14	40,02	AP14	44
SK15	46,63	SP15	13,59	AK15	39,02	AP15	53,13
SK16	16,39	SP16	10,57	AK16	36,86	AP16	34,4
SK17	25,39	SP17	39,01	AK17	31,75	AP17	30,4
SK18	17,89	SP18	38,24	AK18	31,05	AP18	80,29
SK19	19,94	SP19	33,81	AK19	61,13	AP19	89,99
SK20	6,09	SP20	50,88	AK20	28,02	AP20	50,24
SK21	38,87	SP21	48,26	AK21	30	AP21	49,03
SK22	19,7	SP22	38,42	AK22	52,12	AP22	34,9
SK23	13,34	SP23	68,89	AK23	62,33	AP23	34,6
SK24	29,75	SP24	53,8	AK24	49,06	AP24	38,4
SK25	17,77	SP25	47,19	AK25	34,02	AP25	8,4
SK26	39,53	SP26	77,2	AK26	39,08	AP26	34,5
SK27	60,98	SP27	21,86	AK27	31	AP27	68,3
SK28	61,26	SP28	79,92	AK28	18,03	AP28	34,8
SK29	44,49	SP29	44,94	AK29	9,03	AP29	12,91
SK30	24,79	SP30	21,92	AK30	22,05	AP30	2,83
SK31	18,32	SP31	41,38	AK31	9,12	AP31	34,8
SK32	34,44	SP32	27,08	AK32	10,21	AP32	34,7
SK33	19,19	SP33	32,19	AK33	2,33	AP33	8,78

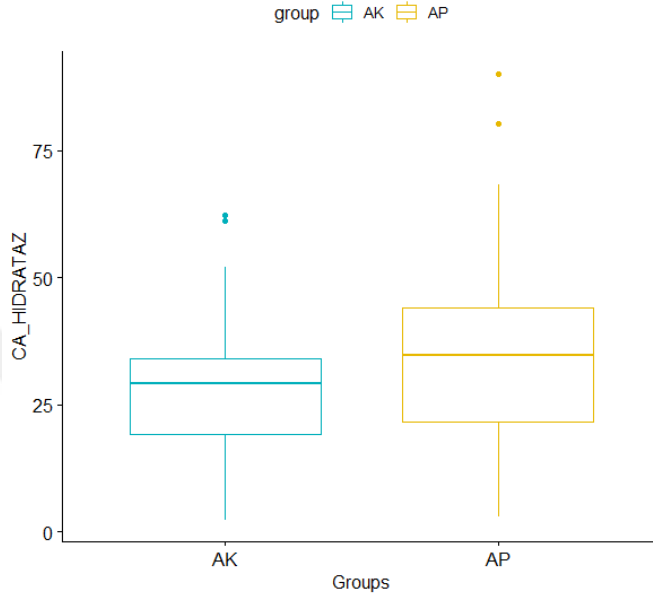
(SK: Serum kontrol-AK: Aköz kontrol-SP: Serum PES’li-AP: Aköz PES’li)

Her bir grup için serumda CA hidrataz enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 27.3 EU/ml, PES'li grupta 46.5 EU/ml seviyelerinde tespit edildi. PES'li grubun serum CA hidrataz aktivite değerlerinde belirgin derecede artış saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. (p: 0.0003967) (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Kontrol ve PES'li grupta serum CA hidrataz enzim aktivitelерinin karşılaştırılması

Her bir grup için aközde tespit edilen CA hidrataz enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 29.1 EU/ml, PES’li grupta 34.8 EU/ml seviyelerinde bulundu. PES’li grubun aköz CA Hidrataz değerlerinde artış olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (p: 0.1781) (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Kontrol ve PES’li grupta aköz CA hidrataz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

CA esteraz değişkeni:

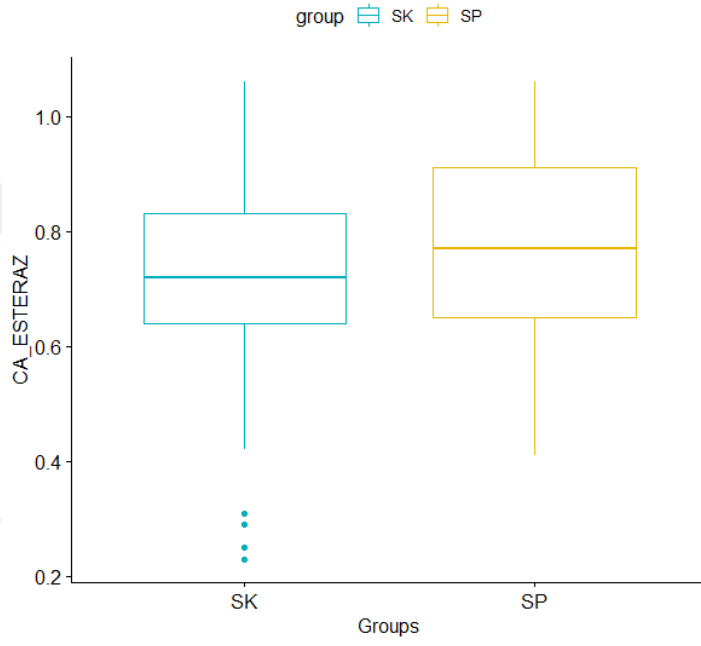
Serum ve aköz numunelerinde karbonik anhidraz esteraz enzim aktivitesi bölüm 3.3'te belirtildiği şekilde tayin edildi. Enzim üniteleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. Karbonik anhidraz esteraz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)

SK1	0,25	SP1	0,55	AK1	0,05	AP1	0,03
SK2	0,29	SP2	0,91	AK2	0,05	AP2	0,04
SK3	0,23	SP3	0,41	AK3	0,05	AP3	0,03
SK4	0,52	SP4	0,41	A4K	0,02	AP4	0,05
SK5	0,42	SP5	0,51	AK5	0,02	AP5	0,03
SK6	0,46	SP6	0,51	AK6	0,03	AP6	0,03
SK7	0,31	SP7	0,43	AK7	0,03	AP7	0,03
SK8	0,87	SP8	0,61	AK8	0,12	AP8	0,06
SK9	0,64	SP9	0,65	AK9	0,07	AP9	0,08
SK10	0,63	SP10	0,68	AK10	0,07	AP10	0,06
SK11	0,79	SP11	0,79	AK11	0,06	AP11	0,07
SK12	0,83	SP12	0,73	AK12	0,08	AP12	0,06
SK13	0,69	SP13	0,78	AK13	0,08	AP13	0,1
SK14	0,81	SP14	0,93	AK14	0,06	AP14	0,05
SK15	0,69	SP15	0,77	AK15	0,06	AP15	0,06
SK16	0,94	SP16	0,83	AK16	0,1	AP16	0,08
SK17	0,69	SP17	0,91	AK17	0,08	AP17	0,02
SK18	0,73	SP18	0,67	AK18	0,06	AP18	0,08
SK19	0,72	SP19	0,74	AK19	0,08	AP19	0,09
SK20	0,74	SP20	1,03	AK20	0,06	AP20	0,1
SK21	0,93	SP21	0,93	AK21	0,07	AP21	0,09
SK22	0,81	SP22	1,06	AK22	0,07	AP22	0,05
SK23	0,81	SP23	0,99	AK23	0,06	AP23	0,08
SK24	0,83	SP24	0,97	AK24	0,06	AP24	0,03
SK25	0,65	SP25	0,88	AK25	0,04	AP25	0,06
SK26	0,69	SP26	0,93	AK26	0,08	AP26	0,05
SK27	0,86	SP27	0,73	AK27	0,06	AP27	0,07
SK28	0,72	SP28	0,86	AK28	0,05	AP28	0,06
SK29	0,94	SP29	0,64	AK29	0,07	AP29	0,05
SK30	0,67	SP30	0,8	AK30	0,06	AP30	0,04
SK31	0,8	SP31	0,74	AK31	0,04	AP31	0,04
SK32	0,9	SP32	0,91	AK32	0,06	AP32	0,05
SK33	1,06	SP33	0,75	AK33	0,05	AP33	0,04

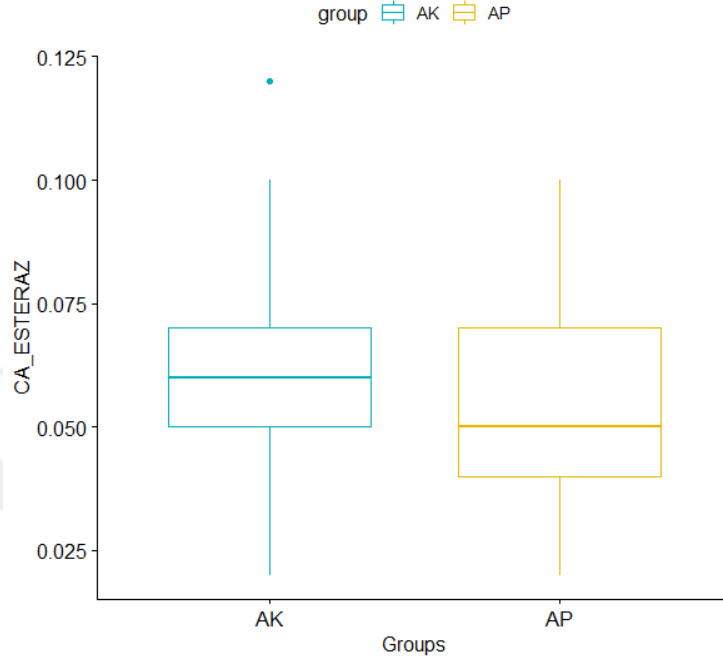
(SK: Serum kontrol-AK: Aköz kontrol-SP: Serum PES'li-AP: Aköz PES'li)

Her bir grup için serumda tespit edilen CA esteraz enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 0.695 EU/ml, PES'li grupta 0.759 EU/ml seviyelerinde bulundu. Serumda CA esteraz enzim aktiviteleri PES'li grupta daha yüksek seviyede çıkmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (p: 0.2698) (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Kontrol ve PES'li grupta serum CA esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

Her bir grup için aközde tespit edilen CA esteraz enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 0.0606 EU/ml, PES'li grupta 0.0564 EU/ml seviyelerinde bulundu. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (p: 0.4255) (Şekil 4.4)



Şekil 4.4. Kontrol ve PES'li grupta aköz CA esteraz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

PON değişkeni:

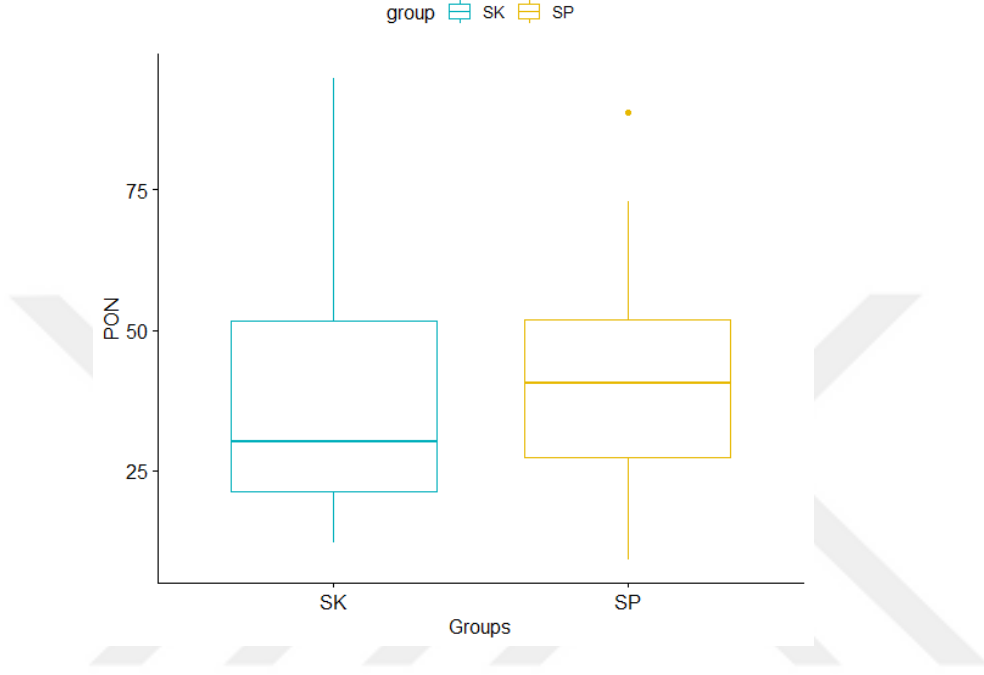
Serum ve aköz numunelerinde paraoksonaz aktivitesi bölüm 3.5'te belirtildiği şekilde tayin edildi. Enzim üniteleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.7'de verilmiştir.

Tablo 4.7. Paraoksonaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)

SK1	18,67	SP1	23,6	AK1	11,38	AP1	11,4
SK2	19,07	SP2	32,61	AK2	11,36	AP2	11,41
SK3	20,39	SP3	22,01	AK3	11,33	AP3	12,14
SK4	39,28	SP4	23,38	AK4	9,11	AP4	11,42
SK5	36,38	SP5	30,85	AK5	11,32	AP5	12,75
SK6	29,19	SP6	29,15	AK6	18,22	AP6	11,39
SK7	23,76	SP7	35,07	AK7	14,57	AP7	14,57
SK8	27,16	SP8	9,24	AK8	11,39	AP8	11,38
SK9	30,23	SP9	10,89	AK9	11,4	AP9	11,4
SK10	23,7	SP10	24,42	AK10	11,37	AP10	11,43
SK11	14,5	SP11	20,22	AK11	11,36	AP11	11,42
SK12	12,21	SP12	29,75	AK12	11,38	AP12	11,39
SK13	30,07	SP13	34,58	AK13	11,34	AP13	9,11
SK14	35,39	SP14	16,25	AK14	11,38	AP14	11,38
SK15	21,24	SP15	27,41	AK15	11,37	AP15	12,75
SK16	29,25	SP16	51,44	AK16	10,93	AP16	11,4
SK17	18,94	SP17	61,96	AK17	10,93	AP17	11,41
SK18	18,18	SP18	48,61	AK18	11,35	AP18	9,11
SK19	30,96	SP19	44,97	AK19	9,11	AP19	7,28
SK20	26,47	SP20	51,89	AK20	11,38	AP20	11,37
SK21	16,36	SP21	39,48	AK21	11,35	AP21	13,54
SK22	33,04	SP22	42,52	AK22	9,11	AP22	11,38
SK23	52,88	SP23	45,56	AK23	9,11	AP23	11,37
SK24	51,02	SP24	40,69	AK24	11,37	AP24	11,41
SK25	63,78	SP25	43,74	AK25	11,39	AP25	11,42
SK26	60,74	SP26	44,97	AK26	11,37	AP26	11,4
SK27	55,27	SP27	66,82	AK27	11,41	AP27	11,39
SK28	51,67	SP28	88,69	AK28	11,4	AP28	11,41
SK29	49,2	SP29	72,89	AK29	11,39	AP29	12,75
SK30	57,7	SP30	60,14	AK30	11,38	AP30	14,57
SK31	67,43	SP31	63,78	AK31	9,11	AP31	11,7
SK32	60,14	SP32	72,89	AK32	9,11	AP32	11,6
SK33	94,76	SP33	60,14	AK33	16,4	AP33	16,4

(SK: Serum kontrol-AK: Aköz kontrol-SP: Serum PES'li-AP: Aköz PES'li)

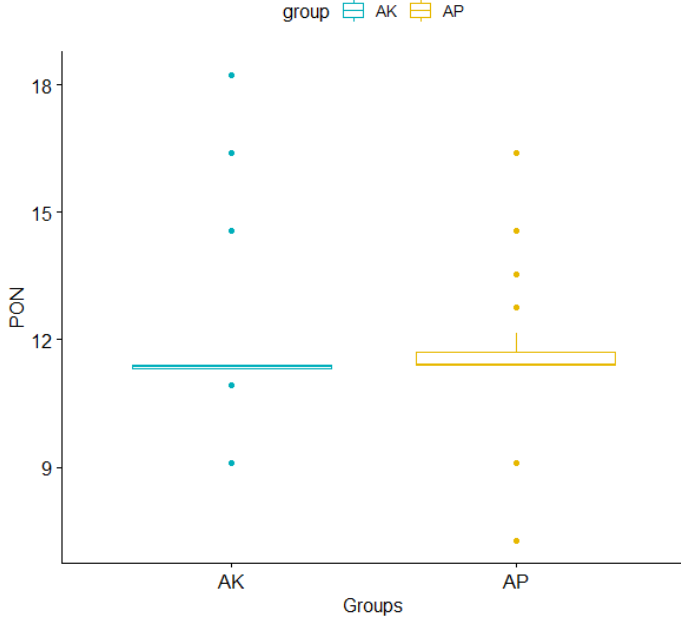
Her bir grup için serumda PON enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 36.9 EU/ml, PES'li grupta 41.5 EU/ml seviyelerinde tespit edildi. PES'li grubun serum PON değerlerinde artış saptandı fakat iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. (p : 0.2728) (Şekil 4.5)



Şekil 4.5. Kontrol ve PES'li grupta serum PON enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

Her bir grup için aközde tespit edilen PON enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 11.4 EU/ml, PES'li grupta 11.7 EU/ml seviyelerinde bulundu. Aköz PON seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

(p : 0.2728) (Şekil 4.6)



Şekil 4.6. Kontrol ve PES'li grupta aköz PON enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

AR değişkeni:

Serum ve aköz numunelerinde aldoz redüktaz enzim aktivitesi bölüm 3.4'te belirtildiği şekilde tayin edildi. Enzim üniteleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.8'de verilmiştir.

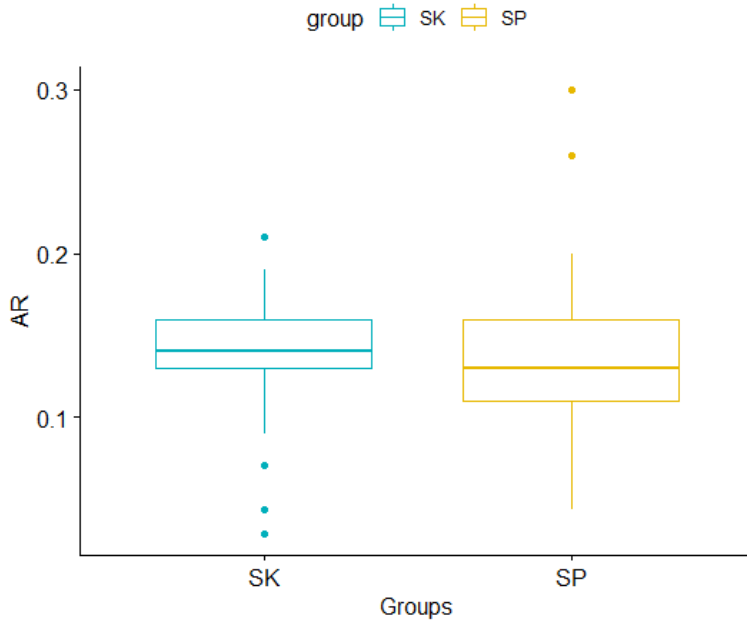
Tablo 4.8. Aldoz redüktaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)

SK1	0,029	SP1	0,26	AK1	Aktivite yok	AP1	Aktivite yok
SK2	0,044	SP2	0,3	AK2	Aktivite yok	AP2	Aktivite yok
SK3	0,071	SP3	0,044	AK3	Aktivite yok	AP3	Aktivite yok
SK4	0,18	SP4	0,051	A4K	Aktivite yok	AP4	Aktivite yok
SK5	0,17	SP5	0,19	AK5	Aktivite yok	AP5	Aktivite yok
SK6	0,18	SP6	0,17	AK6	Aktivite yok	AP6	Aktivite yok
SK7	0,14	SP7	0,2	AK7	Aktivite yok	AP7	Aktivite yok
SK8	0,21	SP8	0,17	AK8	Aktivite yok	AP8	Aktivite yok
SK9	0,15	SP9	0,12	AK9	Aktivite yok	AP9	Aktivite yok
SK10	0,18	SP10	0,17	AK10	Aktivite yok	AP10	Aktivite yok
SK11	0,17	SP11	0,13	AK11	Aktivite yok	AP11	Aktivite yok
SK12	0,14	SP12	0,16	AK12	Aktivite yok	AP12	Aktivite yok
SK13	0,16	SP13	0,11	AK13	Aktivite yok	AP13	Aktivite yok
SK14	0,14	SP14	0,15	AK14	Aktivite yok	AP14	Aktivite yok
SK15	0,11	SP15	0,17	AK15	Aktivite yok	AP15	Aktivite yok
SK16	0,13	SP16	0,11	AK16	Aktivite yok	AP16	Aktivite yok
SK17	0,13	SP17	0,1	AK17	Aktivite yok	AP17	Aktivite yok
SK18	0,11	SP18	0,11	AK18	Aktivite yok	AP18	Aktivite yok
SK19	0,18	SP19	0,1	AK19	Aktivite yok	AP19	Aktivite yok
SK20	0,13	SP20	0,13	AK20	Aktivite yok	AP20	Aktivite yok
SK21	0,19	SP21	0,12	AK21	Aktivite yok	AP21	Aktivite yok
SK22	0,09	SP22	0,15	AK22	Aktivite yok	AP22	Aktivite yok
SK23	0,11	SP23	0,14	AK23	Aktivite yok	AP23	Aktivite yok
SK24	0,12	SP24	0,13	AK24	Aktivite yok	AP24	Aktivite yok
SK25	0,13	SP25	0,14	AK25	Aktivite yok	AP25	Aktivite yok
SK26	0,14	SP26	0,14	AK26	Aktivite yok	AP26	Aktivite yok
SK27	0,14	SP27	0,12	AK27	Aktivite yok	AP27	Aktivite yok
SK28	0,14	SP28	0,13	AK28	Aktivite yok	AP28	Aktivite yok
SK29	0,13	SP29	0,15	AK29	Aktivite yok	AP29	Aktivite yok
SK30	0,14	SP30	0,1	AK30	Aktivite yok	AP30	Aktivite yok
SK31	0,14	SP31	0,1	AK31	Aktivite yok	AP31	Aktivite yok
SK32	0,16	SP32	0,12	AK32	Aktivite yok	AP32	Aktivite yok
SK33	0,15	SP33	0,12	AK33	Aktivite yok	AP33	Aktivite yok

(SK: Serum kontrol-AK: Aköz kontrol-SP: Serum PES'li-AP: Aköz PES'li)

Her bir grup için serumda AR enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 0.137 EU/ml, PES'li grupta 0.140 EU/ml seviyelerinde tespit edildi. Serum AR seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. (p : 0.5235) (Şekil 4.7)

Her iki grupta aköz örneklerinde yapılan çalışmada aldoz reduktaz enzim aktivitesi tespit edilmedi.



Şekil 4.7. Kontrol ve PES'li grupta serum AR enzim aktiviteilerinin karşılaştırılması

GR değişkeni:

Serum ve aköz numunelerinde glutasyon redüktaz aktivitesi bölüm 3.7’de belirtildiği şekilde tayin edildi. Enzim üniteleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.9’da verilmiştir.

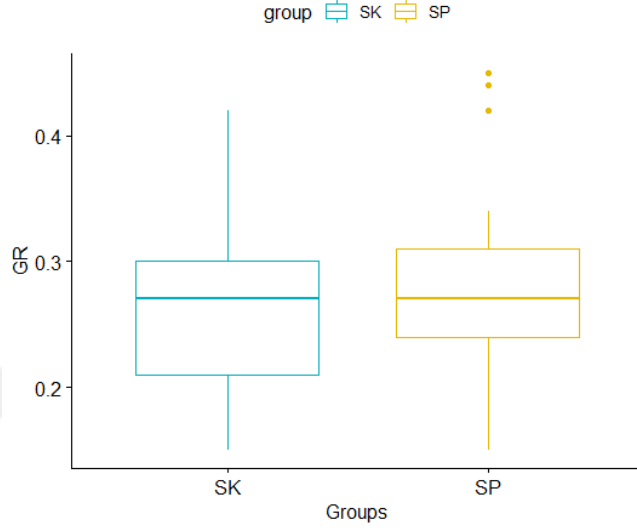
Tablo 4.9. Glutasyon redüktaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/ml)

SK1	0,41	SP1	0,42	AK1	0,45	AP1	0,73
SK2	0,15	SP2	0,44	AK2	0,46	AP2	0,46
SK3	0,42	SP3	0,45	AK3	0,44	AP3	0,63
SK4	0,28	SP4	0,24	AK4	0,49	AP4	0,47
SK5	0,31	SP5	0,27	AK5	0,54	AP5	0,53
SK6	0,29	SP6	0,31	AK6	0,58	AP6	0,54
SK7	0,31	SP7	0,31	AK7	0,64	AP7	0,62
SK8	0,31	SP8	0,31	AK8	0,61	AP8	0,51
SK9	0,28	SP9	0,27	AK9	0,63	AP9	0,63
SK10	0,33	SP10	0,23	AK10	0,57	AP10	0,58
SK11	0,16	SP11	0,33	AK11	0,61	AP11	0,61
SK12	0,35	SP12	0,28	AK12	0,55	AP12	0,58
SK13	0,28	SP13	0,27	AK13	0,57	AP13	0,26
SK14	0,27	SP14	0,24	AK14	0,61	AP14	0,45
SK15	0,35	SP15	0,31	AK15	0,45	AP15	0,33
SK16	0,27	SP16	0,16	AK16	0,23	AP16	0,21
SK17	0,27	SP17	0,15	AK17	0,28	AP17	0,46
SK18	0,26	SP18	0,16	AK18	0,26	AP18	0,28
SK19	0,26	SP19	0,15	AK19	0,24	AP19	0,32
SK20	0,27	SP20	0,32	AK20	0,25	AP20	0,29
SK21	0,28	SP21	0,3	AK21	0,45	AP21	0,31
SK22	0,21	SP22	0,32	AK22	0,25	AP22	0,47
SK23	0,19	SP23	0,25	AK23	0,25	AP23	0,48
SK24	0,21	SP24	0,26	AK24	0,46	AP24	0,46
SK25	0,26	SP25	0,28	AK25	0,45	AP25	0,45
SK26	0,21	SP26	0,27	AK26	0,46	AP26	0,46
SK27	0,2	SP27	0,34	AK27	0,44	AP27	0,45
SK28	0,3	SP28	0,28	AK28	0,43	AP28	0,46
SK29	0,28	SP29	0,27	AK29	0,47	AP29	0,51
SK30	0,28	SP30	0,28	AK30	0,45	AP30	0,47
SK31	0,21	SP31	0,23	AK31	0,49	AP31	0,36
SK32	0,2	SP32	0,24	AK32	0,42	AP32	0,36
SK33	0,23	SP33	0,27	AK33	0,49	AP33	0,51

(SK: Serum kontrol-AK: Aköz kontrol-SP: Serum PES’li-AP: Aköz PES’li)

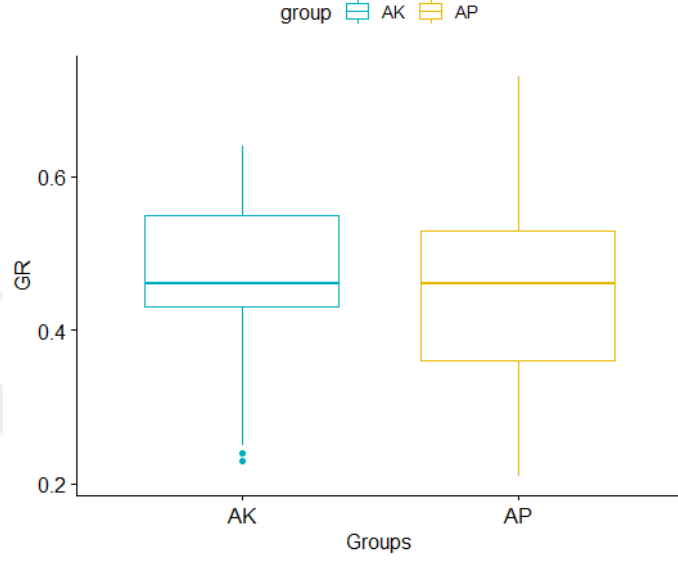
Her bir grup için serumda GR enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 0.269 EU/ml, PES'li grupta 0.279 EU/ml seviyelerinde tespit edildi. Serum GR seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

(p: 0.5885) (Şekil 4.8)



Şekil 4.8. Kontrol ve PES'li grupta serum GR enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

Her iki grup aközde tespit edilen GR enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 0.454 EU/ml, PES'li grupta 0.462 EU/ml seviyelerinde bulundu. Aköz örneklerinde GR seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. (p: 0.5849) (Şekil 4.9)



Şekil 4.9. Kontrol ve PES'li grupta aköz GR enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

Prolidaz değişkeni:

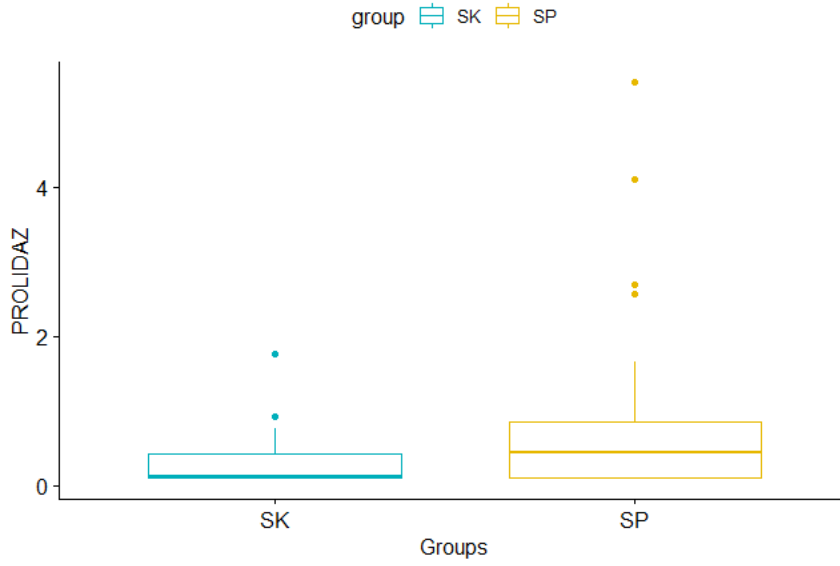
Serum ve aköz numunelerinde prolidaz aktivitesi bölüm 3.6’da belirtildiği şekilde tayin edildi. Enzim üniteleri hesaplandı. Sonuçlar Tablo 4.10 da verilmiştir.

Tablo 4.10. Prolidaz enzim aktivitesi sonuçları (EU/lt)

SK1	0,11	SP1	0,1	AK1	0,31	AP1	0,91
SK2	0,1	SP2	0,72	AK2	0,3	AP2	0,26
SK3	0,1	SP3	0,1	AK3	0,3	AP3	0,9
SK4	0,21	SP4	0,1	A4K	0,1	AP4	1,17
SK5	0,34	SP5	2,56	AK5	0,74	AP5	0,4
SK6	1,76	SP6	0,85	AK6	0,16	AP6	0,29
SK7	0,77	SP7	0,45	AK7	0,1	AP7	0,29
SK8	0,72	SP8	0,85	AK8	0,1	AP8	0,1
SK9	0,33	SP9	1,65	AK9	0,1	AP9	0,1
SK10	0,75	SP10	0,56	AK10	0,1	AP10	0,9
SK11	0,08	SP11	0,56	AK11	0,32	AP11	0,1
SK12	0,75	SP12	0,91	AK12	0,1	AP12	0,1
SK13	0,93	SP13	0,49	AK13	0,1	AP13	0,2
SK14	0,43	SP14	0,1	AK14	0,1	AP14	0,1
SK15	0,43	SP15	0,43	AK15	0,1	AP15	0,1
SK16	0,12	SP16	0,74	AK16	0,13	AP16	0,1
SK17	0,43	SP17	0,1	AK17	0,68	AP17	0,1
SK18	0,19	SP18	0,42	AK18	0,1	AP18	0,1
SK19	0,1	SP19	0,1	AK19	0,1	AP19	0,1
SK20	0,3	SP20	0,1	AK20	0,1	AP20	12,8
SK21	0,1	SP21	0,68	AK21	0,1	AP21	0,1
SK22	0,1	SP22	5,4	AK22	0,1	AP22	0,93
SK23	0,1	SP23	4,1	AK23	0,1	AP23	0,92
SK24	0,4	SP24	2,7	AK24	2,9	AP24	0,9
SK25	0,1	SP25	4,1	AK25	0,29	AP25	1
SK26	0,1	SP26	2,7	AK26	0,28	AP26	0,8
SK27	0,1	SP27	0,1	AK27	0,3	AP27	0,9
SK28	0,1	SP28	0,1	AK28	0,31	AP28	1
SK29	0,1	SP29	0,1	AK29	0,32	AP29	0,9
SK30	0,1	SP30	0,1	AK30	0,28	AP30	0,9
SK31	0,1	SP31	0,1	AK31	0,29	AP31	0,91
SK32	0,52	SP32	0,1	AK32	0,3	AP32	1
SK33	0,1	SP33	0,1	AK33	0,3	AP33	1

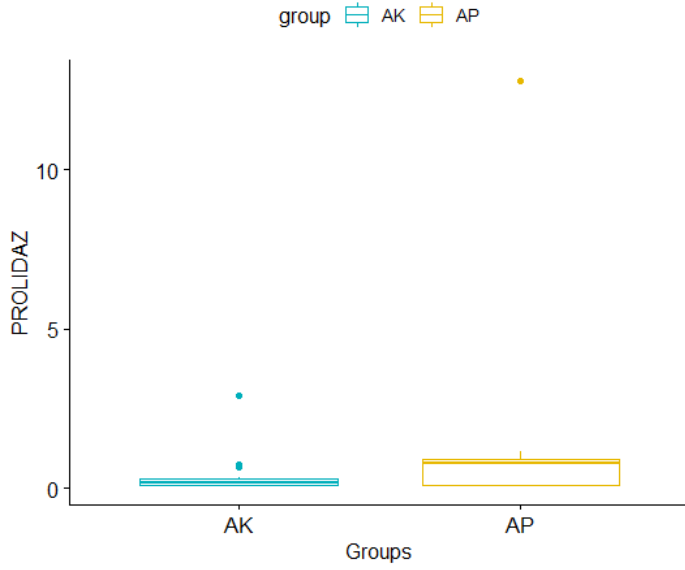
(SK: Serum kontrol-AK: Aköz kontrol-SP: Serum PES’li-AP: Aköz PES’li)

Her bir grup için serumda prolidaz enzim aktivite değerleri; kontrol grubunda ortalama 0.332 EU/lt, PES'li grupta 0.978 EU/lt seviyelerinde tespit edildi. PES'li grubun serum prolidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre yaklaşık 3 kat kadar bir artış saptanmasına rağmen, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildi. (p: 0.09265) (Şekil 4.10)



Şekil 4.10. Kontrol ve PES'li grupta serum prolidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

Her bir grup için aközde tespit edilen prolidaz enzim aktivite düzeyleri; kontrol grubunda ortalama 0.303 EU/lt, PES’li grupta 0.921 EU/lt seviyelerinde bulundu. PES’li grubun aköz prolidaz seviyelerinde belirgin derece artış tespit edildi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. (p: 0.01349) (Şekil 4.11)



Şekil 4.11. Kontrol ve PES’li grupta aköz prolidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması

Selenyum değişkeni:

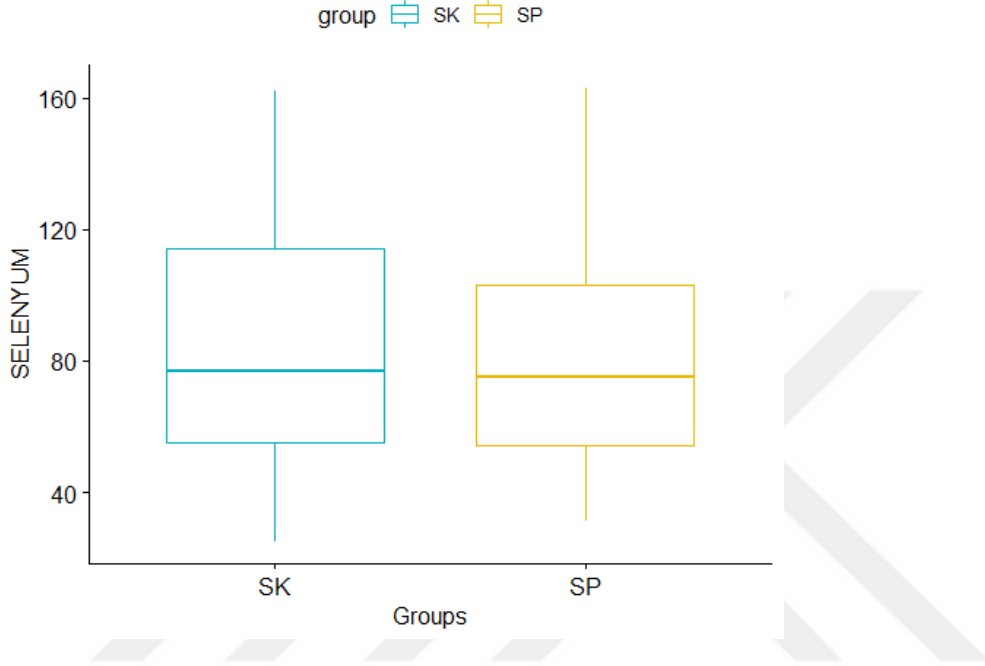
Serum selenyum dzeyleri Tablo 4.11 de verilmiştir.

Tablo 4.11. Serum selenyum dzeyleri (mikrog/lt)

SK1	118	SP1	135
SK2	82	SP2	123
SK3	134	SP3	85
SK4	162	SP4	75
SK5	81	SP5	156
SK6	114	SP6	120
SK7	88	SP7	89
SK8	122	SP8	69
SK9	80	SP9	88
SK10	69	SP10	32
SK11	119	SP11	54
SK12	154	SP12	46
SK13	54	SP13	58
SK14	55	SP14	65
SK15	87	SP15	103
SK16	116	SP16	112
SK17	71	SP17	60
SK18	60	SP18	40
SK19	65	SP19	42,7
SK20	25	SP20	35,9
SK21	56	SP21	94
SK22	102	SP22	68
SK23	81	SP23	98
SK24	120	SP24	112
SK25	61,3	SP25	80
SK26	33	SP26	130
SK27	45,1	SP27	163
SK28	45,1	SP28	43,9
SK29	35	SP29	71
SK30	61,3	SP30	60,5
SK31	77	SP31	80,5
SK32	46,6	SP32	34,5
SK33	25,8	SP33	31

(SK: Serum kontrol -SP: Serum PES'li)

Her bir grup için serumda selenyum seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 80.2 mikrog/lt, PES grubunda 80.5 mikrog/lt seviyelerinde tespit edildi. Serum selenyum seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. (p: 0.9734) (Şekil 4.12)



Şekil 4.12. Kontrol ve PES'li grupta serum selenyum seviyelerinin karşılaştırılması

Serum HDL, LDL, total kolesterol düzeyleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12. Serum HDL LDL ve total kolesterol düzeyleri (mg/dl)

	HDL	LDL	TOTAL KOLESTEROL		HDL	LDL	TOTAL KOLESTEROL
SK1	55	123	194	SP1	56	153	135
SK2	55	164	236	SP2	58	193	123
SK3	61	172	244	SP3	45	130	132
SK4	35	156	225	SP4	44	136	140
SK5	59	105	180	SP5	71	150	156
SK6	59	137	205	SP6	37	113	120
SK7	28	119	184	SP7	49	143	89
SK8	39	124	176	SP8	41	162	69
SK9	43	133	195	SP9	46	136	88
SK10	41	162	241	SP10	60	105	32
SK11	37	145	217	SP11	43	122	54
SK12	21	95	132	SP12	45	103	46
SK13	44	68	118	SP13	39	116	58
SK14	41	141	190	SP14	50	172	65
SK15	38	126	190	SP15	55	152	103
SK16	43	191	287	SP16	39	96	112
SK17	32	133	199	SP17	45	105	60
SK18	59	116	193	SP18	41	116	40
SK19	39	143	215	SP19	40	75	42,7
SK20	45	95	157	SP20	41	111	160
SK21	34	259	177	SP21	55	248	343
SK22	46	75	126	SP22	31	139	190
SK23	43	121	190	SP23	41	103	152
SK24	37	115	160	SP24	34	129	179
SK25	38	155	232	SP25	46	133	126
SK26	44	113	163	SP26	39	124	186
SK27	35	143	217	SP27	65	145	221
SK28	82	141	256	SP28	46	96	147
SK29	35	108	157	SP29	45	86	134
SK30	36	145	199	SP30	44	145	207
SK31	34	122	194	SP31	33	150	227
SK32	40	135	210	SP32	38	157	215
SK33	42	130	195	SP33	51	159	227

(SK: Serum kontrol -SP: Serum PES’li)

HDL değişkeni:

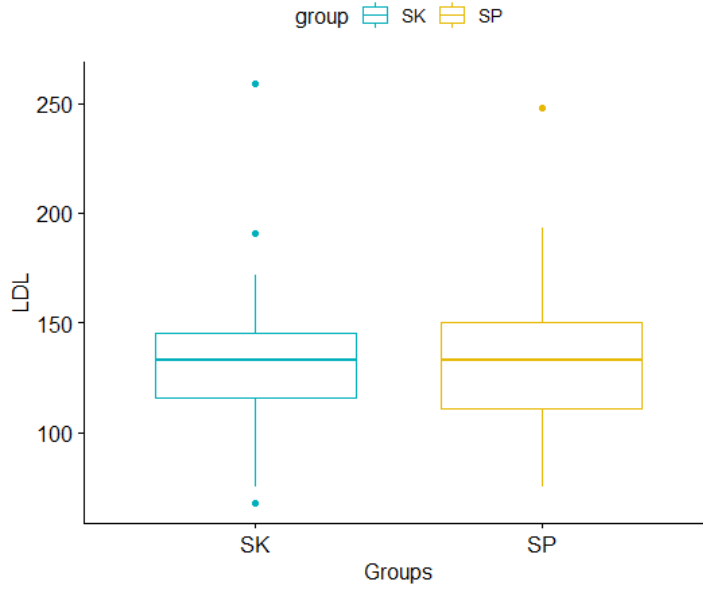
Her bir grup için serumda HDL seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 43.0 mg/dL, PES grubunda 45.8 mg/dL seviyelerinde tespit edildi. Serum HDL seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. (p : 0.08183) (Şekil 4.13)



Şekil 4.13. Kontrol ve PES'li grupta serum HDL seviyelerinin karşılaştırılması

LDL değişkeni:

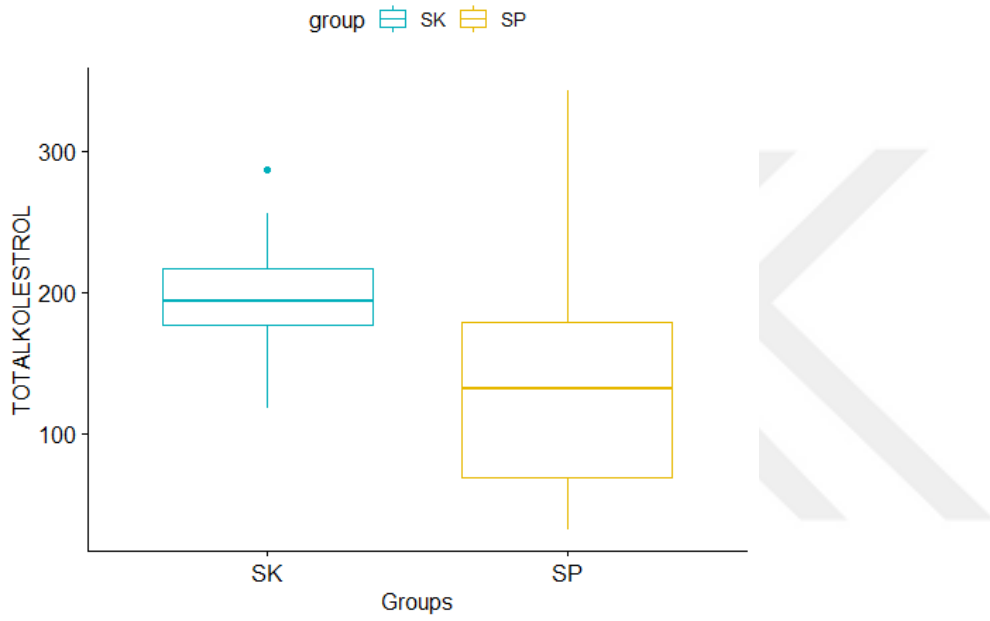
Her bir grup için serumda LDL seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 134 mg/dL, PES grubunda 133 mg/dL seviyelerinde tespit edildi. Serum LDL seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. (p : 0.9999) (şekil 4.14)



şekil 4.14. Kontrol ve PES'li grupta serum LDL seviyelerinin karşılaştırılması

Total kolestrol değişkeni:

Her bir grup için serumda total kolesterol seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 196 mg/dL, PES grubunda 133 mg/dL seviyelerinde tespit edildi. Serum total kolesterol seviyeleri PES'li grupta kontrol grubuna göre daha düşük seviyelerde tespit edilmiş olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. ($p: 3.546 \cdot 10^{-5}$) (Şekil 4.15)



Şekil 4.15. Kontrol ve PES'li grupta serum Total Kolesterol seviyelerinin karşılaştırılması

Korelasyon analizleri:

Antioksidan yollarda görev alan AR, GR ve selenyum isimli değişkenlerin arasındaki korelasyon incelenmiştir. PES'li hasta ve normal hasta gruplarının serum numunelerinde AR, GR ve Se parametreleri arasındaki korelasyon analizi Tablo 4.13 deki gibidir:

Tablo 4.13. Korelasyon-1

	SK_AR	SP_AR	SK_GR	SP_GR	SK_SELENYUM	SP_SELENYUM
SK_AR	1.00	-0.10	0.12	-0.22	-0.10	-0.27
SP_AR	-0.10	1.00	0.23	0.42	0.16	0.32
SK_GR	0.12	0.23	1.00	0.18	0.30	0.02
SP_GR	-0.22	0.42	0.18	1.00	0.20	0.33
SK_SELENYUM	-0.10	0.16	0.30	0.20	1.00	0.31
SP_SELENYUM	-0.27	0.32	0.02	0.33	0.31	1.00

Tablo 5.4 Korelasyon katsayılarının anlamlılığı (p-değerleri)

	SK_AR	SP_AR	SK_GR	SP_GR	SK_SELENYUM	SP_SELENYUM
SK_AR		0.5861	0.5123	0.2110	0.5903	0.1360
SP_AR	0.5861		0.2043	0.0147	0.3683	0.0704
SK_GR	0.5123	0.2043		0.3109	0.0889	0.8907
SP_GR	0.2110	0.0147	0.3109		0.2645	0.0590
SK_SELENYUM	0.5903	0.3683	0.0889	0.2645		0.0754

(SK: Serum kontrol-SP: Serum PES'li)

PES'li hasta gruplarının serum örneklerinde AR ve GR değişkenleri arasında aynı yönlü ve anlamlı bir korelasyon söz konusudur. (p: 0.0147)

PES'li hastaların serum selenyum ve GR seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlıya yakın sayılabilecek aynı yönlü bir korelasyon mevcuttur. (p: 0.0590)

Lipid metabolizmasında görev alan PON, HDL, LDL ve total kolestrol isimli değişkenlerin serum numunelerinde korelasyonları incelenmiştir. Bu parametrelerin arasındaki korelasyon analizi tablo 4.14 deki gibidir:

Tablo 4.14. Korelasyon-2

	SK_PON	SP_PON	SK_HDL	SP_HDL	SK_LDL	SP_LDL	SK_TOTALKOLESTROL	SP_TOTALKOLESTROL
SK_PON	1.00	0.50	-0.02	-0.23	-0.09	0.07	0.05	0.60
SP_PON	0.50	1.00	-0.12	-0.22	-0.14	-0.27	0.04	0.48
SK_HDL	-0.02	-0.12	1.00	-0.05	-0.07	-0.07	0.15	-0.02
SP_HDL	-0.23	-0.22	-0.05	1.00	0.31	0.34	0.23	-0.07
SK_LDL	-0.09	-0.14	-0.07	0.31	1.00	0.15	0.84	-0.03
SP_LDL	0.07	-0.27	-0.07	0.34	0.15	1.00	-0.08	0.41
SK_TOTALKOLESTROL	0.05	0.04	0.15	0.23	0.84	-0.08	1.00	-0.10
SP_TOTALKOLESTROL	0.60	0.48	-0.02	-0.07	-0.03	0.41	-0.10	1.00

Tablo 5.5 Korelasyon katsayılarının anlamlılığı (p-değerleri)

	SK_PON	SP_PON	SK_HDL	SP_HDL	SK_LDL	SP_LDL	SK_TOTALKOLESTROL	SP_TOTALKOLESTROL
SK_PON		0.0027	0.8970	0.2067	0.6265	0.6923	0.7738	0.0003
SP_PON	0.0027		0.5094	0.2240	0.4517	0.1244	0.8162	0.0048
SK_HDL	0.8970	0.5094		0.7898	0.6943	0.7121	0.4095	0.8944
SP_HDL	0.2067	0.2240	0.7898		0.0779	0.0511	0.1892	0.7068
SK_LDL	0.6265	0.4517	0.6943	0.0779		0.4046	0.0000	0.8578
SP_LDL	0.6923	0.1244	0.7121	0.0511	0.4046		0.6504	0.0180
SK_TOTALKOLESTROL	0.7738	0.8162	0.4095	0.1892	0.0000	0.6504		0.5670
SP_TOTALKOLESTROL	0.0003	0.0048	0.8944	0.7068	0.8578	0.0180	0.5670	

(SK: Serum kontrol-SP: Serum PES'li)

PES'li hastaların serum örneklerinde total kolesterol ve PON değişkenleri arasında (p: 0.0048), PES'li hastaların serum örneklerinde total kolesterol ve LDL değişkenleri arasında (p: 0,0000), kontrol grubunun serum örneklerinde total kolesterol ve LDL değişkenleri arasında (p: 0,0180) pozitif ve anlamlı bir ilişki söz konusudur.

CA esteraz, CA hidrataz, PON, GR ve prolidaz değişkenlerine ilişkin kontrol grubundan elde edilen serum ve aköz numuneleri arasındaki korelasyon tablo 4.15 daki gibidir.

Tablo 4.15. Korelasyon-3

	SK_CAESTERAZ	AK_CAESTERAZ	SK_CAHIDRATAZ	AK_CAHIDRATAZ	SK_PON	AK_PON	SK_GR	AK_GR	SK_PROLIDAZ	AK_PROLIDAZ
SK_CAESTERAZ	1.00	0.48	-0.06	0.02	0.24	-0.03	-0.39	-0.21	-0.16	-0.03
AK_CAESTERAZ	0.48	1.00	0.05	0.36	-0.22	-0.16	-0.05	-0.17	0.11	-0.30
SK_CAHIDRATAZ	-0.06	0.05	1.00	0.01	-0.08	0.06	0.08	-0.21	-0.33	0.36
AK_CAHIDRATAZ	0.02	0.36	0.01	1.00	-0.14	-0.35	-0.23	-0.43	-0.09	-0.23
SK_PON	0.24	-0.22	-0.08	-0.14	1.00	0.04	-0.40	-0.09	-0.28	0.22
AK_PON	-0.03	-0.16	0.06	-0.35	0.04	1.00	0.30	0.46	0.15	0.08
SK_GR	-0.39	-0.05	0.08	-0.23	-0.40	0.30	1.00	0.29	0.48	-0.19
AK_GR	-0.21	-0.17	-0.21	-0.43	-0.09	0.46	0.29	1.00	0.40	-0.07
SK_PROLIDAZ	-0.16	0.11	-0.33	-0.09	-0.28	0.15	0.48	0.40	1.00	-0.33
AK_PROLIDAZ	-0.03	-0.30	0.36	-0.23	0.22	0.08	-0.19	-0.07	-0.33	1.00

Tablo 5.6 Korelasyon katsayılarının anlamlılığı (p-değerleri)

	SK_CAESTERAZ	AK_CAESTERAZ	SK_CAHIDRATAZ	AK_CAHIDRATAZ	SK_PON	AK_PON	SK_GR	AK_GR	SK_PROLIDAZ	AK_PROLIDAZ
SK_CAESTERAZ		0.0051	0.7517	0.8952	0.1721	0.8630	0.0230	0.2364	0.3754	0.8851
AK_CAESTERAZ	0.0051		0.7754	0.0393	0.2125	0.3881	0.8023	0.3462	0.5560	0.0848
SK_CAHIDRATAZ	0.7517	0.7754		0.9411	0.6613	0.7372	0.6548	0.2372	0.0638	0.0393
AK_CAHIDRATAZ	0.8952	0.0393	0.9411		0.4514	0.0467	0.2049	0.0135	0.6051	0.1990
SK_PON	0.1721	0.2125	0.6613	0.4514		0.8062	0.0209	0.6236	0.1157	0.2211
AK_PON	0.8630	0.3881	0.7372	0.0467	0.8062		0.0943	0.0078	0.4001	0.6766
SK_GR	0.0230	0.8023	0.6548	0.2049	0.0209	0.0943		0.0980	0.0046	0.2906
AK_GR	0.2364	0.3462	0.2372	0.0135	0.6236	0.0078	0.0980		0.0211	0.7130
SK_PROLIDAZ	0.3754	0.5560	0.0638	0.6051	0.1157	0.4001	0.0046	0.0211		0.0645
AK_PROLIDAZ	0.8851	0.0848	0.0393	0.1990	0.2211	0.6766	0.2906	0.7130	0.0645	

SK: Serum Kontrol-SP: Serum PES'li-AK: Aköz Kontrol-AP: Aköz PES'li

Kontrol grubunda;

Serum ve aköz örnekleri arasında CA esteraz aktivitesinde pozitif korelasyon (p: 0.0051),

Aköz CA hidrataz ile aköz CA esteraz aktivitesi arasında pozitif korelasyon (p : 0.03),

Aköz GR ile aköz PON aktivitesi arasında pozitif korelasyon (p: 0.0078),

Aköz GR ile aköz CA hidrataz aktivitesi arasında negatif korelasyon (p: 0.01),

Aköz PON ile aköz CA hidrataz aktivitesi arasında negatif korelasyon tespit edildi. (p: 0.0467)

CA esteraz, CA hidrataz, PON, GR ve prolidaz değişkenlerine ilişkin PES'li gruptan elde edilen serum ve aköz numuneleri arasındaki korelasyon ilişkileri tablo 4.16 deki gibidir.

Tablo 4.16. Korelasyon-4

	SP_CAESTERAZ	AP_CAESTERAZ	SP_CAHIDRATAZ	AP_CAHIDRATAZ	SP_PON	AP_PON	SP_GR	AP_GR	SP_PROLIDAZ	AP_PROLIDAZ
SP_CAESTERAZ	1.00	0.26	0.05	0.31	0.37	-0.22	-0.10	-0.52	0.22	0.12
AP_CAESTERAZ	0.26	1.00	-0.05	0.45	0.04	-0.48	-0.12	-0.49	0.11	-0.21
SP_CAHIDRATAZ	0.05	-0.05	1.00	-0.07	-0.29	-0.09	0.22	0.37	0.07	0.22
AP_CAHIDRATAZ	0.31	0.45	-0.07	1.00	0.05	-0.45	-0.18	-0.52	0.01	-0.23
SP_PON	0.37	0.04	-0.29	0.05	1.00	0.10	-0.29	-0.47	-0.32	0.40
AP_PON	-0.22	-0.48	-0.09	-0.45	0.10	1.00	0.11	0.28	-0.20	0.20
SP_GR	-0.10	-0.12	0.22	-0.18	-0.29	0.11	1.00	0.37	0.09	0.12
AP_GR	-0.52	-0.49	0.37	-0.52	-0.47	0.28	0.37	1.00	0.15	0.07
SP_PROLIDAZ	0.22	0.11	0.07	0.01	-0.32	-0.20	0.09	0.15	1.00	-0.19
AP_PROLIDAZ	0.12	-0.21	0.22	-0.23	0.40	0.20	0.12	0.07	-0.19	1.00

Tablo 5.7 Korelasyon katsayılarının anlamlılığı (p-değerleri)

	SP_CAESTERAZ	AP_CAESTERAZ	SP_CAHIDRATAZ	AP_CAHIDRATAZ	SP_PON	AP_PON	SP_GR	AP_GR	SP_PROLIDAZ	AP_PROLIDAZ
SP_CAESTERAZ		0.1485	0.7780	0.0795	0.0355	0.2136	0.5837	0.0020	0.2115	0.5085
AP_CAESTERAZ	0.1485		0.7637	0.0081	0.8234	0.0044	0.5030	0.0036	0.5288	0.2452
SP_CAHIDRATAZ	0.7780	0.7637		0.6936	0.0983	0.6013	0.2294	0.0326	0.6926	0.2182
AP_CAHIDRATAZ	0.0795	0.0081	0.6936		0.7737	0.0089	0.3268	0.0020	0.9751	0.1967
SP_PON	0.0355	0.8234	0.0983	0.7737		0.5749	0.0988	0.0054	0.0672	0.0207
AP_PON	0.2136	0.0044	0.6013	0.0089	0.5749		0.5272	0.1084	0.2693	0.2663
SP_GR	0.5837	0.5030	0.2294	0.3268	0.0988	0.5272		0.0339	0.6104	0.4984
AP_GR	0.0020	0.0036	0.0326	0.0020	0.0054	0.1084	0.0339		0.4181	0.6785
SP_PROLIDAZ	0.2115	0.5288	0.6926	0.9751	0.0672	0.2693	0.6104	0.4181		0.2847
AP_PROLIDAZ	0.5085	0.2452	0.2182	0.1967	0.0207	0.2663	0.4984	0.6785	0.2847	

SK: Serum Kontrol-SP: Serum PES'li-AK: Aköz Kontrol-AP: Aköz PES'li

PES'li grupta;

Serum GR ile aköz GR enzim aktiviteleri arasında pozitif korelasyon (p: 0.033),

Aköz CA hidrataz ile aköz CA esteraz enzim aktiviteleri arasında pozitif korelasyon (p: 0.0081),

Aköz GR ile aköz CA esteraz ve CA hidrataz enzim aktiviteleri arasında negatif korelasyon (p: 0.0036 / p: 0.002),

Aköz PON ile aköz CA esteraz-CA hidrataz enzim aktiviteleri arasında negatif korelasyon tespit edildi. (p: 0.004 / p: 0.008)

5. TARTIŞMA

Psödoeksfolyasyon sendromu (PES); etyolojisi tam olarak bilinmeyen, ileri yaşlarda görülen, oküler dokular ve visseral organlarda ekstraselüler matriks materyalinin birikimi ile karakterize, glokom ve katarakt gibi oküler problemlerin yanında sistemik hastalıklarla da ilişkili olan bir tablodur.¹

PES insidansı yaşla birlikte artmakta ve prevalansı toplumdan topluma farklılık göstermektedir. Cinsiyet dağılımı ile ilgili yapılan çalışmaların bir kısmı PES'in kadınlarda daha sık görüldüğü yönünde iken bir kısmı ise erkeklerde daha fazla oranda görüldüğü yönündedir. Bunların aksine PES prevalansının her iki cinsiyette eşit oranda görüldüğüne dair yapılan çalışmalar da mevcuttur.³⁴

Farklı cinsiyet dağılımları tespit edilmiş olsa da yapılan tüm çalışmalar PES'in prevalansının yaşla birlikte ciddi oranda artış gösteren bir bozukluk olduğunu göstermiştir.^{30,37}

Çalışmamızda PES grubunda erkek cinsiyet tutulumunun daha ön planda olduğu görülmektedir. (%66.6) PES'li gruptaki hastaların yaş ortalaması; kadınlarda 74.2 iken erkeklerde 74.3 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar PES'in cinsiyetten bağımsız olarak bir ileri yaş hastalığı olduğunu destekler niteliktedir.

Yapılan çalışmalara rağmen PES etyopatogenezi tam olarak bilinmemektedir. PES'in oluşum mekanizması hakkında üzerinde durulan çeşitli hipotezler mevcuttur. Bu hipotezlerden biri; ekstraselüler matriks materyalinin üretim ve yıkımındaki dengesizlik sonucu PES'in ortaya çıktığı yönündedir.⁸⁶

Prolidaz; kollajenin intraselüler ve ekstraselüler yıkımından elde edilen, imidodipeptitleri yıkan sitozolik bir matriks metalloproteinazdır. Prolidaz; kollajen katabolizmasının son aşamasını katalize eden bir enzimdir ve kollajen biyosentezi, hücre

büyümesi ve matriksin yeniden şekillenmesinde önemli bir role sahiptir.^{17,18} Serum prolidaz aktivitesi, kollajen döngüsü ile orantılıdır.¹⁹ Ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi sırasında prolidaz aktivitesi artar.¹⁰²

Matriksin anormal yapım yıkım döngüsüne bağlı birikim, PES'in patogeneğinde önemli rol oynayabilir^{20,21}

Tetikoğlu ve ark yapmış olduğu bir çalışmada PES'li hastaların serum prolidaz enzim aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırılmış. PES'li gruptaki serum prolidaz enzim aktivitesi kontrol grubuna göre daha düşük tespit edilmiştir.¹⁰³

Bizim çalışmamızda ise literatürdeki bu çalışmadan farklı olarak; PES'li grup ve kontrol grubu serum ve aköz örnekleri birlikte çalışılmıştır. PES'li grubun hem serum hem de aköz prolidaz aktivitesi, kontrol grubuna nazaran daha yüksek tespit edilmiş olup, PES'li grubun aköz prolidaz aktivitesindeki artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir. ($p < 0,01$)

PES'li hastalarda serum ve aköz prolidaz aktivitesinin yüksek olması kollajen döngüsünün ve ECM yeniden şekillenmesinin hızlandığını göstermektedir. Dolayısı ile hızlanan kollajen katabolizması sonucu hümeör aközde artan yıkım ürünlerinin; lens kapsülü, pupil kenarı ve trabeküler ağda kümülatif olarak birikerek PES'e neden olabileceği düşünülebilir.

Prolidaz aktivitesi ayrıca oksidatif stres ve fibrozis ile karakterize hastalıklarla da ilişkilidir.¹⁰⁴

Yapılan çeşitli çalışmalar prolidazın büyüme faktörleri ve transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesindeki rolü ile yara iyileşmesi, inflamasyon ve anjiyogenez dahil olmak üzere birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir.¹⁰⁵

Literatürde oftalmoloji dışındaki inflamatuvar hastalıklarda serum prolidaz aktivitesi çalışılmış ve anlamlı olarak bu hastalarda da serum prolidaz aktivitesi yüksek tespit edilmiştir.

Bozkurt ve arkadaşları Behçet hastalarında serum prolidaz aktivitesini çalışmış olup sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında, serum prolidaz aktivitesinin Behçet hastalarında anlamlı düzeyde artmış olduğunu tespit etmişlerdir.¹⁰⁶

Kaleli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bronşiyal astımda prolidaz aktivitesinin artmış olduğu, bunun respiratuvar bronşiyollerdeki hücrelerde gelişen inflamasyon ve fibrozise bağlı olduğu tespit edilmiştir.¹⁰⁷

PES'in etyolojisinde oksidatif stres ile beraber inflamatuvar süreçlerin de etkili olduğunu düşünecek olursak; prolidaz aktivitesindeki artışın, hastalığın patogenezi için muhtemel bir aday olabileceğini düşündürmektedir.

Artan oksidatif hasar ile hücre koruma mekanizmalarındaki yetersizliğinin PES'in oluşumundaki önemli patogenetik faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir.⁵

Hümor aközün içeriğinde hidrojen peroksit ve süperoksit gibi oksidatif hasara neden olan birçok radikalin bulunduğu bilinmektedir. Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve antioksidan sistemlerin fonksiyonunun yetersizliği; trabeküler doku, retinal vasküler endotel hücreleri ve ganglion hücrelerinde hasara neden olarak glokomatöz optik disk hasarına ve görme alanı kaybına neden olmaktadır.¹⁰⁸

Bu amaçla; oksidan-antoksidan sistemler arasındaki dengeyi veya oksidatif hasarı gösteren askorbik asit, katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, malondialdehit gibi biyobelirteçler üzerinde çeşitli çalışmalar sürdürülmüştür. Koliakos ve ark. 2002 yılında yapmış oldukları bir çalışmada 40'ar kişiden oluşan PES'li grup ve kontrol grubunun aköz hümoründe askorbik asit düzeyini araştırmış. PES'li olguların aköz örneklerinde askorbik asit seviyesi anlamlı olarak düşük tespit edilmiştir. Askorbik asit

serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı vücutta var olan önemli antioksidanlardan biri olması nedeniyle oksidatif stresin PES oluşumundaki rolü önem kazanmıştır.¹⁰⁹

Yine antioksidan enzimlerden biri olan katalaz; hidrojen peroksiti suya ve oksijene parçalayarak hücreyi hidrojen peroksidin zararlı etkilerinden koruyan bir enzimdir. Koliakos ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada; PES, PEG ve kontrol gruplarındaki hastaların serum ve aköz örneklerinde katalaz enzim aktivitesi çalışılmış, PES'li ve PEG'li gruplarda aktivite düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edilmiştir.¹¹⁰ Uzun ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise PES'li hastaların aköz hümlerinde total antioksidan kapasite ve antioksidan enzimlerden; glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitesi çalışılmış. PES'li grupta kontrol grubuna göre enzim aktivite sonuçları anlamlı olarak düşük tespit edilmiştir.¹¹¹ Yağcı ve ark. yapmış oldukları çalışmada PES'li olguların serum örneklerinde süperoksit dismutaz, malondialdehit düzeyleri çalışılmış. PES grubunda kontrol grubuna göre süperoksit dismutaz düzeyi anlamlı olarak daha düşük, malondialdehit düzeyi ise daha yüksek tespit edilmiştir.¹¹²

Bütün bu çalışmalarda antioksidan enzimlerin psödoeksfolyatif grupta düşük saptanması, oluşan oksidatif hasara karşı antioksidan sistemlerin yetersiz kaldığını düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda PES'li hastalar ile kontrol grubu hastalarının serum ve aköz örneklerinde; antioksidan enzimlerden glutatyon redüktaz ve paraoksonaz, antioksidan yolakları indirekt olarak etkileyebilecek aldoz redüktaz enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Ayrıca bir antioksidan element olan selenyumun serum düzeyleri çalışılmıştır. Aynı hastalarda bu parametreler arasındaki negatif veya pozitif korelasyonlar da değerlendirilmiştir.

Glutasyon redüktaz en önemli antioksidan enzimlerden biridir.⁵ Glutasyon redüktaz, heksoz monofosfat yolağı ile elde edilen NADPH'ı kullanarak okside formdaki glutasyonu redükte forma dönüştürür.

SP Gartaganis ve arkadaşlarının yapmış olduğı çalışmada PES'li ve PES'i olmayan hastaların katarakt cerrahileri sırasında alınan lens kapsül örneklerinde GSH ve GSSG düzeyleri çalışılmış. Her ikisinin düzeylerinde de kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat azalma tespit edilmiştir. Bu durum yüksek oksidatif strese bağlanmıştır. Lens epitel hücrelerindeki GSH seviyelerinin azalmasının nedeni; yüksek oksidatif strese bağlı oluşan hidrojen peroksit miktarını azaltmak için GSH'in glutasyon peroksidaz aracılığı ile GSSG'ye oksidasyonuna bağlı olabileceğı söylenmiştir. GSSG seviyelerinin azalmasının nedeni ise GSSG'nin glutasyon redüktaz enzimi vasıtası ile yeniden GSH'a dönmesine bağlı olabileceğı ifade edilmiştir.¹¹³ Oksidatif stresin katarakt gelişimindeki rolünü araştıran çeşitli çalışmalarda da GSH düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir.¹¹⁴ Glutasyon redüktaz seviyelerindeki azalma da katarakt gelişimi ile ilişkilendirilmiştir.¹¹⁵

GR enzim aktivitesinin azalması; GSSG'nin GSH'a dönüşmesine engel olup oksidatif stresi artıracacağı düşüncesinden yola çıkılarak çalışmamızda PES'li hastalar ile kontrol grubu hastalarının serum ve aköz örneklerinde glutasyon redüktaz enzim aktivitesi incelenmiş fakat iki grup arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Selenyum; birçok enzimin yapısına katılarak kofaktör rolü oynayan esansiyel bir elementtir. Çeşitli enzim grupları ile beraber antioksidan enzim sistemlerinin de düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır.¹²

2011 yılında A.Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı prospektif vaka kontrol çalışmasında, PES'li katarakt olguları ile PES'i olmayan katarakt olgularından alınan aköz ve serum örneklerinde selenyum düzeyleri çalışılmıştır. PES'li gruptaki aköz örneğindeki ortalama selenyum düzeylerinin kontrol grubuna nazaran istatistiksel olarak

anlamli oranda azaldığı tespit edilmiştir. Serum Se düzeyleri ise PES’li grupta kontrol grubuna nazaran düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Bu çalışmadaki aköz ve serum Se konsantrasyonlarında azalmanın; oküler ve sistemik tutulumu bağı olabileceğini, aköz selenyum düzeylerindeki azalmanın ise gözün oksidan-antioksidan dengesinin bozulmasına bağı olabileceğini düşündürmüştür.¹¹⁶

Bizim çalışmamızda ise PES’li ve kontrol grubundaki hastaların serum selenyum düzeyleri çalışılmıştır. Literatürdeki çalışma ile benzer olarak; serum selenyum seviyelerinde, karşılaştırılan iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Önemli antioksidan enzim gruplarından biri de paraoksonaz (PON) enzim ailesidir.¹³ Yapılan çalışmalar serum PON enzim aktivitesindeki azalmanın artan oksidatif stres ile ilişkili olduğunu göstermektedir.¹⁴ PON1; antiaterojenik etkilere sahip olduğu bilinen HDL’lerin yapısına katılır. HDL’nin bu koruyucu özellikleri göstermesinde PON1 enziminin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.¹⁵

Yağcı ve ark yapmış olduğu çalışmada PES’li olguların serum PON enzim düzeyleri incelenmiş ve PON aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.¹¹⁷

Bizim yaptığımız çalışmada ise PES’li hasta grubu ile kontrol grubunun aköz ve serum örneklerinde PON enzim aktiviteleri benzer oranda çıkmış ve aralarında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Lenste çeşitli faaliyetlerin sürdürülebilmesi için gerekli metabolik enerji glukoz metabolizmasından karşılanır. Glukoz; heksozmonofosfat (pentoz fosfat yolu) yolu ile metabolize edilir. Pentoz fosfat yolu; hücrelerde metabolik işlemlerin sürdürülebilmesi

için elzem olan NADPH'in önemli bir kaynağıdır. Bu yolaktaki bozukluk glutatyon metabolizmasının bozulmasına bağlı oksidatif stres oluşumuna neden olur.^{8,9,10,11}

Aldoz redüktaz enzim aktivasyonunun artması; NADPH kullanımının artmasına neden olmaktadır. Okside glutatyonun redukte forma dönüşebilmesi için ise ortamda yeterli NADPH bulunmalıdır. Bu nedenle NADPH yokluğu hücrenin antioksidan kapasitesini azaltmaktadır.¹¹⁸ Aldoz redüktaz enzimi ve oksidan-antioksidan yolların her ikisinin NADPH bağımlı olarak çalışması, PES'li hastalarda AR enzim aktivitesinin normal popülasyona göre farklı olabileceği düşüncesinden yola çıkarak çalışmamıza eklenmiştir.

Yaptığımız çalışmada kontrol ve PES'li grup aköz örneklerinde aldoz redüktaz enzim aktivitesi tespit edilmemiştir. Her iki grubun serum örnekleri karşılaştırıldığında ise enzim aktivite değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Hiperglisemi durumunun poliol yolağını aktive ederek; aldoz redüktaz enzim aktivasyonunu artırdığı bilinmektedir.¹¹⁸ Çalışmamıza katılan hastalarda hiperglisemi ve diabet olmaması; aköz örneklerinde aldoz redüktaz enzim aktivitesinin saptanmamasının bir nedeni olabileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız korelasyon analizleri sonucu PES'li hastaların serum AR ve GR değişkenleri ile serum GR ve Se değişkenleri arasında aynı yönlü ve anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu durum antioksidan yollarda görev alan enzim ve elementlerin aynı reaksiyon veya yollarda görev alması dahi, seviye ve aktivitelerindeki değişimlerin diğer yolları indirekt olarak etkileyebileceğini düşündürmektedir. Örneğin glutatyon peroksidazın yapısına katılan Se eksikliğinin, glutatyon redüktazın yapısına katılmadığı halde enzim aktivitesini etkileyebileceği söylenebilir.

Bir diğzer enzim olan CA; yapısında Zn^{+2} iyonu içeren ve vücutta yaygın olarak bulunan bir metaloenzimdir. CA; silier epitelde HCO_3^- ve CO_2 arasında hızlı bir dönüşüm yolu ile bikarbonat transportunu gerçekteştirir.²² Bikarbonat oluşumu Na^+ 'un aktif transportu için pH'ı düzenlemesi yolu ile sıvı transportunu etkilemektedir. Böylece aköz üretimi ile doğrudan ilişkilidir.²²

Çalışmamızda PES'li grup ve kontrol grubundaki hastaların serum ve aköz örneklerinde karbonik anhidraz esteraz ve hidrataz aktiviteleri ayrı ayrı incelenmiştir. Karbonik anhidrazın fizyolojik fonksiyonlarından sorumlu olan hidrataz aktivitesi PES'li hastaların serumunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde yüksek tespit edilmiştir. Bununla beraber her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasa da PES'li hastaların aköz CA hidrataz seviyelerinde de artış dikkat çekmektedir. Bu durum PES'li hastalarda artmış CA hidrataz aktivitesinin, kontrol grubuna göre daha fazla aköz üretimini tetikleyebileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda yapmış olduğumuz korelasyon analizleri sonucunda hem kontrol grubunda hem de PES'li grupta aköz GR-PON gibi antioksidan enzim aktiviteleri ile CA hidrataz ve esteraz aktiviteleri arasında negatif korelasyon dikkat çekmektedir.

PES'li hastaların aközünde artan oksidatif strese karşı antioksidan cevabın yetersiz kalması (negatif korelasyon üzerinden düşünecek olursak); karbonik anhidraz enzim aktivitesinde artışla sonuçlanabileceği ve artan karbonik anhidraz aktivitesinin aköz üretiminde artışa neden olabileceğini düşündürmektedir.

Aköz üretimindeki bu artış ile beraber juksta-kanaliküler ağda ve schlemm kanalında PEM birikimi ile progresif bir dejenerasyon ve obstrüksiyon; PES'in ilerleyen dönemlerde PEG'e dönüşümündeki mekanizmayı izah edebilir.

PES; oküler tutulumun yanısıra sistemik tutulumla da karakterizedir. İlk olarak; Schlötzer-Schrehardt'ın 1992 yılında elektron mikroskobu ile yaptığı bir çalışmasında,

PES'i olduğu tespit edilen hastalardan alınan otopsi örneklerinde; akciğer, karaciğer, kalp, böbrek, mesane ve meninkslerde PEM varlığı saptanmıştır.¹

Bu ve benzeri çalışmalar PES'in sadece oküler tutulumla sınırlı bir hastalık olmadığı aynı zamanda sistemik bir ekstrasellüler matriks bozukluğu olduğunu düşündürmüştür. Çalışmaların çoğu miyokard infarktüsü, hipertansiyon, aort anevrizması, serebrovasküler hadise, Alzheimer gibi yüksek mortalite ve morbiditeye sebep olabilen kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklara yöneliktir.

Çıtırık ve ark. koroner arter hastalığı tanısı konan hastalar ile koroner anjiyografisi normal olan hastaları PES görülme sıklığı açısından karşılaştırmışlardır. PES görülme sıklığının koroner arter hastalığı olan bireylerde daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.¹¹⁹

Speckauskas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PES'li hastalarda iskemik kalp hastalığı, arterial hipertansiyon ve DM birlikteliği incelenmiş. Bu bağlamda takip ettikleri hastaların myokardial infarktüs kayıtları, elektrokardiyografileri, biyokimyasal kan analizler (HDL, LDL, Total Kolesterol glukoz vs), tansiyon arterial ölçümleri ve sigara öyküleri incelenmiş. Yapılan çalışmalar sonucunda PES'li grup ve kontrol grubu arasında arterial hipertansiyon arasında anlamlı bir fark var iken DM, iskemik kalp hastalığı ve kan kolesterol seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.¹²⁰

Düşük HDL, yüksek trigliserid, yüksek LDL ve yüksek total kolesterol seviyeleri kardiyovasküler hastalıklar için önemli risk faktörleridir. Bizim çalışmamızda da PES'li grup ve kontrol grubundaki hastaların serum HDL, LDL ve Total Kolesterol seviyeleri ölçülmüştür. İki grup arasında HDL ve LDL düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmazken total kolesterol seviyeleri PES'li grupta anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu durum PES'li hastalarda serebrovasküler veya kardiyak patolojilerin daha fazla görülmesinin etyopatogenezinin, hiperlipidemiden ziyade vasküler yapılarda

meydana gelen inflamasyon, oksidatif hasar veya endotel disfonksiyonu ile açıklanabileceğini düşündürmüştür.



6. SONUÇ

PES; etyolojisi tam olarak bilinmeyen oküler dokular ve visseral organlarda ekstraselüler matriks materyal birikimi ile karakterize sistemik bir tablodur. PES; katarakt, zonül diyalizi, glokom gibi birçok oküler patolojilerin yanı sıra hipertansiyon, koroner arter hastalığı, serebrovasküler olay gibi sistemik problemler ile de ilişkilidir.

PES etyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber, ekstraselüler matriksin anormal yapım yıkım döngüsüne bağlı oküler dokularda birikimi ve artan oksidatif hasar ile antioksidan mekanizmaların yetersizliği önemli patogenetik faktörlerden biridir.

Çalışmamızda psödoekfoliasyon sendrom etyopatogenezi ile ilişkili olabilecek prolidaz, karbonik anhidraz, aldoz redüktaz, glutatyon redüktaz, paraoksonaz enzim aktiviteleri, serum selenyum düzeyleri ve serum LDL, HDL, total kolesterol düzeyleri çalışılmış olup kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu parametreler arasındaki korelasyonlar da incelenmiştir.

1- PES'li grup aköz prolidaz enzim aktivite değerlerinde kontrol grubuna nazaran belirgin derece bir artış olduğu, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi. PES'li grubun serum prolidaz seviyelerinde kontrol grubuna göre yaklaşık 3 kat artış saptanmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Prolidaz aktivitesinin yüksek olması kollajen döngüsünün hızlandığını göstermektedir. Dolayısı ile hızlanan kollajen katabolizması sonucu artan yıkım ürünlerinin lens kapsülü, pupil kenarı ve trabeküler ağda kümülatif olarak birikerek PES oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir.

Yapılan çeşitli çalışmalar prolidazın yara iyileşmesi, inflamasyon ve anjiyogenez dahil olmak üzere birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte önemli bir faktör olabileceğini göstermektedir.¹¹⁷ PES'in etyopatogenezinde ekstraselüler materyalin birikiminin yanı sıra inflamatuvar süreçlerin de etkili olduğunu düşünecek olursak,

prolidaz aktivitesindeki artışın hastalığın patogenezi için muhtemel bir aday olabileceğini düşündürmektedir.

2- PES'li grubun serum CA hidrataz enzim aktivite değerlerinde kontrol grubuna göre belirgin derecede artış saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. PES'li hastaların aköz CA hidrataz enzim aktivite değerlerinde ise kontrol grubuna göre artış olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Bu durum PES'li hastalarda serum ve aközde artmış CA hidrataz enzim aktivitesinin; aköz üretiminde artışa neden olabileceğini düşündürdü.

3- PES'li grup ile kontrol grubunun serum ve aköz örneklerinde CA Esteraz enzim aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

4- Her iki grubun serum ve aköz örneklerinde PON enzim aktivite değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

5- PES'li grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum ve aköz örneklerinde GR enzim aktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

6- Her iki gruptan alınan aköz örneklerinde AR enzim aktivitesi tespit edilmedi. Çalışmamıza katılan hasta gruplarının diabetik olmaması; aköz örneklerinde aldoz redüktaz enzim aktivitesinin tespit edilmemesinin nedenlerinden biri olabileceğini düşündürdü. Serum örneklerinde ise AR enzim aktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

7- Yapılan korelasyon analizleri sonucunda; kontrol ve PES'li grup aköz örneklerinde GR-PON antioksidan enzim aktiviteleri ile CA hidrataz/esteraz aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyonun olduğu görüldü.

Bu sonuçlar PES'li hastalarda antioksidan enzim aktivite yetersizliğinin karbonik anhidraz enzim aktivitesinde artışla sonuçlanabileceğini düşündürdü. Artan karbonik anhidraz aktivitesinin aköz üretimi ile doğrudan ilişkili olması; PES'in zaman içerisinde

PEG'e ilerlemesinde; juksta-kanaliküler ağda kümülatif olarak PEM birikimi, trabeküler ağda dejenerasyon ve artan dışa akım direncine ek olarak, artan aköz miktarının progresyonda etkili faktörlerden biri olabileceğini düşündürdü.

8- Serum selenyum seviyelerinde iki grup arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

9- Yaptığımız korelasyon analizleri sonucu PES'li hastaların serum AR ve GR değişkenleri ile serum GR ve Se değişkenleri arasında aynı yönlü ve anlamlı bir ilişki tespit edildi. Bu durum antioksidan yolaklarda görev alan enzim ve elementlerin aynı reaksiyon veya yolaklarda birlikte görev almasalar dahi seviye ve aktivitelerindeki değişimlerin diğer antioksidanları indirekt yollarla etkileyebileceğini düşündürdü.

10- Serum HDL-LDL seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Serum Total Kolesterol seviyeleri PES'li grupta kontrol grubuna göre daha düşük seviyelerde tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı idi. Bu durum PES'li hastalarda kardiyovasküler patolojilerin daha fazla görülmesinin nedeninin hiperlipidemiden ziyade vasküler yapılarda meydana gelen inflamasyon, oksidatif hasar veya endotel disfonksiyonu ile açıklanabileceğini düşündürdü.

KAYNAKLAR

- 1- Schlötz-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GOH, Volkholz H. Pseudoexfoliation syndrome: ocular manifestation of a systemic disorder. *Arch Ophthalmology Journal*, 1992, 110: 1752-6.
- 2- Conway RM, Schlötzer-Schrehardt U, Kuchle M, Naumann GO. Pseudoexfoliation syndrome; pathological manifestations of relevance to intraocular surgery. *Clin Experiment Ophth*. 2004; 32 (2): 199-210.
- 3- Freissler K, Kuchle M, Naumann GO. Spontaneous dislocation of the lens in pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmology Journal* 1995; 113: 1095–1096.
- 4- Ritch R. Ocular and systemic manifestation of exfoliation syndrome. *Journal of Glaucoma*, 2014; 23: 1-8.
- 5 - Koliakos GG, Befani CD, Mikropoulos D, Ziakas NG, Konstas. AGP. Prooxidant–antioxidant balance, peroxide and catalase activity in the aqueous humour and serum of patients with exfoliation syndrome or exfoliative glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*; 2008; 246: 1477–1483.
- 6- Trachootham D, Lu W, Ogasawara M, Rivera-Del Valle N, Huang P. Redox regulation of cell survival. *Antioxid Redox Signal*; 2008; 10: 1343-75.
- 7- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev*. 1994; 74(1): 139-62.
- 8- Winkler BS, Riley MV. Relative contribution of epithelial cells and fibers to rabbit lens ATP content and glycolysis. *Invest. Ophthalmol. Vis Sci* 1991; 32(9): 2593-98.
- 9- Harvey RA. Metabolism of monosaccharides and disaccharides. In: *Lippincott's Illustrated Reviews Biochemistry*. 5th Edition. Lippincott Williams And Wilkins, Philadelphia, 2011; 137-44.

- 10.-Jez M, Flynn TG, Trevor MP. A new nomenclature for the aldo-keto reductase superfamily. *Biochemical Pharmacology*. 1997; 639-647.
- 11- Srivastava SK, Ramana KV, Bhatnagar A. Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options. *Endocrine Reviews*, 2005; 380–392.
- 12- Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*. 2014; 6(1): 25-54.
- 13- Yılmaz A, Adıgüzel U, Tamer L, Yıldırım Ö, Öz Ö, Vatansever H, Ercan B, Değirmenci U, Atik U. Serum oxidant/antioxidant balance in exfoliation syndrome. *Clinical And Experimental Ophthalmology* 2005; 33 (63–66).
- 14- Ng CJ, Wadleigh DJ, Gangopadhyay A, Hama S, Grijalva VR. Paraonase-2 is ubiquitously expressed protein with antioxidant properties and is capable of preventing cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2001; 276: 4444-4449.
- 15- Gu L, S Hama, Xia YR, M Navab M, Fogelman AM, Lusis AJ. Genetic-dietary regulation of serum paraonase expression and its role in atherogenesis in a mouse model. *The Journal of Clinical Investigation*, 1996; 1630-1639.
- 16- Schlötzer-Schrehardt U, Dörfler S, Naumann GO. Immunohistochemical localization of basement membrane components in pseudoexfoliation material of the lens capsule. *Curr Eye Res*. 1992; 11: 343-55.
- 17- Wu G, Fuller WB, Burghardt RC, Johnson GA, Kim SW, Knabe DA, Li P, Li X, McKnight JR, Satterfield MC, Spencer TE. Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*. 2011; 40(4): 1053–1063.

- 18-Kurien BT, Patel NC, Porter AC. Prolidase deficiency and the biochemical assays used in its diagnosis. *Anal Biochem* 2006, 349: 165–175.
- 19- Myara I, Charpentier C, Gantier M, Lemonnier A. A cell density affects prolidase and prolinase activity and intracellular amino acid levels in cultured human cells. *Clin Chim Acta* 1985;150: 1–9.
- 20- Ollivier FJ, Gilger BC, Barrie KP, Kallberg ME, Plummer CE, O'reilly S. Proteinases of the cornea and precocular tear film. *Vet Ophthalmology*; 2007; 10: 199–206.
- 21- Palka Ja, Phang Jm. Prolidase activity in fibroblasts is regulated by interaction of extracellular matrix with cell surface integrin receptors. *J Cell Biochem* 1997; 67: 166–175.
- 22- Supuran CT, Scozzafava A , Carbonic anhydrase inhibitor. *Current Medicinal Chemistry - Immunology Endocrine & Metabolic Agents*. 2001; 1: 61-97.
- 23- Tarkkanen A, Kivelä T, John G. Lindberg and the discovery of exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand* 2002; 80: 151-4.
- 24- Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol* 2001; 45: 265-315.
- 25- Kang JH, Loomis S, Wiggs JL, Et Al. Demographic and geographic features of exfoliation glaucoma in 2 united states-based prospective cohorts. *Ophthalmology* 2012; 119: 27–35.
- 26- Aström S, Lindén C. Incidence and prevalence of pseudoexfoliation and open-angle glaucoma in northern Sweden: I Baseline report. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85(8): 828-31.

- 27- Aasved H. The geographical distribution of fibrilloglione epitheliocapsularis, so-called senile exfoliation or pseudoexfoliation of the anterior lens capsule. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1969; 47: 792–810.
- 28- Topouzis F, Wilson MR, Harris A, Et Al. Prevalence of open-angle glaucoma in Greece: the thessaloniki eye study. *Am J Ophthalmol*. 2007; 144(4): 511-519.
- 29- Alpay H, Ersoy G. Psödoeksfoliyasyon sendromu (istatistiksel bir çalışma). *T Oft Gaz*. 1989; 19: 63-66.
- 30- Yalaz M, Othman I, Nas K. The frequency of pseudoexfoliation syndrome in the eastern mediterranean area of turkey. *Acta Ophthalmol*. 1992; 70(2): 209-213.
- 31- Cumurcu T, Kilic R, Yologlu S. The frequency of pseudoexfoliation syndrome in the middle black sea region of turkey. *Eur J Ophthalmol*. 2010, 20(6): 1007-1011.
- 32- Damji KF, Bains HS, Stefansson E. Is pseudoexfoliation syndrome inherited? A review of genetic and nongenetic factors and a new observation. *Ophthalmic Genet*. 1998; 19: 175-85.
- 33- Montanes MJ, Paredes A, Garsia SC. Prevalence of pseudoexfoliation syndrome in the northwest of spain. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1989; 67: 383-5.
- 34- Forsius H. Exfoliation syndrome in various ethnic populations. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1988; 184: 71-85.
- 35- Bartholomew RS. Incidence of pseudoexfoliation in south african negroes and scots. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1979; 99: 299-301.
- 36- Blika S, Ringvold A. The occurrence of simple and capsular glaucoma in middlenorway. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1987; 182: 11-6.
- 37- Kozobolis VP, Papatzanaki M, Vlachonikolis IG. Epidemiology of pseudoexfoliation in the island of crete (greece). *Acta Ophthalmol Scand* 1997; 75: 726-729.

- 38- Anraku A, Jin YP, Butty Z, Jinapriya D, Alasbali T, Mammo Z, Flanagan JG, Trope GE. The toronto epidemiology glaucoma survey: a pilot study. *Can J Ophthalmol*. 2011; 46(4): 352-7.
- 39- Hammer T, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Unilateral or asymmetric pseudoexfoliation syndrome? An ultrastructural study. *Arch Ophthalmol*. 2001; 119: 1023-31.
- 40- Schlötzer-Schrehardt U, Körtje KH, Erb C. Energy-filtering transmission electron microscopy (EFTEM) in the elemental analysis of pseudoexfoliative material. *Curr Eye Res*. 2001; 22: 154-6.
- 41- Schlötzer-Schrehardt U, Kuchle M, Naumann GO. Electron-microscopic identification of pseudoexfoliation material in extrabulbar tissue. *Arch Ophthalmol*. 1991; 109: 565,70.
- 42- Ritch R, Schlotzer-Schrehardt U. Exfoliation (pseudoexfoliation) syndrome: toward a new understanding. Proceedings of the First International Think Tank. *Acta Ophthalmol Scand* 2001; 79: 213-7.
- 43- Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U, Kuchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist. Intraocular and systemic manifestations. *Review. Ophthalmology*. 1998; 105: 951-968.
- 44- Morrison JC, Green WR. Light microscopy of the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1988; 184: 5-27.
- 45- Eagle RC Jr, Front RL, Fine BS. The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch. Ophthalmol*. 1979; 97 (3): 510-5.
- 46- Schlotzer-Schrehardt U, Zenkel M, Kuchle M, Sakai LY, Naumann GO. Role of transforming growth factor-b1 and its latent form binding protein in pseudoexfoliation syndrome. *Exp. Eye Res*. 2001; 73, 765-780.

- 47- Koliakos GG, Konstas AGP, Schlötzer-Schrehardt U, et al. 8 isoprostaglandin F2 α and ascorbic acid concentration in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol* 2003; 87: 353-6.
- 48- Koliakos GG, Konstas GP, Schlötzer-Schrehardt U, Bufidis T et al. Ascorbic acid concentration is reduced in the aqueous humor of patients with exfoliation syndrome. *American J Oph.* 2002; 134; 879-83.
- 49- Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, Walters GB et al. Common sequence variants in the *lox11* gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007; 317: 1397-400.
- 50- Kagan HM, Li W. Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell. *J Cell Biochem* 2003; 88: 660-672.
- 51- Lucero HA, Kagan HM. Lysyl oxidase: an oxidative enzyme and effector of cell function. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 2304-2316.
- 52- Hewitt AW, Sharma S, Burdon KP, Et Al. Ancestral *lox11* variants are associated with exfoliation in caucasian australians but with markedly lower penetrance than in nordic people. *Hum Mol Genet.* 2008; 17 (5): 710-716.
- 53-Erdogan H, Arıcı S, Arıcı K, Fariz G, Topalkara A. Conjunctival impression cytology in pseudoexfoliative glaucoma and pseudoexfoliation syndrome. *Clinical And Experimental Ophthalmology* 2006; 34: 108-113.
- 54- Kozobolis VP, Detorakis ET, Pallikaris IG, Tsopakakis GM. Evaluation of tear secretion and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand.* 1999; 77: 406-9.
- 55- Schlötzer-Schrehardt UM, Dörfler S, Naumann GOH. Corneal endothelial involvement in pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1993; 111(5): 666-674.
- 56- Miyake K, Matsuda M, Inaba M. Corneal endothelial changes in pseudoexfoliation

- Syndrome. *Am J Ophthalmol*. 1989 Jul 15; 108(1): 49-52.
- 57- Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation: A clinicopathologic study. *Ophthalmology*. 2000; 107: 1111-24.
- 58- Chern KC, Meisler DM, Rockwood EJ, Lowder CY. Pseudoexfoliation syndrome masquerading as üveitis. *Am J Ophthalmology*. 1994; 118: 392-3.
- 59- Layden WE, Shaffer RN. Exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 1974; 78(5): 835-841.
- 60- Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2006; 141(5): 921-37.
- 61- Seland JH. The ultrastructural changes in the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl* 1988; 184: 28-34.
- 62- Tanhehco T, Chen SH. Pseudoexfoliation syndrome and cataract surgery. *Int Ophthalmol Clin*. 2010; 50(1): 81-93.
- 63- Kozobolis VP, Detorakis ET, Tsilimbaris M, Siganos DS, Vlachonikolis IG, Pallikaris IG. Crete, greece glaucoma study. *J Glaucoma*. 2000;9(2): 1439.
- 64- Şenol N, Erda S. Senil psödoeksfoliasyonlarda kataraktöz lens değışiklikleri. *T Oft Gaz* 1988; 18: 325-327.
- 65- Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GOH: a histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 118: 730,1994.
- 66- Zetterström C, Olivestedt G, Lundvall A. Pseudoexfoliation syndrome and heparin surface modified intraocular lenses. *Acta Ophthalmology* 1992; 70: 91.
- 67- Asano N, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. A histopathologic study of iris changes in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology*. 1995; 102(9): 1279-1290.

- 68- Eivind H. The frequency of senile exfoliation of the anterior surface of the lens in inflammatory glaucoma. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1948; 26: 231-5.
- 69- Gottanka J, Flügel-Koch C, Martus P, Johnson DH, Lütjen-Drecoll E. Correlation of pseudoexfoliative material and optic nerve damage in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997; 38(12): 2435-46.
- 70- Sampaolesi R, Zarate J, Croxato O. The chamber angle in exfoliation syndrome clinical and pathological findings. *Acta Ophthalmol* 1988; 184: 4853.
- 71- Kunishi Y, Kunishi M, Yoshino H. Gonioscopic features of pseudoexfoliation. *Jpn J Clin Ophthalmol* 1998; 52: 1683-9.
- 72- Kuchle M, Nguyen NX, Horn F, Naumann GO. Quantitative assessment of aqueous flare and aqueous 'cells' in pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1992; 70(2): 201-8.
- 73- Gottfried OH, Naumann MD, Schlötzer-Schrehardt U, Kuchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist: Intraocular and systemic manifestations. *American Academy of Ophthalmology*, 1995; 951-968.
- 74- Schumacher S, Schlötzer-Schrehardt U, Martus P, Lang W, Nauman GO. Pseudoexfoliation syndrome and aneurysms of the abdominal aorta. *The Lancet*. 2001; 359-360.
- 75- Bojic L, Ermacora R, Polic S, Mabdic Z, Ivanisevic M, Rogosic V. Pseudoexfoliation syndrome and asymptomatic myocardial dysfunction. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2005; 243, 446-449.
- 76-Repo LP, Terasvirta ME, Koivisto KJ. Generalized translucence of the iris and the frequency of the pseudoexfoliation syndrome in the eyes of transient ischemic attack patients. *Ophthalmology* 1993; 100: 352-355.

- 77-Repo LP, Terasvirta ME, Koivisto KJ: generalized transluminance of the iris and the frequency of the pseudoexfoliation syndrome in the eyes of transient ischemic attack patients. *Ophthalmology* 1993; 100: 352-5.
- 78- Repo LP, Suhonen MT, Terasvirta ME, Koivisto KJ. Color doppler imaging of the ophthalmic artery blood flow spectra of patients who have had a transient ischemic attack. Correlations with generalized iris transluminance and pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology* 1995; 102: 1199-205.
- 79- Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*. 2014; 6(1): 25-54.
- 80- Duntas LH, Benvenga S. Selenium: an element for life. *Endocrine* 2015; 48:756-75.
- 81- Li HL, Liu DP, Liang CC. Paraoxonase gene polymorphisms, oxidative stress and diseases. *J Mol Med*. 2003; 81(12): 766-779.
- 82- Özdin M, Gürsu M. Sigara içenlerde serum paraoksonaz (pon1) aktiviteleri ile malondialdehit düzeylerinin araştırılması. *Fırat Tıp Dergisi*. 2002; 732-737.
- 83- Kafadar AM, Ergen A, Zeybek U, Agachan B, Kудay C. Paraoxonase 192 gene polymorphism and serum paraoxonase activity in high grade gliomas and meningiomas. *Cell Biochemistry and Function*; 2006; 455-460.
- 84- Mackness M, Mackness B, Durrington PN. Paraoxonase and coronary heart disease. *Atherosclerosis Supplements*. 2002; 49-55.
- 85-Karakucuk S, Baskol G, Oner AO, Baskol M, Mirza E, Ustidal M. Serum paraoxonase activity is decreased in the active stage of behcet's disease. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88: 1256–1258.
- 86- Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RCJ, Keshegehehian AA. Pseudoexfoliative fibrillopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol*. 1992; 110: 1757–1762.

- 87- Ritch R, Schlötzer-Schrehardt, Exfoliation (pseudoexfoliation) syndrome: toward a new understanding. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 2001; 213-217.
- 88- Renzia G, Scozzafava, Supuran T. Carbonic anhydrase inhibitors: topical sulfonamide antiglaucoma agents incorporating secondary amine moieties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2000; 673-676.
- 89- Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation (pseudoexfoliation) syndrome. *Ocular Disease*, 2010;184-192.
- 90- Jacobi PC, Krieglstein GK. Trabecular aspiration, a new mode to treat pseudoexfoliation glaucoma. *Arvo Journal*. 1994.
- 91- Wilbur KM, Anderson NG. Electrometric and colorimetric determination of carbonic anhydrase. *Journal of Biological Chemistry*, 1948; 176: 147-154.
- 92- Maren TH, Conroy CW, Wynns GC, Godman DF. Renal and cerebrospinal fluid formation pharmacology of a high molecular weight carbonic anhydrase inhibitor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1997; 280 (1).
- 93- Verpoorte JA, Mehta S, Edsall JT. Esterase activities of human carbonic anhydrase. *J.Biol.Chem.* 1967; 242, 4221.
- 94- Cerelli KJ, Curtis DL, Dunn JP, Nelson PH, Peak TM, Waterbury LD. Antiinflammatory and aldose reductase inhibitory activity of sometricyclic arylacetic acids. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1986; 29, 2347-2351.
- 95- Renault Et Al. Tandem Purification of Two HDL-associated Partner Proteins in Human Plasma, Paraoxonase (PON1) and Phosphate Binding Protein (HPBP) Using Hydroxyapatite Chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2006; 15-21.

- 96- Myara I, Myara A, Mangeot M, Fabre M, Charpentier C, Lemonnier A. Plasma prolidase activity; a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem* 1984; 30: 211-5.
- 97- Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolidase assay by proline colorimetric determination: application to iminodipeptiduria, *Clin Chim Acta* 1982; 125: 193-205.
- 98- Chinard FP. Photometric estimation of proline and ornithine. *J Biol Chem* 1952;199: 91-5.
- 99- Jamo C. Prolidaz Enziminin Psöriazisli Hastalardaki Aktivitesinin Araştırılması, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2018.
- 100- Carlberg I, Mannervik B. Purification and characterization glutathione reductase from calf liver. An improved procedure for affinity chromatography on 2',5'-ADP Sepharose 4B. *Analytical Biochemistry*, 1981; 116: 531-536.
- 101-Carlberg I, Mannervik B. Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *Journal of Biological Chemistry*, 1975; 250: 5475–5480.
- 102- Palka JA, Phang JM. Prolidase activity in fibroblasts is regulated by interaction of extracellular matrix with cell surface integrin receptors. *J Cell Biochem* 1997;67: 166-75.
- 103- Tetikoğlu M, Sağdik HM, Aktas S, Uğar F, Özcüra F. Serum prolidase activity and oxidative stress in patients with pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 Jul; 254(7): 1339-43.
- 104- Chamson A, Voigtlander V, Myara I, Frey J. Collagen biosynthesis anomalies in prolidase deficiency: effect of glycyl-Lproline on the degradation of newly synthesized collagen. *Clin Physiol Biochem*. 1989; 7(3–4): 128–36.

- 105- Surazynski A, Milyk W, Prokop I, Palka J. Prolidase-dependent regulation of TGF beta (corrected) and TGF beta receptor expressions in human skin fibroblasts. *Eur J Pharmacol.* 2010; 649(1–3): 115–9.
- 106- Bozkurt M, Yüksel H, S Em S, Oktayoglu P, Yildiz M, Akdeniz D, Nas K. Serum prolidase enzyme activity and oxidative status in patients with Behçet’s disease. *W. S. Maney & Son Ltd.* 2014; 59-64.
- 107- Kaleli S, Akaya A, Akdoğan M, Gültekin F. The Effects of different treatments on prolidase and antioxidant enzyme activities in patients with bronchial asthma. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 2006; 22, 35-39.
- 108- Kahn MG, Giblin FJ, Epstein DL. Glutathione in calf trabecular meshwork and its relation to aqueous humour out flow facility. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983; 24: 1283-1287.
- 109- Koliakos GG, Konstas AG, Schlötzer-Schrehardt U, Bufidis T, Georgiadis N, Ringvold A. Ascorbic acid concentration is reduced in the aqueous hümör of patients with exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 2002; 134: 879-883.
- 110- Koliakos GG, Befani CD, Mikropoulos D, Ziakas NG, Konstas P. Prooxidant-antioxidant balance, peroxide and catalase activity in the aqueous humour and serum of patients with exfoliation syndrome or exfoliative glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmology.* 2008; 246:1477-83.
- 111- Uzun L, Düzgünçınar Ö, Evren Ö, Demirpençe E, Uzun A, Gürsel E. Psödoeksfoliasyon sendromlu olgularda hümör aköz antioksidan dengesi. *MN Oftalmoloji* 2006; 13, 273-278.
- 112- Yağci R, Gürel A, Ersöz I, Keskin UC, Hepşen IF, Duman S, Yiğitoğlu R: Oxidative stress and protein oxidation in pseudoexfoliation syndrome. *Curr Eye Res* 2006; 31: 1029–1032.

- 113- Gartaganis SP, Patsoukis NE, Nikolopoulos DK, Georgiou CD. Evidence for oxidative stress in lens epithelial cells in pseudoexfoliation syndrome. *Nature Publishing Group*, 2006; 21, 1406–1411.
- 114- Hissin JP, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem* 1976; 74: 214–226.
- 115- Ganea E, Harding JJ. Glutathione-related enzymes and the eye. *Curr Eye Res* 2006; 31: 1–11.
- 116- Yılmaz A, Ayaz L, Tamer L. Selenium and pseudoexfoliation syndrome. *Ajo*. 2010; 08; 032.
- 117- Yagci R, Gurel A, Ersoz I, Karadag R, Hepsen IF, Duman S. The activities of paraoxonase, xanthine oxidase, adenosine deaminase and the level of nitrite in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmic Res*. 2009; 42: 155–159.
- 118- Larkins GR, Dunlop E. Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, phospholipase A2 activation. *Metabolism* .1997; 41-47.
- 119- Çıtırık M, Acaroğlu G, Batman C, Yıldırım L, Zilelioğlu O. A possible link between the pseudoexfoliation syndrome and coronary artery disease. *Eye*. 2007; 21: 11–15.
- 120- Speckauskas M, Tamosiunas A, Jasinskas V. Association of ocular pseudoexfoliation syndrome with ischaemic heart disease, arterial hypertension and diabetes mellitus. *Acta Ophthalmologica*, 2012; 470-475.