



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DENEYSEL GLOKOM MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
BRİMONİDİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN RETİNA GANGLİON
HÜCRE HASARI ÜZERİNE NÖRON KORUYUCU
ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Mustafa YAVUZ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Levent TÖK

ISPARTA – 2025

BEYAN

“Deneyisel Glokom Modeli Oluşturulan Ratlarda Brimonidin ve N-Asetilsistein’in Retina Ganglion Hücre Hasarı zerine Nöron Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi” adlı Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tez nerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Hazırlayan

Dr. Mustafa YAVUZ

Danışman

Prof. Dr. Levent TK

TEŞEKKÜR

Asistanlık sürecim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, üzerimde büyük emeği bulunan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Levent TÖK'e;

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları anabilim dalında yanlarında çalıştığım için şanslı hissettiğim, bana asistanlığım boyunca her türlü imkânı sağlayan, sahip oldukları bilgi ve tecrübelerini bana aktardıkları için her zaman minnettar kalacağım, klinik ve cerrahi eğitimimde sonsuz emekleri olan, yaptıkları dokunuşlarla mesleki vizyonumu değiştiren sevgili hocalarıma;

Asistanlığım boyunca hiçbir zaman fikrine başvurmaktan çekinmediğim ve aynı zamanda da doktorum olarak minnettar kalacağım sevgili hocam sayın Doç. Dr. Semra ACER'e;

Tez çalışmam boyunca bilimsel araştırma ve çalışmalarımın gerçekleşmesinde büyük emekleri olan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN ve sayın Prof. Dr. Ömer ÇELİK'e;

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim, bu zorlu süreci kolaylaştıran ve eğlenceli hale getiren asistan arkadaşlarıma;

Dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen servis, ameliyathane ve poliklinikte birlikte çalıştığım özveri sahibi tüm hemşire ve personellerimize;

Buralara gelmemde en büyük pay sahipleri olan, desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim, oğulları olduğum için her zaman şanslı hissettiğim, hayatlarını çocuklarına adayan sevgili aileme;

Ve en büyük destekçim, hayatımın her anında her zaman yanımda olan, hayatımda olduğu için her zaman çok şanslı hissettiğim, iltifatların en güzellerine layık olan biricik eşim Dr. Tuğçe KOCAGÖNCÜ YAVUZ'a;

Sonsuz saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarak teşekkür ederim.

Dr. Mustafa YAVUZ

ISPARTA-2025

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Glokom	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Risk Faktörleri	2
2.1.3. Göz İçi Basıncı ve Glokom.....	3
2.1.4. Sınıflandırma	3
2.1.4.1. Primer Çocukluk Çağı Glokomları / Juvenil Glokomlar	4
2.1.4.2. Primer Açık Açılı Glokomlar	4
2.1.4.3. Sekonder Açık Açılı Glokomlar.....	5
2.1.4.4. Primer Açık Kapanması Glokomu	5
2.1.4.5. Sekonder Açık Kapanması	6
2.1.5. Tanı	7
2.1.6. Tedavi	9
2.1.6.1. Medikal Tedavi	10
2.1.6.1.1. Prostaglandin Analogları	10
2.1.6.1.2. Beta Adrenerjik Blokörler	10
2.1.6.1.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	10
2.1.6.1.4. Alfa ₂ Adrenerjik Reseptör Agonistleri	10
2.1.6.1.5. Parasempatimimetik Ajanlar	11
2.1.6.1.6. Rho Kinaz İnhibitörleri	11
2.1.6.1.7. Hiperosmotik Ajanlar	11
2.1.6.2. Cerrahi Tedavi.....	12
2.1.6.2.1. Lazer Cerrahisi	12

2.1.6.2.1.1. Lazer İridotomi	12
2.1.6.2.1.2. Lazer Trabeküloplasti	12
2.1.6.2.1.3. Lazer İridoplasti	12
2.1.6.2.1.4. Siklofotokoagülasyon.....	12
2.1.6.2.2. İnsizyonel Cerrahi	13
2.1.6.2.2.1. Nonpenetran Cerrahi	13
2.1.6.2.2.2. Penetran Cerrahi.....	13
2.1.6.2.2.2.1. Trabekülektomi	13
2.1.6.2.2.2.2. Trabekülotomi.....	13
2.1.6.2.2.2.3. Tüp İmplantasyonu.....	13
2.2. Retina.....	14
2.2.1. Anatomi	14
2.2.1.1. İç Limitan Membran (ILM)	16
2.2.1.2. Retina Sinir Lifi Tabakası (RNFL)	16
2.2.1.3. Ganglion Hücre Tabakası (GCL)	16
2.2.1.4. İç Pleksiform Tabaka (IPL).....	16
2.2.1.5. İç Nükleer Tabaka (INL).....	17
2.2.1.6. Dış Pleksiform Tabaka (OPL).....	17
2.2.1.7. Dış Nükleer Tabaka (ONL).....	17
2.2.1.8. Dış Limitan Membran (ELM)	17
2.2.1.9. Fotoreseptör Tabakası (PR).....	17
2.2.1.10. Retina Pigment Epiteli (RPE)	18
2.2.2. Optik Disk Anatomisi	18
2.2.3. Glokomda Görülebilen Farklı Optik Disk Tiplerinin Klinik Özellikleri..	18
2.2.3.1. Fokal İskemik.....	18
2.2.3.2. Senil Sklerotik.....	19
2.2.3.3. Miyopik	19
2.2.3.4. Konsantrik	19
2.3. Glokom ve Retinal Hasar	20
2.3.1. Mekanik Teori	20
2.3.2. Vasküler Teori	21
2.3.3. Oksidatif Stres	22
2.4. Glokomda Nöron Koruyucu Tedavi.....	23
2.4.1. Brimonidin ve Nöroproteksiyondaki Rolü	24

2.4.2. N-asetilsistein ve Nöroproteksiyondaki Rolü	25
2.5. Glokom Modelleri	31
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
3.1. Deney Hayvanları.....	32
3.2. Grupların Belirlenmesi	32
3.3. Glokom Modeli Uygulaması	33
3.4. İntraperitoneal Enjeksiyon Uygulaması	35
3.5. Deneklerin Sakrifikasyonu ve Enükleasyonu.....	36
3.6. Histopatolojik Değerlendirme	36
3.7. ELISA Analizleri [BCL-2 (B-cell Lymphoma/Leukemia 2), BAX (Bcl-2 Associated X Protein) ve GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein)]	40
3.7.1. Kullanılan Kitler	40
3.7.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması	41
3.7.3. BCL-2, BAX ve GFAP ELISA Analizleri için Deney Prosedürü.....	41
3.7.4. BCL-2, BAX ve GFAP ELISA Analizleri için Deney Protokolü	41
3.8. Oksidatif Stres Parametreleri Analizleri [Malondialdehit (MDA), İndirgenmiş Glutasyon (GSH), Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)]	44
3.8.1. Malondialdehit (MDA) Analizi	44
3.8.2. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Analizi.....	45
3.8.2.1. Gerekli Solüsyonlar.....	45
3.8.2.2. GSH Analizi	45
3.8.3. Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Analizleri.....	46
3.8.3.1. Kullanılan Kitler.....	46
3.9. İstatistiksel Analiz	46
4. BULGULAR	47
4.1. Histopatolojik Bulgular	47
4.1.1. Ganglion Hücre Tabakası (GCL) ve Total Retina Kalınlığı Analizi Bulguları	47
4.2. Elısa Yöntemi ile BCL-2, BAX ve GFAP Analizi Bulguları.....	51
4.2.1. BCL-2 Düzeyi Analizinin Bulguları.....	51
4.2.2. BAX Düzeyi Analizinin Bulguları	52
4.2.3. GFAP Düzeyi Analizinin Bulguları.....	53
4.3. Oksidatif Stres Parametreleri Analizi Bulguları.....	55

4.3.1. Malondialdehit (MDA) Analizi Bulguları	55
4.3.2. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Analizi Bulguları	56
4.3.3. Total Oksidan Seviye (TOS) Analizi Bulguları.....	57
4.3.5. Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizi Bulguları	58
4.3.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Analizi Bulguları.....	59
5. TARTIŞMA	61
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	68
ÖZET.....	70
ABSTRACT	71
KAYNAKLAR	72
EKLER.....	81
Ek 1. Etik Kurul Kararı	81

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µm	: Mikrometre
µmol	: Mikromol
a.u.	: Arbitrary Unit
ALS	: Amyotrofik Lateral Skleroz
BAX	: Bcl-2 Associated X Protein
BCL-2	: B-cell Lymphoma/Leukemia 2
BUT	: Gözyaşı Kırılma Zamanı
DRP	: Diyabetik Retinopati
ELM	: Dış Limitan Membran
GCL	: Ganglion Hücre Tabakası
GFAP	: Glial Fibriler Asidik Protein
GİB	: Göz İçi Basıncı
GM-CSF	: Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
GSH	: İndirgenmiş Glutatyon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HE	: Hematoksilen Eosin
ILM	: İç Limitan Membran
INL	: İç Nükleer Tabaka
IPL	: İç Pleksiform Tabaka
LoGTS	: Düşük Basıncılı Glokom Tedavi Çalışması
MDA	: Malondialdehit
MS	: Multiple Skleroz
MYOC	: Miyosilin
NAC	: N-asetilsistein

ng	: Nanogram
NMDA	: N-metil D-aspartat
nmol	: Nanomol
NO	: Nitrik Oksit
O2⁻	: Süperoksit Radikali
OD	: Optik Disk
OH⁻	: Hidroksil Radikali
ONL	: Dış Nükleer Tabaka
OPCA	: Olivopontin Serebellar Atrofi
OPL	: Dış Pleksiform Tabaka
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PR	: Fotoresptör Tabaka
RNFL	: Retina Sinir Lifi Tabakası
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RP	: Retinitis Pigmentosa
RPE	: Retina Pigment Epiteli
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TBARS	: Tiyobarbitürik Asit
TOS	: Total Oksidan Seviye
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
YBMD	: Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonu

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 2.1. Retina Katmanlarının Histolojik Görüntüsü (43).....	15
Resim 2.2. A: Normal fizyolojik çukurlaşmaya ve rim kalınlığına sahip sağlıklı bir optik sinir; B: Glokomatöz hasar nedeniyle geniş ve derin bir çukurlaşmaya (cupping) sahip glokomatöz optik sinir (23).....	19
Resim 3.1. Anestezi Uygulanmış Deney Hayvanının Sağ Gözüne Optik Sinir Ezilme Hasarı Uygulaması.....	34
Resim 3.2. Brimonidin ve N-Asetilsistein Preparatları	35
Resim 3.3. Retina Katmanları ve Ölçüm Yapılan Alanlar.	38
Resim 3.4. Hasar oluşturulmuş bir optik sinirin görüntüsü	39
Resim 3.5. Kontrol Grubunda Normal Bir Retinanın Ölçüm Yapılan Alanları ve Sonuçları.	39
Resim 3.6. Glokom Grubunda Retinal Atrofi Gelişen Bir Deney Hayvanının Ölçüm Yapılan Alanları ve Sonuçları.....	40
Resim 3.7. BCL-2 kitinde durdurma (Stop) solüsyonu ekledikten sonraki renk değişimi	43
Resim 3.8. BCL-2 kitinin plaka okuyucuya yerleştirilmesi	44
Resim 4.1. Glokom grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.	49
Resim 4.2. Brimonidin grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü..	50
Resim 4.3. NAC grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.....	50
Resim 4.4. Brimonidin+NAC grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.....	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Retina Anatomisi ve İçerdiği Nöronlar (43).....	15
Şekil 2.2. Retina Ganglion Hücre Hasarı Patogenezi (48).....	20
Şekil 2.3. N-Asetilsistein'in Kimyasal Formülü (87)	26
Şekil 2.4. N-Asetilsistein'in Etki Mekanizması (91).....	27
Şekil 3.1. Deney Sürecinde Uygulanan İşlemler Şeması.....	33
Şekil 3.2. ELISA Kitlerinin Protokol Şeması	42



GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1. Ortalama GCL kalınlığının gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması	48
Grafik 4.2. Ortalama total retina kalınlığının gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması	49
Grafik 4.3. BCL-2 düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması	52
Grafik 4.4. BAX düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması...	53
Grafik 4.5. GFAP düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması.	54
Grafik 4.6. MDA düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması..	56
Grafik 4.7. GSH düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması ...	57
Grafik 4.8. TOS düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması....	58
Grafik 4.9. TAS düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması....	59
Grafik 4.10. OSİ düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması....	60

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 3.1. Deney Grupları.....	32
Tablo 4.1. Ganglion Hücre Tabakası (GCL) Kalınlığı Ölçümü Sonuçları.....	48
Tablo 4.2. Total Retina Kalınlığı Ölçümü Sonuçları	48
Tablo 4.3. BCL-2 Düzeyi Analizinin Bulguları	52
Tablo 4.4. BAX Düzeyi Analizinin Bulguları.....	53
Tablo 4.5. GFAP Düzeyi Analizinin Bulguları	54
Tablo 4.6. MDA Düzeyi Analizinin Bulguları	55
Tablo 4.7. GSH Düzeyi Analizinin Bulguları	57
Tablo 4.8. TOS Düzeyi Analizinin Bulguları.....	58
Tablo 4.9. TAS Düzeyi Analizinin Bulguları.....	59
Tablo 4.10. OSİ Düzeyi Analizinin Bulguları.....	60

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Glokom, retina ganglion hücrelerinin geri dönüşü olmayan hasarıyla karakterize nörodejeneratif bir hastalıktır. Glokomda, göz içi basınç (GİB) artışı en önemli risk faktörüdür. Göz içi basıncını düşüren tedavi yaklaşımlarına rağmen glokomatöz retinal hasarın progresyon gösterebilmesi nedeniyle son yıllarda GİB düşürücü tedavilere ek olarak kullanılabilecek nöron koruyucu (Nöroprotektif) tedavi yöntemleri araştırmaların odak noktası olmuştur (1).

Oksidatif stres yaşlanma, inflamasyon ve nörodejenerasyon gibi çeşitli patolojik süreçlerde kodlanmış hücre ölümüne neden olur. Oksidatif stres en basit haliyle, vücuttaki serbest radikaller ve antioksidanların dengesizliğini ifade eder (2). **N-asetilsistein**, L-sistein öncüsü olarak endojen antioksidan sistemler açısından önemlidir. Antioksidan sistemler tarafından etkisiz hale getirilen reaktif oksijen türleri (ROS) eğer kontrolsüz bir şekilde artarsa proteinler, lipidler, nükleer DNA veya mitokondriyal DNA gibi makromoleküllerin oksidasyonu yoluyla hücre hasarına yol açar. Oksidatif stresin, glokom dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklarda önemli bir hücre ölümü mekanizması olduğu bilinmektedir (3,4).

Çalışmamızda nörodejeneratif bir hastalık olan glokomun medikal tedavisi ile bir arada kullanılabileceğini düşündüğümüz potansiyel bir nöroprotektif ajan olarak **N-asetilsistein'in** retina ganglion hücreleri üzerine olan nöroprotektif etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktayız. Bu değerlendirmeleri yaparken **N-asetilsistein'in** nöroprotektif etkilerini, daha önceki çalışmalarda nöroprotektif etkisi gösterilmiş bir antiglokomatöz ajan olan **Brimonidin** ile karşılaştırmayı amaçlamaktayız. Bildiğimiz kadarıyla literatürde **N-asetilsistein'in** retina ganglion hücreleri üzerindeki nöroprotektif etkisi bakımından **Brimonidin** ile karşılaştırmalı bir çalışması bulunmamaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glokom

2.1.1. Tanım

Glokom terimi antik Yunan döneminde açık gri renk değişimi anlamına gelen “Glaukos” kelimesinden gelmektedir. Çeşitli dönemlerde körlüğe neden olan bir göz hastalığı olarak ele alınmış olmakla birlikte göz içi basıncı ile ilişkilendirilmesi ilk olarak Arap metinlerinde yer almaktadır (5).

Günümüzde glokom *optik sinirin progresif dejenerasyonu, retina sinir lifi tabakasında (RNFL) incelme ve retina ganglion hücre harabiyetini içeren bir optik nöropati* olarak tanımlanabilir (1,6). Dünya çapında körlüğün önde gelen nedenlerinden birini oluşturmaktadır. Kronik ve progresif bir hastalık olan glokomun erken tanı ve uygun tedaviler ile ilerlemesi yavaşlatılabilmekle birlikte ömür boyu hastalığın yönetimi gerekmektedir (7).

Glokom prevalansının günümüzde yaklaşık %3,5 düzeylerinde olduğu düşünülmektedir. 2040 yılında nüfus içindeki yaşlı kişilerin sayısı ve oranının artışı ile birlikte yaklaşık 110.000.000 insanın glokom hastası olacağı öngörülmektedir (6).

2.1.2. Risk Faktörleri

Glokom gelişiminde risk faktörleri olarak; GİB yüksekliği, genetik yatkınlık, ileri yaş, ailede glokom öyküsü varlığı, diyabet, hipertansiyon, vazospazm, kontrolsüz steroid tedavisi kullanımı, mevcut optik sinir başı hasarı, santral kornea kalınlığının ortalama değerlerin altında olması, miyopi ve psödoeksfolyasyon varlığı gösterilebilir (8,9).

Glokomun aile öyküsünün önemli bir risk faktörü olması, glokom gelişiminde genetiğin rolünü desteklemektedir. Bu konuda *Miyosilin (MYOC)*, tanımlanan ilk glokom genidir; otozomal dominanttır ve primer açık açılı glokom olgularının yaklaşık %4'ünden sorumludur (10).

2.1.3. Göz İçi Basıncı ve Glokom

GİB artışı glokom için majör risk faktörüdür. Primatlarda GİB artışının sağlandığı deneysel çalışmalarda glokoma bağlı optik sinir hasarı görülmüştür (11,12). Popülasyondaki dağılıma bakıldığında zaman GİB için 11-21mmHg arasındaki değerler normal olarak değerlendirilmektedir. Ancak, GİB 21 mmHg'nın altında olup glokomatöz hasar bulunan (*Normotansif glokom*) hastalar olabildiği gibi, GİB 30 mmHg'ye kadar ulaşan ancak glokoma ait herhangi bir hasar bulunmayan (*Oküler hipertansiyon*) hastalar da görülebilmektedir (13–15).

GİB değerleri gün içerisinde ölçüm yapılan saate, kalp atımlarına ve kan basıncı değerlerine göre değişkenlik göstermektedir. GİB diurnal ritme bağlı olarak sabah ölçümlerinde akşam saatlerine göre 4-5 mmHg daha yüksek çıkabilmektedir. Diurnal GİB düzeylerine en önemli katkı plazma kortizolleri tarafından olmaktadır. Uykunun son üçte birlik bölümünde plazma kortizollerinde artış olmasıyla GİB düzeylerinin en yüksek seviyelere ulaştığı saptanmıştır (16).

Yüksek basınç nedeniyle optik siniri oluşturan retina ganglion hücreleri aksonlarında mikrosirkülasyon ve metabolizma bozulmakta, buna bağlı olarak hücrelerde apoptozis meydana gelmektedir (17,18). Merkezi sinir sisteminin bir uzantısı olan bu hücrelerin merkezi sinir sisteminde görev alan nöronlarda da olduğu gibi bölünme özellikleri bulunmaz ve kaybedildiklerinde yerine yenileri konulamaz. Bu nedenle zaman geçtikçe daha fazla hücrenin kaybedilmesi, optik sinirde fizyolojik olarak bulunan çukurlaşmanın giderek genişlemesine ve derinleşmesine (cupping) neden olarak anatomik; kaybedilen hücrelerin görev aldığı görme alanı bölgesinde defektlerin oluşması, görmenin azalması ve son evrede ışık hissinin bile alınamadığı tam körlüğün ortaya çıkmasıyla da fonksiyonel sonuçlara neden olmaktadır (16).

2.1.4. Sınıflandırma

Günümüzde glokom için farklı sınıflandırmalar mevcuttur. Başlangıç yaşına göre (Konjenital, erişkin vs.), oluş mekanizmasına göre (Açık açılı veya kapalı açılı) ve başka bir patoloji nedeniyle olup olmadığına göre (Primer veya sekonder) ayrılabilir.

Avrupa Glokom Cemiyeti'nin yayınlamış olduğu 5. Baskı kılavuzuna göre glokom sınıflaması aşağıdaki gibidir (19):

2.1.4.1. Primer Çocukluk Çağı Glokomları / Juvenil Glokomlar

Primer konjenital glokom nadir görülen ancak tedavi edilmediğı takdirde körlükle sonuçlanan bir hastalıktır. Bu nedenle çocuğun gelişimini ve tüm yaşamı boyunca hayat kalitesini önemli ölçüde etkiler. Her zaman cerrahi tedavi gereklidir.

- Primer Konjenital Glokom
- Geç Başlangıçlı Çocukluk Dönemi Açık Açılı Glokomu
- Sekonder Çocukluk Çağı Glokomları
 - Edinilmiş Olmayan Oküler Anomalilerle Bağlantılı Glokom
 - Edinilmiş Olmayan Sistemik Hastalık ya da Sendromla Bağlantılı Glokom
 - Edinilmiş Rahatsızlıkla Bağlantılı Glokom
 - Çocuklukta Katarakt Cerrahisini Takiben Oluşan Glokom

2.1.4.2. Primer Açık Açılı Glokomlar

Açık açılı glokomlar, konjenital anomaliler ve diğerk oküler hastalık yokluğunda ortaya çıkan optik sinir başı ve retina sinir lifi tabakasında karakteristik morfolojik değışikliklere sahip olan, kronik optik nöropatilerdir.

- Yüksek Basınçlı Primer Açık Açılı Glokom
- Normal Basınçlı Primer Açık Açılı Glokom
- Primer Geç Başlangıçlı Juvenil Glokom
- Primer Açık Açılı Glokom Şüphesi
- Oküler Hipertansiyon

2.1.4.3. Sekonder Açık Açılı Glokomlar

Altta yattan çeşitli etkenlerin sebep olduğu açık açılı glokomlardır.

- Oküler Hastalığın Yol Açtığı Sekonder Açık Açılı Glokomlar
 - Psödoeksfolyatif ya da Eksfolyatif Glokom
 - Pigmenter Glokom
 - Lensle İndüklenen Açık Açılı Glokom
 - İntraoküler Hemoraji ile Bağlantılı Glokom
 - Üveitik Glokom
 - Neovasküler Glokom
 - İntraoküler Tümörlerden Kaynaklanan Glokom
- Oküler Travma Nedeniyle Sekonder Açık Açılı Glokom
- İatrojenik Sekonder Açık Açılı Glokom
 - Kortikosteroid Tedavisi Nedeniyle Gelişen Glokom
 - Oküler Cerrahi ve Lazer Nedeniyle Gelişen Glokom
 - Vitreoretinal Cerrahi ile Bağlantılı Glokom
- Ekstraoküler Hastalığın Neden Olduğu Sekonder Açık Açılı Glokom
 - Artmış episkleral venöz basıncın neden olduğu glokom

2.1.4.4. Primer Açı Kapanması Glokomu

- Primer Açı Kapanması Şüphesi
- Primer Açı Kapanması ve Primer Açı Kapanması Glokomu
- Pupiller Blok ya da Kombine Mekanizmalar Nedeniyle Akut Açı Kapanması Atağı
- Status Post Akut Açı Kapanması Atağı

2.1.4.5. Sekonder Açık Kapanması

- Pupiller Blok ile Sekonder Açık Kapanması
- Anterior “Çekme” Mekanizması ile Sekonder Açık Kapanması Pupiller Blok Olmaksızın Sineşiyel Kapanma
 - Neovasküler Glokom
 - İridokorneal Endotelyal Sendrom
 - Anterior Segment Cerrahisi ya da Penetran Travma Sonrası Epitelyal ve Fibröz İçeride Büyüme
- Posterior “İtme” Mekanizması ile Pupiller Blok Olmaksızın Sekonder Açık Kapanması
 - Aköz Ters Yönelimi / Malign Glokom
 - İris ve Siliyer Cisim Kistleri, İntraoküler Tümörler
 - Vitreus Kavitesi İçerisinde Silikon Yağı ya da Gaz
 - Açık Kapanmasına Yol Açan Uveal Efüzyon
 - Prematüre Retinopatisi (Evre 5)
 - Sekonder açık Kapanması Glokomu ile İlişkili Olabilen Konjenital Anomaliler

Yukarıdaki sınıflandırmadan da anlaşılacağı üzere glokom değişen mekanizmalarla birçok farklı şekilde sınıflandırılabilir. Günümüzde klinik pratikte glokom ayrıca açık açılı ve açık kapanması olmak üzere iki geniş başlıkta ele alınabilmektedir.

Açık açılı glokom günümüzde en sık görülen glokom tipidir. Yetmiş yaş üzeri popülasyonda sıklığı beyaz popülasyonda yaklaşık %6, siyah popülasyonda yaklaşık %16 ve Asyalılarda %3 dolaylarında saptanmıştır. Her iki cinsiyeti de eşit olarak etkilemektedir (20,21).

Açık açılı glokom kronik bir hastalıktır. Hastalarda trabeküler dışa akıma karşı zaman içerisinde bir direnç gelişmesine bağlı olarak aköz hümör göz içerisinde birikmeye başlamaktadır. Buna bağlı olarak GİB zamanla yavaş yavaş yükselmekte ve değişen derecelerde patolojik olaylara sebebiyet vermektedir. Hastalarda bu yavaş

yükseliş erken dönemde semptomlara neden olmaz ve tanının konulması ileri derecede kayıp olana kadar gecikebilir. Hastalarda belirgin semptomlar geliştiğinde ise optik sinir başında ve retinada patolojik değişiklikler farklı düzeylerde gelişmiş olarak karşımıza çıkmaktadır (22).

Açı kapanması glokomu iridotrabeküler teması ifade eder. Altta yatan neden olup olmasına göre primer ya da sekonder olarak sınıflandırılabilir. Açı kapanması glokomunun kronik tipi görme alanı kusurları fark edilene kadar asemptomatik olabilir. Akut formu ise pupiller blok, konjonktivada belirgin hiperemisi olan bir göz, korneal ödem, reaktif olmayan pupilla, sıg ön kamara ve yüksek GİB ile karşımıza çıkmaktadır. Akut açı kapanması glokomuna şiddetli göz ağrısı ve bulanık görme, ışıkların etrafında görülen haleler, bulantı ve kusma eşlik edebilir (23).

2.1.5. Tanı

Glokom tanısı ayrıntılı bir muayene ile konulabilmektedir. Ancak glokom hastalarında özellikle de açık açılı olan olgularda genellikle ileri evrelere kadar semptom olmayabilir. Glokomun bu yavaş ve sinsi progresyonu nedeniyle ilk tanı anında bile ileri düzeyde patolojik değişikliklerin çoktan meydana gelmiş olduğu görülebilmektedir. Kronik glokom formlarında ağrı olmadığından ve ölçülebilir görme alanı kusurları glokomun erken bir aşamasında gelişmediğinden etkilenen bireyler tarafından glokomun kendi kendine tespiti genellikle hastalığın geç evrelerinde gerçekleşir (24).

Glokom teşhisinin en önemli adımları, optik sinir başı (Optik disk) ve RNFL'nin incelenmesidir. Optik diskteki glokomatöz değişiklikler arasında nöroretinal rim kaybı, optik cup'un derinleşmesi, RNFL'nin incilmesi ve hastalığın progresyon belirtileri olan optik disk kanamaları ile peripapiller beta bölgesinin gelişimi yer alır (25). Tüm bu değişiklikler, oftalmoskopi veya özellikle takip muayeneleri için yararlı olan optik koherens tomografi gibi görüntüleme teknikleriyle değerlendirilip hastalık progresyonu kayıt altına alınmalıdır (26,27).

Glokom teşhisindeki diğer bir önemli adım GİB ölçümüdür. GİB yüksekliği glokom gelişimi için majör risk faktörüdür. Ancak glokom tanısı

konulurken tek başına GİB ölçümü yeterli bir kriter değildir. GİB normal olup glokomatöz hasar gelişmiş olan hastalar (Normotansif glokom) olabileceği gibi GİB popülasyona göre normal kabul edilen değerlerin (11-21 mmHg) üzerinde olup glokomatöz bir değişikliğin izlenmediği hastalar (Oküler hipertansiyon) olabilmektedir. Ayrıca tonometrik ölçümlerin merkezi kornea kalınlığına bağımlılığı dikkate alınmalıdır. Anormal derecede kalın korneaya sahip olan gözlerde hatalı yüksek GİB ölçümleri alınması potansiyel olarak yanlış tanı konulmasına yol açar. Anormal derecede ince korneaya sahip gözlerde ise GİB hatalı şekilde düşük ölçülecektir ve bu nedenle tanı konulmasında gecikmeler meydana gelebilmektedir. Bu nedenle santral kornea kalınlığı tonometrik okumaların doğru şekilde değerlendirilebilmesi ve düzeltilebilmesi için en az bir kez ölçülmelidir (24,28,29).

Perimetrik görme alanı muayenesi, glokomatöz optik sinir hasarının tanı ve takibinde yardımcı olan önemli bir tekniktir. Perimetrik kusurlar tespit edilmeden önce birçok retinal sinir lifi kaybedilebilir, bu nedenle görme alanı muayenesinin tanısallık kesinliği glokom evresiyle birlikte artmaktadır. Görme alanı testi görmedeki kusuru hasta tarafından yaşandığı şekliyle subjektif olarak tanımlar, bu nedenle görme alanı kusurlarını güvenilir bir şekilde tespit etmek için tekrarlayan ölçümler gerekebilir. Glokom hastalarını yöneten klinisyenler tarafından, tedavilerin etkili olup olmadığını veya ek müdahalelere ihtiyaç olup olmadığını belirlemek için görme alanı muayenesi düzenli periyotlarla yapılmalıdır (30,31).

Glokom teşhisindeki önemli diğer muayene yöntemi gonyoskopik açı muayenesidir. Gonyoskopik açı muayenesi ile iridokorneal birleşme alanında yer alan skleral mahmuz, trabeküler ağ ve iris yapıları değerlendirilerek açının açık veya kapalı olmasına göre glokom tipi tespit edilir. Bu muayene yöntemi ile glokomun tedavi modalitesi belirlenmektedir (32).

2.1.6. Tedavi

Glokom tedavisinin amacı görme fonksiyonunu korumaktır. Bunu sağlarken hastanın tahmin edilen yaşam süresi boyunca uygun bir maliyetle ve minimum yan etki ile günlük yaşam faaliyetlerini engellemeden bireyin ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde görme fonksiyonunun korunması amaçlanır (33).

Retina ganglion hücre hasarı ve buna bağlı olarak fonksiyonel kayıp oranı her hasta için farklıdır. Hastaların tahmin edilen yaşam süreci boyunca hayat kalitesini korumak için, ganglion hücre kaybı önemli fonksiyonel bozukluk eşiğinin üzerinde kalacak şekilde minimum düzeyde kalmalıdır. Bu nedenle hastalığın progresyon hızının tespiti, tedavinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır (34,35).

Glokomun tedavi hedefleri arasında göz içi basıncının düşürülmesi, oküler kan akımının iyileştirilmesi ve doğrudan nöron korunması (Nöroproteksiyon) bulunmaktadır (36).

Glokomda değiştirilebilir tek risk faktörü olan göz içi basıncının düşürülmesi esas tedavi olarak kabul edilmektedir. Ancak glokom progresyonu her hasta için farklılık göstermekte ve istenilen basınç düzeyi hastadan hastaya değişiklik göstermektedir. Her hasta için güvenli olacak tek bir GİB değerinin olmaması nedeniyle hedef değer hastanın progresyon durumuna göre belirlenmelidir (35). Tedaviden önceki GİB düzeyine, hastanın yaşına, göz içi basıncının gösterdiği dalgalanmalara, teşhis sırasındaki görme alanı hasarının düzeyine, glokomatöz hasarın progresyon hızına, hastanın beklenen ortalama yaşam süresine ve diğer risk faktörlerinin varlığına bağlı olarak her hasta için hedef GİB ayrı ayrı belirlenmelidir. Göz içi basıncını düşürmeye yönelik tedavi yöntemlerini; medikal ve cerrahi tedavi olmak üzere iki grupta toplamak mümkündür (37,38).

2.1.6.1. Medikal Tedavi

2.1.6.1.1. Prostaglandin Analogları

Uveoskleral dışa akımı arttırarak göz içi basıncını düşürürler. Klinik kullanımda Latanoprost, Tafluprost, Bimatoprost ve Travoprost olmak üzere dört çeşit prostoglandin analogu bulunmaktadır. Zirve etkilerine yaklaşık 12 saatte ulaşmaktadırlar, bu nedenle geceleri tek doz şeklinde kullanılmaları önerilmektedir. Distkiyazis, iris renginde ve göz çevresi cilt renginde koyulaşma ve ön üveitik reaksiyon gibi yan etkileri mevcuttur.

2.1.6.1.2. Beta Adrenerjik Blokörler

Siliyer epitel boyunca cAMP'yi azaltarak aköz hümör üretimini ve göz içi basıncını azaltırlar. Etkileri topikal uygulamadan 1 saat sonra başlamaktadır. Uzun süreli kullanımda taşıflaksi gelişebilmekte ve ilaç etkinliği azalabilmektedir. Betaksolol selektif β_1 antagonisti iken; Karteolol, Levobunolol, Timolol ve Metipranolol nonselektif etkilidir.

2.1.6.1.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Siliyer epitel boyunca yer alan Karbonik Anhidraz enzimini inhibe ederek aköz üretiminde azalma sağlarlar. Topikal uygulamanın yanı sıra (Brinzolamid, Dorzolamid) sistemik ilaç formu da vardır. Sistemik etkili oral form olan Asetazolamid alındıktan yaklaşık 1 saat sonra etki etmeye başlar. Yan etki olarak hipokalemiye bağlı parmaklarda pareteziler görülebilmektedir. Ayrıca diyare, abdominal kramplar, libido kaybı ve sulfa alerjisi olan hastalarda alerjik reaksiyona neden olabilmektedirler. Nadir bir yan etki olarak aplastik anemiye neden olabilirler.

2.1.6.1.4. Alfa2 Adrenerjik Reseptör Agonistleri

Göz içi basıncını düşürme etkileri bakımından dual etkili ajanlardır. Brimonidin ve Apraklonidin bu grupta yer alır. Hem trabeküler dışa akımı arttırma hem de aköz hümör yapımını azaltma yoluyla etki ederek göz içi basıncını düşürmektedirler. Santral sinir sistemi yan etkileri ve solunum durması,

hipotansiyon gibi etkileri olabilmesi nedeniyle küçük çocuklarda (<12 kg) kullanılmamalıdır. *Brimonidin'in basınç düşürücü etkisinden bağımsız olarak nöroprotektif etkinliği mevcuttur.*

2.1.6.1.5. Parasempatomimetik Ajanlar

Aköz hümör dışa akımını arttırarak etki etmektedirler. Direkt etkili (Pilocarpin, Karbakol, Asetilkolin) ve indirekt etkili (Demekaryum, Ekotiyofat, Fizostigmin) olabilmektedirler. Asetilkolin longitudinal siliyer kaslarda kontraksiyona neden olur ve bu sayede trabeküler ağda gerilme meydana gelir. Bunun sonucunda da aköz hümör dışa akımında artış meydana getirirler. Bronkospazm, abdominal kramplar, psödomiyopi, siliyer spazm, retina dekolmanı, pupil bloğunda artış ve konjonktival kalınlaşma gibi yan etkiler görülebilmektedir.

2.1.6.1.6. Rho Kinaz İnhibitörleri

Bu grupta yer alan Netarsudil ve Ripasudil trabeküler dışa akımı arttırarak GİB düşürücü etki yaparlar. Konjonktival hiperemi, konjonktivit, blefarit ve göz kapağı eritemi gibi lokal yan etkiler görülebilir.

2.1.6.1.7. Hiperosmotik Ajanlar

Sistemik uygulama yolu ile kan osmolaritesini arttırırlar. Bu duruma bağlı olarak vitreus ile kan arasında osmotik gradient oluşturarak vitreus boşluğundan sıvıyı çekerek göz içi basıncını düşürürler. Akut GİB yükselmelerinde en etkin ajanlardır. Mannitol ve Gliserol vasküler kompartmandaki sıvı miktarını arttırdıkları için hastalar, kalp ve böbrek yetmezliği açısından değerlendirilmelidir. Ayrıca kan şekeri üzerine etkilerinden dolayı diyabetik hastalarda kullanımları açısından dikkatli olunmalıdır (37).

2.1.6.2. Cerrahi Tedavi

2.1.6.2.1. Lazer Cerrahisi

2.1.6.2.1.1. Lazer İridotomi

Olası bir pupilla bloğu olan ya da belirgin klinik mevcut olan hastalarda endikedir. Süperior kadranlara olacak şekilde ve görünür damarlardan uzakta kalacak şekilde uygulanmalıdır. Uzun siliyer arter hasarı riski nedeniyle saat 3 ve 9 kadranlarına uygulanmamalıdır.

2.1.6.2.1.2. Lazer Trabeküloplasti

Maksimum medikal tedaviye rağmen istenen GİB düşüşü sağlanamayan hastalarda endikedir. Gonyoskopi lensi yardımı ile açı görünür hale getirildikten sonra pigmente-nonpigmente trabeküler ağ arasına gelecek ve 180°-360° olacak şekilde lazer uygulanır. Çevre dokunun gerilmesi sonucunda aköz hümör dışı akımının arttırılması sağlanır.

2.1.6.2.1.3. Lazer İridoplasti

İris periferine atışlar yapılarak dokuda kontraksiyon oluşturulur ve bunun sonucunda iris planında düzleşme sağlanır. Plato iris olgularında kullanılır.

2.1.6.2.1.4. Siklofotokoagülasyon

Filtrasyon cerrahisine uygun olmayan ya da inatçı glokom formlarına (İnflamatuar glokom, neovasküler glokom, kronik açı kapanması glokomu vs.) sahip olan hastalarda seton cerrahisine alternatif olarak uygulanabilmektedir. Hifema, görme keskinliğinde azalma, korneal dekompanasyon, kronik hipotoni ve fitizis bulbi gibi komplikasyonları görülebilmektedir.

2.1.6.2.2. İnsizyonel Cerrahi

2.1.6.2.2.1. Nonpenetran Cerrahi

Açık açılı glokom olgularında uygulanabilir. Derin sklerektomi, viskokanalostomi ve kanaloplasti bu grupta yer almaktadır.

2.1.6.2.2.2. Penetran Cerrahi

2.1.6.2.2.2.1. Trabekülektomi

Aköz drenajında önemli direnç noktası olan trabeküler ağ yapısının yaklaşık 1mm'lik bir kısmının çıkarılarak ön kamara ile konjonktiva altı arasında geçiş sağlayan alternatif bir yol oluşturma amacıyla yapılır. Subkonjonktival alana ulaşan aköz hümör skleral, episkleral, konjonktival damarlarla ve kısmen de konjonktival epitelden geçip göz yaşına karışarak uzaklaşır. Özellikle uzun dönemde fibrozis gelişimi sonucu başarının düşmesine yol açan tenon ve diğer fibrotik yapıların intraoperatif antifibrotik ajanlar kullanılarak destrükte edilmesiyle uzun dönemde başarısı oldukça yüksektir.

2.1.6.2.2.2.2. Trabekülotomi

Genellikle konjenital glokom olgularında tercih edilir. Ab externo yaklaşım ile Schlemm kanalı kanüle edilir ve yırtılarak trabeküler ağın açılması sağlanır.

2.1.6.2.2.2.3. Tüp İmplantasyonu

Trabekülektominin başarısının yanında bleb sızıntıları, erken ve geç endoftalmi, sıg ön kamara, korneal endotelial hücre kaybı, katarakt gelişimi ve cerrahi başarısızlık gibi komplikasyonları bu cerrahiyi birçok vakada daha az uygun bir seçenek haline getirmekte ve seton cerrahileri bu hastalarda seçenek haline gelmektedir. Bu cerrahiler sentetik materyalden (çoğunlukla silikon) üretilen drenaj cihazları kullanılarak aköz drenajı için fistül oluşturulan cerrahilerdir. Aköz hümörün çıkışı için alternatif bir yol oluşturan küçük rekonstrüktif cerrahi cihazlar olan drenaj cihazları kullanılır. Bu cihazlar temelde ön kamaradan aközü alan bir 'tüp' kısmından ve globun ekvatoryal eksenini civarında konumlanarak aközün yayılmasını sağlayacak

bir rezervuar görevi üstlenen ‘plak’ kısmından oluşur. Molteno, Krupin, Baerveldt, Ahmed ve Paul gibi türleri mevcuttur. Temel çalışma prensipleri aynıdır ancak plak dizaynı ve postoperatif hipotoniye engellemek amacı ile geliştirmeye çalıştıkları valf mekanizmaları açısından farklılık gösterirler (38).

Ülkemizin de içinde yer aldığı birçok ülkede, hastaların büyük çoğunluğunu oluşturan primer açık açılı glokomda ilk tedavi seçeneği göz içi basıncının düşürülmesine yönelik medikal tedavi olmaktadır. Bununla birlikte istenilen GİB değerlerine ulaşılmasına rağmen hastalık progresyonunun devam ettiğinin görülebilmesi ve glokomun bir nöropati olduğu göz önüne alındığında nörodejeneratif değişikliklerin ve buna yönelik nöroprotektif tedavi modalitelerinin günümüzde glokom tedavisinde yer alması öngörülebilir bir durumdur (39–41).

2.2. Retina

2.2.1. Anatomi

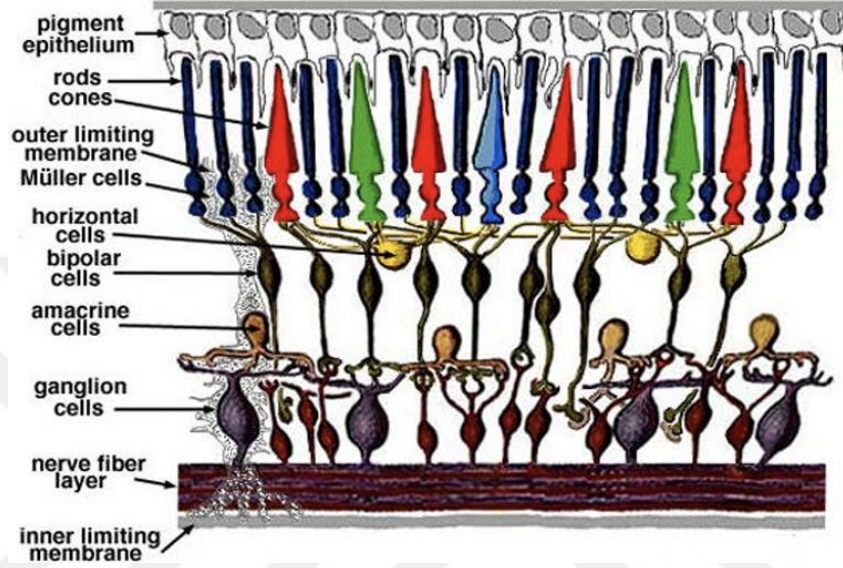
Retina gözün en içte yer alan tabakasıdır. Merkezi sinir sisteminin bir parçası olan retina görüntülerin optik sinir vasıtası ile oksipital kortekste yer alan görme merkezine kadar iletilmesini sağlayan dokudur. Ön tarafta ora serratadan başlayıp arka tarafta optik diske kadar devam eder. Retinanın en kalın olduğu bölge optik disk (OD) çevresi olup ortalama 0.56 mm kalınlığa sahiptir. En ince olduğu yer ise 0.10 mm kalınlık ile fovea bölgesidir.

Retina nöronlar, glial hücreler ve kan damarlarından oluşmaktadır. Retinanın sahip olduğu nöron tipleri retina ganglion hücreleri, fotoreseptör hücreler (Rodlar ve Konlar), amakrin hücreler, yatay hücreler ve bipolar hücrelerdir (42).

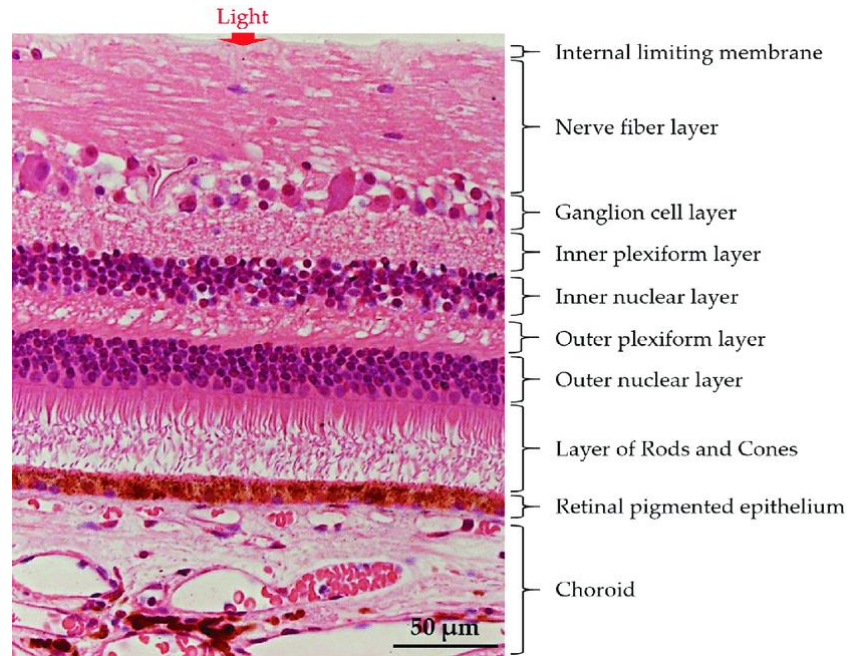
Retina tabakaları içten dışa doğru:

1. İç limitan membran
2. Sinir lifi tabakası
3. Ganglion hücre tabakası
4. İç pleksiform tabaka
5. İç nükleer tabaka

6. Dış pleksiform tabaka
7. Dış nükleer tabaka
8. Dış limitan membran
9. Rodlar ve Konlar
10. Retina pigment epiteli'dir.



Şekil 2.1. Retina Anatomisi ve İçerdiği Nöronlar (43)



Resim 2.1. Retina Katmanlarının Histolojik Görüntüsü (43)

2.2.1.1. İç Limitan Membran (ILM)

Vitreus ile nöral retina arasında yer alır. Müller hücreleri tarafından oluşturulmaktadır. Vitreus ile komşu olan iç tarafı düz olup retinaya bakan tarafında ayaksı çıkıntılar mevcuttur. Tip I ve Tip IV kollajen, Fibronektin ve Laminin yapıtaşlarını oluşturur. OD komşuluğunda Elsching membranı olarak isimlendirilmektedir. Kalınlığı yaşla birlikte artmakta ve retina ile vitreus arasındaki tanjansiyel-traksiyonel kuvvetler sonucunda meydana gelen patolojilerden sorumlu tutulmaktadır (44).

2.2.1.2. Retina Sinir Lifi Tabakası (RNFL)

Yaklaşık olarak 1.200.000 ganglion hücre aksonundan oluşmaktadır. Lamina kribrosa sonrasında miyelinli hale gelerek optik sinirle birlikte lateral genikülat gangliona kadar devam eder. Ganglion hücre aksonları nazalde yelpaze şeklinde, temporalde maküla çevresinde ise arkuat bir yapı oluşturarak toplanır. Foveadan çıkan aksonlar ise mediale yönlendirilerek optik diske katılırlar, bu demet papillomaküler band olarak isimlendirilir. OD kenarında tabakanın kalınlığı en fazla olup periferde doğru giderek inceler. Süperfisiyal kapiller pleksus bu tabakada bulunmaktadır (44).

2.2.1.3. Ganglion Hücre Tabakası (GCL)

Multipolar yapıda olan bu hücrelerin aksonları RNFL'ye katılırken, dendritleri ise bipolar ve amakrin hücreler ile iç pleksiform tabakada sinaps yapmaktadır. Foveolada bu tabaka bulunmaz. Makulada birkaç sıra şeklinde yer alan bu hücreler perifer retinada ise tek sıra halinde bulunmaktadır. *Glokomda iç pleksiform tabaka ile birlikte sekonder değişikliklerin en sık izlendiği tabakadır.* Glokom hastalarında görme alanı testindeki kayıplarla bu değişiklikler korelasyon göstermektedir ve glokom takibinde yapısal testlerle takibi önemlidir (1,45).

2.2.1.4. İç Pleksiform Tabaka (IPL)

Ganglion hücrelerinin dendritlerinin amakrin hücreler ve bipolar hücreler ile sinaps yaptığı bölgedir. Foveada bulunmaz.

2.2.1.5. İç Nükleer Tabaka (INL)

Bu tabakada amakrin hücreler, Müller hücreleri, interpleksiform hücreler, bipolar hücreler ve horizontal hücreler yer almaktadır. Bu tabakadaki hücreler sayesinde elektriksel ileti ve sinyal modifikasyonu yapılmaktadır. Derin kapiller pleksus bu tabakada yer almaktadır.

2.2.1.6. Dış Pleksiform Tabaka (OPL)

Bu tabakada bipolar hücreler, horizontal hücreler ve fotoreseptör hücrelerle sinaps yapmaktadır. Rodların ve Konilerin aksonları makulada daha uzundur ve foveada oblik seyrettiklerinden dolayı dış pleksiform tabaka daha kalın yapıdadır. Bu bölge Henle tabakası olarak adlandırılmaktadır. Koroidal ve retinal dolaşıma diğer katmanlara oranla daha uzak olduğu için bu bölge dejenerasyonlara daha hassastır (44).

2.2.1.7. Dış Nükleer Tabaka (ONL)

Rod ve Kon hücreleri bulunur. Fotoreseptör hücre nükleusları ve gövdeleri yer almaktadır.

2.2.1.8. Dış Limitan Membran (ELM)

Membran olarak isimlendirilse de gerçek bir membran değildir. Elektron mikroskopuyla incelemelerde bu bölgenin Müller hücreleri ve fotoreseptör hücreleri arasındaki zonula adherensler olduğu gösterilmiştir.

2.2.1.9. Fotoreseptör Tabakası (PR)

Bu tabakada fotoreseptör hücrelerinin dış ve iç segmentleri yer alır. Dış segmentler retina pigment epitelinin apikal villusları tarafından sarılmış haldedir. Dış segmentte devamlı yenilenen diskler bulunmaktadır. Eski diskler retina pigment epiteli tarafından uzaklaştırılır. Foveada yalnızca Kon hücreleri yer alır ve perifere doğru Kon hücrelerinin sayısı azalarak devam eder. Rodlar perifoveal alanda yoğunluk göstermektedir ve tek bir fotonu bile algılayabilecek kadar hassas yapıdadırlar. Karanlıkta renkleri grinin tonları şeklinde görmeyi sağlar. Konlar ise parlak ışıktaki renkli görmeyi sağlamaktadırlar (44,46).

2.2.1.10. Retina Pigment Epiteli (RPE)

Koroid ile nöral retina arasında yer almaktadır. Ora serrataya kadar uzanan RPE siliyer cismin pigmentli epiteli olarak devam etmektedir. Aralındaki zonula okludens bağlantıları sayesinde serbest iyon ve sıvı geçişine engel olmakta ve bu sayede dış kan-retina bariyerini oluşturmaktadır. Retina pigment epitelinin bazal membranı Bruch membranının iç tabakasını meydana getirir. Apikal bölgelerindeki villuslar sayesinde fotoreseptör hücrelerin dış segmentini sarar bu bölgedeki işlevini kaybetmiş dökülen disklerin fagositozunu yaparken diğer yandan da yeni disk sentezini sağlar. A vitaminin metabolizmasını sağlamakla birlikte depolanmasından da sorumludur. Melanin granülleri sayesinde ışığın dağılmasını önler. Fotoreseptör devamlılığını, koryokapilleristen gelen maddelerin nöral retinaya iletimi ve subretinal alandaki sıvının aktif şekilde transportunu sağlar (42,45).

2.2.2. Optik Disk Anatomisi

Retina ganglion hücresi aksonlarının optik sinir kanalında toplanması sonucu oluşur. Yaklaşık 1.200.000 sinir lifi 1000 kadar demet oluşturur. Sklerayı geçtikten hemen sonra miyelin kılıf ile sarılır. Optik disk boyutları kişiden kişiye önemli varyasyon göstermekle birlikte yaklaşık olarak vertikal 1,88 mm ve horizontal olarak 1,77 mm boyutlarındadır. Optik disk aynı zamanda retina kan damarlarının giriş çıkış yaptığı yerdir.

Optik disk glokom değerlendirmesi ve takibinde en önemli bölgelerden biridir. Glokomda optik diskte ve çevresinde çeşitli patolojik değişiklikler izlenebilmektedir. Bu değişiklikler vazospazm, GİB artışı, kan akımında anormallikler gibi farklı ve iç içe geçmiş patolojiler sonucunda oluşmaktadır (39,41).

2.2.3. Glokomda Görülebilen Farklı Optik Disk Tiplerinin Klinik Özellikleri

2.2.3.1. Fokal İskemik

Çoğunlukla kadınlarda görülen ve etyopatogenezinde vazospazmın olduğu tiptir. Optik sinir başının fokal çentiklenmesi veya edinilmiş pit görülen hastalarda

bazen peripapiller atrofi de görülebilir. Hastalarda vazospazm nedeniyle migren, el ve ayaklarda soğukluk, optik sinir başında mum alevi şeklinde hemorajiler görülebilir.

2.2.3.2. Senil Sklerotik

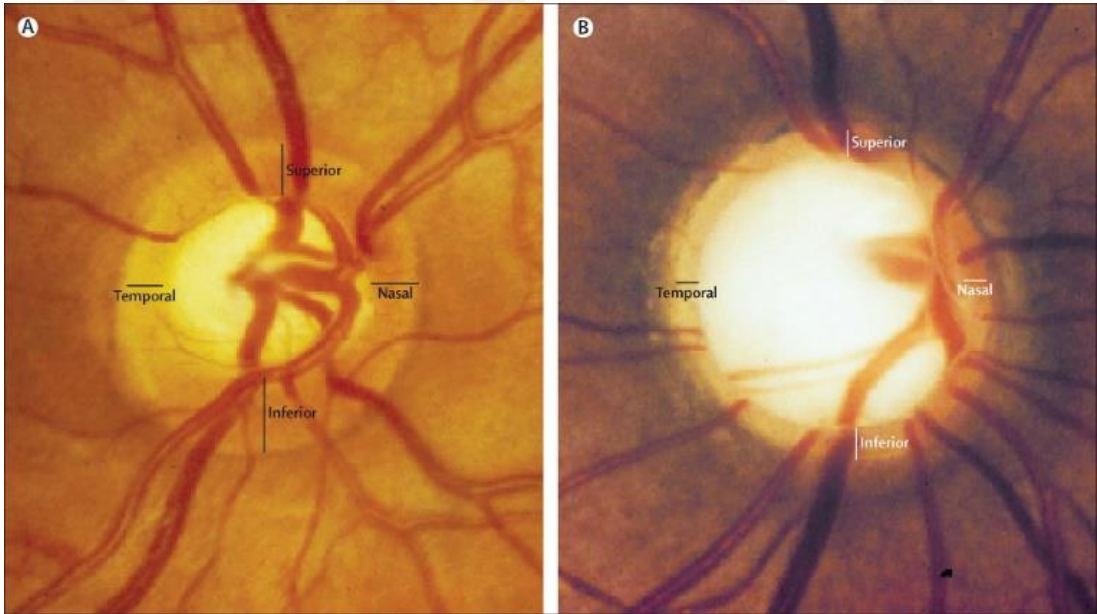
Çoğunluğu ileri yaş grubunda olan bu tipte ise sığ bir optik disk ve peripapiller atrofi izlenir. Oftalmik arter kan akımındaki azalma etyopatogenezi oluşturur. Sistemik hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar eşlik edebilir.

2.2.3.3. Miyopik

Eğik (Tilted) optik sinir başına hilal şeklinde peripapiller atrofinin eşlik ettiği tiptir.

2.2.3.4. Konsantrik

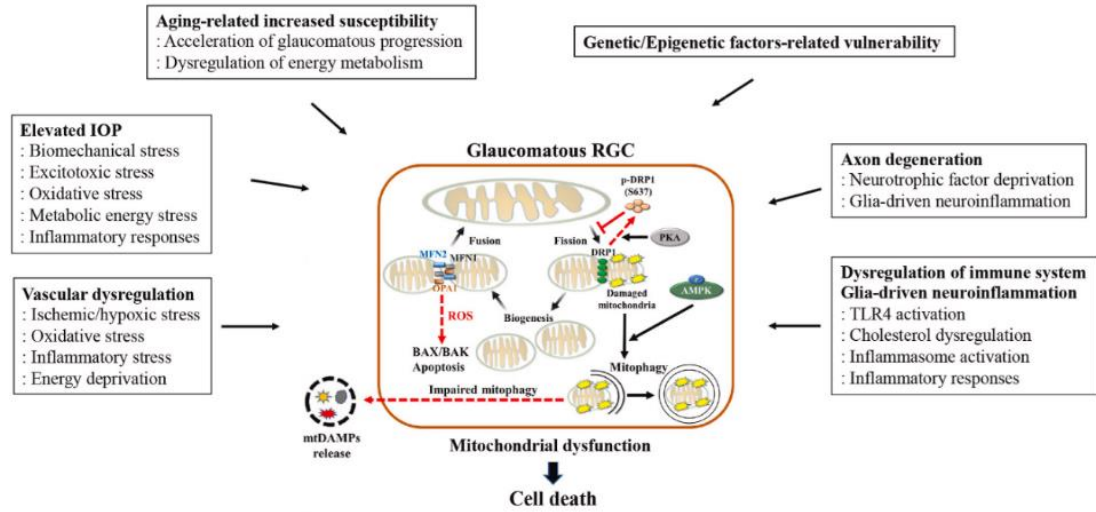
Genç hasta grubunda görülen ve göz içi basıncının belirgin yüksek olduğu tiptir. Optik rimde bölgesel incelme olmaksızın görülen konsantrik, yuvarlak çukurluktur (47).



Resim 2.2. A: Normal fizyolojik çukurlaşmaya ve rim kalınlığına sahip sağlıklı bir optik sinir; **B:** Glokomatöz hasar nedeniyle geniş ve derin bir çukurlaşmaya (cupping) sahip glokomatöz optik sinir (23)

2.3. Glokom ve Retinal Hasar

Glokom, dünya çapında geri döndürülemez körlüğün önde gelen nedenlerinden biridir. Retina ganglion hücrelerinin yavaş, ilerleyici ve çok faktörlü dejenerasyonu ile karakterize olup görme kaybına neden olur. 60 yaş ve üzeri bireylerde yüksek prevalansına rağmen, glokom ilerlemesine katkıda bulunan nedensel faktörler tam anlamıyla aydınlatılabilmemiş değildir. Göz içi basıncı, tedavi edilebilir tek risk faktörüdür. Ancak, düşük GİB değerlerine rağmen progresyonun devam edebildiğinin görülmesi göz içi basıncından bağımsız faktörlerin de dejenerasyonda rol aldığını düşündürmektedir. Bu dejeneratif süreci başlatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamakla birlikte potansiyel mekanizmaların genetik nedenler, mekanik nedenler, vasküler nedenler ve artan oksidatif stresin bir karışımını içerdiği öne sürülmüştür. Bunlara nörotrofik faktörlerin yoksunluğu, mitokondriyal disfonksiyon, glial aktivasyon, eksitotoksisite, aksonal taşımanın başarısızlığı, immünolojik faktörler, otoregülasyon bozukluğu ve nitrik oksit nörotoksitesi dahildir. Hasar mekanizmasından bağımsız olarak retina ganglion hücrelerinin mitokondri disfonksiyonuna bağlı olarak apoptozis yoluyla öldüğü düşünülmektedir (48,49).



Şekil 2.2. Retina Ganglion Hücre Hasarı Patogenezi (49)

2.3.1. Mekanik Teori

Mekanik teori glokomatöz sinir dejenerasyonunun gelişimine ilişkin en eski kavramlardan biridir. Glokomda artmış olan göz içi basıncı dokular üzerinde mekanik strese sebep olmakta ve uzun dönemde geri dönüşü olmayan bir hasara

sebebiyet vermektedir. Bunun en belirgin örneği lamina kribrosa bölgesinde izlenen süreçlerdir. Ivers ve ark. maymunlarda gerçekleştirmiş oldukları glokom modelinde ilk yapısal değişikliklerin lamina kribrosa bölgesinde olduğunu ve bunu optik diskte rim genişliğinde azalmanın takip ettiğini, sürecin sonunda ise RNFL kalınlığında incelmenin olduğunu bulmuşlardır (50).

Lamina kribrosa optik sinir başında retina ganglion hücreleri aksonlarının çok sayıdaki delikli yapıdan geçtiği bölgedir. Santral retinal arter ve ven ise daha büyük deliklerden geçerek retinaya uzanım gösterirler. Glokomda artan göz içi basıncının sonucu olarak optik diskte “çukurlaşma” olarak adlandırılan patolojik süreç gerçekleşmekte ve buna bağlı olarak lamina kribrosa bölgesinde ekstraselüler matriksin fibrozisine bağlı olarak deformasyon meydana gelmektedir. Bu deformasyonda meydana gelen kontraktilete sonucunda retina ganglion hücrelerindeki anterograd aksonal taşıma ve vasküler dolaşım bozulur. Bu patolojik süreç uzun dönemde geri dönüşümsüz olarak retina ganglion hücrelerinin apoptozisine ve glokomdaki fonksiyonel defektlere neden olmaktadır (51,52).

2.3.2. Vasküler Teori

Glokom patogenezinde vasküler etyolojiye dair ilk referans, 1858 yılında von Jaeger'e atfedilmiştir. Von Jaeger, yüksek göz içi basıncına bağlı nöronal hasarın, sinir liflerinin sıkışması değil, iskemi yoluyla meydana geldiğini savunmuştur. Sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında glokom hastalarında retinal damarların daha düşük dansitesiyle beraber tortiöz yapısı dikkat çekmektedir. Benzer şekilde yapılan karşılaştırmalarda glokom hastalarında daha düşük retrobulber kan hızları, daha yüksek retinal venöz saturasyon ve koroidal asimetrier olduğu gösterilmiştir. Retinal kan akımında meydana gelen bu azalmaya ve perfüzyondaki bozulmaya glokoma sekonder meydana gelen optik sinir başındaki yapısal değişikliklerin de neden olduğu bilinmektedir. Kiyota ve ark. yapmış olduğu retrospektif çalışma optik sinir başındaki kan akışı azalmasının glokomatöz nörodejenerasyondan önce olduğunu ortaya çıkarmıştır (53). Vasküler teori ile perfüzyondaki azalmaya bağlı olarak retina ganglion hücrelerinde hipoksi, antioksidan kapasitede azalma ve mitokondriyal disfonksiyon meydana gelmekte ve buna bağlı olarak nörodejenerasyon gelişmektedir (51,54,55).

Yüksek GİB nedeniyle vasküler disregülasyona sekonder olarak iskemik süreçler meydana gelmekte ve oksidatif stres ile inflamatuvar süreçlerin bir araya gelmesiyle mitokondriyal disfonksiyon görülmektedir (49).

2.3.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan yaygın bir hücresel süreçtir. Yaşlanma, inflamasyon, karsinogenez ve nörodejenerasyon gibi çeşitli patolojik süreçlerde kodlanmış hücre ölümüne neden olur (56). Oksidatif stres en basit haliyle, vücuttaki serbest radikaller ve antioksidanların dengesizliğini ifade eder ve bu da doku hasarına yol açabilir. Reaktif oksijen türleri (ROS), oksidatif stresin başlıca kaynaklarından biridir ve süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-), lipid radikali ve nitrik oksit (NO) gibi serbest radikalleri içerir. Reaktif oksijen türlerinin kontrolsüz üretimi, proteinler, lipidler, nükleer DNA veya mitokondriyal DNA gibi makromoleküllerin oksidasyonu yoluyla hücre hasarına, nekroza veya apoptoza yol açabilir. Oksidatif stresin, glokom dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklarda önemli bir hücre ölümü mekanizması olduğu bilinmektedir.

Glokomda, iskemi ve eksitotoksisite nedeniyle strese girmiş ve metabolizması artmış retina ganglion hücresi ve reaktif glial hücrelerde serbest radikal oluşumu artar (57). Glokom hastalarında oksidatif stres ile ilgili biyobelirteçlerin kan ve aköz hüümördeki düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında artmış olduğu izlenmiştir. Benzer şekilde sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında glokom hastalarında serum total antioksidan seviyelerinde (TAS) azalmanın olduğu görülmüştür (3,58). Tang ve ark. tarafından yapılmış olan bir meta-analiz sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında glokom hastalarında kanda daha düşük TAS seviyeleri ve aköz hüümörde daha yüksek süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz seviyeleri olduğunu gösterdi (59). Margeta ve ark. yapmış olduğu çalışmada glokom hastalarının optik sinirlerinde CD163+ hücrelerinin sayısının (Doku onarımı ve yeniden şekillenmesinde görev alan anti-inflamatuvar makrofajlar için yaygın olarak kullanılan bir belirteç) önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir (60). Yapılmış farklı çalışmalarda sistemik inflamatuvar durum belirteçlerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında primer açık açılı glokom hastalarında anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Benzer şekilde primer açık açılı glokomu olan hastalarda yüksek

plazma tümör nekroz faktör- α (TNF- α) seviyeleri tespit edilmiştir (61). Ek olarak, glokom hastalarından toplanan aköz hümör numuneleri, eotaksin, makrofaj inflamatuvar protein-1-alfa (MIP-1 α) ve interferon γ (IFN- γ) ile indüklenen protein-10 (IP-10)'un önemli ölçüde arttığını buna karşın TNF- α , IL-5, IL-9, IL-17 ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) seviyelerinin ise azaldığını gösterilmiştir (61–65).

Mevcut kanıtlar glokomda artan oksidatif stres ve azalan antioksidan kapasitenin nöronal dejeneratif sürece katkı sağlayarak hastalığın ilerlemesine neden olduğunu göstermektedir.

2.4. Glokomda Nöron Koruyucu Tedavi

Glokom, retinanın çıkış nöronları olan retina ganglion hücrelerinin ilerleyici disfonksiyonu ve kaybı ile karakterize, yaygın, karmaşık ve çok faktörlü nörodejeneratif bir hastalıktır. Glokom, geri döndürülemez körlüğün en yaygın nedenlerindendir ve dünya çapında yaklaşık 80 milyon kişiyi etkiler. Glokom için en önemli risk faktörleri genetik, yaş ve yüksek göz içi basıncıdır. Mevcut stratejiler yalnızca GİB yönetimini hedef alır ve retina ganglion hücresi düzeyinde meydana gelen nörodejeneratif süreçleri doğrudan hedeflemez. Göz içi basıncını yönetme stratejilerine rağmen, glokom hastalarının %40 kadarı yaşamları boyunca en az bir gözde körlüğe ilerler. Bu nedenle, retina ganglion hücrelerini ve bu nörodejeneratif süreçleri doğrudan hedef alan nöroprotektif stratejilere ihtiyaç vardır (40,66,67).

Tüm glokom tiplerinin ortak özelliği retina ganglion hücrelerinde ilerleyici dejenerasyona neden olmalarıdır. Glokom hastalarının tedavisinde göz içi basıncının hedeflenen basınç aralığına düşürülmesine rağmen glokomatöz hasarın progresyon göstererek devam ettiği görülebilmektedir. Kronik ve ilerleyici retina ganglion hücresi hasarı ile karakterize glokomda ciddi görme alanı kayıpları ve görme keskinliğinde azalma izlenmektedir. Geçmiş zamanlarda glokom hastalarında göz içi basıncının düşürülmesi tedavide yeterli görül müştür. Ancak göz içi basıncının multifaktöriyel nörodejeneratif bir hastalık olan glokomda sadece bir risk faktörü olduğu ve GİB düşürülmesinin tedavideki tek silah olmaması gerektiği son zamanlardaki çalışmalarda vurgulanmaktadır (66–70).

Kontrol altındaki GİB değerlerine rağmen progresyonun devam edebileceğinin kabul edilmesiyle birlikte yeni tedavi modaliteleri aranmaktadır. Glokomun neden olduğu retinal hasarın önlenmesini amaçlayan “Nöroproteksiyon” yeni tedavi yaklaşımlarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (68,71,72).

Glokom patogenezi göz önüne alındığında hem göz içi basıncına bağımlı hem de göz içi basıncından bağımsız birçok farklı mekanizma nörodejenerasyona sebep olmaktadır. Tüm bu faktörlerin etkisi ile retinal nöronlarda apoptozis neticesinde glokomatöz hasar meydana gelmektedir (73,74).

Göz içi basıncından bağımsız hasara neden olan mekanizmalar multiple skleroz (MS), amiotrofik lateral skleroz (ALS), Parkinson ve Alzheimer gibi santral sinir sistemi hastalıklarına benzerlik göstermektedir. Özellikle yaşa bağlı olarak artış olması, progresyon göstermesi, selektif nöron kaybı, trans-sinaptik dejenerasyon olması ve hücrel hasar mekanizması benzerlikler arasındadır. Bu benzerlikler göz önünde bulundurulduğunda nörodejeneratif hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde kullanılan nöroprotektif yaklaşım, retina ganglion hücresi ölümünü önlemek ve görme fonksiyonunu korumak amacıyla uygulanabilir (66,67,71).

Nöroprotektif ilaçların glokom tedavisinde kullanımı özellikle son yıllarda deneysel çalışmalarda ele alınmıştır. Bu ajanlar glokoma bağlı nöron hasarı patogenezindeki pek çok farklı faktör üzerinden etki etmektedir. Deneysel çalışmalarda retina ganglion hücresi yaşamına olumlu etkileri kanıtlanmış olan bu ajanların klinik kullanımları da günden güne artış göstermektedir (67,75).

2.4.1. Brimonidin ve Nöroproteksiyondaki Rolü

Brimonidin selektif alfa₂adrenerjik reseptör agonistidir. Göz içi basıncını düşürmesi açısından dual etki ile etki eden bir ajandır. Siliyer epiteldeki reseptörlerine etkisi ile Adenilat Siklaz enzimini inhibe ederek cAMP’yi azaltır. Bu sayede aköz üretimini baskılayarak etki göstermektedir. Diğer bir taraftan siliyer kasta gevşeme ve prostoglandin salınımı etkisi ile uveoskleral dışa akımı arttırarak da göz içi basıncını düşürmektedir.

Brimonidin’in göz içi basıncını düşürmesinden bağımsız olarak retina ganglion hücresi üzerine nöroprotektif etkinliği birçok çalışmada gösterilmiştir (76–78).

Brimonidin'in nöron koruyucu etkinliğindeki mekanizmalar retina ganglion hücresi üzerinde yer alan N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin inhibisyonu, glutamat salınımının modülasyonu, apoptozis için önem arz eden kalsiyum salınımının düzenlenmesi ve trofik faktör uyarılarının upregüle olması sayılabilir (76,79–81). Aynı zamanda Alzheimer hastalığındaki nörodejeneratif süreçte yer alan amiloid-β'nın glokomatöz retina ganglion hücresi hasarında da rol aldığı öne sürülmüş ve buna yönelik yapılan in vitro bir çalışmada Brimonidin'in amiloid-β'yı azaltma etkisiyle de nöroprotektif etkisi olduğu görülmüştür (82).

Brimonidin ve Timolol'un nöron koruyucu etkilerinin kıyaslandığı "Düşük Basıncılı Glokom Tedavi Çalışması" (LoGTS)'nda Brimonidin ile tedavi edilen gruptaki hastaların görme alanındaki progresyonun Timolol grubuna göre daha az olduğu gösterilmiştir (83).

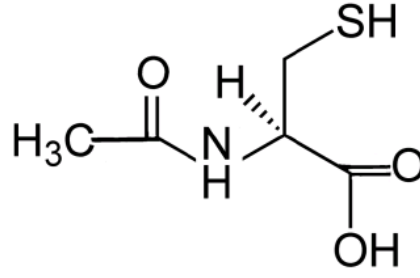
Yoles ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada rat optik siniri mekanik yaralanma modeli oluşturulup Brimonidin'in nöroprotektif etkileri gösterilmiştir. Yaralanmadan hemen sonra Brimonidin 0.1mg/kg veya plasebo intraperitoneal olarak uygulandığında, optik sinir fonksiyonu, Brimonidin ile tedavi edilen grupta plasebo ile tedavi edilen gruba göre 2,5 kat daha fazla olarak bulunmuş. Benzer şekilde, retina ganglion hücresinde sağ kalım oranı Brimonidin ile tedavi edilen hayvanlarda 2-4 kat daha fazla bulunmuş (84).

Tüm bu bilgiler doğrultusunda Brimonidin, oftalmoloji pratiğinde göz içi basıncına etkisinin yanında nöroprotektif etkinliği ile öne çıkmakta ve kullanılmaktadır.

2.4.2. N-asetilsistein ve Nöroproteksiyondaki Rolü

N-asetilsistein (NAC), L-sistein öncüsüdür. Mukolitik bir ajan olarak göğüs hastalıkları pratiğinde ve parasetamol intoksikasyonunda panzehir olarak onlarca yıldır kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından belirlenen temel bir sağlık sisteminde yer alması gereken ilaçlardan biridir. NAC oral, intravenöz veya topikal (örneğin inhaler) gibi farklı uygulama yolları ile kullanılabilir (85,86).

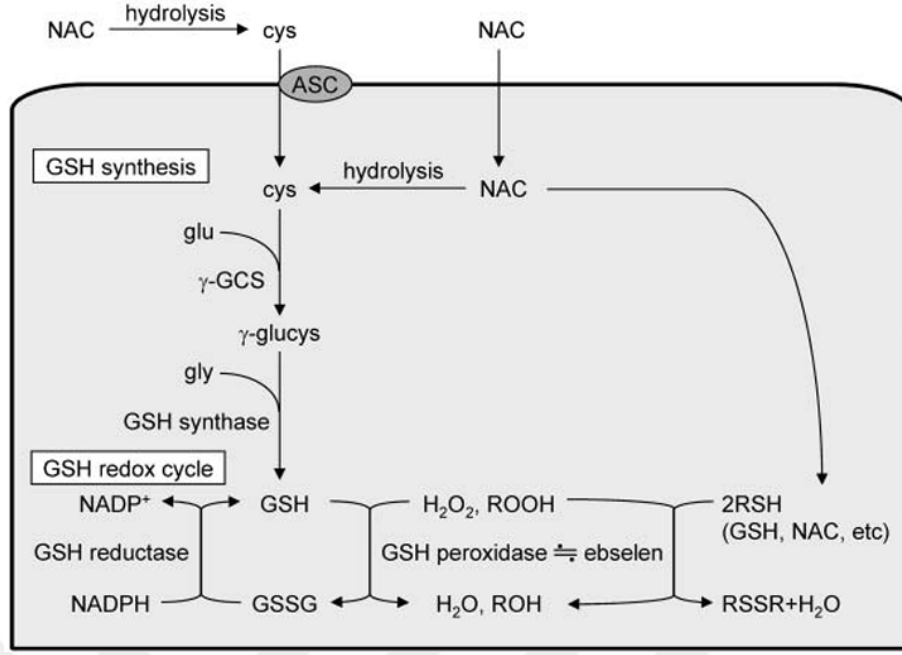
Kimyasal formülü $C_5H_9NO_3S$ ve moleküler ağırlığı 163,2 g/mol'dür. Yapısında serbest tiyol grubu bulundurur.



Şekil 2.3. N-Asetilsistein'in Kimyasal Formülü (87)

Sistein öncüsü olan NAC glutatyon (GSH) sentezi ve buna bağlı olarak antioksidan sistem için önem arz etmektedir. GSH hücrelerin reaktif oksijen türleri (ROS) ve bunlara bağlı gelişen oksidatif strese karşı var olan en önemli endojen koruma sistemlerinden biridir. ROS, oksidasyon ve peroksidasyon yoluyla hücrelerdeki DNA'yı, proteinleri ve lipidleri değiştirebilir ve hasara uğratabilir (88–90).

Glutatyon; sistein, glutamat ve glisinden iki aşamada sentezlenir. Bu öncüller arasında sistein en düşük hücre içi konsantrasyona sahiptir ve oksidatif stres varlığında GSH sentez hızını sınırlamaktadır. Sistein birçok hücrede genellikle glutamat taşıyıcıları ile hücre içine taşınmaktadır. Bu bağlamda N-asetilsistein'in yağda çözünebilir yapısı itibarıyla biyomembranlardan geçebilmesi, aktif transport sistemi olmayan hücrelere sistein sağlayabilmesine neden olur. Hücre içine girdikten sonra GSH sentezine katılmak üzere hızla hidrolize edilerek sisteine dönüştürülür. N-asetilsistein'in metabolizması Şekil 2.4'te özetlenmiştir (91).



Şekil 2.4. N-Asetilsistein'in Etki Mekanizması (91)

NAC sadece oksidatif stresi değil, aynı zamanda hastalıkta rol oynayan diğer patofizyolojik süreçleri de düzenler. Bunlara mitokondriyal disfonksiyon, apoptoz ve inflamasyon ile glutamat/dopamin gibi nörotransmitterler üzerindeki dolaylı etkileri dahildir. N-asetilsistein'in nükleofilik serbest sülfhidril grubu, ROS'un bir dizi elektrofilik grubuna karşı doğrudan antioksidan görevi görmesini sağlar (4,91,92).

Yukarıda anlatılanlar baz alındığında N-asetilsistein'in oksidatif strese karşı olan etkisi, apoptozis sonucu nörodejenerasyonun patogeneizde rol oynadığı birçok hastalığın klinik ve hayvan deneyi çalışmalarında test edilmiştir. Bu bağlamda nörodejeneratif süreç ve sonucunda meydana gelen apoptoz engellenmeye çalışılmıştır. Örneğin bir vaka raporunda, denge ve yürümede zorluk çeken, ilerleyici konuşma bozukluğu ve azalmış propriosepsiyon ve ağrı duyarlılığı olan Olivopontin Serebellar Atrofi (OPCA) hastasına NAC uygulanması anlatılmıştır. NAC kullanımından 1 ay sonra dizartri ve dengede belirgin bir iyileşme görülmüştür. Üçüncü ayda ise hastanın sıcak ve soğuğu ayırt edebildiği ve bir miktar dokunma ve pozisyon duygusunu yeniden kazandığı bildirilmiştir (93). NAC ayrıca, multisistem bozukluğu olan Friedreich ataksisi vakasına 8 ay boyunca uygulanmış, propriosepsiyonda iyileşme ve ataksi oranında hafif bir azalma görülmüştür (93).

Multipl skleroz (MS), inflamasyon ve nörodejenerasyonun patogeneğinde önemli roller oynadığı merkezi sinir sisteminin otoimmün bir hastalığıdır. Artan kanıtlar, geri döndürülemez nöronal hasarın gelişiminde oksidatif stresin rolü olduğunu göstermektedir. MS hastalığında ayrıca TNF ekspresyonunda belirgin bir artış vardır ve beyin omurilik sıvısındaki TNF seviyeleri ile hastalığın şiddeti ve ilerlemesi arasında bir korelasyon olduğu görülmüştür (94). Bu bağlamda MS ile ilgili yapılmış olan bir hayvan deneyinde NAC, TNF toksisitesini inhibe ederek MS benzeri patolojinin gelişimini engellemiştir (95). Khalatbari Mohseni ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ise NAC takviyesi ile MS hastalarında lipid peroksidasyonunun ve hastalardaki anksiyetenin azaldığı bulunmuştur (96). Bu sonuçlar N-asetilsistein'in MS tedavi yönetiminde etkili bir strateji olabileceği sonucunu düşündürmüştür.

Parkinson hastalığında artmış lipid peroksidasyonu ve önemli ölçüde azalmış GSH seviyeleri bildirilmiştir (97). Bunu destekleyen bazı çalışmalarda beynin substantia nigra bölgesinde GSH seviyelerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %40 oranında azaldığı belirtilmiştir (98). Azalmış GSH düzeyleri sonucunda artan oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon görülmektedir. Oksidatif stres, Parkinson hastalığında Lewy cisimciklerinde inklüzyon olarak birikim gösteren α -sinükleinin toksik formlarının birikimini artıracaktır. Simon ve ekibi, NAC takviyesinin oksidatif strese karşı güçlü etkisiyle α -sinüklein toksisitesine yönelik koruma sağlayabileceği hipotezini ortaya attılar. Transgenik farelerde N-asetilsistein'in tedaviden sonraki 5-7 hafta içinde substantia nigrada GSH düzeylerini artırdığını buldular; ancak bu artış 1. yılda devam etmedi. Bu geçici etkiye rağmen, α -sinükleinin aşırı ekspresyonuyla ilişkili dopaminerjik terminal kaybının 1. yılda NAC takviyesiyle önemli ölçüde azaldığını buldular (99).

Alzheimer hastalığı patogeneğinde birçok faktörün yer aldığı bir hastalıktır. Alzheimer hastalığı patogeneğine ROS'un katılımına dair hem doğrudan hem de dolaylı kanıtlar vardır. Buna örnek olarak temporal ve serebral kortekste lipid peroksit düzeylerinin arttığı ve kortikal alanlarda ve hipokampüste glutatyonun azaldığı bildirilmiştir (2,100). NAC antioksidan etkisi üzerinden Alzheimer hastalığı fare modellerinde test edilmiştir. Bu çalışmalar NAC uygulamasının Alzheimer hastalığında oksidatif hasarı engellediğine dair destekleyici kanıtlar sağlamıştır (101,102).

Travmatik beyin hasarı hem hızlı hem de gecikmiş beyin hasarı ile karmaşık bir patofizyolojiye sahiptir. Hızlı hasar, yaralanmadan hemen sonra başlar. Travmatik beyin hasarının tedavisi genellikle saatlerce gecikir, bu nedenle yalnızca gecikmiş hasar ilaçlarla hedeflenebilir. Gecikmiş travmatik beyin hasarı, nöroinflamasyon, oksidatif hasar, apoptoz ve glutamat toksisitesini içerir. Birkaç deneysel çalışma, N-asetilsistein'in mitokondriyal disfonksiyonu düzelterek ve azalmış antioksidan enzim düzeyini artırarak travmatik beyin hasarında nöroprotektif bir rol oynadığını bulmuştur (103,104). Chen ve ark. yapmış olduğu çalışma travmatik beyin hasarı modelinde NAC uygulamasının beyin ödemi, kan-beyin bariyeri geçirgenliğini ve apoptotik indeksi azalttığını göstermişlerdir (105).

NAC antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkinliği ile göz hastalıkları klinik pratiğindeki çeşitli hastalıkların tedavi çalışmalarında da yer almıştır. Ülkemizden yapılan bir çalışmada Akyol-Salman ve ark. göz kuruluğuna neden olan meibomian bezi disfonksiyonu bulunan hastalarda topikal N-asetilsistein'in etkinliğini test etmişlerdir. 1 aylık bir tedavi sonrasında hastaların gözyaşı kırılma zamanı (BUT) ve Schirmer testlerinde anlamlı iyileşmeler kaydedildiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada hastalar tarafından ifade edilen kuru göz semptomlarında anlamlı iyileşmeler izlenmiştir (106). Yine aynı ekip tarafından yapılan başka bir çalışmada ise meibomian bezi disfonksiyonu bulunan hastalarda topikal N-asetilsistein'in etkinliği, topikal steroid-antibiyotik kombinasyonu olan Betametazon-Sülfasetamid sodyum ile karşılaştırılmış ve bu kombinasyon kadar etkili olduğu bulunmuştur (107). Oküler yüzey ile ilgili başka bir çalışmada ise kuru göz sendromunun tedavisinde NAC ile suni gözyaşlarının etkinliği karşılaştırılmış ve hastalardaki öznel semptomları azaltmada NAC daha etkili bulunmuştur (108). Diyabetik ratların kornealarında ve yüksek glikoz ortamında tutulan insan kornea epitel hücrelerinde N-asetilsistein'in antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkinliği test edilmiş ve bu hücrelerde inflamasyonu ve apoptozu inhibe ettiği bulunmuştur (109). Ayrıca NAC tedavisinin alkali yanıklar da dahil olmak üzere korneal yaralar ve ülserlerde hücrelerin apoptoza gitmesini engelleyerek oküler yüzeyi koruduğuna dair çalışmalar mevcuttur (110). NAC korneal epitelizasyonu teşvik ederek kimyasal yaralanma sonucu meydana gelebilecek korneal ülserasyon, kalıcı korneal opaklaşma gibi ciddi komplikasyonların meydana gelmesini önlemektedir.

N-asetilsistein'in retina üzerine olan çalışmalarıyla ilgili literatüre baktığımız zaman antioksidan etkisi ile diyabetik retinopati (DRP), retinitis pigmentosa (RP) ve yaşa bağlı maküla dejenerasyonu (YBMD) gibi birçok hastalığın tedavi çalışmalarında yer aldığını görmekteyiz. Öyle ki; DRP üzerine yapılmış olan bir deneysel çalışmada NAC tedavisinin DRP patogenezindeki vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve ROS düzeylerini azalttığı bulunmuştur. N-asetilsistein'in retinal vasküler dokulara olan bu etkisi sebebiyle DRP'deki patolojik değişiklikleri azalttığı ve bunun uzun süreli tedavide DRP için bir tedavi stratejisi olabileceği düşünülmüştür (111).

RP, fotoreseptör hücrelerinde ilerleyici harabiyetle karakterize körlük ile sonuçlanabilen bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar RP'de rod hücre ölümünü takiben kon fotoreseptörlerinde ilerleyici bir oksidatif hasar olduğunu göstermiştir (112,113). Buna yönelik yapılan deneysel çalışmalarda antioksidan tedavinin kon hücrelerindeki oksidatif hasarı azaltarak hücre işlevini koruduğunu ve sağ kalımını desteklediği gösterilmiştir (114,115). Yine yapılan başka bir çalışmada RP fare modelinde oral NAC tedavisinin kon hücresi sağ kalımını desteklediği bulunmuştur (116).

YBMD, RPE ve fotoreseptörlerin kaybı ile karakterize bir hastalık olup yaşlılarda körlüğün önde gelen nedenlerinden biridir. Proteinlerde, lipitlerde ve DNA'da oluşan oksidatif hasar, RPE disfonksiyonu ve YBMD ile ilişkilendirilmiştir (117). Terluk ve ark. tarafından yapılan çalışmada YBMD hastalarına NAC tedavisinin etkinliği incelenmiştir. Sonuç olarak NAC tedavisinin ROS'u azaltması, GSH düzeylerini koruması ve mitokondriyal fonksiyonun devamını sağlaması yoluyla RPE'yi oksidatif hasardan koruması itibariyle YBMD için potansiyel terapötik ajan olarak görülmüştür (118).

Normotansif glokom fare modelinde retina ganglion hücresi dejenerasyonunun bazı transgenik farelerde NAC tedavisi ile engellendiği bulunmuştur. NAC tedavisi ile artan GSH seviyeleri sayesinde oksidatif hasar ve apoptozun önlenmesi sistemik NAC tedavisinin glokom hastalığı tedavi yönetimi için umut verici olmuştur (119).

2.5. Glokom Modelleri

Glokomun moleküler patofizyolojisini daha iyi anlamak ve yeni tedavi modaliteleri geliştirmek için klinik olarak ilgili hayvan modelleri gereklidir. Son yıllarda hem rat hem de fare glokom araştırmalarında popöler modeller haline gelmiştir. Temel nedenler olarak; kemirgen gözleri ve insan gözü arasında paylaşılan birçok önemli biyolojik benzerlik olması, glokomu indüklemek ve glokomatöz hasarı değerlendirmek için yöntemlerin geliştirilmesi, farede genetik araçların bulunması ve kemirgen çalışmalarının özellikle de primat çalışmalarına oranla nispeten düşük maliyeti sayılabilir (120).

Yaygın olarak incelenen rat ve fare glokom modelleri arasında göz içi basıncına bağlı ve basınçtan bağımsız modeller bulunur. Basınca bağlı modeller yüksek göz içi basıncının neden olduğu hasarı değerlendirirken, basınçtan bağımsız modeller "normal tansiyonlu" glokomu ve glokomatöz hasarla ilişkili GİB dışı diğer faktörleri değerlendirir (120).

Optik sinir ezilme hasarı modeli ile verilen hasar aksonal dejenerasyona yol açar ve bunu retina ganglion hücrelerinin kademeli ölümü izler. *Optik sinir ezilme hasarı modeli travmatik optik nöropati, glokom gibi progresif nöron hasarı ile seyreden patolojiler için uygulanabilir bir deneysel hastalık modelidir.* Bu modelde, optik sinire yapılan mekanik travma ile apoptotik süreçlerin başlaması ile kademeli olarak retina ganglion hücresi ölümü meydana gelir. Bu hastalık modeli, terapötik önlemlerin geliştirilmesi için elzem olan nöral ölüm ve sağ kalımın genel süreçlerini ve mekanizmalarını incelemek için kullanılabilir. Ek olarak, bu modelde farklı optik nöropati tiplerinin potansiyel terapötik yolaklarını belirlemek ve test etmek için farmakolojik veya moleküler yaklaşımlar kullanılabilir (121,122).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada 32 adet dişi, ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen 6-8 aylık Wistar Albino cinsi ratlar denek olarak kullanıldı. Denekler “Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi’nden” temin edildi. Deney süreci, hayvanların bakımı ve barınma koşulları “Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu” tarafından onaylanmıştır (Karar no: 1.337, Tarih 18.07.2024).

3.2. Grupların Belirlenmesi

Deneklerin on iki saat aydınlık/on iki saat karanlık döngüsünde, yem ve suya serbest ulaşım imkânı olan standart hayvan kafeslerinde bakımları yapıldı. Hayvanlar kontrollü çevre koşulları altında, özellikle %55-60 nem ve 21-23°C'de tutuldu. Standart ticari yem ve su ile ad libitum olarak beslendiler. Dışlama kriteri olarak belirlenen herhangi bir kilo kaybını izlemek için hayvanların ağırlığı haftalık olarak ölçüldü.

Denekler rastgele olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Tablo 3.1. Deney Grupları

GRUPLAR	
Kontrol Grubu	n=6
Glokom Grubu	n=6
Brimonidin Grubu	n=7
NAC Grubu	n=7
Brimonidin+NAC Grubu	n=6

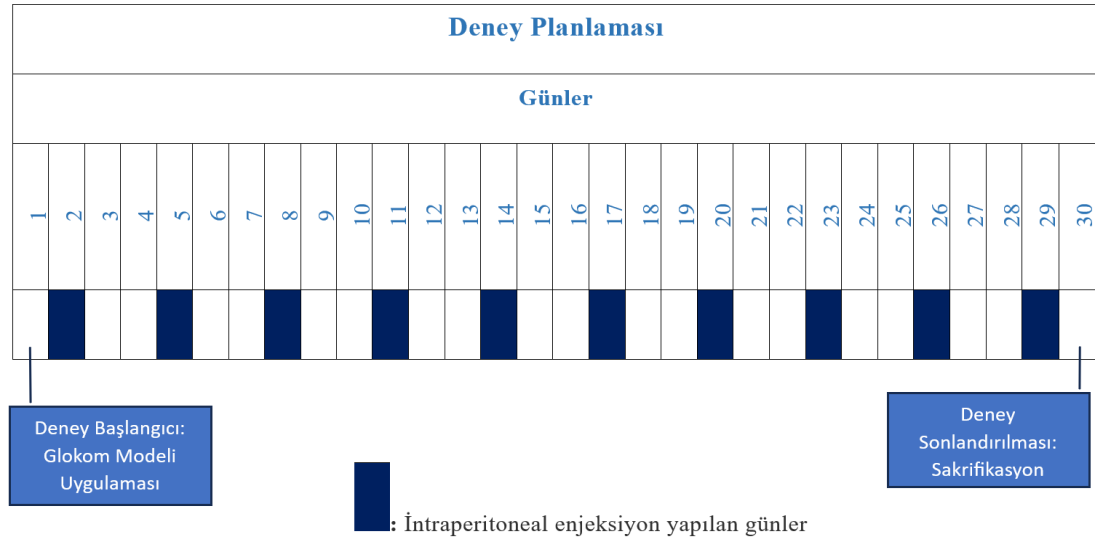
Kontrol Grubu: Kontrol grubuna sadece konjonktivanın diseksiyonunu içeren ve cerrahi prosedürün etkisini gözlemlemek için optik sinir ezilme hasarı modeli olmaksızın optik siniri açığa çıkaran bir operasyon uygulanmıştır.

Glokom Grubu: 0. günde optik sinir ezilme hasarı ile basınçtan bağımsız glokom modeli oluşturulan ve 72 saatte bir sıklıkla intraperitoneal yolla serum fizyolojik (%0,9 NaCl izotonik solüsyon) enjeksiyonu uygulanan denekler.

Brimonidin Grubu: 0. günde optik sinir ezilme hasarı ile basınçtan bağımsız glokom modeli oluşturulan ve 72 saatte bir sıklıkla intraperitoneal yolla Brimonidin (%0,15, Alphagan-P, AbbVie, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu uygulanan denekler.

NAC Grubu: 0. günde optik sinir ezilme hasarı ile basınçtan bağımsız glokom modeli oluşturulan ve 72 saatte bir sıklıkla intraperitoneal yolla N-asetilsistein (Mucinac, Vem İlaç, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu uygulanan denekler.

Brimonidin + NAC Grubu: 0. günde optik sinir ezilme hasarı ile basınçtan bağımsız glokom modeli oluşturulan ve 72 saatte bir sıklıkla intraperitoneal yolla Brimonidin (%0,15, Alphagan-P, AbbVie, İstanbul, Türkiye) ve N-asetilsistein (Mucinac, Vem İlaç, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu uygulanan denekler.



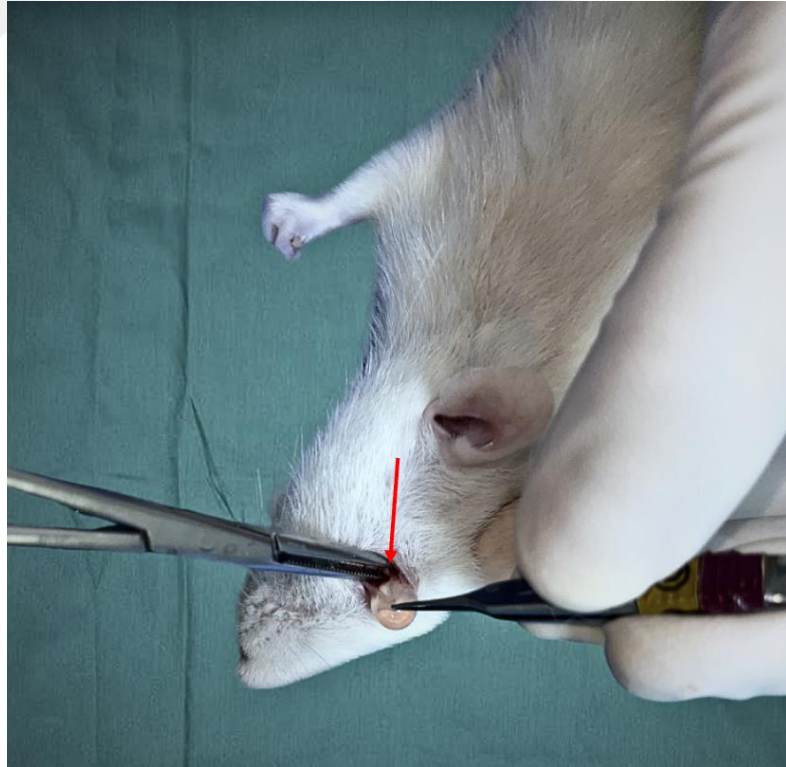
Şekil 3.1. Deney Sürecinde Uygulanan İşlemler Şeması

3.3. Glokom Modeli Uygulaması

Glocoma bağlı nöronal hasarın basınçla ilişkili olmayan faktörlerini değerlendirmek için “Optik Sinir Ezilme Hasarı Modeli” uygulandı. Tüm ratlara anestezi ve analjezi uygulaması için Xylazine HCl (Rompun, Bayer, Almanya) adlı ilacın 10 mg/kg dozu ile Ketamin HCl (Ketasol, Richter Pharma, Avusturya) adlı ilacın 90 mg/kg dozu kombinasyonu yapılarak genel anestezi sağlandı. Genel anestezi sonrasında göz hareketlerini minimize etmek amacıyla %0,5'lik proparakain hidroklorid damlası (Alcaine® %0,5 Steril Oftalmik Solüsyon, Alcon-Couvreur n.v.

Belçika) işlem yapılacak göze ek olarak uygulandı. Anestezi derinliğini değerlendirmek için ayak parmağı sıkma yöntemi kullanıldı.

Glokom modeli oluşturmak için optik sinir hasarı sağ gözlere uygulandı. Optik sinir ezme işlemi daha önce tarif edilen protokole göre gerçekleştirildi (121). Kısaca, sağ gözün konjonktivası insize edildi, orbital kaslara ve kan damarlarına zarar vermemek için titiz davranıldı. Optik sinir göz küresinden çıktığı noktada açığa çıkarıldı. Optik siniri sıkıştırmak için kendiliğinden kilitli forseps (Geuder, Heidelberg, Almanya) kullanıldı. Forseps daha önceki prosedürde anlatıldığı üzere 10 saniye boyunca globun 2 mm posteriorundan optik sinire uygulandı (123). Kontrol grubuna sadece konjonktiva diseksiyonunu içeren ve cerrahi prosedürün etkisini gözlemlemek için ezilme olmaksızın optik siniri açığa çıkaran bir operasyon uygulandı. Cerrahi işlemleri ardından Basitrasin+Neomisin sülfat göz pomadı (Thiocilline 500 IU/g+5 mg/g, Abdi İbrahim, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Hayvanlar temiz kafeslere yerleştirildi ve herhangi bir enfeksiyon belirtisi olup olmadığı her gün kontrol edildi.



Resim 3.1. Anestezi Uygulanmış Deney Hayvanının Sağ Gözüne Optik Sinir Ezilme Hasarı Uygulaması. (Deney Hayvanının Optik Siniri Kırmızı Ok ile Gösterilmiş)

3.4. İntraperitoneal Enjeksiyon Uygulaması

Tüm intraperitoneal enjeksiyonlar deney süresince (30 gün) 72 saatte bir olacak şekilde uygulanmıştır.

Kontrol Grubu: Enjeksiyon yok

Glokom Grubu: 1 cc/gün serum fizyolojik (%0,9 NaCl izotonik solüsyon)

Brimonidin Grubu: 0.1mg/kg %0.15 Brimonidin (%0,15, Alphagan-P, AbbVie, İstanbul, Türkiye)

NAC Grubu: 200 mg/kg N-asetilsistein (Mucinac, Vem İlaç, İstanbul, Türkiye)

Brimonidin + NAC Grubu: 0,1 mg/kg Brimonidin (%0,15, Alphagan-P, AbbVie, İstanbul, Türkiye) ve 200 mg/kg N-asetilsistein (Mucinac, Vem İlaç, İstanbul, Türkiye)



Resim 3.2. Brimonidin ve N-Asetilsistein Preparatları. **A)** Brimonidin, **B)** N-Asetilsistein

Tekrarlanan enjeksiyonların uygulanması peritonitten kaçınmak amacıyla, peritonun farklı bölgelerinden uygulanmaları sağlanarak hassasiyetle gerçekleştirilmiştir.

3.5. Deneklerin Sakrifikasyonu ve Enükleasyonu

Deneyin son günü tüm hayvanlara intraperitoneal Xylazine HCl (Rompun, Bayer, Almanya) adlı ilacın 10 mg/kg dozu ile Ketamin HCl (Ketasol, Richter Pharma, Avusturya) adlı ilacın 90 mg/kg dozu kombinasyonu yapılarak genel anestezi sağlandı ve servikal dislokasyon ile ötenazi yapıldı. Her bir deney hayvanının sağ gözleri, bağlı optik sinirlerle birlikte, büyük bir dikkat ve hassasiyetle çıkarıldı. Daha sonra immünohistokimyasal analiz için her bir gözden vitreus örnekleri ve göz dokuları toplandı.

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik değerlendirmeler Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında bulunan malzemeler ve cihazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

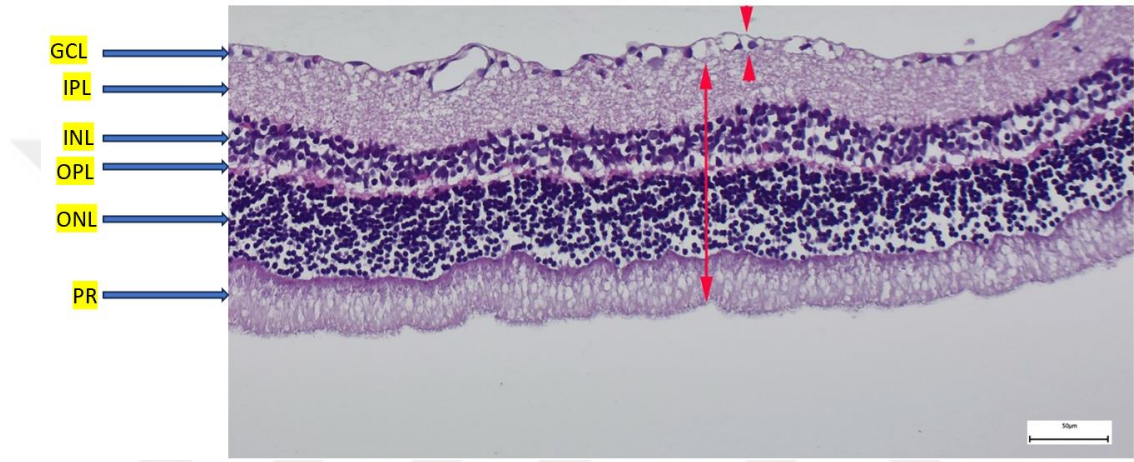
Deney sonunda tüm ratlardan alınan gözler bütün olarak çıkarılarak %10'luk tamponlu formaldehit solüsyona alındı. İki gün süre ile solüsyonda bekletilen gözlerden optik sinir başı ve gözün üst ve alt bölgelerinden geçen retinanın tüm uzunluğu dahil olmak üzere dikey meridyen boyunca kesitler alındı. Alınan kesitler doku takip kasetlerine dikkatlice yerleştirildi. Her bir kaset üzerine hayvanların ait oldukları grup ve hayvan numaraları yazıldı. Retinal bölgeye zarar vermemeye azami şekilde dikkat edildi. Doku takip kasetleri iki gün daha tespit solüsyonunun tüm dokuya işlemesi için tekrar yeni hazırlanmış formaldehit solüsyonuna alındı. Bu süre sonunda akşam üzeri içlerinde göz örnekleri bulunan tüm kasetler tam otomatik doku takip cihazının (Leica ASP300S; Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) sepetine dizildi ve cihazın solüsyon haznesine yerleştirildi. Böylelikle gece boyunca rutin doku takip aşamalarından geçmeleri sağlandı. Doku takibi aşaması için göz örnekleri dereceleri giderek artan ve %70'lik alkolden başlayarak %100'lük absöü alkole kadar düşük dereceliden yüksek dereceli alkol serilerinden geçirilerek dokuların içindeki suların alınması ve dehidrasyonları gerçekleştirildi. Bu şekilde dehidre edilen tüm göz örnekleri hemen ardından iki ksilol serisinden geçirilerek örnekler içindeki yağların eritilerek alınması gerçekleştirildi. Bu aşamalardan sonra sıcak parafine geçirilen göz dokularında bulunan su ve yağın çekilmesi sağlandı. Hemen ardından dokularda oluşan boşluklara sıcak parafinin yerleşmesi gerçekleştirildi. Tüm gece boyunca tam

otomatik kapalı sistem doku takip cihazında rutin takip işlemlerine tabi tutulan göz dokusu örnekleri ertesi sabah sıcak parafine transfer edilerek blokajları yapıldı ve her bir göz örneğinden birer parafin blok oluşturuldu. Blokaj işlemi için doku takip aşaması tamamlanmış olan göz örnekleri doku takip cihazının haznesinden alınarak doku gömme ünitesine (Leica Histocore Arcadia H) (Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) transfer edildi. Sıcak bölme içinde özel metal kalıplar içine alınan örneklerin üzeri sıcak parafin ile dolduruldu ve parafin bloklar oluşturuldu. Bu aşamayı takiben parafin bloklar doku gömme ünitesinin soğuk tablalı bölümüne alındı ve bu tablada yaklaşık olarak bir saat kadar bekletilerek parafinin tamamen donması sağlandı. Bu süre sonunda donan parafin bloklar metal kalıplardan ayrılarak bir süre daha soğuk tabla üzerinde bekletildi ve ardından her bir bloktan histopatolojik incelemeler için Leica 2155 tam otomatik mikrotom (Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Alınan göz kesitleri rutin boyama prosedürü olan hematoksilin eozin (HE) ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Boyama işlemi için benmaride sıcak su ile açılan kesitler lamalar üzerine alınarak 1 saat kadar oda ısısında ardından 2 saat kadar 60°C'ye kadar ısıtılmış etüvde kurutuldu. Böylelikle göz kesitlerinin lamaların üzerine tamamen yapışarak boyama işlemi sırasında dökülmemeleri sağlandı. Bu işlem sırasında ayrıca kesitler üzerindeki parafinin yumuşayarak erimesi ve uzaklaştırılması da gerçekleştirildi. Bu aşamadan sonra etüvden alınan kesitler boyama ünitesine aktarıldı. Kesitler üzerinde kalan parafin artıklarının tamamen uzaklaştırılması amacıyla tüm lamalar 30'ar dakika süreyle 3 ayrı ksilol serisinden geçirildi. Bu aşamayı takiben rehidrasyon aşamasına geçildi. Bu aşama için kesitler %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkol serilerinden geçirildi. Rehidre olan doku örnekleri Harris hematoksilinde 15 dakika ve ardından eozinde 3 dakika süreler ile boyanarak rutin HE boyaması gerçekleştirildi. Boyamanın ardından göz kesitleri tekrar dehidre edildi. Bunun için boyanması tamamlanan göz kesitleri sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkol serilerinden (düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere doğru) geçirildi. Ardından ksilol ile parlatılan dokular üzerine özel yapıştırıcı (entellan) damlatıldı, kesitlerin üstü lamel ile kaplandı. Bir gün süre ile oda ısısında bekletilerek kuruması sağlanan preparatlar araştırma mikroskobu altında değerlendirildi. Sonuçların fotoğraflanması için Olympus CX41 model mikroskop ile morfometrik inceleme ve mikrofotografi için Database Manual Cell

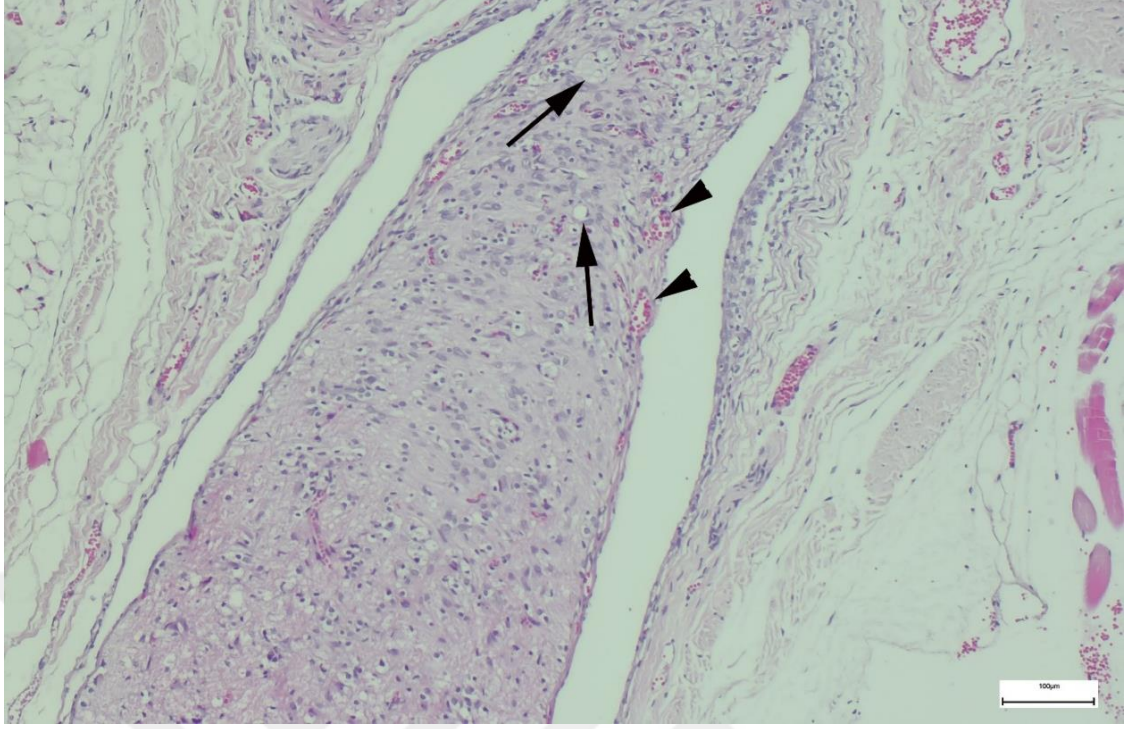
Sens Life Science Imaging Software System (Olympus Corporation, Tokyo, Japan) kullanıldı.

Histopatolojik inceleme sırasında total retina ve ganglion hücre tabakası (GCL) kalınlıkları ölçülmüştür. Total retina kalınlığı, GCL hariç tüm katmanların toplam kalınlığı ölçülerek değerlendirildi. GCL kalınlığı tek başına değerlendirilmiştir (Resim 3.3).

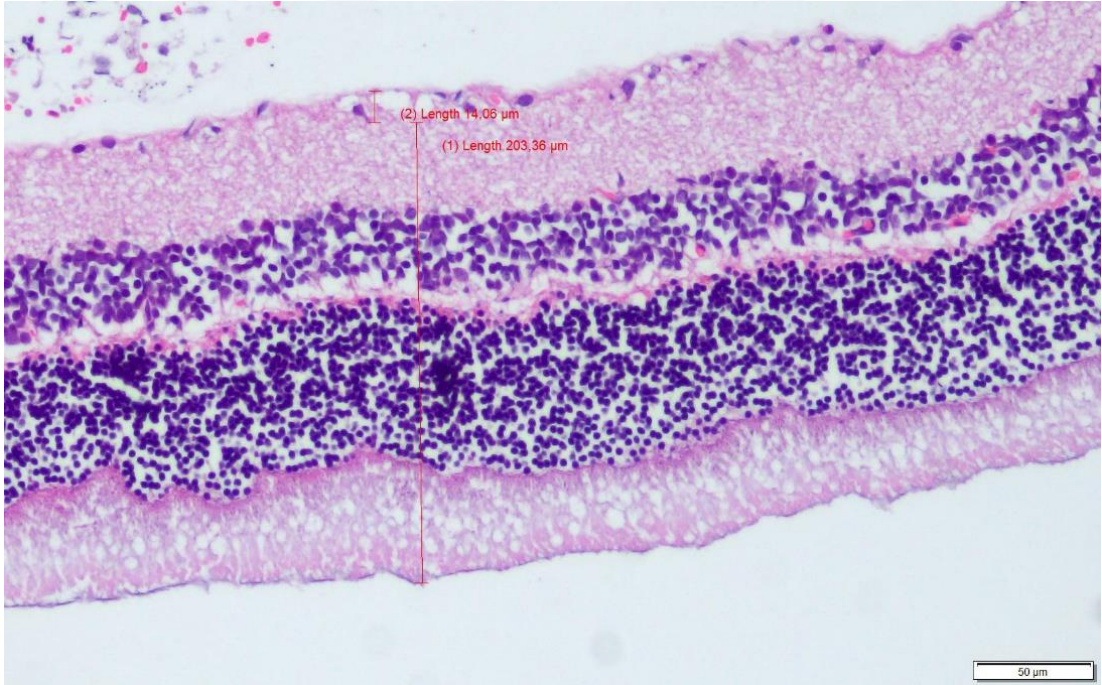


Resim 3.3. Retina Katmanları ve Ölçüm Yapılan Alanlar.

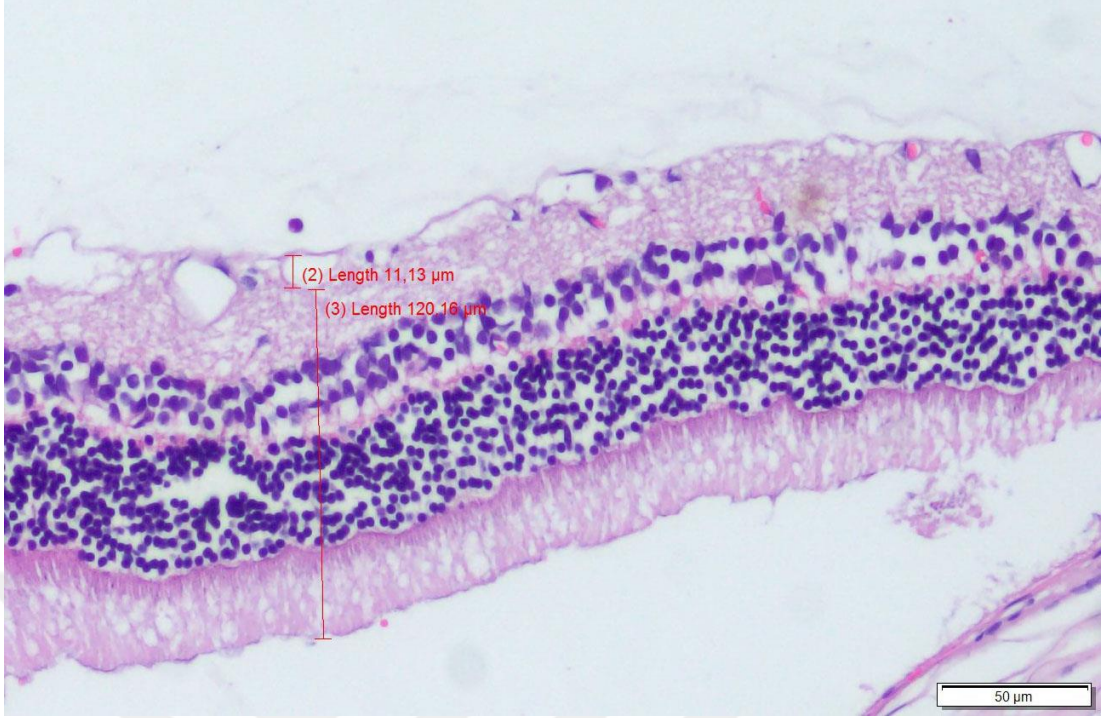
(GCL: Ganglion Hücre Tabakası, IPL: İç Pleksiform Tabaka, INL: İç Nükleer Tabaka, OPL: Dış Pleksiform Tabaka, ONL: Dış Nükleer Tabaka, PR: Fotorseptör Tabaka)



Resim 3.4. Hasar oluşturulmuş bir optik sinirin görüntüsü. Uç kısımda incelme ve atrofi, damarlarda artış ve hiperemi (Ok başları) ile sinirde vakuolizasyonlar (Okklar), HE, Barlar=100µm.



Resim 3.5. Kontrol Grubunda Normal Bir Retinanın Ölçüm Yapılan Alanları ve Sonuçları, HE, Bar=50µm.



Resim 3.6. Glokom Grubunda Retinal Atrofi Gelişen Bir Deney Hayvanının Ölçüm Yapılan Alanları ve Sonuçları, HE, Bar=50µm.

3.7. ELISA Analizleri [BCL-2 (B-cell Lymphoma/Leukemia 2), BAX (Bcl-2 Associated X Protein) ve GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein)]

ELISA analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalı araştırma laboratuvarında bulunan malzemeler ve cihazlar kullanarak gerçekleştirilmiştir.

3.7.1. Kullanılan Kitler

BCL-2: Rat BCL-2 ELISA Kit, Cat. No.#ABT1063Ra, A.B.T Laboratory Industry, Ankara, Türkiye

BAX: Rat BAX ELISA Kit, Cat. No.#ABT1315Ra, A.B.T Laboratory Industry, Ankara, Türkiye

GFAP: Rat GFAP ELISA Kit, Cat. No.#ABT2813Ra, A.B.T Laboratory Industry, Ankara, Türkiye

3.7.2. Doku Homojenatlarının Hazırlanması

Analizlerin yapılacağı güne kadar deney hayvanlarından elde edilen dokular (vitreus) -80 °C de 30 gün boyunca muhafaza edilmiştir. Analizlerin yapılacağı gün numunelerin +4 °C’de tamamen çözünmesi beklenmiştir. 50 mM Tris-HCl tamponu ile 1:9 oranında seyreltilerek sonikatör (HD 2070, Bandelin Ultrasonic homogenizer, Berlin, Germany) ile numune tüpleri buza gömülü vaziyette homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 10.000 g’de 5 dakika boyunca soğutmalı santrifüjde (+4 °C’de) santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra santrifüj tüpünün üstünde kalan kısmından (süpernatant) örnekler alınarak protein tayini ve analizler gerçekleştirilmiştir. Deneylerin bundan sonraki aşamaları oda sıcaklığında (18-25 °C’de) gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda yapılan protein tayini deneyleri tüm örneklerde Lowry ve arkadaşlarının tanımladığı yöntemle göre yapıldı (124).

3.7.3. BCL-2, BAX ve GFAP ELISA Analizleri için Deney Prosedürü

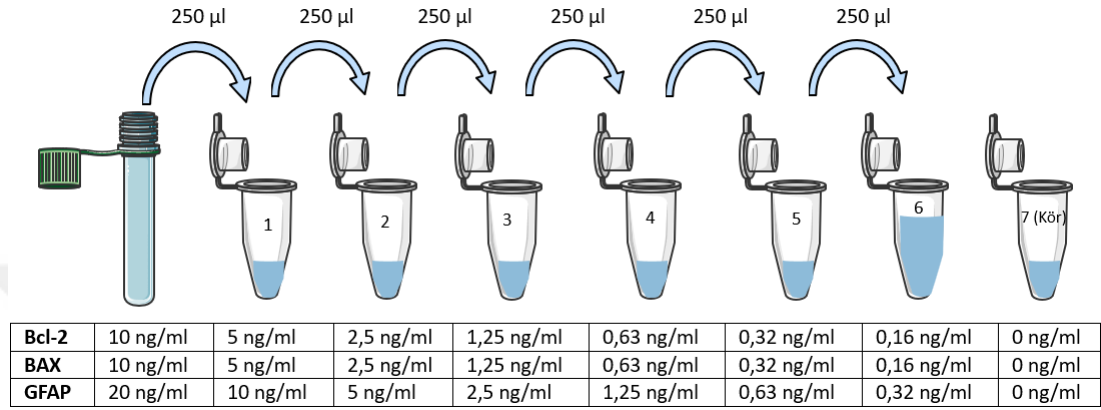
Rat Bcl-2 (Cat No.#ABT1063Ra), Rat BAX (Cat No.#ABT1315Ra) ve Rat GFAP (Cat No.#ABT2813Ra) ELISA kitleri Atlas Biotechnology (Ankara, Türkiye) tedarikçisinden temin edilmiştir. Deneyler için kitler içerisinde bulunan deney protokolleri takip edilmiştir. Her bir analiz için 96’lı kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Her bir analiz için standart eğriler deney protokolünde belirtildiği şekilde oluşturulmuştur ve R^2 değerleri hesaplanmıştır.

3.7.4. BCL-2, BAX ve GFAP ELISA Analizleri için Deney Protokolü

1. Kit içerisindeki tüm tampon ve çözeltiler +4 °C’den alınarak oda sıcaklığına ulaşıncaya kadar beklendi.
2. **Yıkama (Durulama Solüsyonu):** Konsantre (25X) haldeki yıkama solüsyonu distile su ile 1X’e seyreltildi (30 ml konsantre yıkama solüsyonu+720 ml distile su).
3. Toz halindeki Standart 10.000 g de 5 dakika santrifüj edilerek üzerine 1 ml standart/referans seyrelticiisinden eklendi. 7 ayrı eppendorf tüpüne 250’şer µl standart/referans seyrelticiisinden konuldu. Böylece Bcl-2 için 10 ng/ml, BAX

için 10 ng/ml ve GFAP için 20 ng/ml standart başlangıç çözeltiler hazırlandı. Aşağıdaki şekildeki gibi her biri için bir önceki tüpten bir sonraki tüpe 250 µl aktarmak suretiyle (son tüp hariç) 1:2 oranında seri seyreltmeler yapılarak standart eğrinin hesaplanacağı sıralı seyreltik standart çözeltiler hazırlandı.

Şekil 3.2. ELISA Kitlerinin Protokol Şeması



4. Biotinlenmiş Tespit Antikoru Çalışma Solüsyonu: İçerisinde konsantre antikor bulunan tüp 800 g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra kit içerisinde yer alan özel seyrelticisi ile 1:99 oranında seyreltilti.

5. Horseradish Peroksidaz (HRP) Konjugat Çalışma Solüsyonu: İçerisinde konsantre HRP Konjugatı bulunan tüp 800 g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Daha sonra kit içerisinde yer alan özel seyrelticisi ile 1:99 oranında seyreltilti.

6. Standart, kör (blank), ve numunelerden plaka üzerindeki en az 2 kuyucuğa 100'er µl konuldu ve kuyucukların üzeri kenarları yapışkanlı şeffaf koruyucu ile kapatıldı.

7. 70 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

8. İnkübasyon sonundan her bir kuyucuğa biyotinlenmiş tespit antikoru çalışma solüsyonundan 100'er µl konuldu ve kuyucukların üzeri kenarları yapışkanlı şeffaf koruyucu ile kapatılarak 50 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

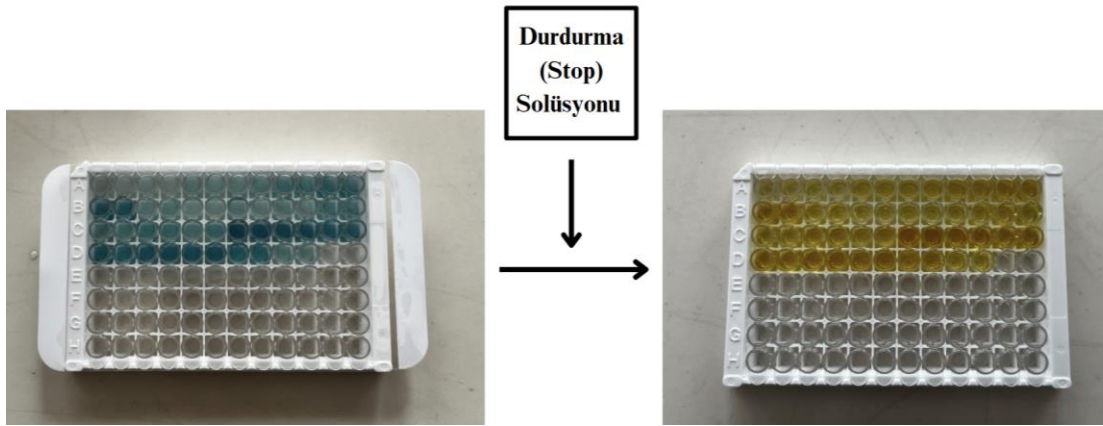
9. İnkübasyon sonunda tüm kuyucukların içerisi tamamen boşaltılarak her bir kuyucuk 3 er kez 150 µl 1X yıkama solüsyonu ile yıkandı.

10. Her bir kuyucuğa 100'er µl HRP Konjugat Çalışma Solüsyonu konuldu ve kuyucukların üzeri kenarları yapışkanlı şeffaf koruyucu ile kapatılarak 30 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

11. İnkübasyon sonunda tüm kuyucukların içerisi tamamen boşaltılarak her bir kuyucuk 3 er kez 150 µl 1X yıkama solüsyonu ile yıkandı.

12. Her bir kuyucuğa 100'er µl substrat reaktifinden konuldu ve kuyucukların üzeri kenarları yapışkanlı şeffaf koruyucu ile kapatılarak BCL-2 ve BAX için 30 dakika boyunca, GFAP için 15 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

13. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µl durdurma (stop) solüsyonu eklendi.



Resim 3.7. BCL-2 kitinde durdurma (Stop) solüsyonu ekledikten sonraki renk değişimi

14. Hızlı bir şekilde plaka okuyucuda (Tecan, Infinite 200 PRO) 450 nm dalga boyunda okutularak optik dansiteleri (absorbans değerleri) bulundu. Standart numunelerin absorbans değerlerinden kör (blank) numunenin absorbans değeri çıkartılarak standart eğri oluşturuldu.



Resim 3.8. BCL-2 kitinin plaka okuyucuya (Tecan, Infinite 200 PRO) yerleştirilmesi

15. Standart eğri üzerinde numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen BCL2, BAX ve GFAP miktarları numunelerdeki protein miktarına oranlanarak hesaplandı.

3.8. Oksidatif Stres Parametleri Analizleri [Malondialdehit (MDA), İndirgenmiş Glutasyon (GSH), Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)]

Oksidatif stres parametleri analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Ana Bilim Dalı araştırma laboratuvarında bulunan malzemeler ve cihazlar kullanarak gerçekleştirilmiştir.

3.8.1. Malondialdehit (MDA) Analizi

MDA seviyesi lipid peroksidasyonunu yansıtan bir parametredir. Çalışmamızda MDA düzeyi, tiyobarbitürik asit (TBARS) reaksiyonunu kullanarak spektrofotometre cihazında ölçüldü (125). 2,25 ml olacak şekilde 1/9 oranında TBARS solüsyonu ile tüm örnekler sulandırıldı. Kör bir örnekle karşılaştırmak için ise 1/9 oranında TBARS ile 0,25 ml fosfat tamponu karışımı

kullanıldı. Örnekler ve kör numune, 20 dakika boyunca 100°C'lik bir su banyosunda ısıtıldıktan sonra çeşme suyu altında yavaşça soğutuldu. Daha sonra, 2500 devirde 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Üstteki pembe bölge otomatik bir pipet yardımı ile alındıktan sonra 532 nm dalga boyundaki spektrofotometrede kör numuneye karşı ölçüm yapıldı. Standart olarak, aynı oranlarda hazırlanan 1,1,3,3-tetraethoxy propane solüsyonu kullanıldı. Sonuçlar nmol/gr cinsinden verildi.

3.8.2. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Analizi

3.8.2.1. Gerekli Solüsyonlar

A- %10'luk Trikloroasetik asit (TCA) solüsyonu hazırlandı.

B- Tris tamponu: 48,46 gram Tris-hydroxymethylaminomethan dereceli silindire konularak üzeri distile su ile 1000 ml'ye tamamlanarak hazırlandı. Hidroklorik asit ile pH 8,9'a ayarlandı.

3.8.2.2. GSH Analizi

1. Boş bir deney tüpüne 100 µl doku homojenatından konuldu ve üzerine 400 µl TCA (%10 luk) (A solüsyonu) eklendi. 50 saniye boyunca vortekslendi (karıştırıldı).
2. 3000 RPM'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.
3. Santrifüj sonrasında tüpün üst kısmında kalan süpernatantdan 100 µl alınarak temiz bir boş deney tüpü içerisine aktarıldı. Üzerine sırasıyla 900 µl distile su, 2 ml Tris Tamponu (pH:8,9) (B solüsyonu) ve 100 µl DTNB (5,5'-Dithio-bis-(2-nitrobenzoic Acid)) eklendi.
4. Reaksiyon sonucu oluşan sarı renk spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda kör'e (distile su) karşı okunarak her bir numunenin absorbansı belirlendi ve sonuçlar µmol/ g protein olarak hesaplandı (126).

3.8.3. Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Analizleri

3.8.3.1. Kullanılan Kitler

TOS: Total Oxidant Status kiti, Rel Assay Diagnostics, Türkiye

TAS: Total Antioxidant Status kiti, Rel Assay Diagnostics, Türkiye

TOS düzeyi, Total antioksidan kapasite Erel ve arkadaşları tarafından geliştirilen hücresel oksidatif hasar kiti ve Total antioksidan kapasite kiti (Rel Assay, Mega Tıp, Gaziantep) içerisinde yazan protokole uygun bir şekilde belirlenmiştir. TOS sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{L}$ olarak, TAS sonuçları ise $\text{mmol Trolox Equiv/L}$ olarak verilmiştir. OSİ hesaplanırken TAS sonucu $\mu\text{mol Trolox Equiv/L}$ olarak kullanılmıştır ve aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır. $\text{OSİ} = [\text{Total oksidan hasar, } \mu\text{mol/L}] / (\text{Total antioksidan kapasite, } \mu\text{mol Trolox equivalent/L}) \times 100$ (127–129).

3.9. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler lisanslı Prism 8 yazılımı (GraphPad Software, CA, ABD) kullanılarak analiz edilmiş olup ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sunulmuştur. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık tek yönlü ANOVA ve Tukey'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Analiz için $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi dikkate alınmıştır.

4. BULGULAR

Çalışmamızda glokom modeli geliştirilen ve tedavi amaçlı intraperitoneal enjeksiyonlar yapılan hiçbir hayvanda ciddi bir komplikasyon veya ilaca bağlı yan etki gelişmedi.

4.1. Histopatolojik Bulgular

4.1.1. Ganglion Hücre Tabakası (GCL) ve Total Retina Kalınlığı Analizi Bulguları

GCL kalınlığı ölçümleri μm olarak verilmiştir. GCL kalınlığı; Kontrol grubunda $15,38 \pm 1,05$, Glokom grubunda $8,10 \pm 1,72$, Brimonidin grubunda $12,50 \pm 1,08$, NAC grubunda $12,40 \pm 1,07$ ve Brimonidin+NAC grubunda $15,00 \pm 0,94$ olarak ölçülmüştür. GCL'nin en kalın olduğu grubun Kontrol grubu ($15,38 \pm 1,05$) ve en ince olduğu grubun ise Glokom grubu ($8,10 \pm 1,72$) olduğu belirlenmiştir.

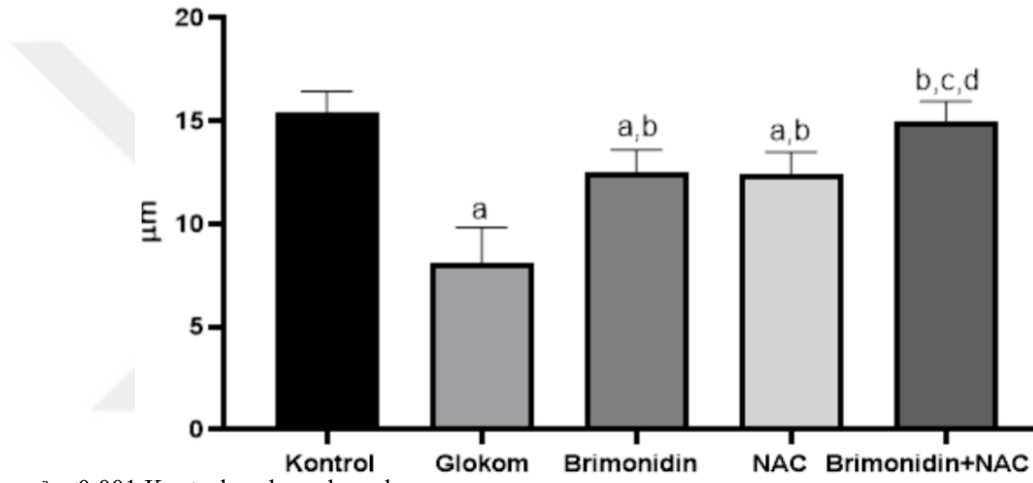
Total retina kalınlığı ölçümleri μm olarak verilmiştir. Total retina kalınlığı; Kontrol grubunda $197,3 \pm 3,21$, Glokom grubunda $125,70 \pm 2,86$, Brimonidin grubunda $189,20 \pm 4,18$, NAC grubunda $185,40 \pm 2,17$ ve Brimonidin+NAC grubunda $198,50 \pm 1,78$ olarak ölçülmüştür. Retinanın en kalın olduğu grupların sırasıyla Brimonidin+NAC grubu ($198,50 \pm 1,78$) ile Kontrol grubu ($197,3 \pm 3,21$) olduğu ve en ince olduğu grubun ise Glokom grubu ($125,70 \pm 2,86$) olduğu belirlenmiştir.

Kontrol grubuna kıyasla hem GCL hem de total retina kalınlıklarının Glokom, Brimonidin ve NAC gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^a p < 0,001$ Kontrol grubuna kıyasla) daha ince olduğu görüldü. Kontrol grubu ile Brimonidin+NAC grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p > 0,05$) fark tespit edilmedi. Glokom grubuna kıyasla Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında GCL ve retina istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^b p < 0,001$ Glokom grubuna kıyasla) daha kalındı. Brimonidin grubu ile NAC grubundaki GCL ve retina kalınlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p > 0,05$) fark tespit edilmedi. Brimonidin+NAC grubunda hem GCL hem de retina Brimonidin grubu ve NAC grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde ($^c p < 0,001$ Brimonidin grubuna kıyasla, $^d p < 0,001$ NAC grubuna kıyasla) daha kalın olarak izlendi.

Tablo 4.1. Ganglion Hücre Tabakası (GCL) Kalınlığı Ölçümü Sonuçları

Ganglion Hücre Tabakası (GCL) Kalınlığı (µm)	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
	Kontrol	15,38	±1,05
	Glokom	8,10	±1,72
	Brimonidin	12,50	±1,08
	NAC	12,40	±1,07
	Brimonidin+NAC	15,00	±0,94

Grafik 4.1. Ortalama GCL kalınlığının gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla

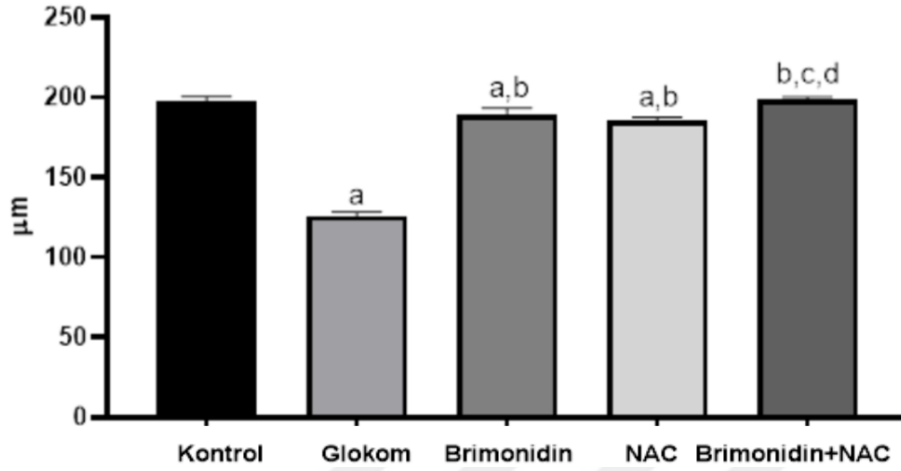
^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla

^dp<0,001 NAC grubuna kıyasla

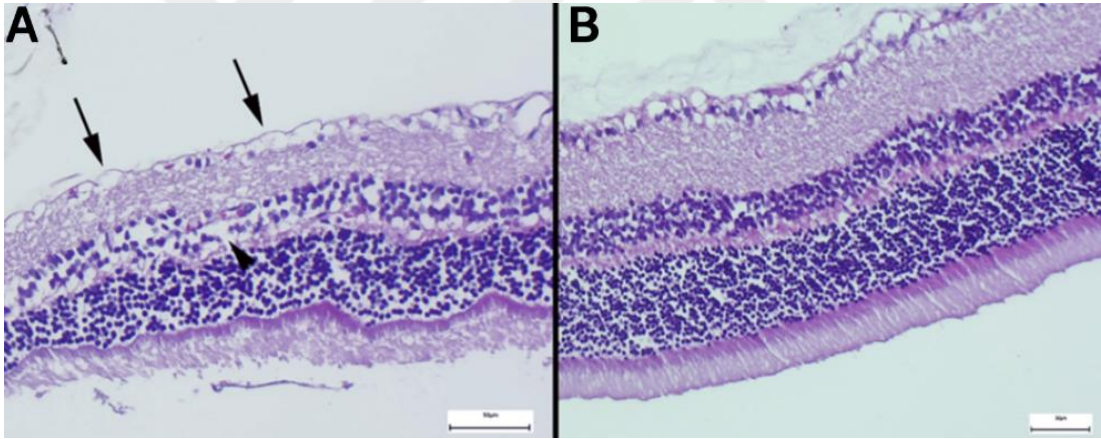
Tablo 4.2. Total Retina Kalınlığı Ölçümü Sonuçları

Total Retina Kalınlığı (µm)	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
	Kontrol	197,3	±3,21
	Glokom	125,70	±2,86
	Brimonidin	189,20	±4,18
	NAC	185,40	±2,17
	Brimonidin+NAC	198,50	±1,78

Grafik 4.2. Ortalama total retina kalınlığının gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması

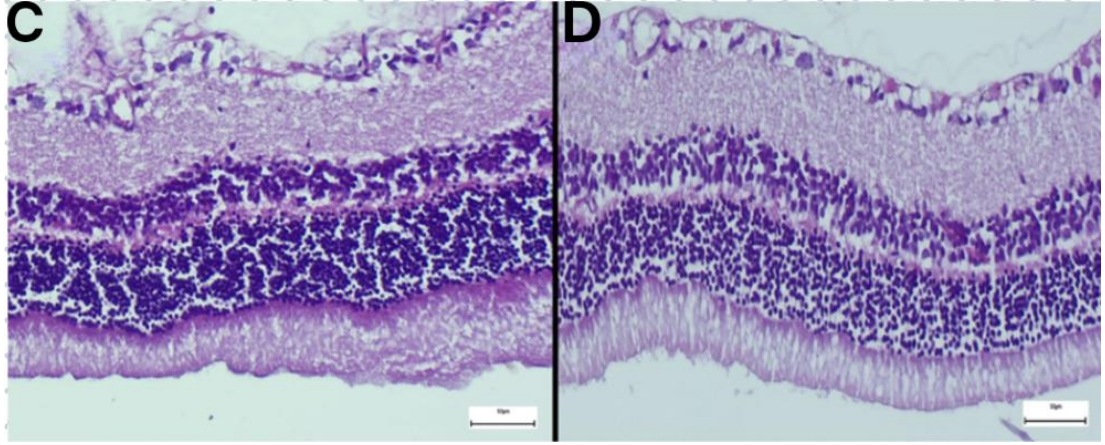


^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla
^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla
^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla
^dp<0,001 NAC grubuna kıyasla



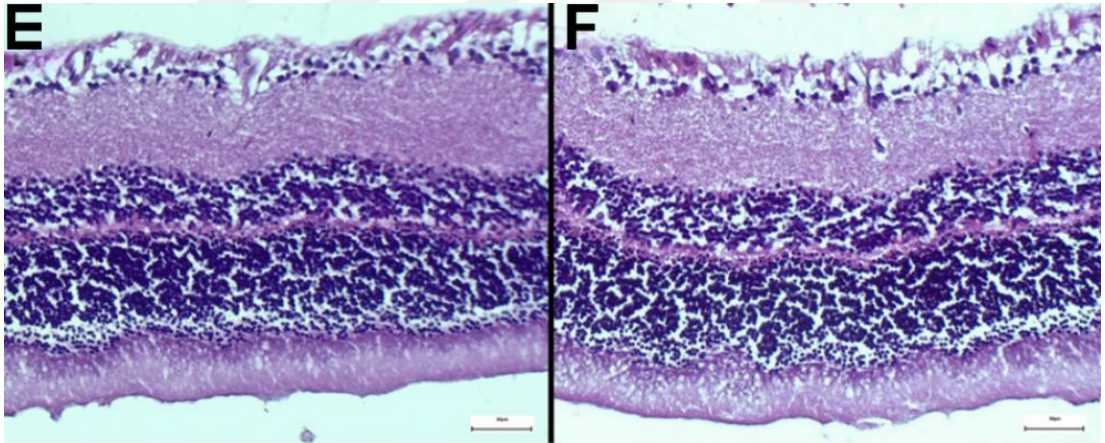
Resim 4.1. Glokom grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.

(A) Glokom grubunda retinada incelme, ganglion hücre tabakasındaki hücrelerde (Oklar) ve nükleer hücre tabakasındaki hücrelerde (Ok başı) azalma. **(B)** Kontrol grubunda normal retina histolojik görüntüsü, HE, Barlar=50µm.



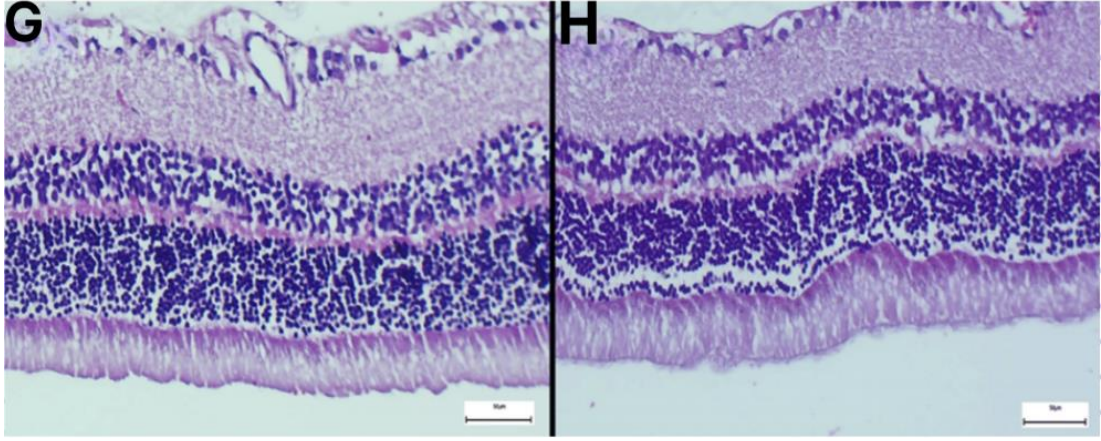
Resim 4.2. Brimonidin grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.

(C) Brimonidin grubunda retinada ve ganglion hücre tabakasında ılımlı incelme ile birlikte normale yakın histolojik görünüm. (D) Kontrol grubunda normal retina histolojik görüntüsü, HE, Barlar=50µm.



Resim 4.3. NAC grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.

(E) NAC grubunda retinada ve ganglion hücre tabakasında ılımlı incelme ile birlikte normale yakın histolojik görünüm. (F) Kontrol grubunda normal retina histolojik görüntüsü, HE, Barlar=50µm.



Resim 4.4. Brimonidin+NAC grubu ve Kontrol grubunda retinanın histolojik görüntüsü.

(G) Brimonidin+NAC grubunda retinada normale yakın görünüm. (H) Kontrol grubunda normal retina histolojik görüntüsü, HE, Barlar=50 μ m.

4.2. ELISA Yöntemi ile BCL-2, BAX ve GFAP Analizi Bulguları

4.2.1. BCL-2 Düzeyi Analizinin Bulguları

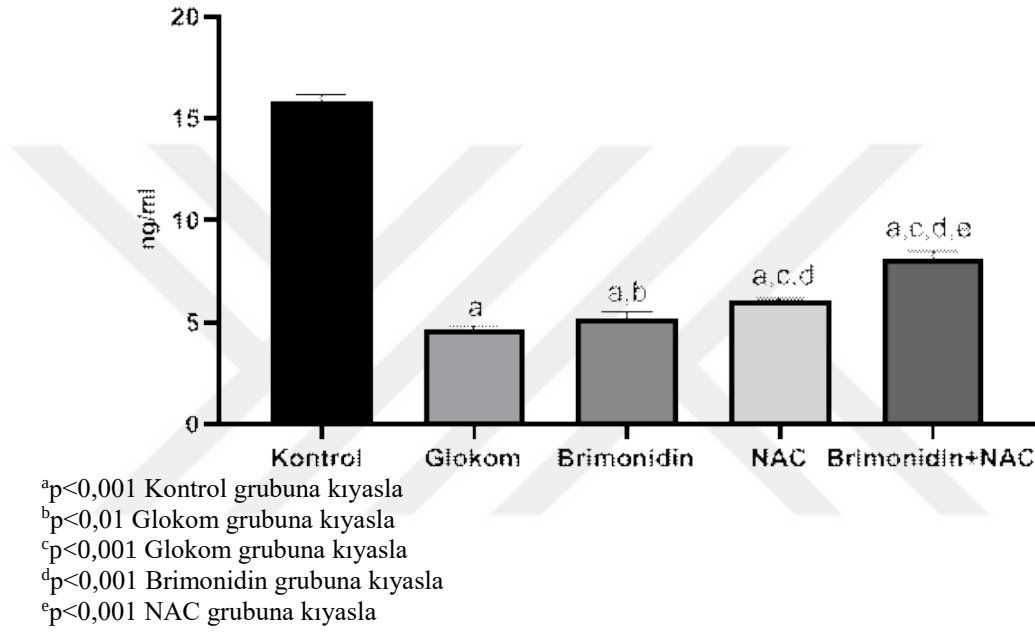
BCL-2 seviyeleri ng/ml olarak verilmiştir. BCL-2 miktarı; Kontrol grubunda $15,85 \pm 0,33$, Glokom grubunda $4,67 \pm 0,16$, Brimonidin grubunda $5,20 \pm 0,33$, NAC grubunda $6,05 \pm 0,13$ ve Brimonidin+NAC grubunda $8,10 \pm 0,39$ olarak ölçülmüştür. BCL-2 seviyesinin en yüksek olduğu grubun Kontrol grubu ($15,85 \pm 0,33$) ve en düşük olduğu grubun ise Glokom grubu ($4,67 \pm 0,16$) olduğu belirlenmiştir.

BCL-2 düzeyinin Glokom, Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^a p < 0,001$ Kontrol grubuna kıyasla) azaldığı belirlenmiştir. Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarındaki BCL-2 seviyesinin Glokom grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^b p < 0,01$ ve $^c p < 0,001$ Glokom grubuna kıyasla) arttığı görülmüştür. NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında ise Brimonidin grubuna kıyasla BCL-2 düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^d p < 0,001$ Brimonidin grubuna kıyasla) arttığı tespit edilmiştir. Brimonidin+NAC grubunda BCL-2 düzeyinin NAC grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli düzeyde ($^e p < 0,001$ NAC grubuna kıyasla) arttığı belirlenmiştir.

Tablo 4.3. BCL-2 Düzeyi Analizinin Bulguları

BCL-2 (ng/ml)	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
	Kontrol	15,85	±0,33
	Glokom	4,67	±0,16
	Brimonidin	5,20	±0,33
	NAC	6,05	±0,13
	Brimonidin+NAC	8,10	±0,39

Grafik 4.3. BCL-2 düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



4.2.2. BAX Düzeyi Analizinin Bulguları

BAX seviyeleri ng/ml olarak verilmiştir. BAX miktarı; Kontrol grubunda $3,07 \pm 0,028$, Glokom grubunda $3,33 \pm 0,029$, Brimonidin grubunda $3,27 \pm 0,010$, NAC grubunda $3,17 \pm 0,007$ ve Brimonidin+NAC grubunda $3,13 \pm 0,004$ olarak ölçülmüştür. BAX seviyesinin en yüksek olduğu grubun Glokom grubu ($3,33 \pm 0,029$) ve en düşük olduğu grubun ise Kontrol grubu ($3,07 \pm 0,028$) olduğu belirlenmiştir.

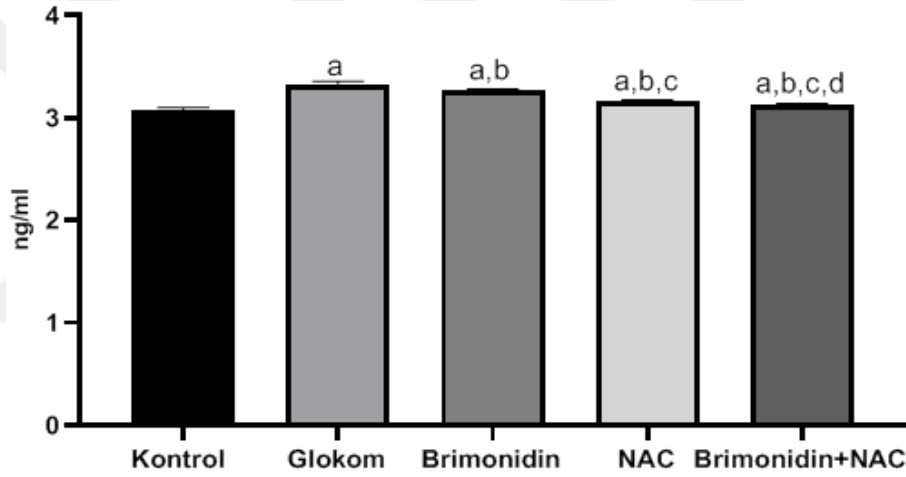
BAX düzeyinin Glokom, Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla) arttığı ve Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında ise BAX düzeyinin Glokom grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla) azaldığı görülmüştür. NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında ise Brimonidin grubuna kıyasla BAX düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı

düzeyde ($^c p < 0,001$ Brimonidin grubuna kıyasla) azaldığı tespit edilmiştir. Brimonidin+NAC grubunda BAX düzeyinin NAC grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede ($^d p < 0,01$ NAC grubuna kıyasla) azaldığı görülmüştür.

Tablo 4.4. BAX Düzeyi Analizinin Bulguları

BAX (ng/ml)	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
	Kontrol	3,07	$\pm 0,028$
	Glokom	3,33	$\pm 0,029$
	Brimonidin	3,27	$\pm 0,010$
	NAC	3,17	$\pm 0,007$
	Brimonidin+NAC	3,13	$\pm 0,004$

Grafik 4.4. BAX düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



$^a p < 0,001$ Kontrol grubuna kıyasla

$^b p < 0,001$ Glokom grubuna kıyasla

$^c p < 0,001$ Brimonidin grubuna kıyasla

$^d p < 0,01$ NAC grubuna kıyasla

4.2.3. GFAP Düzeyi Analizinin Bulguları

GFAP seviyeleri ng/ml olarak verilmiştir. GFAP miktarı; Kontrol grubunda $3,56 \pm 0,08$, Glokom grubunda $6,24 \pm 1,18$, Brimonidin grubunda $4,50 \pm 0,19$, NAC grubunda $3,95 \pm 0,04$ ve Brimonidin+NAC grubunda $3,62 \pm 0,16$ olarak ölçülmüştür. GFAP seviyesinin en yüksek olduğu grubun Glokom grubu ($6,24 \pm 1,18$) ve en düşük olduğu grupların ise sırasıyla Kontrol ($3,56 \pm 0,08$), Brimonidin+NAC ($3,62 \pm 0,16$) ve NAC ($3,95 \pm 0,04$) grupları olduğu belirlenmiştir.

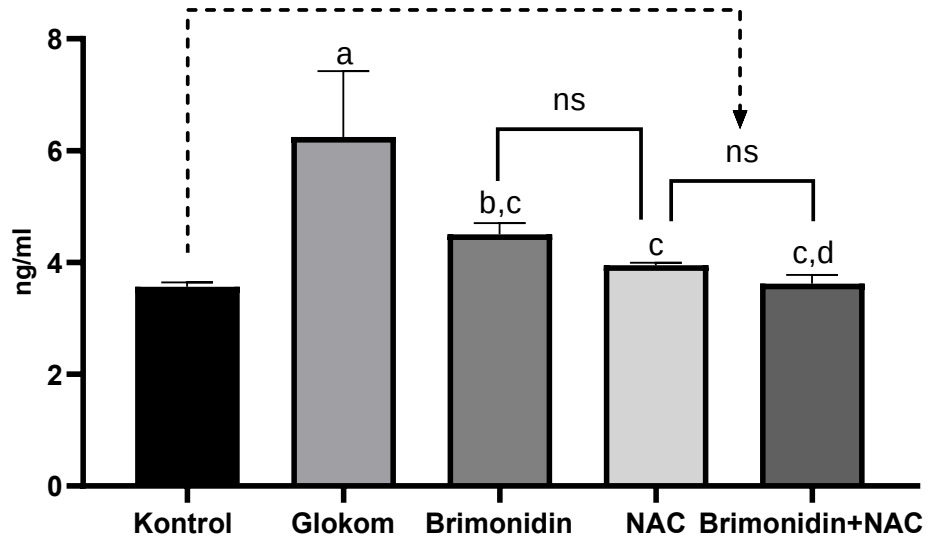
GFAP düzeyinin, Kontrol grubuna kıyasla Glokom ve Brimonidin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^a p < 0,001$ ve $^b p < 0,01$ Kontrol grubuna kıyasla)

arttığı, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında ise Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p>0,05$) bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Glokom grubuna kıyasla Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarındaki GFAP seviyesinin istatistiksel olarak önemli ölçüde ($^c p<0,001$ Glokom grubuna kıyasla) azaldığı tespit edilmiştir. GFAP düzeyleri açısından; Brimonidin grubuna kıyasla Brimonidin+NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($^d p<0,01$ Brimonidin grubuna kıyasla) bir azalma gözlenirken NAC grubu ile Brimonidin grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p>0,05$) bir farklılık olmadığı görülmüştür. Kontrol, NAC ve Brimonidin+NAC grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p>0,05$) bir fark tespit edilememiştir.

Tablo 4.5. GFAP Düzeyi Analizinin Bulguları

	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
GFAP (ng/ml)	Kontrol	3,56	$\pm 0,08$
	Glokom	6,24	$\pm 1,18$
	Brimonidin	4,50	$\pm 0,19$
	NAC	3,95	$\pm 0,04$
	Brimonidin+NAC	3,62	$\pm 0,16$

Grafik 4.5. GFAP düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



^a $p<0,001$ Kontrol grubuna kıyasla

^b $p<0,01$ Kontrol grubuna kıyasla

^c $p<0,001$ Glokom grubuna kıyasla

^d $p<0,01$ Brimonidin grubuna kıyasla

4.3. Oksidatif Stres Parametreleri Analizi Bulguları

4.3.1. Malondialdehit (MDA) Analizi Bulguları

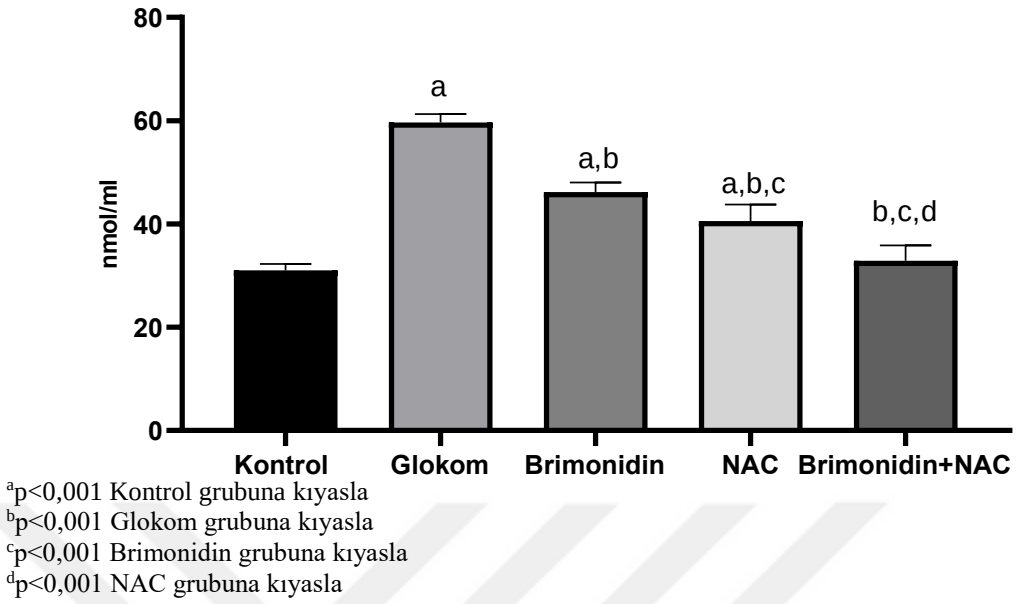
MDA seviyeleri nmol/ml olarak verilmiştir. MDA miktarı; Kontrol grubunda $31,01 \pm 1,26$, Glokom grubunda $59,66 \pm 1,60$, Brimonidin grubunda $46,18 \pm 1,86$, NAC grubunda $40,57 \pm 3,20$ ve Brimonidin+NAC grubunda $32,84 \pm 3,00$ olarak ölçülmüştür. MDA seviyesinin en yüksek olduğu grubun Glokom grubu ($59,66 \pm 1,60$) ve en düşük olduğu grupların ise sırasıyla Kontrol ($31,01 \pm 1,26$) ve Brimonidin+NAC ($32,84 \pm 3,00$) grupları olduğu belirlenmiştir.

MDA düzeyinin Glokom, Brimonidin ve NAC gruplarında Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^a $p < 0,001$ Kontrol grubuna kıyasla) arttığı, Brimonidin+NAC grubu ile Kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p > 0,05$) bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarındaki MDA düzeylerinin Glokom grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^b $p < 0,001$ Glokom grubuna kıyasla) azaldığı görülmüştür. NAC ve Brimonidin+NAC gruplarındaki MDA düzeylerinin Brimonidin grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^c $p < 0,001$ Brimonidin grubuna kıyasla) azaldığı tespit edilmiştir. MDA düzeyi bakımından NAC grubuna kıyasla Brimonidin+NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^d $p < 0,001$ NAC grubuna kıyasla) bir azalma olduğu görülmüştür.

Tablo 4.6. MDA Düzeyi Analizinin Bulguları

MDA (nmol/ml)	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
	Kontrol	31,01	$\pm 1,26$
	Glokom	59,66	$\pm 1,60$
	Brimonidin	46,18	$\pm 1,86$
	NAC	40,57	$\pm 3,20$
	Brimonidin+NAC	32,84	$\pm 3,00$

Grafik 4.6. MDA düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



4.3.2. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Analizi Bulguları

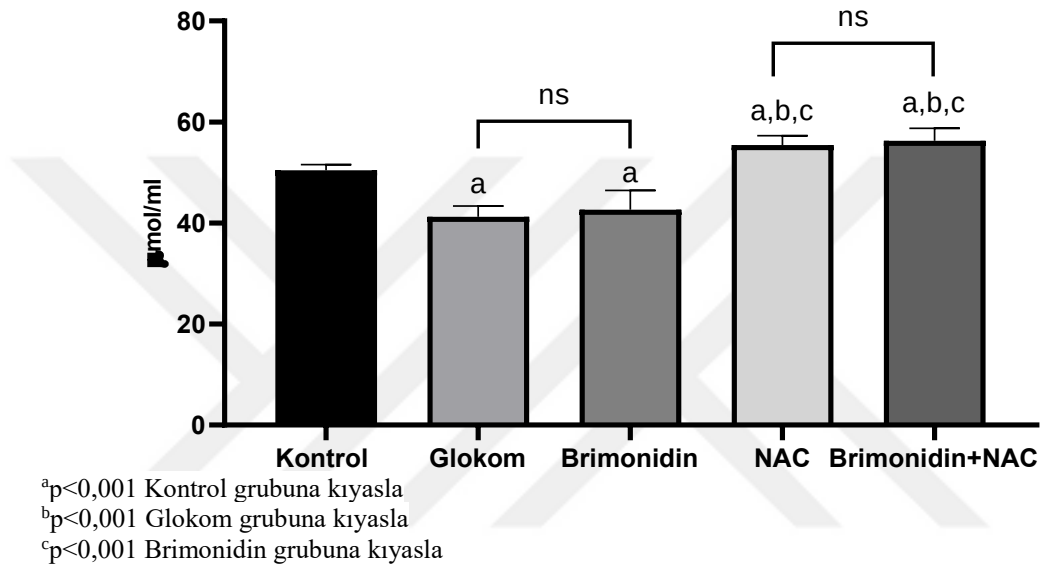
GSH seviyeleri $\mu\text{mol/ml}$ olarak verilmiştir. GSH miktarı; Kontrol grubunda $50,42 \pm 1,17$, Glokom grubunda $41,22 \pm 2,16$, Brimonidin grubunda $42,61 \pm 3,85$, NAC grubunda $55,43 \pm 1,85$ ve Brimonidin+NAC grubunda $56,27 \pm 2,48$ olarak ölçülmüştür. GSH seviyesinin en yüksek olduğu grupların sırasıyla Brimonidin+NAC ($56,27 \pm 2,48$) ve NAC ($55,43 \pm 1,85$) grupları, GSH seviyesinin en düşük olduğu grubun ise Glokom grubu ($41,22 \pm 2,16$) olduğu belirlenmiştir.

GSH düzeyinin Kontrol grubuna kıyasla Glokom ve Brimonidin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla) azaldığı, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla) arttığı tespit edilmiştir. Glokom ve Brimonidin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (p>0,05) bir farklılık bulunmamakla beraber NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında GSH düzeyi açısından Glokom grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla) bir artış olduğu görülmüştür. NAC ve Brimonidin+NAC grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (p>0,05) bir farklılık bulunamamıştır ancak NAC ve Brimonidin+NAC grupları Brimonidin grubu ile kıyaslandığında GSH düzeyi açısından her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla) bir artışın olduğu görülmüştür.

Tablo 4.7. GSH Düzeyi Analizinin Bulguları

GSH (μmol/ml)	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
	Kontrol	50,42	±1,17
	Glokom	41,22	±2,16
	Brimonidin	42,61	±3,85
	NAC	55,43	±1,85
	Brimonidin+NAC	56,27	±2,48

Grafik 4.7. GSH düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



4.3.3. Total Oksidan Seviye (TOS) Analizi Bulguları

TOS seviyeleri μmol H₂O₂ Eq/L olarak verilmiştir. TOS miktarı; Kontrol grubunda 1,31±0,13, Glokom grubunda 3,52±0,16, Brimonidin grubunda 2,40±0,31, NAC grubunda 2,39±0,29 ve Brimonidin+NAC grubunda 2,38±0,56 olarak ölçülmüştür. TOS seviyesinin en yüksek olduğu grup Glokom grubu (3,52±0,16) ve TOS seviyesinin en düşük olduğu grubun ise Kontrol grubu (1,31±0,13) olduğu belirlenmiştir.

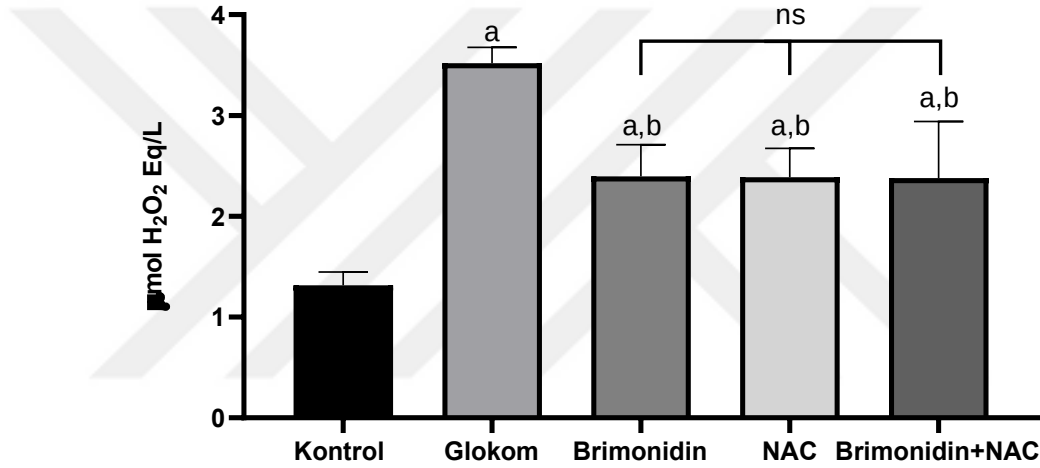
TOS düzeyinin Kontrol grubuna kıyasla Glokom, Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla) arttığı belirlenmiştir. Glokom grubuna kıyasla Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında TOS düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla) azaldığı bulunmuştur. Brimonidin, NAC ve

Brimonidin+NAC grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p>0,05$) bir farklılık tespit edilememiştir.

Tablo 4.8. TOS Düzeyi Analizinin Bulguları

	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)	Kontrol	1,31	$\pm 0,13$
	Glokom	3,52	$\pm 0,16$
	Brimonidin	2,40	$\pm 0,31$
	NAC	2,39	$\pm 0,29$
	Brimonidin+NAC	2,38	$\pm 0,56$

Grafik 4.8. TOS düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



^a $p<0,001$ Kontrol grubuna kıyasla

^b $p<0,001$ Glokom grubuna kıyasla

4.3.5. Total Antioksidan Seviye (TAS) Analizi Bulguları

TAS seviyeleri $\mu\text{mol Trolox Eq/L}$ olarak verilmiştir. TAS miktarı; Kontrol grubunda $1,86\pm 0,15$, Glokom grubunda $1,02\pm 0,03$, Brimonidin grubunda $1,25\pm 0,10$, NAC grubunda $1,74\pm 0,08$ ve Brimonidin+NAC grubunda $1,77\pm 0,14$ olarak ölçülmüştür. TAS seviyesinin en yüksek olduğu grubun Kontrol grubu ($1,86\pm 0,15$) olduğu ve en düşük olduğu grubun ise Glokom grubu ($1,02\pm 0,03$) olduğu belirlenmiştir.

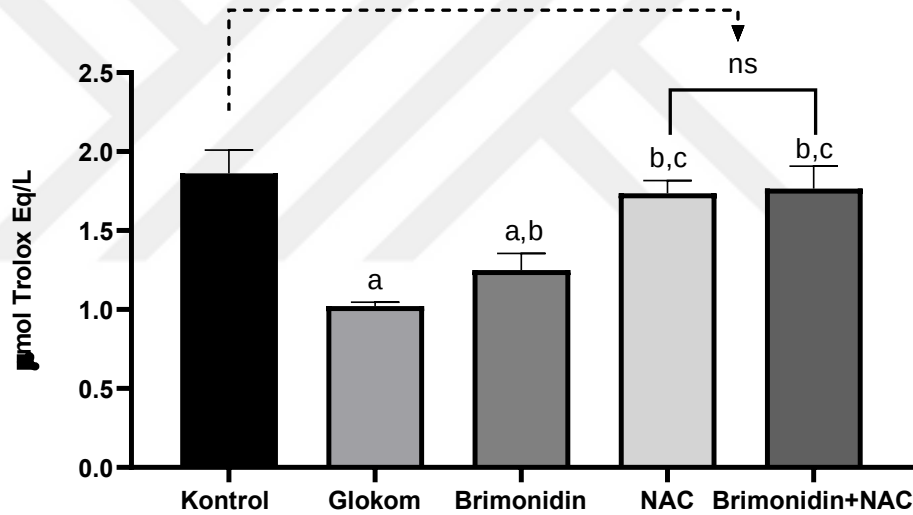
TAS düzeyinin Kontrol grubuna kıyasla Glokom ve Brimonidin gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^a $p<0,001$ Kontrol grubuna kıyasla) azaldığı belirlenmiştir. TAS düzeyleri bakımından Kontrol, NAC ve Brimonidin+NAC grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p>0,05$) bir farklılık

bulunamamıştır. Glokom grubuna kıyasla Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında TAS düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla) arttığı görülmüştür. Brimonidin grubuna kıyasla NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında TAS düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla) arttığı bulunmuştur.

Tablo 4.9. TAS Düzeyi Analizinin Bulguları

	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
TAS (μmol Trolox Eq/L)	Kontrol	1,86	±0,15
	Glokom	1,02	±0,03
	Brimonidin	1,25	±0,10
	NAC	1,74	±0,08
	Brimonidin+NAC	1,77	±0,14

Grafik 4.9. TAS düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla
^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla
^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla

4.3.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Analizi Bulguları

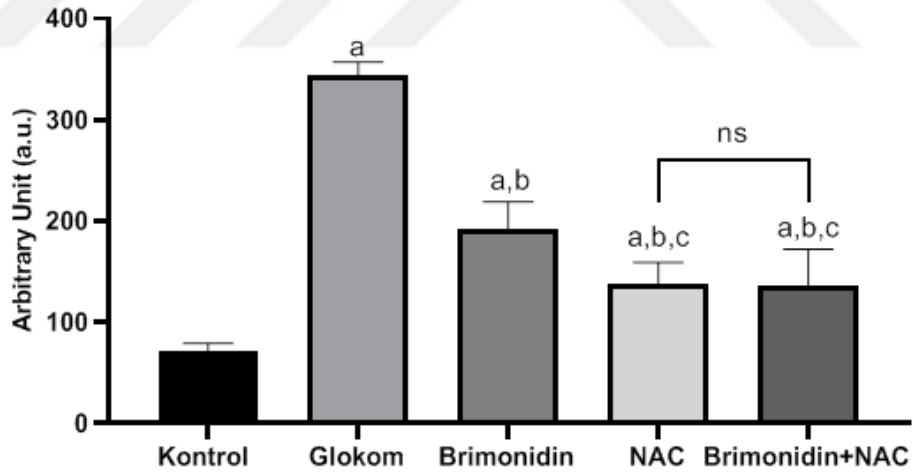
OSİ seviyeleri Arbitrary Unit (a.u.) olarak verilmiştir. Arbitrary Unit = [TOS (μmol H₂O₂ Eq/L)/TAS (μmol Trolox Eq/L)]*100 şeklinde hesaplanmıştır. OSİ; Kontrol grubunda 70,96±8,26, Glokom grubunda 344,50±12,57, Brimonidin grubunda 192,54±26,63, NAC grubunda 138,27±21,02 ve Brimonidin+NAC grubunda 136,29±36,31 olarak ölçülmüştür. OSİ seviyesinin en yüksek olduğu grubun Glokom grubu (344,50±12,57) olduğu ve OSİ seviyesinin en düşük olduğu grubun ise Kontrol grubu (70,96±8,26) olduğu belirlenmiştir.

OSİ düzeyinin Kontrol grubuna kıyasla Glokom, Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla) arttığı belirlenmiştir. OSİ düzeyinin Glokom grubuna kıyasla Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla) azaldığı belirlenmiştir. Brimonidin grubuna kıyasla NAC ve Brimonidin+NAC gruplarındaki OSİ düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla) azaldığı ancak NAC ve Brimonidin+NAC grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde (p>0,05) bir farkın olmadığı bulunmuştur.

Tablo 4.10. OSİ Düzeyi Analizinin Bulguları

	Gruplar	Ortalama	Standart Sapma
OSİ (a.u.)	Kontrol	70,96	±8,26
	Glokom	344,50	±12,57
	Brimonidin	192,54	±26,63
	NAC	138,27	±21,02
	Brimonidin+NAC	136,29	±36,31

Grafik 4.10. OSİ düzeyinin gruplar arasındaki istatistiksel olarak karşılaştırması



^ap<0,001 Kontrol grubuna kıyasla

^bp<0,001 Glokom grubuna kıyasla

^cp<0,001 Brimonidin grubuna kıyasla

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada GCL ve total retina kalınlıkları NAC grubunda glokom grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti. NAC grubu ve Brimonidin grubu arasında GCL ve total retina kalınlıkları açısından anlamlı fark yoktu. Bu sonuçlar ışığında N-asetilsistein'in retina ganglion hücreleri üzerinde nöroprotektif etkisinin olduğu görüldü. N-asetilsistein ve Brimonidin'in retina ganglion hücreleri üzerindeki nöroprotektif etkileri arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Çalışmamız N-asetilsistein'in rat glokom modeli üzerinde nöroprotektif etkinliğini gösteren ilk çalışmadır.

Güncel literatür gözden geçirildiğinde hem N-asetilsistein'in hem de Brimonidin'in çeşitli in-vivo ve in-vitro çalışmaların konusu olduğu görülmekte iken bu moleküllerin birlikte değerlendirildiği çalışma yoktur.

Glokom ilerleyici retina ganglion hücresi hasarı ile karakterize bir hastalıktır (1). Hastalarda körlüğe kadar değişen düzeylerde görmede azalma meydana gelebilmektedir. Kişilerin günlük yaşamdaki aktivelerini değişen düzeylerde kısıtlayan glokom, dünya genelinde önemli bir toplum sağlığı sorunudur. Glokom için en önemli risk faktörleri ileri yaş ve GİB yüksekliğidir. 2040 yılında nüfus içindeki yaşlı kişilerin sayısı ve oranının artışı ile birlikte yaklaşık 110.000.000 insanın glokom hastası olacağı öngörülmektedir (130). Glokomun birçok alt tipi vardır, ancak primer açık açılı glokom en yaygın olanıdır. Bu hastalarda GİB yüksekliği birlikte olabileceği gibi, hastalık tablosuna eşlik etmeyebilir. Glokomatöz hasar sürecinde değiştirilebilen tek ve en önemli risk faktörü GİB yüksekliğidir (131). Bu sebeple günümüzde, glokom tedavisinin en önemli yaklaşımı GİB düşürücü ajanlar ve yöntemlerdir. Ne var ki hedeflenen GİB düzeylerine ulaşılmasına rağmen nöral dejenerasyonun progresyon göstererek devam edebildiğinin görülmesi, glokom tedavi stratejilerine yeni ajanların veya modalitelerin eklenmesine yönelik çalışmalara neden olmuştur (132,133). Progresif retina ganglion hücresi dejenerasyonunun neden olduğu glokomun güncel tedavi araştırmaları nöral dejenerasyonu önleyici ajanlara yönelik olarak her geçen gün artmaktadır. Bu nöron koruyucu (nöroprotektif) yöntemler ile multifaktöriyel bir hastalık olan glokomun uzun dönemde kontrolü sağlanarak hastaların yaşam kalitesinin artırılması amaçlanmaktadır (134–139).

Glokoma bağlı retinal hasar gelişimiyle ilgili farklı teoriler ortaya atılmış olmakla birlikte günümüzde henüz patogeneze tam anlamıyla aydınlatılabiliş değildir. En önemli risk faktörü olan GİB yüksekliği nedeniyle oluşan mekanik ve iskemik hasar üzerinde birçok çalışma literatürde mevcuttur (140). Ancak kontrol altına alınmış olan GİB düzeylerine rağmen glokomun progresyon gösterdiğinin görölmesi nedeniyle altta yatan hücresel düzeyde çeşitli değişikliklerin sürece katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır (49). Bu değişiklere neden olan mekanizmaların oksidatif stres başta olmak üzere, mitokondriyal disfonksiyon, nörotrofik faktörlerin yoksunluğu, glial aktivasyon, eksitotoksisite, aksonal taşımanın başarısızlığı, immünolojik faktörler, otoreğülasyon bozukluğu ve nitrik oksit nörotoksisitesi olduğu öne sürölmüşür (141–144). Nedenden bağımsız olarak sonuçta retina ganglion hücrelerinde apoptozis meydana gelmektedir.

Glokomun neden olduğu hasarı anlamak ve yeni tedavileri keşfetmek için deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bunlardan biri insan olmayan primatların kullanıldığı modellerdir. Ancak, insan olmayan primatlar çok pahalıdır ve istatistiksel anlamlılık açısından sayının az olması birçok noktada eksikliklere neden olur. Hem rat hem de fare, glokomu indökmek, gözdeki glokomatöz hasarı ölmek ve nicelemek için geliştirilmiş yöntemler nedeniyle glokom araştırmalarında popüler hale gelmiştir. Fareleri ve ratları satın almak ve bakımları çok daha ucuzdur. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı veriler elde etmek için fazla sayıda fare ve rat kullanılabilir. Kemirgen kullanmanın açık avantajı, hem mevcut çok çeşitli konjenik fare suşları hem de belirli dokularda gen ifadesini değiştirme (artırma veya azaltma) yetenekleri açısından kemirgen genetiğinin gücüdür. İlgili glokom kemirgen modelleri insan gözündeki glokomatöz hasarı doğru bir şekilde fenokopi etmektedir. Ayrıca bu kemirgen modellerinde insan hastalığının birçok özelliğini taklit eden glokom geliştirilebilir. Kemirgen glokom modelleri göz içi basıncına bağlı veya göz içi basıncına bağlı olmayan olarak sınıflandırılabilir. Basınca bağlı modellerin çoğu, kemirgen gözlerinde göz içi basıncının yükseltilme şekli değişse de yüksek basıncın neden olduğu yolları araştırır. Basınçtan bağımsız modeller, göz içi basıncının normal aralıkta kaldığı "normal gerilimli" glokomu ele almaya çalışır. Bu modeller ayrıca optik disk ve/veya retina ganglion hücrelerinde glokomatöz hasarla ilişkilendirilmiş diğer "GİB dışı" faktörleri de ele alır (120).

Basıncıdan bağımsız modellerin bir diğeri özelliği de iskemik optik nöropati gibi çeşitli patolojilerin taklidini yapabilmeleridir (145,146).

Çalışmamızda glokomatöz nöral hasarın basıncıdan bağımsız nedenlerini ele almak amacıyla “Optik Sinir Ezilme Hasarı Modeli” uyguladık. Bu modelde uygulanan ezme kuvvetinin teknik ve büyüklüklerindeki farklılıklar nedeniyle, retina ganglion hücresi hasar seviyelerinin minimumdan neredeyse tamamen kayba kadar değişebileceğini belirtmek önemlidir (121). Ayrıca apoptotik retina ganglion hücresi kaybının zaman süreci de birkaç günden birkaç haftaya kadar farklı olabilir (147–150). Çalışmamızda Tang ve ark. daha önce belirttiği prosedür uygulanarak optik sinir ezilme hasarı oluşturuldu (121).

Çalışmamızda hasar geliştirilen tüm gruplarda değişen düzeylerde retina ganglion hücresi sayısında azalma ve atrofi görüldü. GCL ve total retina kalınlıkları NAC grubunda glokom grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti. NAC grubu ve Brimonidin grubu arasında GCL ve total retina kalınlıkları açısından anlamlı fark yoktu. Kontrol grubuna benzer şekilde GCL ve total retina kalınlıklarının en yüksek olduğu grup ise Brimonidin+NAC grubu idi. Sano ve ark. yapmış oldukları çalışmada normotansif glokom modeli geliştirilen ve gen ifadesi değiştirilmiş bazı farelerde NAC uygulamasının retina ganglion hücresi üzerine koruyucu etkilerini bulmuşlardır (119). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da NAC grubunda Glokom grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde GCL ve total retinanın daha kalın izlenmesi bu çalışmayı desteklemektedir. Ma ve ark. yapmış oldukları çalışmada optik sinir ezilme hasarı uygulanan ratlarda Brimonidin’in retina ganglion hücresi apoptozisine olan koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak intraperitoneal Brimonidin ile tedavi edilen grupta salin enjeksiyonu yapılan gruba göre retina ganglion hücresi yoğunluğu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit etmişlerdir (151). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde Brimonidin uygulanan grupta (Brimonidin grubu) serum fizyolojik uygulanan gruba (Glokom grubu) göre GCL ve total retina kalınlığı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha kalın bulundu. Çalışmamız glokom geliştirilen gözlerde N-asetilsistein ve Brimonidin’in GCL ve total retina kalınlığı sonuçları baz alındığında benzer nöroprotektif özellikte olduklarını gösterdi.

Çalışmamızın histopatolojik inceleme bulguları Brimonidin'in göz içi basıncının yükselmediği durumlarda da nöroprotektif etkiler gösterebileceğini göstermiştir. Bu bulgu literatürdeki önceki raporlarla tutarlıdır (152,153). Bu durum, Brimonidin'in N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptörleri üzerindeki etkisi, retina ganglion hücrelerindeki eksitotoksisiteyi baskılaması ve müller hücrelerinden trofik faktör salınımını uyarması ile açıklanabilir. Çalışmamızın histopatolojik incelemelerinde, N-asetilsistein'in normal basınçlı glokom modelinde Brimonidin ile benzer nöroprotektif etkilere sahip olduğunu ve birlikte uygulandıklarında tek başlarına uygulanmalarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha etkili olduğunu gördük.

Apoptozis, glokomda retina ganglion hücresi kaybının ana sebebidir. Apoptozis için spesifik sinyal yollarını kesintiye uğratan veya karşı koyan ajanlar glokomun ilerlemesini yavaşlatma potansiyeline sahiptir. Hayvan modellerindeki son veriler, mitokondriye bağlı apoptozun glokomda retina ganglion hücresi kaybına katkıda bulunduğunu göstermektedir (49,141). Mitokondriye bağlı apoptoz, mitokondriyal membran geçirgenliğini azaltan ve apoptozu baskılayan BCL-2 (B-cell Lymphoma/Leukemia 2) gibi proteinleri ve mitokondriyal membran geçirgenliğini artıran ve apoptozu destekleyen BAX (Bcl-2 Associated X Protein) gibi proteinlerden oluşmaktadır (154,155). Brimonidin tarafından indüklenen yeni protein sentezi, BCL-2 düzeylerindeki azalmaları önler ve böylece mitokondriye bağlı apoptozu azaltır (152,156). Çalışmamızda hasar geliştirilen tüm gözlerde BCL-2 düzeyleri Kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulundu. Gruplar arasında en düşük BCL-2 düzeyleri Glokom grubunda bulundu. Kontrol grubundan sonra en yüksek BCL-2 düzeyleri Brimonidin+NAC grubunda tespit edildi. Çalışmamızda hasar geliştirilen tüm gözlerde BAX düzeyleri Kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulundu. Gruplar arasında en yüksek BAX düzeyleri Glokom grubunda bulundu. Kontrol grubundan sonra en düşük BAX düzeyleri Brimonidin+NAC grubunda tespit edildi. Belirtmek gerekir ki BAX ve BCL-2 düzeyleri literatürdeki örneklerle örtüşen sonuçlar olarak bulunmuş olsa da Brimonidin grubu ile NAC grubu arasındaki karşılaştırmalar literatürde daha önce yapılmamış çalışmalardı. Çalışmamızda BCL-2 düzeyleri NAC grubunda Brimonidin grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı

düzeyde yüksek olarak bulunurken, BAX düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu.

Herhangi bir nedenle retinal hasar meydana geldiğinde, müller hücreleri ve astrositlerde GFAP (Glial Fibriler Asidik Protein) ekspresyonunda artış olmaktadır (157). GFAP ekspresyonu, glial hücre aktivasyonunun klasik bulgusudur. Glokomlu gözlerde retinal müller hücreleri ve astrositlerde artmış GFAP değerleri, glial hücre aktivasyonu olduğunu göstermektedir (158–160). Çalışmamızda aksonal travmaya bağlı astrositik ve müller hücre cevabının değerlendirilmesinde GFAP düzeyi kullanıldı. Girkin ve ark. beyin ölümü gerçekleşmiş organ bağışçısı üç insanın birer gözlerinde akut GİB yükselmesine karşı erken retinal cevabı değerlendirdiler. Sonuçlarında tek taraflı subiskemik GİB yükselmesine maruz bırakılan optik sinir kesitlerinde astrositik belirteç olan GFAP ekspresyonunun kontrol göze göre daha yüksek seviyelerde olduğunu sundular (161). Çalışmamızın sonuçlarında GFAP düzeyleri açısından Kontrol grubuyla kıyaslandığında NAC grubu ve Brimonidin+NAC grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde fark izlenmedi. En yüksek GFAP değerleri Glokom grubunda tespit edildi. NAC grubunda GFAP değerleri Glokom grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük tespit edildi. Hasar geliştirilmemiş olan Kontrol grubu ile deney başlangıcında optik sinir ezme hasarı geliştirilmiş olan NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında GFAP düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması, uygulanan hasarın kronik GİB yüksekliği gibi devamlı olmaması ile bağlantılı olabileceğini düşündürdü.

Oksidatif stres maruziyeti özellikle hücre membranındaki lipid bileşenleri olmak üzere protein ve DNA'da lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Glokomda malondialdehit (MDA) düzeyi seviyelerinin artışı oksidatif stresin glokom patogenezinde mevcut olduğuna kanıtlardan biridir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir ve hücre içi moleküllerde değişikliklere neden olabilir (162). MDA, oksidatif stresin biyobelirteci olarak kullanılmasına rağmen; MDA'nın aynı zamanda toksik, mutajenik ve kanserojen olduğu da rapor edilmiştir (163,164). Glokom hastalarında MDA düzeylerinin yüksek olduğu daha önceki çalışmalarda raporlanmış bir bulgudur (165,166). Çalışmamızda en yüksek MDA düzeyleri hasar geliştirilip tedavi verilmeyen grup olan Glokom grubunda izlendi. NAC grubunda MDA düzeyleri Brimonidin grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha

düşüktü. Brimonidin+NAC grubunda MDA düzeyleri Kontrol grubuna benzer değerlerde izlendi ve istatistiksel olarak aralarında fark yoktu. Bu durumun N-asetilsistein'in antioksidan sistemler için sistein prekürsörü olması ile ilişkilendirilebileceği düşünüldü.

İndirgenmiş glutatyon (GSH) endojen antioksidanlardan biridir. GSH, oksidatif stres reaksiyonları sırasında oluşan toksik yan ürünleri uzaklaştırmada ve hücreleri serbest radikal hasarından korumada kritik bir rol oynar. Bu bağlamda N-asetilsistein'in, GSH sentezinde kullanılan 3 aminoasitten (Sistein, glutamat ve glisin) birinin öncüsü olması onu antioksidan sistemler için önemli hale getirmiştir. Yabana ve ark. açık açılı glokom hastalarında lökositlerdeki GSH düzeylerini ölçtüler ve kontrol grubuyla aralarında anlamlı bir fark bulamadılar (167). Aksine; Lu ve ark. yaptıkları bir hipertansif glokom modelinde aköz hümördeki GSH düzeylerinin antiglokomatöz ilaç alan gruplara kıyasla tedavi edilmeyen grupta anlamlı şekilde düşük olduğunu buldular (168). Bahsedilen her iki çalışmada da GİB değerinin yüksek olduğu glokom hastaları veya modelleri kullanılmışken, Sato ve ark. yapmış oldukları çalışmada normotansif glokom hastalarında da aköz hümörde düşük GSH düzeylerini buldular (169). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde Glokom grubunda Kontrol grubuna kıyasla vitreus GSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamda düzeyde daha düşüktü. Glokom grubu ile Brimonidin grubu arasında GSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark izlenmedi. Dikkat çekici bir diğer bulgu ise N-asetilsistein tedavisi verilen gruplar olan NAC ve Brimonidin+NAC grubu GSH düzeylerinin en yüksek olduğu gruplardı ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark yoktu. NAC grubunda Kontrol grubu ile kıyaslandığında GSH istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek değerlere sahipti.

Total oksidan seviye (TOS) ve total antioksidan seviye (TAS) biyosistemlerdeki toplam oksidan-antioksidan durumları tek başına ölçmek için kullanılan faydalı testlerdir. Glokom hastalarındaki TOS ve TAS düzeyleriyle ilgili Çetinkaya ve ark. yaptıkları çalışmada psödoeksfolyasyon glokomu ve primer açık açılı glokom hastalarını kontrol grubu ile kıyasladılar. Sonuçta her iki glokom grubunda da TAS düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük izlenirken, TOS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadılar (170). Tang ve ark. metaanalizlerinde TAS düzeyi glokom hastalarında kontrol grubuna kıyasla azalırken,

TOS düzeyinin ise değişmediğini sundular (171). Majsterek ve ark. yaptıkları çalışmada glokom hastalarında kontrol grubuna kıyasla oksidatif stres biyobelirteçlerinin (Katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalırken TAS düzeylerinin ise istatistiksel olarak anlamlı olmayacak şekilde azaldığını buldular (172). Bizim çalışmamızda ise TOS düzeyleri açısından Kontrol grubu en düşük değerlere sahipken Glokom grubu en yüksek değerlere sahipti. Brimonidin, NAC ve Brimonidin+NAC grupları arasında TOS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark izlenmedi. TAS düzeyleri açısından ise Kontrol, NAC ve Brimonidin+NAC gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Glokom grubu en düşük TAS değerlerine sahipti.



SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla glokom modeli oluşturulan ratlarda N-asetilsistein'in nöroprotektif etkinliğini değerlendiren ilk çalışmadır.
2. Literatüre baktığımızda Brimonidin'in glokomatöz retinal hasardaki nöroprotektif etkinliği ile ilgili gerek in-vivo, gerek in-vitro birçok çalışma mevcuttur. Ancak bizim çalışmamız N-asetilsistein ve Brimonidin'in nöroprotektif etkinliklerini karşılaştıran ilk çalışmadır.
3. Glokom modeli oluşturularak intraperitoneal N-asetilsistein verilen NAC grubunda, intraperitoneal serum fizyolojik verilen Glokom grubuna kıyasla GCL ve total retina kalınlıklarının istatistiksel olarak anlamlı daha kalın bulunması N-asetilsistein'in nöroprotektif etkisi olduğunu desteklemektedir.
4. Glokom modeli oluşturularak intraperitoneal Brimonidin verilen Brimonidin grubu ile NAC grubu arasında GCL ve total retina kalınlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaması N-asetilsistein ile Brimonidin'in nöron koruyucu özellik bakımından benzer etkilere sahip olduğunu desteklemektedir.
5. Glokom modeli oluşturularak intraperitoneal Brimonidin ile N-asetilsistein'in birlikte verildiği Brimonidin+NAC grubunda GCL ve total retina kalınlığının NAC ve Brimonidin gruplarından istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha kalın olması, iki ajanın bir arada verilmesinin daha iyi sonuçlar gösterdiğini desteklemektedir.
6. Brimonidin+NAC grubundaki GCL ve total retina kalınlıklarının glokom modeli oluşturulmadan takip edilen ve herhangi bir tedavi almayan Kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması, glokoma bağlı gelişen hasarın etkilerini Kontrol grubu seviyelerine indirerek apoptotik hücre ölümünden koruyucu olabileceğini desteklemektedir.
7. Apoptozu azaltan protein olan BCL-2 düzeylerinin NAC grubunda Glokom grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olması N-asetilsistein'in glokoma bağlı gelişen hücresel hasarda koruyucu etkilerinin olduğunu desteklemektedir.

8. Apoptozu arttıran protein olan BAX düzeylerinin NAC grubunda Glokom grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olması N-asetilsistein'in glokoma bağlı gelişen hücresel hasarda koruyucu etkilerinin olduğunu desteklemektedir.
9. N-asetilsistein uygulanan gruplarda Glokom grubuna kıyasla MDA değerlerinin daha düşük, GSH değerlerinin ise daha yüksek bulunması N-asetilsistein'in antioksidan etkilerini desteklemektedir.
10. Çalışmamızın sonuçlarına göre N-asetilsistein gelecekte glokom tedavisinde nöroprotektif etkinliği ile önemli bir rol oynayabilir. Antioksidan sistemler üzerinden nöroprotektif etki gösteriyor gibi görünse de etkilerini anlayabilmek için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. N-asetilsistein yeni bir ajan olarak ilerleyen dönemde glokom tedavi stratejilerinde yerini alabilir. Ancak N-asetilsistein'in klinik uygulamalardaki etkinliğini ve güvenilirliğini daha net anlayabilmek için, daha fazla denekle çalışılan, farklı dozajlar, uygulama teknikleri ve süreleri içeren ileri düzeyde in vitro ve in vivo araştırmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Deneyisel Glokom Modeli Oluşturulan Ratlarda Brimonidin ve N-Asetilsistein'in Retina Ganglion Hücre Hasarı Üzerine Nöron Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Glokom ilerleyici retina ganglion hücresi hasarı ile karakterize bir optik nöropatidir. En önemli risk faktörü göz içi basınç (GİB) yüksekliğidir. GİB düşüren tedavilere rağmen progresyonunun görülebilmesi yeni tedavi arayışlarına neden olmuştur. Çalışmamızda N-Asetilsistein'in retina ganglion hücreleri üzerine nöroprotektif etkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: 32 adet Wistar albino cinsi rat denek olarak kullanıldı. Kontrol (n=6), Glokom (n=6), Brimonidin (n=7), NAC (n=7) ve Brimonidin+NAC (n=6) olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubu hariç diğer tüm grupların sağ gözlerinde "Optik sinir ezilme hasarı" oluşturuldu. İntraperitoneal yolla Glokom grubuna 1cc/gün serum fizyolojik, Brimonidin grubuna 0.1mg/kg %0.15 Brimonidin, NAC grubuna 200 mg/kg N-asetilsistein, Brimonidin+NAC grubuna 0.1mg/kg %0.15 Brimonidin ve 200 mg/kg N-asetilsistein uygulandı. Kontrol grubuna sahte bir cerrahi prosedür uygulandı, herhangi bir enjeksiyon yapılmadı. 30. gün deney hayvanları sakrifiye edilerek sağ gözlerinin enükleasyonu yapıldı. Ganglion hücre tabakası (GCL) ve total retina kalınlık ölçümleri, BCL-2, BAX ve GFAP, MDA, GSH, total oksidan seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS) ve oksidatif stres indeksi (OSİ) analizleri yapıldı. İstatistiksel anlamlılık tek yönlü ANOVA ve Tukey'in çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirildi, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Total retina ve GCL NAC grubunda Glokom grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha kalın izlendi. NAC grubu ile Brimonidin grubu arasında anlamlı fark izlenmedi. NAC grubunda BCL-2 düzeyleri Glokom ve Brimonidin gruplarına kıyasla anlamlı daha yüksekken, BAX düzeyleri anlamlı olarak daha düşüktü. GFAP değerleri NAC grubunda Glokom grubuna kıyasla anlamlı şekilde daha düşüktü. MDA düzeyleri NAC grubunda Glokom grubuna göre anlamlı daha düşüktü. GSH ve TAS düzeyleri NAC içeren gruplarda anlamlı şekilde daha yüksek bulundu.

Sonuç: Çalışmamız N-asetilsistein'in retina ganglion hücrelerinde nöroprotektif etkilerinin olabileceğini gösterdi. N-asetilsistein ile Brimonidin benzer nöroprotektif etkiye sahipti. N-asetilsistein'in glokom tedavisinde güvenilirliğini ve etkinliğini değerlendirmek için ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: N-asetilsistein, Glokom, Brimonidin, Nöroproteksiyon

ABSTRACT

Evaluation of the Neuroprotective Effects of Brimonidine and N-Acetylcysteine on Retinal Ganglion Cell Damage in Rats with Experimental Glaucoma Model

Objective: Glaucoma is an optic neuropathy characterised by progressive damage to the retinal ganglion cells. The main risk factor is high intraocular pressure (IOP). The fact that the disease progresses despite IOP-lowering treatments has led to the search for new treatments. In our study, we investigated the neuroprotective effects of N-acetylcysteine on retinal ganglion cells.

Materials and Methods: 32 Wistar albino rats were used as test subjects. The rats were divided into 5 groups as Control (n=6), Glaucoma (n=6), Brimonidine (n=7), NAC (n=7) and Brimonidine+NAC (n=6). Optic nerve crush injury was induced in the right eyes of all groups except the control group. Glaucoma group received 1cc/day saline, Brimonidine group received 0.1mg/kg 0.15% Brimonidine, NAC group received 200 mg/kg N-acetylcysteine, Brimonidine+NAC group received 0.1mg/kg 0.15% Brimonidine and 200 mg/kg N-acetylcysteine intraperitoneally. A sham surgical procedure was performed in the control group, no injection was performed. On the 30th day, the experimental animals were sacrificed and the right eyes were enucleated. Ganglion cell layer (GCL) and total retinal thickness measurements, BCL-2, BAX and GFAP, MDA, GSH, total oxidant level (TOS), total antioxidant level (TAS) and oxidative stress index (OSI) analyses were performed. Statistical significance was evaluated using one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test, $p < 0.05$ was considered significant.

Results: Total retina and GCL were significantly thicker in the NAC group compared to the Glaucoma group. No significant difference was observed between NAC group and Brimonidine group. BCL-2 levels were significantly higher and BAX levels were significantly lower in the NAC group compared to the Glaucoma and Brimonidine groups. GFAP levels were significantly lower in the NAC group compared to the Glaucoma group. MDA levels were significantly lower in the NAC group compared to the Glaucoma group. GSH and TAS levels were significantly higher in NAC containing groups.

Conclusion: Our study showed that N-acetylcysteine may have neuroprotective effects in retinal ganglion cells. N-acetylcysteine and Brimonidine had similar neuroprotective effects. Further clinical trials are needed to assess the safety and efficacy of N-acetylcysteine in the treatment of glaucoma.

Keywords: N-acetylcysteine, Glaucoma, Brimonidine, Neuroprotection

KAYNAKLAR

1. Voelker R. What Is Glaucoma? JAMA. 2023 Oct 24;330(16):1594.
2. Jenner P. Oxidative damage in neurodegenerative disease. Lancet. 1994 Sep 17;344(8925):796–8.
3. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Javadzadeh A, Rashtchizadeh N, Moharrery M. Oxidative DNA damage and total antioxidant status in glaucoma patients. Mol Vis. 2011;17:41.
4. Tenório MCDS, Graciliano NG, Moura FA, de Oliveira ACM, Goulart MOF. N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. Antioxidants (Basel). 2021 Jun 1;10(6).
5. Leffler CT, Schwartz SG, Hadi TM, Salman A, Vasuki V. The early history of glaucoma: the glaucous eye (800 BC to 1050 AD). Clin Ophthalmol. 2015 Feb 2;9:207.
6. Kang JM, Tanna AP. Glaucoma. Med Clin North Am. 2021 May 1;105(3):493–510.
7. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. JAMA. 2014 May 14;311(18):1901–11.
8. Gramer G, Weber BHF, Gramer E. Migraine and Vasospasm in Glaucoma: Age-Related Evaluation of 2027 Patients With Glaucoma or Ocular Hypertension. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015 Dec 1;56(13):7999–8007.
9. McMonnies CW. Glaucoma history and risk factors. J Optom. 2017 Apr 1;10(2):71–8.
10. Saccuzzo EG, Youngblood HA, Lieberman RL. Myocilin misfolding and glaucoma: A 20-year update. Prog Retin Eye Res. 2023 Jul 1;95.
11. Burgoyne CF. The non-human primate experimental glaucoma model. Exp Eye Res. 2015 Apr 16;141:57–73.
12. Hayreh SS, Pe'er J, Zimmerman MB. Morphologic Changes in Chronic High-Pressure Experimental Glaucoma in Rhesus Monkeys. J Glaucoma. 1999;8(1):56–71.
13. Wilson MR, Drake M, Brandt J. Management of ocular hypertension. J Glaucoma. 2004 Feb;13(1):81–3.
14. Esporcatte BLB, Tavares IM. Normal-tension glaucoma: an update. Arq Bras Oftalmol. 2016;79(4):270–6.
15. Lee BL, Wilson MR. Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS) commentary. Curr Opin Ophthalmol. 2003 Apr;14(2):74–7.
16. Orzalesi N, Fogagnolo P, Rossetti L. Intraocular pressure fluctuations in glaucoma. Arch Ophthalmol. 2008;126(5):745.
17. Murphy JA, Clarke DB. Target-derived neurotrophins may influence the survival of adult retinal ganglion cells when local neurotrophic support is disrupted: Implications for glaucoma. Med Hypotheses. 2006;67(5):1208–12.
18. Spalding KL, Rush RA, Harvey AR. Target-derived and locally derived neurotrophins support retinal ganglion cell survival in the neonatal rat retina. J Neurobiol. 2004 Sep 5;60(3):319–27.
19. Classification and Terminology, Chapter-2. Terminology and Guidelines for Glaucoma. European Glaucoma Society, 5th Edition, 2021. s: 91-124.
20. Schuster AK, Erb C, Hoffmann EM, Dietlein T, Pfeiffer N. The Diagnosis and Treatment of Glaucoma. Dtsch Arztebl Int. 2020 Mar 27;117(13):225–34.
21. Bertaud S, Aragno V, Baudouin C, Labbé A. [Primary open-angle glaucoma]. Rev Med Interne. 2019 Jul 1;40(7):445–52.
22. Weinreb RN, Leung CKS, Crowston JG, Medeiros FA, Friedman DS, Wiggs JL, et al. Primary open-angle glaucoma. Nat Rev Dis Primers. 2016 Sep 22;2.

23. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. *The Lancet*. 2017 Nov 11;390(10108):2183–93.
24. Stein JD, Khawaja AP, Weizer JS. Glaucoma in Adults-Screening, Diagnosis, and Management: A Review. *JAMA*. 2021 Jan 12;325(2):164–74.
25. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. *Lancet*. 2017 Nov 11;390(10108):2183–93.
26. Tanna AP. The Challenge of Detecting Glaucoma Progression. *Ophthalmology*. 2017 Dec 1;124(12S):S49–50.
27. de Moraes CG, Liebmann JM, Medeiros FA, Weinreb RN. Management of advanced glaucoma: Characterization and monitoring. *Surv Ophthalmol*. 2016 Sep 1;61(5):597–615.
28. Dueker DK, Singh K, Lin SC, Fechtner RD, Minckler DS, Samples JR, et al. Corneal Thickness Measurement in the Management of Primary Open-angle Glaucoma. A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. 2007 Sep;114(9):1779–87.
29. Why measure central corneal thickness to confirm a diagnosis of glaucoma? *Cont Lens Anterior Eye*. 2022 Dec 1;45(6).
30. Hu R, Racette L, Chen KS, Johnson CA. Functional assessment of glaucoma: Uncovering progression. *Surv Ophthalmol*. 2020 Nov 1;65(6):639–61.
31. Garway-Heath DF, Zhu H, Cheng Q, Morgan K, Frost C, Crabb DP, et al. Combining optical coherence tomography with visual field data to rapidly detect disease progression in glaucoma: A diagnostic accuracy study. *Health Technol Assess (Rockv)*. 2018 Jan 1;22(4):1–106.
32. Bruno CA, Alward WLM. Gonioscopy in primary angle closure glaucoma. *Semin Ophthalmol*. 2002 Jun;17(2):59–68.
33. Cvenkel B, Kolko M. Current Medical Therapy and Future Trends in the Management of Glaucoma Treatment. *J Ophthalmol*. 2020;2020.
34. Lichter PR. Impact of intraocular pressure reduction on glaucoma progression. *JAMA*. 2002 Nov 27;288(20):2607–8.
35. Leske MC, Heijl A, Hyman L, Bengtsson B, Komaroff E. Factors for progression and glaucoma treatment: The Early Manifest Glaucoma Trial. *Curr Opin Ophthalmol*. 2004 Apr;15(2):102–6.
36. M K. Present and New Treatment Strategies in the Management of Glaucoma. *Open Ophthalmol J*. 2015 Jun 2;9(1):89–100.
37. Medical Management of Glaucoma and Ocular Hypertension. Chapter-12. American Academy of Ophthalmology, Basic and Clinical Course, 2023-2024. Section-10, Glaucoma. s:219-243.
38. Surgical Therapy for Glaucoma. Chapter-13. American Academy of Ophthalmology, Basic and Clinical Course, 2023-2024. Section-10, Glaucoma. s:245-289.
39. Nucci C, Martucci A, Giannini C, Morrone LA, Bagetta G, Mancino R. Neuroprotective agents in the management of glaucoma. *Eye (Lond)*. 2018 May 1;32(5):938–45.
40. A. Gossman C, Christie J, K. Webster M, M. Linn D, L. Linn C. Neuroprotective Strategies in Glaucoma. *Curr Pharm Des*. 2016 Feb 2;22(14):2178–92.
41. Baltmr A, Duggan J, Nizari S, Salt TE, Cordeiro MF. Neuroprotection in glaucoma - Is there a future role? *Exp Eye Res*. 2010 Nov;91(5):554–66.
42. Kolb H. Simple Anatomy of the Retina. *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. 2012 Jan 31;
43. Kolb H. The neural organization of the human retina. In: Heckenlively JR, Arden GB, editors. *Principles and practices of clinical electrophysiology of vision*. St. Louis: Mosby Year Book Inc.; 1991. s: 25-52.
44. Gupta MP, Herzlich AA, Sauer T, Chan CC. Retinal Anatomy and Pathology. *Dev Ophthalmol*. 2016;55:7–17.

45. Nguyen-Ba-Charvet KT, Chédotal A. Development of retinal layers. *C R Biol.* 2014;337(3):153–9.
46. Masland RH. The fundamental plan of the retina. *Nat Neurosci.* 2001;4(9):877–86.
47. Broadway DC, Nicolela MT, Drance SM. Optic disk appearances in primary open-angle glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 1999 Jun;43 Suppl 1(6 SUPPL.).
48. Nakazawa T, Fukuchi T. What is glaucomatous optic neuropathy? *Jpn J Ophthalmol.* 2020 May 1;64(3):243–9.
49. Ju WK, Perkins GA, Kim KY, Bastola T, Choi WY, Choi SH. Glaucomatous optic neuropathy: Mitochondrial dynamics, dysfunction and protection in retinal ganglion cells. *Prog Retin Eye Res.* 2023 Jul 1;95.
50. Ivers KM, Sredar N, Patel NB, Rajagopalan L, Queener HM, Twa MD, et al. In Vivo Changes in Lamina Cribrosa Microarchitecture and Optic Nerve Head Structure in Early Experimental Glaucoma. *PLoS One.* 2015 Jul 31;10(7):e0134223.
51. Downs JC, Girkin CA. Lamina cribrosa in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017 Mar 1;28(2):113–9.
52. Halpern DL, Grosskreutz CL. Glaucomatous optic neuropathy: mechanisms of disease. *Ophthalmol Clin North Am.* 2002;15(1):61–8.
53. Kiyota N, Shiga Y, Omodaka K, Nakazawa T. The relationship between choroidal blood flow and glaucoma progression in a Japanese study population. *Jpn J Ophthalmol.* 2022 Sep 1;66(5):425–33.
54. Sharif N. Glaucomatous optic neuropathy treatment options: the promise of novel therapeutics, techniques and tools to help preserve vision. *Neural Regen Res.* 2018 Jul 1;13(7):1145–50.
55. Shalaby WS, Shukla AG, Razeghinejad R. Glaucomatous optic neuropathy. *Optic Neuropathy: From Diagnosis to Treatment.* 2020 May 15;1–126.
56. Chandra J, Samali A, Orrenius S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2000;29(3–4):323–33.
57. Baltmr A, Duggan J, Nizari S, Salt TE, Cordeiro MF. Neuroprotection in glaucoma - Is there a future role? *Exp Eye Res.* 2010 Nov;91(5):554–66.
58. Jassim AH, Fan Y, Pappenhagen N, Nsiah NY, Inman DM. Oxidative Stress and Hypoxia Modify Mitochondrial Homeostasis During Glaucoma. *Antioxid Redox Signal.* 2021 Dec 1;35(16):1341–57.
59. Tang B, Li S, Cao W, Sun X. The Association of Oxidative Stress Status with Open-Angle Glaucoma and Exfoliation Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Ophthalmol.* 2019;2019.
60. Margeta MA, Lad EM, Proia AD. CD163+ macrophages infiltrate axon bundles of postmortem optic nerves with glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2018 Dec 1;256(12):2449–56.
61. Balaiya S, Edwards J, Tillis T, Khetpal V, Chalam K V. Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) levels in aqueous humor of primary open angle glaucoma. *Clin Ophthalmol.* 2011;5(1):553–6.
62. Yin Z, Gao Y, Tang Y, Tian X, Zheng Y, Han Q. Aqueous humor cytokine levels are associated with the severity of visual field defects in patients with primary open-angle glaucoma. *BMC Ophthalmol.* 2023 Dec 1;23(1).
63. Borrás T. Growth Factors, Oxidative Damage, and Inflammation in Exfoliation Syndrome. *J Glaucoma.* 2018 Jul 1;27(7):S54–60.
64. Inoue T, Kawaji T, Inatani M, Kameda T, Yoshimura N, Tanihara H. Simultaneous increases in multiple proinflammatory cytokines in the aqueous humor in pseudophakic glaucomatous eyes. *J Cataract Refract Surg.* 2012 Aug;38(8):1389–97.

65. Takai Y, Tanito M, Ohira A. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012 Jan;53(1):241–7.
66. Vasudevan SK, Gupta V, Crowston JG. Neuroprotection in glaucoma. *Indian J Ophthalmol.* 2011 Jan;59 Suppl(Suppl1).
67. Nucci C, Martucci A, Giannini C, Morrone LA, Bagetta G, Mancino R. Neuroprotective agents in the management of glaucoma. *Eye (Basingstoke).* 2018 May 1;32(5):938–45.
68. Vishwaraj CR, Kavitha S, Venkatesh R, Shukla AG, Chandran P, Tripathi S. Neuroprotection in glaucoma. *Indian J Ophthalmol.* 2022 Feb 1;70(2):380–5.
69. He S, Stankowska DL, Ellis DZ, Krishnamoorthy RR, Yorio T. Targets of neuroprotection in glaucoma. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics.* 2018 Jan 1;34(1–2):85–106.
70. Tribble JR, Hui F, Quintero H, El Hajji S, Bell K, Di Polo A, et al. Neuroprotection in glaucoma: Mechanisms beyond intraocular pressure lowering. *Mol Aspects Med.* 2023 Aug 1;92.
71. Osborne NN, Ugarte M, Chao M, Chidlow G, Bae JH, Wood JPM, et al. Neuroprotection in relation to retinal ischemia and relevance to glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 1999 Jun;43(6 SUPPL.).
72. Almasieh M, Levin LA. Neuroprotection in Glaucoma: Animal Models and Clinical Trials. *Annu Rev Vis Sci.* 2017 Sep 15;3:91–120.
73. Almasieh M, Wilson AM, Morquette B, Cueva Vargas JL, Di Polo A. The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2012 Mar;31(2):152–81.
74. Pang IH, Clark AF. Inducible rodent models of glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2020 Mar 1;75.
75. Guymer C, Wood JPM, Chidlow G, Casson RJ. Neuroprotection in glaucoma: recent advances and clinical translation. *Clin Exp Ophthalmol.* 2019 Jan 1;47(1):88–105.
76. Lambert WS, Ruiz L, Crish SD, Wheeler LA, Calkins DJ. Brimonidine prevents axonal and somatic degeneration of retinal ganglion cell neurons. *Mol Neurodegener.* 2011;6(1).
77. Zhou X, Zhang T, Wu J. Brimonidine enhances inhibitory postsynaptic activity of OFF- and ON-type retinal ganglion cells in a Wistar rat chronic glaucoma model. *Exp Eye Res.* 2019 Dec 1;189.
78. Hernández M, Urcola JH, Vecino E. Retinal ganglion cell neuroprotection in a rat model of glaucoma following brimonidine, latanoprost or combined treatments. *Exp Eye Res.* 2008 May;86(5):798–806.
79. Scuteri D, Bagetta G, Nucci C, Aiello F, Cesareo M, Tonin P, et al. Evidence on the neuroprotective properties of brimonidine in glaucoma. *Prog Brain Res.* 2020 Jan 1;257:155–66.
80. Dong CJ, Guo Y, Wheeler L, Hare WA. Alpha2 adrenergic receptor-mediated modulation of cytosolic Ca⁺⁺ signals at the inner plexiform layer of the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Mar;48(3):1410–5.
81. Gao H, Qiao X, Cantor LB, WuDunn D. Up-regulation of brain-derived neurotrophic factor expression by brimonidine in rat retinal ganglion cells. *Arch Ophthalmol.* 2002;120(6):797–803.
82. Nizari S, Guo L, Davis BM, Normando EM, Galvao J, Turner LA, et al. Non-amyloidogenic effects of α2 adrenergic agonists: implications for brimonidine-mediated neuroprotection. *Cell Death Dis.* 2016;7(12).
83. Krupin T, Liebmann JM, Greenfield DS, Ritch R, Gardiner S. A randomized trial of brimonidine versus timolol in preserving visual function: results from the Low-Pressure Glaucoma Treatment Study. *Am J Ophthalmol.* 2011 Apr;151(4):671–81.
84. Yoles E, Wheeler LA, Schwartz M. Alpha2-adrenoreceptor agonists are neuroprotective in a rat model of optic nerve degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999 Jan 1;40(1):65–73.
85. Holdiness MR. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet.* 1991;20(2):123–34.

86. Raghu G, Berk M, Campochiaro PA, Jaeschke H, Marenzi G, Richeldi L, et al. The Multifaceted Therapeutic Role of N-Acetylcysteine (NAC) in Disorders Characterized by Oxidative Stress. *Curr Neuropharmacol*. 2021 Dec 31;19(8):1202–24.
87. McClure EA, Gipson CD, Malcolm RJ, Kalivas PW, Gray KM. Potential role of N-acetylcysteine in the management of substance use disorders. *CNS Drugs*. 2014 Feb;28(2):95–106.
88. Frank J, Pompella A, Biesalski HK. Histochemical visualization of oxidant stress. *Free Radic Biol Med*. 2000 Dec 1;29(11):1096–105.
89. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J*. 1997 Feb;11(2):118–24.
90. Beckman KB, Ames BN. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem*. 1997 Aug 8;272(32):19633–6.
91. Arakawa M, Ito Y. N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: basic and clinical pharmacology. *Cerebellum*. 2007;6(4):308–14.
92. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radic Res*. 2018 Jul 3;52(7):751–62.
93. Yang GQ, Chen JS, Wen ZM, Ge KY, Zhu LZ, Chen XC, et al. The role of selenium in Keshan disease. *Adv Nutr Res*. 1984;6:203–31.
94. Sharief MK, Hentges R. Association between tumor necrosis factor-alpha and disease progression in patients with multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 1991 Aug 15;325(7):467–72.
95. Lehmann D, Karussis D, Misrachi-Koll R, Shezen E, Ovadia H, Abramsky O. Oral administration of the oxidant-scavenger N-acetyl-L-cysteine inhibits acute experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*. 1994;50(1):35–42.
96. Khalatbari Mohseni G, Hosseini SA, Majdinasab N, Cheraghian B. Effects of N-acetylcysteine on oxidative stress biomarkers, depression, and anxiety symptoms in patients with multiple sclerosis. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2023 Sep 1;43(3):382–90.
97. Arakawa M, Ito Y. N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: Basic and clinical pharmacology. *Cerebellum*. 2007;6(4):308.
98. Sian J, Dexter DT, Lees AJ, Daniel S, Agid Y, Javoy-Agid F, et al. Alterations in glutathione levels in Parkinson's disease and other neurodegenerative disorders affecting basal ganglia. *Ann Neurol*. 1994;36(3):348–55.
99. Clark J, Clore EL, Zheng K, Adame A, Masliah E, Simon DK. Oral N-acetyl-cysteine attenuates loss of dopaminergic terminals in alpha-synuclein overexpressing mice. *PLoS One*. 2010;5(8).
100. Adams JD, Klaidman LK, Odunze IN, Shen HC, Miller CA. Alzheimer's and Parkinson's disease. Brain levels of glutathione, glutathione disulfide, and vitamin E. *Mol Chem Neuropathol*. 1991 Jun;14(3):213–26.
101. Adair JC, Knoefel JE, Morgan N. Controlled trial of N-acetylcysteine for patients with probable Alzheimer's disease. *Neurology*. 2001 Oct 23;57(8):1515–7.
102. Tchantchou F, Graves M, Rogers E, Ortiz D, Shea TB. N-acetyl cysteine alleviates oxidative damage to central nervous system of ApoE-deficient mice following folate and vitamin E-deficiency. *J Alzheimers Dis*. 2005;7(2):135–8.
103. Hicdonmez T, Kanter M, Tiryaki M, Parsak T, Cobanoglu S. Neuroprotective effects of N-acetylcysteine on experimental closed head trauma in rats. *Neurochem Res*. 2006 Apr;31(4):473–81.
104. Xiong Y, Peterson PL, Lee CP. Effect of N-acetylcysteine on mitochondrial function following traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*. 1999;16(11):1067–82.
105. Chen G, Shi J, Hu Z, Hang C. Inhibitory Effect on Cerebral Inflammatory Response following Traumatic Brain Injury in Rats: A Potential Neuroprotective Mechanism of N-Acetylcysteine. *Mediators Inflamm*. 2008;2008.

106. Akyol-Salman Í, Azizi S, Mumcu U, Baykal O. Efficacy of topical N-acetylcysteine in the treatment of meibomian gland dysfunction. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2010 Aug 1;26(4):329–33.
107. Akyol-Salman I, Azizi S, Mumcu UY, Ateş O, Baykal O. Comparison of the efficacy of topical N-acetyl-cysteine and a topical steroid-antibiotic combination therapy in the treatment of meibomian gland dysfunction. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2012 Feb 1;28(1):49–52.
108. Pokupec R, Petriček I, Šikić J, Bradić M, Popović-Suić S, Petriček G. [Comparison of local acetylcysteine and artificial tears in the management of dry eye syndrome]. *Acta Med Croatica.* 2005;59(4):337–40.
109. Hwang SB, Park JH, Park JY, Kang SS, Chung HS, Lee H, et al. Anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of N-acetylcysteine in diabetic rat corneal epithelium. *Int J Ophthalmol.* 2021;14(12):1805–12.
110. Eghtedari Y, Oh LJ, Girolamo N Di, Watson SL. The role of topical N-acetylcysteine in ocular therapeutics. *Surv Ophthalmol.* 2022 Mar 1;67(2):608–22.
111. Zhu Y, Zhang XL, Zhu BF, Ding YN. Effect of antioxidant N-acetylcysteine on diabetic retinopathy and expression of VEGF and ICAM-1 from retinal blood vessels of diabetic rats. *Mol Biol Rep.* 2012 Apr;39(4):3727–35.
112. Shen J, Yang X, Dong A, Petters RM, Peng YW, Wong F, et al. Oxidative damage is a potential cause of cone cell death in retinitis pigmentosa. *J Cell Physiol.* 2005 Jun;203(3):457–64.
113. Komeima K, Rogers BS, Lu L, Campochiaro PA. Antioxidants reduce cone cell death in a model of retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Jul 25;103(30):11300–5.
114. Komeima K, Rogers BS, Campochiaro PA. Antioxidants slow photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa. *J Cell Physiol.* 2007 Dec;213(3):809–15.
115. Komeima K, Rogers BS, Lu L, Campochiaro PA. Antioxidants reduce cone cell death in a model of retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 Jul 25;103(30):11300–5.
116. Lee SY, Usui S, Zafar A bakr, Oveson BC, Jo YJ, Lu L, et al. N-Acetylcysteine promotes long-term survival of cones in a model of retinitis pigmentosa. *J Cell Physiol.* 2011 Jul;226(7):1843–9.
117. Lenin RR, Koh YH, Zhang Z, Yeo YZ, Parikh BH, Seah I, et al. Dysfunctional Autophagy, Proteostasis, and Mitochondria as a Prelude to Age-Related Macular Degeneration. *Int J Mol Sci.* 2023 May 1;24(10).
118. Terluk MR, Ebeling MC, Fisher CR, Kapphahn RJ, Yuan C, Kartha R V., et al. N-Acetyl-L-cysteine Protects Human Retinal Pigment Epithelial Cells from Oxidative Damage: Implications for Age-Related Macular Degeneration. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019.
119. Sano H, Namekata K, Kimura A, Shitara H, Guo X, Harada C, et al. Differential effects of N-acetylcysteine on retinal degeneration in two mouse models of normal tension glaucoma. *Cell Death Dis.* 2019 Feb 1;10(2).
120. Pang IH, Clark AF. Inducible Rodent Models of Glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2020 Mar 1;75:100799.
121. Tang Z, Zhang S, Lee C, Kumar A, Arjunan P, Li Y, et al. An Optic Nerve Crush Injury Murine Model to Study Retinal Ganglion Cell Survival. *J Vis Exp.* 2011;(50):50.
122. Ahmed Z. Optic Nerve Crush Injury in Rodents to Study Retinal Ganglion Cell Neuroprotection and Regeneration. *Methods Mol Biol.* 2023;2708:99–106.
123. Tan HB, Shen X, Cheng Y, Jiao Q, Yang ZJ, Zhong YS. Evaluation of a partial optic nerve crush model in rats. *Exp Ther Med.* 2012 Sep;4(3):401.
124. Lowry Oh, Rosebrough Nj, Farr Al, Randall Rj. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193: 265-75.
125. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem.* 1966;16(2):359–64.

126. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968; 25: 192-205.
127. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry.* 2005;38(12):1103–11.
128. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry.* 2004;37(4):277–85.
129. Aycicek A, Iscan A, Erel O, Akcali M, Selek S. Total antioxidant/oxidant status in meningism and meningitis. *Pediatr Neurol.* 2006;35(6):382-386.
130. Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology.* 2014 Nov 1;121(11):2081–90.
131. Twa MD. Intraocular Pressure and Glaucoma. *Optom Vis Sci.* 2018 Feb 1;95(2):83–5.
132. Weinreb RN. Glaucoma neuroprotection: What is it? Why is it needed? *Canadian Journal of Ophthalmology.* 2007 Jun 1;42(3):396–8.
133. Baltmr A, Duggan J, Nizari S, Salt TE, Cordeiro MF. Neuroprotection in glaucoma - Is there a future role? *Exp Eye Res.* 2010 Nov;91(5):554–66.
134. Si Z, Fan Y, Wang M, Zhao J, Zhang Y, Liu D, et al. The role of RGC degeneration in the pathogenesis of glaucoma. *Int J Biol Sci.* 2025;21(1):211–32.
135. Kim BK, Goncharov T, Archambault SA, Roudnicky F, Webster JD, Westenskow PD, et al. RIP1 inhibition protects retinal ganglion cells in glaucoma models of ocular injury. *Cell Death Differ.* 2025;32(2).
136. D'Angelo A, Vitiello L, Lixi F, Abbinante G, Coppola A, Gagliardi V, et al. Optic Nerve Neuroprotection in Glaucoma: A Narrative Review. *J Clin Med.* 2024 Apr 1;13(8).
137. Wang LH, Huang CH, Lin IC. Advances in Neuroprotection in Glaucoma: Pharmacological Strategies and Emerging Technologies. *Pharmaceuticals (Basel).* 2024 Oct 1;17(10).
138. Guymer C, Wood JPM, Chidlow G, Casson RJ. Neuroprotection in glaucoma: recent advances and clinical translation. *Clin Exp Ophthalmol.* 2019 Jan 1;47(1):88–105.
139. Khatib TZ, Martin KR. Neuroprotection in Glaucoma: Towards Clinical Trials and Precision Medicine. *Curr Eye Res.* 2020 Mar 3;45(3):327–38.
140. Nakazawa T, Fukuchi T. What is glaucomatous optic neuropathy? *Jpn J Ophthalmol.* 2020 May 1;64(3):243–9.
141. Zhang ZQ, Xie Z, Chen SY, Zhang X. Mitochondrial dysfunction in glaucomatous degeneration. *Int J Ophthalmol.* 2023;16(5):811–23.
142. Ahmad SS, Ghani SA, Rajagopal TH. Current Concepts in the Biochemical Mechanisms of Glaucomatous Neurodegeneration. *J Curr Glaucoma Pract.* 2013;7(2):49–53.
143. Zeng HL, Shi JM. The role of microglia in the progression of glaucomatous neurodegeneration-a review. *Int J Ophthalmol.* 2018 Jan 18;11(1):143–9.
144. Pinazo-Durán MD, Muñoz-Negrete FJ, Sanz-González SM, Benítez-del-Castillo J, Giménez-Gómez R, Valero-Velló M, et al. The role of neuroinflammation in the pathogenesis of glaucoma neurodegeneration. *Prog Brain Res.* 2020 Jan 1;256(1):99–124.
145. Tsai T, Reinehr S, Deppe L, Strubbe A, Kluge N, Dick HB, et al. Glaucoma Animal Models beyond Chronic IOP Increase. *Int J Mol Sci.* 2024 Jan 1;25(2).
146. Chien JY, Lin SF, Chou YY, Huang CYF, Huang SP. Protective Effects of Oroxylin A on Retinal Ganglion Cells in Experimental Model of Anterior Ischemic Optic Neuropathy. *Antioxidants (Basel).* 2021 Jun 1;10(6).
147. Guo M, Zhu Y, Shi Y, Meng X, Dong X, Zhang H, et al. Inhibition of ferroptosis promotes retina ganglion cell survival in experimental optic neuropathies. *Redox Biol.* 2022 Dec 1;58.

148. Wen YT, Jhou BY, Hsu JH, Fu HI, Chen YL, Shih YC, et al. Neuroprotective Effects of *Cordyceps cicadae* (Ascomycetes) Mycelium Extract in the Rat Model of Optic Nerve Crush. *Int J Med Mushrooms*. 2022;24(2):41–8.
149. Ahmed Z. Optic Nerve Crush Injury in Rodents to Study Retinal Ganglion Cell Neuroprotection and Regeneration. *Methods Mol Biol*. 2023;2708:99–106.
150. Chien JY, Sheu JH, Wen ZH, Tsai RK, Huang SP. Neuroprotective effect of 4-(Phenylsulfanyl)butan-2-one on optic nerve crush model in rats. *Exp Eye Res*. 2016 Feb 1;143:148–57.
151. Ma K, Xu L, Zhang H, Zhang S, Pu M, Jonas JB. Effect of brimonidine on retinal ganglion cell survival in an optic nerve crush model. *Am J Ophthalmol*. 2009 Feb;147(2):326–31.
152. Scuteri D, Bagetta G, Nucci C, Aiello F, Cesareo M, Tonin P, et al. Evidence on the neuroprotective properties of brimonidine in glaucoma. *Prog Brain Res*. 2020 Jan 1;257:155–66.
153. Lambert WS, Ruiz L, Crish SD, Wheeler LA, Calkins DJ. Brimonidine prevents axonal and somatic degeneration of retinal ganglion cell neurons. *Mol Neurodegener*. 2011;6(1).
154. Tatton WG, Chalmers-Redman RME, Sud A, Podos SM, Mittag TW. Maintaining mitochondrial membrane impermeability: An opportunity for new therapy in glaucoma? *Surv Ophthalmol*. 2001;45(6).
155. Tezel G. Multifactorial Pathogenic Processes of Retinal Ganglion Cell Degeneration in Glaucoma towards Multi-Target Strategies for Broader Treatment Effects. *Cells*. 2021 Jun 1;10(6).
156. Tatton WG, Chalmers-Redman RME, Tatton NA. Apoptosis and anti-apoptosis signalling in glaucomatous retinopathy. *Eur J Ophthalmol*. 2001 Jul 1;11 Suppl 2(SUPPL. 2):S12-22.
157. Agnello L, Gambino CM, Ciaccio AM, Salemi G, Brighina F, Ragonese P, et al. The value of serum glial fibrillary acidic protein as a biomarker of astrogliosis in different neurological diseases. *Clin Chim Acta*. 2025 May;572:120248.
158. Tezel G, Wax MB. Glial modulation of retinal ganglion cell death in glaucoma. *J Glaucoma*. 2003 Feb;12(1):63–8.
159. Woldemussie E, Wijono M, Ruiz G. Müller cell response to laser-induced increase in intraocular pressure in rats. *Glia*. 2004 Aug 1;47(2):109–19.
160. Wang X, Tay SSW, Ng YK. An immunohistochemical study of neuronal and glial cell reactions in retinæ of rats with experimental glaucoma. *Exp Brain Res*. 2000;132(4):476–84.
161. Girkin CA, Strickland RG, Somerville MM, Anne Garner M, Grossman GH, Blake A, et al. Acute ocular hypertension in the living human eye: Model description and initial cellular responses to elevated intraocular pressure. *Vision Res*. 2024 Oct 1;223.
162. Miller YI, Choi SH, Wiesner P, Fang L, Harkewicz R, Hartvigsen K, et al. Oxidation-specific epitopes are danger-associated molecular patterns recognized by pattern recognition receptors of innate immunity. *Circ Res*. 2011 Jan 21;108(2):235–48.
163. Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *J Biol Chem*. 2003 Aug 15;278(33):31426–33.
164. Schutt F, Bergmann M, Holz FG, Kopitz J. Proteins modified by malondialdehyde, 4-hydroxynonenal, or advanced glycation end products in lipofuscin of human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003 Aug 1;44(8):3663–8.
165. Yaz YA, Yıldırım N, Yaz Y, Tekin N, İnal M, Şahin FM. Role of Oxidative Stress in Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma. *Turk J Ophthalmol*. 2019 Apr 1;49(2):61–7.
166. Xu G, Wang J, Zhang Y, Chen Z, Deng R. GGT1 Suppresses the Development of Ferroptosis and Autophagy in Mouse Retinal Ganglion Cell Through Targeting GCLC. *Eye Brain*. 2023;15:139–51.

167. Yabana T, Sato K, Shiga Y, Himori N, Omodaka K, Nakazawa T. The relationship between glutathione levels in leukocytes and ocular clinical parameters in glaucoma. *PLoS One*. 2019 Dec 1;14(12).
168. Lu B, Wang X, Ren Z, Jiang H, Liu B. Anti-glaucoma potential of hesperidin in experimental glaucoma induced rats. *AMB Express*. 2020 Dec 1;10(1).
169. Sato K, Saigusa D, Kokubun T, Fujioka A, Feng Q, Saito R, et al. Reduced glutathione level in the aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma and normal-tension glaucoma. *npj aging*. 2023 Dec 1;9(1).
170. Cetinkaya E, Duman R, Sabaner MC, Erol MA, Duman R, Nural C, et al. Evaluation of thiol-disulfide homeostasis in pseudoexfoliation glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Niger J Clin Pract*. 2020 Oct 1;23(10):1401–6.
171. Tang B, Li S, Cao W, Sun X. The Association of Oxidative Stress Status with Open-Angle Glaucoma and Exfoliation Glaucoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Ophthalmol*. 2019;2019.
172. Majsterek I, Malinowska K, Stanczyk M, Kowalski M, Blaszczyk J, Kurowska AK, et al. Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Exp Mol Pathol*. 2011 Apr;90(2):231–7.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : E-93773921-020-414731
Konu : Olurlar

18.07.2024

SAYIN PROF. DR. LEVENT TÖK

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı

"Deneysel Glokom Modeli Oluşturulan Ratlarda Brimonidin ve N-asetilsistein'in Retina Ganglion Hücre Hasarı Üzerine Nöron Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi"
konulu projeniz Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **18.07.2024** tarih ve **1337** sayılı karar ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Tülay BÜYÜKOĞLU
Kurul Başkanı V.

Belge Doğrulama Kodu :BSML78EZ3K

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Adresi :

https://ebys.mehmetakif.edu.tr/enVision/Validate_Doc.aspx

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği Veteriner Fakültesi,
Zemin Kat, İstiklal Yerleşkesi, 15030, Burdur

Ayrıntılı bilgi için irtibat: Simge Garlı

Evrak Pin Kodu: 06072





BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
18.07.2024	125	1.337

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 18.07.2024 tarihinde Saat 10:30'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır:

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı'ndan Prof. Dr. Levent TÖK'ün yürütücü ve Arş. Gör. Dr Mustafa YAVUZ'un yardımcı araştırmacı olarak görev aldığı 'Deneysel Glokom Modeli Oluşturulan Ratlarda Brimonidin ve N-asetilsistein'in Retina Ganglion Hücre Hasarı Üzerine Nöron Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi' başlıklı çalışma

Rat	32	Wister Albino	Dişi	4-6 aylık	150-300 gr
-----	----	---------------	------	-----------	------------

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

İZİNLİ PROF.DR. Özlem ÖZMEN Başkan	PROF.DR. Tülay BÜYÜKOĞLU Başkan Vekili	PROF.DR. Asım KART Üye
PROF.DR. Dilek ÖZTÜRK Üye	PROF.DR. Deniz İNNAL Üye	İZİNLİ DOÇ.DR. Mümin POLAT Üye
DOÇ.DR. Yusuf Sinan ŞİRİN Üye	İZİNLİ DR.ÖĞR.ÜYESİ Savaş Volkan GENÇ Üye	Hüseyin ÇETİNKAYA Üye
KATILMADI Ömer ONGUN Üye	Simge GARLI Veteriner Üye	