



Psödoeksfoliyasyon Sendromu ve Psödoeksfoliyasyon Glokomunda Oksidatif Stresin Rolü

Role of Oxidative Stress in Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma

Yasemin Aydın Yaz*, Nilgün Yıldırım**, Yetkin Yaz***, Neslihan Tekin****, Mine İnal*****,
Fezan Mutlu Şahin*****

*Eskişehir Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye

**Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

***Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye

****Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Aksaray, Türkiye

*****Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

*****Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Öz

Amaç: Oksidatif stresin psödoeksfoliyasyon oluşumundaki ve psödoeksfoliyasyon sendromundan (XFS) psödoeksfoliyasyon glokomuna (XFG) progresyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada XFG'li 58 hastanın, XFS'li 47 hastanın ve yaş ve cinsiyet bakımından uyumlu 134 sağlıklı kontrol grubunun oksidatif stres belirteçleri kan örneklerinde incelendi.

Bulgular: En yüksek serum malondialdehit (MDA) düzeyleri XFG hastalarında ölçüldü ($p<0,001$) ve ayrıca MDA, XFS hastalarında kontrollere göre daha yüksek saptandı ($p<0,001$). Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri XFS ve XFG hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük saptanmasına rağmen aksine glutatyon (GSH) düzeylerinde anlamlı bir artış gözlemlendi ($p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$ sırasıyla) ancak XFS ve XFG hastaları arasında fark görülmedi ($p=0,188$, $p=0,185$, $p=0,733$ sırasıyla). Nitrik oksit (NO) konsantrasyonları XFG hastalarında XFS ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0,001$) ancak XFS ve kontrol grubu arasında fark görülmedi ($p=0,476$).

Sonuç: MDA düzeylerindeki yükseklik lipid peroksidasyonunun XFS ve XFG gelişiminde ve XFS'den XFG ilerlemede önemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca XFS ve XFG'de SOD ve CAT enzim aktivitelerindeki düşüklük enzimatik antioksidan koruyucu sistemlerdeki yetersizlik ile ilişkili olarak düşünülmüştür. Bunun yanında GSH düzeylerindeki yükselme ise oksidatif strese karşı kompanse edilebilir bir yanıt olarak değerlendirilmiştir. NO değerlerindeki değişiklikler ise XFS'den glokoma progresyonda vasküler regülatör faktörlerin rolü olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Psödoeksfoliyasyon, glokom, oksidatif stres

Abstract

Objectives: To investigate the role of oxidative stress on pseudoexfoliation formation and progression from pseudoexfoliation syndrome (XFS) to pseudoexfoliation glaucoma (XFG).

Materials and Methods: This study investigated oxidative stress biomarkers in blood samples from 58 patients with XFG, 47 patients with XFS, and 134 healthy age- and sex-matched controls.

Results: The highest serum malondialdehyde (MDA) levels were measured in XFG patients ($p<0.001$), and MDA level was higher in XFS patients than controls ($p<0.001$). Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzyme activities were significantly lower in XFS and XFG patients than in the control group, whereas a significant increase was observed in glutathione (GSH) levels ($p<0.001$ for all). However, levels of these three biomarkers did not differ significantly between XFS and XFG patients ($p=0.188$, $p=0.185$, and

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Yasemin Aydın Yaz, Eskişehir Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye

Tel.: +90 506 274 28 53 E-posta: yaydinyaz@gmail.com ORCID-ID: orcid.org/0000-0002-2535-0651

Geliş Tarihi/Received: 31.01.2018 **Kabul Tarihi/Accepted:** 06.09.2018

©Telif Hakkı 2019 Türk Oftalmoloji Derneği
Türk Oftalmoloji Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.

$p=0.733$, respectively). Nitric oxide (NO) concentration was significantly lower in XFG patients compared to XFS patients and controls ($p<0.001$) but did not differ between XFS patients and controls ($p=0.476$).

Conclusion: Elevated MDA levels suggest that lipid peroxidation is important in XFS and XFG development and progression from XFS to XFG. In addition, reduction in SOD and CAT enzyme activities is considered a deficiency in the enzymatic antioxidant protection system. Furthermore, GSH values may be evaluated as a compensatory response to oxidative stress in XFS and XFG. Alterations in NO indicate the role of a vascular regulatory factor in the progression from XFS to glaucoma.

Keywords: Pseudoexfoliation, glaucoma, oxidative stress

Giriş

Psödoeksfolyasyon sendromu (XFS), intraoküler ve ekstraoküler dokularda anormal fibriller materyalinin aşırı üretimi ve birikmesi ile ilişkili bir yaşa bağlı ekstrasellüler matriks hastalığıdır. Tüm popülasyonlarda, XFS sıklığı yaşla birlikte artar ve sendromun görülme sıklığı her on yılda bir ikiye katlanır.¹ Dışa akım yollarında anormal fibriller agregatların birikmesi, dışa akım direncinde ve göz içi basıncında artışa neden olur.² XFS, kronik açık açılı glokomun önemli bir nedenidir ve çok çeşitli intraoküler ve cerrahi komplikasyonun gelişmesinde yatkınlığa neden olabilir. Ayrıca, XFS sadece oküler bir hastalık değildir, aynı zamanda kalp, akciğer, safra kesesi, böbrekler ve serebral meninksler gibi viseral organlarda psödoeksfolyatif materyalin (XFM) birikmesi nedeniyle sistemik bir hastalık olarak kabul edilmektedir.³

Oksidatif stresin, XFS'de katarakt ve yaşa bağlı maküla dejenerasyonu gibi diğer yaşa bağlı hastalıklarda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir.⁴ Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik veya intrasellüler reaktif oksijen türlerinin (ROS) fizyolojik değerlerin üzerindeki konsantrasyonlarında olması olarak tanımlanmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH) ve nitrik oksit (NO) gibi ROS molekülleri proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerin yapısına katılır, daha sonra DNA hasarı ve hücre hasara neden olur.⁵ Diğer yandan, antioksidan savunma sistemleri, hücreleri ROS'un zararlı etkilerinden koruyabilir. Oksidatif stres, koruyucu bir yanıt olarak veya ROS etkisi ile, antioksidan savunma sisteminde bir artış veya azalmaya neden olabilir.⁶

Oksidatif stres, XFS ve glokom patogenezinde kilit rol oynar.⁷ Önceki çalışmalarda serum ve aköz örneklerinde çeşitli ROS ve antioksidanlar araştırılmıştır. Oksidan belirteçlerden total oksidatif stres (TOS)⁸, malondialdehit (MDA)⁹, 8-hidroksideoksiganosin (8-OHdG)¹⁰, protein karbonil (PC)⁹ ve nitrik oksit (NO)⁹ ve antioksidan belirteçlerden total antioksidan durumu (TAS)¹¹, süperoksit dismutaz (SOD)^{9,12}, glutatyon peroksidaz (GPx)¹², katalaz (CAT)¹², C vitamini¹², paraoksonaz^{8,13} ve arilesteraz⁸ farklı çalışmalarda değerlendirilmiştir.

Son çalışmalara rağmen, XFS patogenezi ve nasıl glokoma progresyon gösterdiği henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada oksidatif stresin XFS gelişimine ve XFS'den psödoeksfolyasyon glokomuna (XFG) progresyon üzerine etkisini araştırmayı amaçladık. Bu nedenle XFG, XFS hastaları ve sağlıklı bireylerde SOD ve CAT enzimlerinin (enzimatik antioksidanlar), MDA (lipid peroksidasyonun bir son ürünü), NO (nitrosatif stres ve vasküler fonksiyonun bir belirteci) ve

GSH (bir primer endojen antioksidan) aktivitesini oksidatif stres belirteci olarak ölçtük.

Gereç ve Yöntem

Çalışma Popülasyonu

Çalışmaya 58 XFG, 47 XFS hastası ve yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 134 sağlıklı kontrol olmak üzere toplam 239 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan bilgilendirilmiş yazılı onam alındı. Çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı ve çalışma süresince Helsinki Bildirgesi'nin ilkelerine bağlı kalındı.

Tüm olgulara, refraksiyon, görme keskinliği ve göz içi basıncı (Goldmann aplanasyon tonometrisi) ile fundus ve ön segmentin biyomikroskopik değerlendirmesinden oluşan standart bir detaylı oftalmolojik muayene yapıldı. XFG, ön lens kapsülü veya pupiller kenarda PXM varlığı, yüksek göz içi basıncı (GİB) (≥ 21 mmHg), glokomatöz optik disk değişiklikleri (vertikal çukur disk oranı [C/D] $\geq 0,5$, C/D asimetrisi $\geq 0,2$) ve bilgisayarlı perimetride karakteristik görme alanı kusurları (Zeiss Humphrey görme alanı analizörü beyazdan beyaza 30-2 eşik programı) olarak tanımlandı. Ön lens kapsülü ve pupiller kenarda PXM görülen ancak GİB, optik disk ve görme alanı bulguları normal sınırlarda olan hastalar XFS olarak tanımlandı. Kontrol grubu, yaş ve cinsiyet açısından hasta grubu ile uyumlu olacak şekilde oluşturuldu ve kontrol grubuna dahil edilen bireylere detaylı oftalmolojik muayene yapıldı. Kontrol hastalarında XFM gözlenmedi, GİB değerleri normal sınırlar içerisindeydi (<21 mmHg) ve glokomatöz optik disk hasarı yoktu. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin sistemik hastalıklar (diyabet, hipertansiyon, tiroid ve romatizmal hastalıklar) ve ilaç kullanım öyküsü sorgulandı. Oftalmolojik hastalığı olan olgular (örneğin, üveit, aç kapanması glokomu, pigment dispersiyon sendromu, travma, progresif retina hastalığı), sigara içenler ve kontrol altında olmayan önemli sistemik hastalığı olan olgular çalışmaya dahil edilmedi.

Örneklerin Hazırlanması

İki farklı tüpe kan örneği alındı. İlk tüp serumu ayırmak için $3.500 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edildi ve NO, MDA ve CAT konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanıldı. EDTA içeren ikinci tüp bekletilmeden $1.500 \times g$ 'de 5 dakika santrifüj edilerek plazma ayrıldı ve GSH ve SOD ölçümleri için kullanıldı. Plazma ayrıldıktan sonra, eritrositler, üç kez salin ile yıkandı ve eritrosit paketleri hazırlandı. Daha sonra eritrosit hemolizatları hazırlanarak GSH ve SOD ölçümüne kadar $-80^\circ C$ 'de saklandı.

MDA Düzeylerinin Ölçülmesi

Serum lipid peroksidasyonu, Ohkawa ve ark.¹⁴ tarafından bildirilen yöntem kullanılarak tiyobarbitürik asitle (TBA) reaksiyona giren malondialdehit miktarı ölçülerek hesaplandı. Absorbans 532 nm'de ölçüldü. MDA seviyeleri nmol/L olarak verildi.

SOD Aktivitesinin Ölçümü

Eritrosit SOD aktivitesi, Winterbourn ve ark.¹⁵ tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Bu analiz, SOD'nin süperoksit anyonunun nitroblue tetrazolyumu (NBT) indirgeme reaksiyonu üzerindeki inhibe edici etkisine dayanmaktadır. Absorbans 560 nm'de ölçüldü. SOD aktivitesi U/Hb olarak bildirildi.

CAT Aktivitesinin Ölçümü

Serum CAT aktivitesi, Beutler¹⁶ tarafından bildirilen yöntem kullanılarak belirlendi. Bu yöntem, incelenen örneklerde CAT aktivitesine bağlı olarak hidrojen peroksidin ayrışma hızına dayanmaktadır. Absorbans 230 nm'de ölçüldü. CAT aktivitesi U/L olarak bildirildi.

GSH Seviyesinin Ölçülmesi

Eritrosit GSH seviyeleri, Ellman ve ark.¹⁷ tarafından bildirilen yöntemle göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. GSH, 5,5 ditiobis-2-nitrobenzoik asit (2 DTNB) ile reaksiyona sokuldu. Bu reaksiyon 412 nm'de maksimum absorbans gösteren bir ürünün oluşumuna neden olmaktadır. GSH seviyeleri de U/Hb olarak bildirildi.

NO Seviyesinin Ölçülmesi

Serum nitrit (NO²⁻) ve nitrat (NO³⁻) düzeyleri Cortas ve Wakid¹⁸ tarafından bildirilen kadmiyum indirgeme yöntemi ile bir NO üretim endeksi olarak değerlendirildi. Örnekler deproteinize edildi ve toplam nitrit (nitrit + nitrat), nitrat bakırlanmış kadmiyum granüller ile nitrite indirgendikten sonra 545 nm'de spektrofotometri ile ölçüldü. Sonuçlar µmol/L olarak bildirildi.

İstatiksel Analiz

İstatiksel analizler Windows için SPSS sürüm 20,0 kullanılarak gerçekleştirildi. Sürekli değişkenler için Shapiro-Wilk normallik testi yapıldı. Normal dağılım gösteren değişkenler bağımsız gruplar için t testi kullanılarak analiz edildi ve sonuçlar ortalama ve standart deviasyon olarak özetlendi. Normal dağılım göstermeyen değişkenler Mann-Whitney U

testi ve Kruskal Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı ve sonuçlar medyan ve 25. ve 75. yüzdelik değerler olarak özetlendi. Kategorik değişkenler için Pearson ki-kare testi kullanıldı. Sonuçlar örneklem büyüklüğü (n) ve yüzde (%) kullanılarak özetlendi. MDA, SOD, CAT, GSH ve NO verilerinin gruplar arasındaki karşılaştırmalar, Quade Sıra Kovaryans Analizi ile değerlendirildi. Sistemik hastalık kovaryant olarak kullanıldı. Dwass-Steel-Critchlow-Fligner çoklu karşılaştırma yöntemi, anlamlı düzeyde farklı grupları belirlemek için kullanıldı. İstatistiksel açıdan p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Bu çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Glokom Birimine takip edilen 40 yaşından büyük (XFG: 58 olgu; XFS: 47 olgu; kontrol: 134 olgu) toplam 239 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen olguların demografik özellikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

MDA, SOD, CAT, GSH ve NO düzeyleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Diyabet, hipertansiyon ve diğer (örneğin, kardiyovasküler hastalıklar, romatolojik hastalıklar gibi) sistemik hastalıklar nedeniyle tedavi alan hastalar, sistemik hastalığı olmayan hastalarla karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p<0,001). Bu değerlendirme sonucunda bu hastalar çalışmaya dahil edildi. Farklı gruplarda sistemik hastalığı olan ve olmayan hastaların oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri Tablo 3'te gösterilmektedir.

Serum MDA düzeyleri XFG hastalarında XFS hastalarına ve kontrollere göre anlamlı derecede yüksekti (p<0,001). Ayrıca, XFS hastalarının MDA seviyeleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu (p<0,001). XFS ve XFG hastalarının SOD ve CAT enzim aktiviteleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktü (p<0,001). Ancak, XFS ve XFG hastaları arasında SOD ve CAT aktivitesi açısından fark gözlenmedi (sırasıyla p=0,188 ve p=0,185). XFS ve XFG hastalarında GSH düzeyleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti (p<0,001). SOD ve CAT aktivitelerine benzer şekilde, XFS ve XFG grupları arasında GSH düzeyi açısından anlamlı bir fark görülmedi (p=0,733). Ayrıca, NO konsantrasyonu XFG hastalarında, XFS hastaları ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü (p<0,001). Ancak, NO düzeyi açısından XFS hastaları ile kontrol grubu arasında fark yoktu (p=0,476).

Tablo 1. Tüm grupların demografik ve klinik özellikleri

	Kontrol (n=134)	XFS (n=47)	XFG (n=58)	p değeri
Yaş (yıl), medyan 25-75. persentil	68 (65-72)	67 (59-72,75)	66 (60-73)	0,107*
Cinsiyet (kadın), n (%)	77 (%57)	27 (%48)	20 (%34)	0,010**
Diabetes mellitus, n (%)	42 (%30)	13 (%27)	15 (%26)	0,718**
Hipertansiyon, n (%)	40 (%30)	25 (%53)	20 (%34)	0,016**
Kardiyovasküler hastalık, n (%)	18 (%13)	13 (%27)	11 (%19)	0,084**
XFS: Psödoeksfolyasyon sendromu, XFG: Psödoeksfolyasyon glokomu				
*Kruskal - Wallis testi; p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi				
**Ki-kare testi; p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi				

Tartışma

XFS, genetik ve çevresel risk faktörlerinin patogeneze rol oynadığı çok faktörlü bir sistemik hastalıktır. ROS ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengede yaşanan bozukluklar, XFS'nin gelişimine katkıda bulunmaktadır. Oksidant-antioksidan dengesinin XFS'de, sadece ön segmentte değil, tüm vücutta bozulduğuna dair kanıtlar artmaktadır. XFM'nin intraoküler sekresyonu, aköz dolaşımı ile yakından ilişkilidir; bu nedenle, XFS hastalarında aköz hümeör ve lens epitel hücre kompozisyonunun incelenmesi önemli patogenetik

faktörleri ortaya çıkarabilir.¹⁹ Son yıllarda, LOXL1 tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), XFS için risk faktörü olarak tanımlanmıştır. LOXL1 SNP'ler ve XFS arasındaki ilişkiye rağmen, XFS olmayan popülasyonda bu SNP'lerin frekansının yüksek olması XFS gelişiminde farklı faktörlerin rol oynayabileceğini göstermektedir.²⁰ Ayrıca, çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlar büyüme faktörlerinin, özellikle TGFβ1'nin lokal üretiminin XFS'de önemli bir rol oynadığını göstermektedir. TGFβ1, XFM ile ilişkili LOXL1 ve diğer ekstrasellüler matris proteinlerinin ekspresyonunu indükler.²¹ XFG ile epigenetik korelasyon arasındaki kanıtlara dayanarak,

Tablo 2. Tüm grupların oksidatif stres biyobelirteçlerinin düzeyleri

	Kontrol (n=134) (0)	XFS (n=47) (1)	XFG (n=58) (2)		
	Ortalama ± Standart deviasyon Medyan (25. - 75.) yüzdelik değerler			p değeri*	Çoklu karşılaştırma: p**
MDA (nmol/mL)	1,79±0,69 1,72 (1,21-2,22)	6,81±1,52 6,58 (5,96-7,68)	8,96±1,32 9,28 (7,94-9,91)	<0,001	0-1:<0,001 0-2:<0,001 1-2:<0,001
SOD (U/Hb)	32,10±9,10 32,55 (24,14-40,11)	10,15±2,68 10,16 (8,12-11,22)	11,16±2,69 10,57 (9,44-12,09)	<0,001	0-1:<0,001 0-2:<0,001 1-2:0,188
CAT (U/L)	51,17 ± 6,93 50,79 (45,61-56,33)	27,47±5,56 27,65 (24,23-31,15)	30,73±5,39 30,20 (27,26-35,00)	<0,001	0-1:<0,001 0-2:<0,001 1-2:0,185
GSH (U/Hb)	4,03±1,81 3,75 (2,42-5,31)	6,57±1,97 6,84 (5,26-7,82)	6,30±2,36 6,31 (4,08-8,20)	<0,001	0-1:<0,001 0-2:<0,001 1-2:0,733
NO (µmol/L)	39,14±17,42 39,50 (25,06-49,71)	41,67±13,12 40,43 (32,43-53,71)	30,12±13,90 24,78 (18,97-38,83)	<0,001	0-1:0,476 0-2:<0,001 1-2:<0,001

XFS: Psödoeksfolyasyon sendromu, XFG: Psödoeksfolyasyon glokomu, MDA: Malonildialdehit, SOD: Superoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH: Glutasyon, NO: Nitrik oksit

*Quade Kovaryans sıra analizinde sistemik hastalık kovaryant olarak kullanıldı; p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi

**Dwass-Steel-Critchlow-Fligner çoklu karşılaştırma testi; p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi

Tablo 3. Farklı gruplarda sistemik hastalığı olan ve olmayan hastaların oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri

	Sistemik hastalık	Kontrol	p değeri	XFS	p değeri	XFG	p değeri
MDA (nmol/mL)	Yok	1,68 (1,13-2,16) [†]	0,209*	6,47 (5,59-7,45) [†]	0,730*	9,30±1,20 [‡]	0,069**
	Var	1,8 (1,21-2,44) [†]		6,6 (6-7,77) [†]		8,67±1,36 [‡]	
SOD (U/Hb)	Yok	34 (24,67-40,23) [†]	0,449*	10,17 (8,74-10,91) [†]	0,877*	10,18 (9,17-11,6) [†]	0,279*
	Var	32,14 (23,17-38,42) [†]		9,84 (8,01-11,54) [†]		11,16 (9,53-13,24) [†]	
CAT (U/L)	Yok	51,05±7,53 [‡]	0,859**	26,36±5,12 [‡]	0,405**	31,29±5,26 [‡]	0,460**
	Var	51,26±6,47 [‡]		27,89 ± 5,74 [‡]		30,23±5,54	
GSH (U/Hb)	Yok	4,51 (2,81-5,45) [†]	0,304*	6,71±1,9 [‡]	0,759**	6,77±2,34 [‡]	0,156**
	Var	3,56 (2,26-5,3) [†]		6,51±2,02 [‡]		5,89±2,33 [‡]	
NO (µmol/L)	Yok	42,21 (29,37-51,16) [†]	0,057*	35,94±13,2 [‡]	0,063**	24,16 (18,85-31,96) [†]	0,173*
	Var	32,67 (20,43-49,3) [†]		43,87±12,6 [‡]		30,11 (20,18-44,47) [†]	

XFS: Psödoeksfolyasyon sendromu, XFG: Psödoeksfolyasyon glokomu, MDA: Malonildialdehit, SOD: Superoksit dismutaz, CAT: Katalaz, GSH: Glutasyon, NO: Nitrik oksit, Hb: Hemoglobin

Mann-Whitney U testi; p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi

**Bağımsız t testi; p-değerinin 0,05'ten küçük olması anlamlı kabul edildi

[†]: Medyan (25.-75. yüzdelik değerler)

[‡]: Ortalama ± standart deviasyon

metabolik, fiziksel ve çevresel koşullar, ekspresyon, sekresyon ve konformasyon değişikliklerine neden olarak XFS ile ilişkili proteinlerin biyolojik fonksiyonlarını etkileyebilir.²² Oksidatif stres ve genetik ve epigenetik faktörlerin XFS gelişimindeki etkilerine rağmen, XFS'nin kesin patogenezi belirsizliğini sürdürmektedir.

MDA, çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonunun son ürünüdür ve lipid peroksidasyonundan kaynaklanan serbest radikal hasarını yansıtır. Ayrıca serumdaki oksidatif stresi değerlendirmek için iyi bir biyobelirteç olduğu düşünülmektedir.⁷ Bu çalışmada, çalışma grupları arasında serum MDA düzeylerinde anlamlı fark olduğu görüldü. En yüksek değerler XFG grubunda gözlemlendi ve XFS hastalarının MDA düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Yüksek MDA seviyeleri, oksidatif stresin XFM oluşumu ve XFG gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalarda, MDA seviyeleri için benzer sonuçlar bulunmuştur. Yağcı ve ark.²³ ve Yılmaz ve ark.²⁴, sağlıklı kontrollere kıyasla, XFS hastalarında serum MDA düzeylerinde artış olduğunu bildirmiştir. Gartaganis ve ark.²⁵, XFS hastalarının lens epitelyal hücrelerinde, XFS olmayan hastalara oranla MDA seviyelerinde 2,5 kat artış olduğunu bildirmiştir. Engin ve ark.²⁶ tarafından yapılan bir çalışmada, XFS glokomlu hastalarda MDA düzeylerinin diğer glokom hastaları ve kontrol grubundan daha yüksek olduğunu gösterilmiştir. Faschinger ve ark.²⁷ tarafından yapılan başka bir çalışmada, primer açık açılı glokom (PAAG) hastalarının aköz örneklerinde ve XFS olmayan katarakt hastalarının serum örneklerinde lipid peroksidasyon başlıca parçalanma ürünleri olan tiyobarbitürik asit reaktif maddesi (TBARS) düzeylerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak, gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Benzer şekilde, Ocakoglu ve ark.²⁸, PAAG hastalarında MDA düzeyinin kontrol grubunun iki katı olduğunu bildirmiştir. Buna karşılık, Tetikoğlu ve ark.²⁹, kontrol ve XFS grupları arasında bir fark olmadığını bildirmiştir. Aynı çalışmada, XFS ve XFG gruplarında ortalama serum MDA düzeyleri benzer bulunmuş ve arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

SOD ve CAT, ROS metabolizmasındaki anahtar antioksidan enzimlerdir ve bu enzimlerin düzeyleri, oksidatif stres durumunu ve organizmanın oksidatif strese yanıtını yansıtır. SOD spesifik olarak, süperoksit radikallerini hidrojen peroksit ve oksijene dönüştürür. Çalışmamızda, XFS ve XFG grubunda SOD ve CAT enzim aktiviteleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşük bulundu, ancak XFS ve XFG grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Bu sonuçlar antioksidan enzim yanıtının yetersiz olduğuna işaret etmektedir ve bu yetersiz yanıt psödoeksfolyasyon gelişiminde rol oynayabilir. Ancak, XFS'den XFG'ye progresyon bu sonuçlar ile açıklanamamıştır. Yağcı ve ark.²³ ve Engin ve ark.²⁶ tarafından yapılan çalışmalarda benzer bulgular elde edilmiş ve XFS hastalarında serum SOD düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığını bildirmiştir. Ayrıca, farklı çalışmalarda aköz ve lens epitel örneklerinde SOD araştırılmıştır. Ucakhan ve ark.³⁰, XFS ve kataraktlı hastaların lens kapsüllerinde SOD aktivitesinde bir artış olduğunu bildirmiştir. Ferreira ve ark.¹² tarafından yapılan başka bir çalışmada aköz örnekleri analiz

edilmiş ve XFG hastalarında SOD aktivitesinin PAAG ve katarakt gruplarından daha yüksek olduğu bildirilmiştir. İki glokom grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamış, ancak glokom ve katarakt grupları arasında SOD aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. SOD düzeyi serumda azalmasına rağmen, aköz ve lens kapsülünde gözlenen artış gözün oksidatif strese karşı koruyucu bir yanıtı olabilir.⁷

CAT, hidrojen peroksidin moleküler oksijen ve suya ayrışmasını katalize eden bir antioksidan enzimdir. Çalışmamızda, XFS ve XFG gruplarında CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı bulundu. XFS ve XFG hastalarında gözlenen CAT aktivitesinde azalma, oksidatif strese yanıtta antioksidan enzimlerin yetmezliği veya enzim seviyelerinde bir azalma olarak yorumlandı. Koliakos ve ark.³¹, XFS ve XFG hastalarından alınan serum ve aköz örneklerinde CAT aktivitesinin kontrole göre anlamlı derecede azaldığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Zoric ve ark.³² tarafından yapılan bir çalışmada serum CAT aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, Ferreira ve ark.²¹, XFG, PAAG ve katarakt gruplarından alınan aköz örneklerinde CAT aktivitesinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Tetikoğlu ve ark.²⁹, psödoeksfolyatif grupta serum CAT aktivitesinde anlamlı olmasa da bir azalma olduğunu bildirmişlerdir ve bu sonuç çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile uyumlu değildir.

GSH, tripeptid yapıdadır ve ana endojen antioksidan moleküldür. Bu molekül, antioksidan savunma sisteminin hücresel kısmında yer almaktadır.²⁵ Çalışmamızda, XFS ve XFG gruplarında GSH düzeyleri kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu, ancak XFS ve XFG grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Psödoeksfolyasyon ve kontrol grupları arasında gözlenen fark oksidatif hasara karşı bir kompanzatuvar savunma mekanizması olarak yorumlandı. SOD ve CAT'nin tersine, GSH düzeyleri psödoeksfolyasyon grubunda kontrol grubundan daha yüksekti. SOD ve CAT enzimatik antioksidanlardır; ancak GSH enzimatik değildir ve oksidatif strese karşı organizmanın ilk savunma mekanizmasıdır. Sonuçlarımız önceki çalışmaların sonuçları ile uyumlu değildi. Gartaganis ve ark.²⁵, XFS hastalarının lens epitelyal hücrelerinde, XFS olmayan hastalara oranla GSH seviyelerinde 2,2 kat azalma olduğunu bildirmiştir. Aynı grup tarafından yapılan bir başka çalışmada, XFS'li hastalardan alınan aköz hümeör örneklerinde GSH konsantrasyonunda %28'e varan azalma olduğu bulunmuştur.³³ Bu çalışmalarda bizim çalışmamızdan farklı tipte örnekler kullanılmıştır ve elde ettikleri sonuçlar oksidatif strese lokal yanıtı gösterebilir.

Vasküler kaynaklı hücresel mediatörler glokom patogenezinde ve GİB artışında önemlidir. Vasküler endotel, bu hücresel mediatörleri üreterek vasküler homeostaziste önemli bir rol oynar. Vasküler mikrosirkülasyon, vazodilatör (örneğin; NO, prostasiklin ve hidrojen peroksit) ve vazokonstriktör mediatörlerin (örneğin, endotelin-1, anjiyotensin ve tromboksan) arasındaki dengeye bağlıdır. NO, vazodilatasyon için anahtar bir moleküldür. Vasküler mediatör görevinin yanı sıra NO ayrıca bir nörotransmitter, bir serbest radikal ve bir antioksidandır.

Vasküler endotelial hastalıklarda, vasküler geçirgenliğin arttığı, VEGF üretiminde bozukluklar meydana geldiği, endotelin-1'e yanıtın arttığı ve NO'ya yanıtın azaldığı gözlenmiştir.³⁴

Oküler kan akımı bozuklukları glokomun patogeneğinde rol oynar. Oküler kan akımında azalmanın vasküler regülasyonda bozulmaya sekonder olduğu düşünülmektedir.³⁵ NO koroid, optik sinir ve retinadaki ana vazodilatör moleküldür. Bu nedenle, NO oküler kan dolaşımı için anahtar bir moleküldür. Glokomdaki vasküler endotel bozukluk ayrıca, trabeküler ağ ve Schlemm kanalında yer alan endotel hücrelerinin yanı sıra vasküler endotel hücrelerini de etkiler. NO, vasküler endotel hücrelerinde vazodilatör etkilidir, ancak trabeküler ağda, NO trabeküler hücrelerin kasılmasını sağlayarak dışı akımı düzenler.³⁶ Ayrıca, NO aköz dışı akımını kolaylaştırır ve GİB'de azalmaya neden olur; endotelin-1 ise aksine GİB'yi yükseltir. Bu nedenle, NO yapımında azalma veya endotelin-1 sekresyonunda aşırı artış nedeniyle NO ve endotelin-1 glokomda GİB artışı ile ilişkilidir.³⁷

Çalışmamızda XFG grubunda NO düzeylerinin XFS ve kontrol gruplarına göre anlamlı derecede azaldığı bulundu. XFG'de azalmış NO düzeyleri, XFS'de spesifik bir rolü olmasa da, glokom gelişimine katkıda bulunan bir faktör olabilir. XFS ve kontrol grupları arasında NO düzeyleri açısından istatistiksel anlamlı bir fark olmadığını bildiren önceki çalışmalarla bu sonuç desteklenmektedir.^{38,39} Borazan ve ark.³⁸, XFS ve XFG hastalarının plazma ve aköz hüümör örneklerinde VEGF ve NO düzeylerini değerlendirmiş ve XFS, XFG ve kontrol grupları arasında plazma NO seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir. Altıntaş ve ark.³⁹ tarafından yapılan bir başka çalışmada, XFS ve XFG hastalarında NO düzeyleri PAAG ve kontrol gruplarından yüksek bulunmuş, ancak gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yağcı ve ark.⁴⁰, psödoeksfolyatif grupta serum nitrit düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, Erdurmuş ve ark.⁹ tarafından yapılan başka bir çalışmada PAAG ve XFG hastalarında NO düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmanın Kısıtlılıkları

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. MDA, SOD, CAT, GSH ve NO düzeylerini serum örneklerinde değerlendirdik. Tanı genellikle oftalmolojik bulgulara dayanılarak konulsa da XFS, birden çok sistemi tutan karmaşık bir hastalık olarak kabul edilir. Bu nedenle, XFS'nin multisistemik tutulumunu yansıtan serum örneklerinde oksidatif stres belirteçlerinde meydana gelen farklılıkları araştırmaya dayalı bir yöntem tercih ettik. Sistemik hastalığı olan hastaları çalışmaya dahil ettik, ancak kovaryans analizi yapıldığında sonuçların etkilenmediği görüldü. Bununla birlikte, sistemik hastalığı olan hastaların dahil edilmesi sonuçların yorumlanmasını zorlaştırabilir ve bu hastalar çalışma dışı bırakılabilir.

Sonuç

Son olarak, bu çalışmanın sonuçları çalışma grupları arasında MDA düzeylerinde bir fark olduğunu gösterdi. MDA düzeyleri

kontrol grubunda en düşüktü, bunu XFS ve XFG grupları takip etti. MDA seviyelerinde gözlenen farklılıklar, XFS ve XFG patogeneğinde lipid peroksidasyonunun rol oynayabileceğini düşündürmektedir. XFS ve XFG hastalarında SOD ve CAT aktiviteleri kontrol grubuna göre daha düşük, GSH düzeyleri ise daha yüksekti. SOD ve CAT aktivitelerinde gözlenen azalma, antioksidan savunma sistemlerinde yetmezlik olarak yorumlanabilir. Psödoeksfolyatif gruptaki GSH düzeylerinin yüksek olması oksidatif strese karşı gelişen bir yanıt olabileceğini düşündürmektedir. NO düzeyleri XFG grubunda, XFS ve kontrol gruplarından düşük bulundu. XFG hastalarında azalmış NO düzeylerinin, oküler kan akımı ve trabeküler dışı akımı etkileyerek glokom gelişimi ve progresyonu üzerinde iki açıdan olumsuz etkisi olabilir.

Sonuç olarak, bulgularımız oksidatif stresin XFS patogeneğinde rol oynayabileceğine işaret etmektedir. Özellikle lipid peroksidasyonu ve azalmış antioksidan enzim aktivitesinin psödoeksfolyasyon gelişimi ile ilişkili olduğu bulundu. Ayrıca, lipid peroksidasyonu ve azalmış NO seviyelerinin, XFS'den XFG'ye progresyonu ile ilişkili olduğu izlendi.

Etik

Etik Kurul Onayı: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu, 80558721/48.

Hasta Onayı: Alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu ve editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: Yasemin Aydın Yaz, Yetkin, Yaz, Nilgün Yıldırım, Neslihan Tekin, Konsept: Yasemin Aydın Yaz, Nilgün Yıldırım, Dizayn: Yasemin Aydın Yaz, Nilgün Yıldırım, Mine İnal, Veri Toplama veya İşleme: Yasemin Aydın Yaz, Yetkin Yaz, Analiz veya Yorumlama: Neslihan Tekin, Fezan Şahin, Literatür Arama: Yasemin Aydın Yaz, Yazan: Yasemin Aydın Yaz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

Kaynaklar

1. Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol.* 2001;45:265-315.
2. Schlötzer-Schrehardt U. New pathogenetic insights into pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Therapeutically relevant? Ophthalmologie.* 2012;109:944-951.
3. Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 2006;141:921-937.
4. Schlötzer-Schrehardt U. Oxidative stress and pseudoexfoliation glaucoma. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2010;227:108-113.
5. Zierhut M, Cadenas E, Rao NA. Free radicals in ophthalmic disorders (1st ed). Informa; 2008:1-10.
6. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative stress. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:715-748.
7. Benoist d'Azy C, Pereira B, Chiambaretta F, Dutheil F. Oxidative and Anti-Oxidative Stress Markers in Chronic Glaucoma: A Systemic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2016;11:e0166915.

8. Dursun F, Vural Özec A, Aydın H, Topalkara A, Dursun A, Tokar Mİ, Erdoğan H, Arıcı MK. Total oxidative stress, paraoxonase and arylesterase levels at patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliative glaucoma. *Int J Ophthalmol*. 2015;8:985-990.
9. Erdurmuş M, Yağcı R, Atış Ö, Karadağ R, Akbaş A, Hepşen İF. Antioxidant status and oxidative stress in primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma. *Curr Eye Res*. 2011;36:713-718.
10. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Javadzadeh A, Rashtchizadeh N, Moharrery M. Oxidative DNA damage and total antioxidant status in glaucoma patients. *Mol Vis*. 2011;17:41-46.
11. Abu-Amro KK, Kondkar AA, Mousa A, Osman EA, Al-Obeidan SA. Decreased total antioxidants status in the plasma of patients with pseudoexfoliation glaucoma. *Mol Vis*. 2011;17:2769-2775.
12. Ferreira SM, Lerner SE, Brunzini R, Evelson PA, Llesuy SE. Antioxidant status in the aqueous humour of patients with glaucoma associated with exfoliation syndrome. *Eye (Lond)* 2009;23:1691-1697.
13. Demirdögen BC, Ceylan OM, Işıkoglu S, Mumcuoglu T, Erel O. Evaluation of oxidative stress and paraoxonase phenotypes in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Clin Lab* 2014;60:79-86.
14. Ohkawa H, Ohishi, N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*. 1979;95:351-358.
15. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med*. 1975;85:337-341.
16. Beutler E. Red cell metabolism a manual of biochemical method. New York; USA: Grune and Stratton; 1973:74.
17. Ellman B, Robson MJ, Buttenweiser E. The glutathione instability of drug sensitivity red cells. *J Lab Clin Med*. 1957;49:84-95.
18. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem*. 1990;36:1440-1443.
19. Simavli H, Tosun M, Bucak YY, Erdurmuş M, Ocak Z, Onder HI, Acar M. Serum and aqueous xanthine oxidase levels, and mRNA expression in anterior lens epithelial cells in pseudoexfoliation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015;253:1161-1167.
20. Schlötzer-Schrehardt U. Genetics and genomics of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2011;18:30-36.
21. Borrás T. Growth Factors, Oxidative Damage and Inflammation in Exfoliation Syndrome. *J Glaucoma*. 2018;27(Suppl 1):54-60.
22. Pasquale LR, Kang JH, Wiggs JL. Prospects for gene-environment interactions in exfoliation syndrome. *J Glaucoma*. 2014;23:64-67.
23. Yağcı R, Gürel A, Ersöz I, Keskin UC, Hepşen İF, Duman S, Yiğitoğlu R. Oxidative stress and protein oxidation in pseudoexfoliation syndrome. *Current Eye Res*. 2006;31:1029-1032.
24. Yılmaz A, Adıgüzel U, Tamer L, Yıldırım Ö, Öz Ö, Vatansever H, Ercan B, Değirmenci U, Atik U. Serum oxidant/antioxidant balance in exfoliation syndrome. *Clin Exp Ophthalmol*. 2005;88:523-527.
25. Gartaganis SP, Patsoukis NE, Nikolopoulos DK, Georgiou CD. Evidence for oxidative stress in lens epithelial cells in pseudoexfoliation syndrome. *Eye (Lond)*. 2007;11:1406-1411.
26. Engin KN, Yemişçi B, Yiğit U, Ağaçhan A, Coşkun C. Variability of serum oxidative stress biomarkers relative to biochemical data and clinical parameters of glaucoma patients. *Mol Vis*. 2010;16:1260-1271.
27. Faschinger C, Schmut O, Wachswender C, Mossböck G. Glaucoma and oxidative stress. Determination of malondialdehyde-a product of lipid peroxidation. *Ophthalmologe*. 2006;103:953-959.
28. Ocakoglu O, Balci H, Ozkok A, Dincer Y, Koc EE, Ucar D, Akcay T. Primer Açık Açılı Glokomlu ve Senil Kataraktlı Hastalarda Oksidatif Stresin Rolü - Orijinal Araştırma. *Türk J Ophthalmol*. 2008;38:292-297.
29. Tetikoğlu M, Sağdık HM, Aktas S, Uçar F, Özcura F. Serum prolidase activity and oxidative stress in patients with pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016;254:1339-1343.
30. Ucakhan OO, Karel F, Kanpolat A, Devrim E, Durak I. Superoxide dismutase activity in the lens capsule of patients with pseudoexfoliation syndrome and cataract. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32:618-622.
31. Koliakos GG, Befani CD, Mikropoulos D, Ziakas NG, Konstas P. Prooxidant-antioxidant balance, peroxide and catalase activity in the aqueous humour and serum of patients with exfoliation syndrome or exfoliative glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008;246:1477-1483.
32. Zoric L, Miric D, Milenkovic S, Jovanovic P, Trajkovic G. Pseudoexfoliation syndrome and its antioxidative protection deficiency as risk factors for age-related cataract. *Eur J Ophthalmol*. 2006;16:268-273.
33. Gartaganis SP, Georgakopoulos CD, Patsoukis NE, Gotsis SS, Gartaganis VS, Georgiou CD. Glutathione and lipid peroxide changes in pseudoexfoliation syndrome. *Curr Eye Res*. 2005;30:647-651.
34. Resch H, Garhofer G, Fuchsjager-Maryl G, Hommer A, Schmetterer L. Endothelial dysfunction in glaucoma. *Acta Ophthalmol*. 2009;87:4-12.
35. Sekeroglu MA, Irkeç M, Mocan MC, Ileri E, Dikmenoglu N, Seringec N, Karaosmanoglu D, Orhan M. The association of ocular blood flow with haemorheological parameters in primary open-angle and exfoliative glaucoma. *Acta Ophthalmol*. 2011;89:429-434.
36. Stefan C, Dumitrica DM, Ardeleanu C. The future: nitric oxide in glaucoma, *Oftalmologia*. 2007;51:89-94.
37. Ivan O, Dettmann HES. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma: An overview. In: Haefliger IO, Flammer J, eds. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma, New York; Lippincott- Raven; 1997:22-33.
38. Borazan M, Karalezli A, Kucukerdonmez C, Bayraktar N, Kulaksizoglu S, Akman A, Akova YA. Aqueous humor and plasma levels of vascular endothelial growth factor and nitric oxide in patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *J Glaucoma*. 2010;19:207-211.
39. Altıntaş O, Maral H, Yüksel N, Karabaş VL, Dillioğlugil MO, Çağlar Y. Homocysteine and nitric oxide levels in plasma of patients with pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:677-683.
40. Yağcı R, Gürel A, Ersöz I, Karadağ R, Hepşen İF, Duman S. The activities of paraoxonase, xanthine oxidase, adenosine deaminase and the level of nitrite in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmic Res*. 2009;42:155-159.