

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



**PSÖDOEKSFOLİASYON SENDROMU OLAN VE
OLMAYAN GÖZLER ARASINDA HÜMÖR AKÖZ VE
KANDA TIMP, MMP, VEGF VE CTGF
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ceren Gülhan

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Esin F. Başer

MANİSA, 2011

ÖNSÖZ

Uzmanlık tezimin konusunun belirlenmesinden, basım aşamasına kadar her zaman desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini içten bir şekilde aktaran, tez danışmanın değerli hocam Prof. Dr. Esin Başer'e ,

Asistanlık eğitimim içerisinde bilgi, beceri ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum Prof. Dr. Özcan Kayıkçıoğlu, Prof. Dr. Süleyman Sami İlker'e,

Titizliği, disiplin anlayışı, bilimselliği ile her zaman örnek teşkil edecek olan Doç. Dr. Sinan Emre'ye

Çalışkanlığı, bilimselliği, becerikliliği ve engin bilgisi ile kendisini örnek aldığım Yrd. Doç. Dr. Göktuğ Seymenoğlu'na,

Bir dönem birlikte çalışma fırsatı bulduğum, deneyimleri ile yol gösteren, üzerimde büyük emekleri olan Uzm. Dr. Hüseyin Mayalı, Uzm. . Dr. Yusuf Ziya Kaya, Uzm. Dr. Başak Üçer, Uzm. Dr. Meliha Cinali, Uzm. Dr. Nehir Zerdecî'ye

İyi ve kötü günlerde hep beraber olduğumuz, zorluklarla beraber savaştığımız, dert ortağım, sevgisini ve bilgisini hiç esirgemeyen çok değerli arkadaşım, eş kıdemlim Dr. Bilge Öztürk'e,

İhtisas sürem boyunca beraber çalışmaktan büyük zevk duyduğum, pek çok paylaştığım doktor arkadaşlarıma,

Ayrıca ihtisas sürem boyunca yardım ve güler yüzlerini esirgemeyen Göz Hastalıkları servisi, ameliyathane ve poliklinik hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca sevgi ve desteklerini benden esirgemeyen değerli aileme ve eşime en içten teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
KISALTMALAR	v
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Psödoeksfoliasyon Sendromu	3
2.1.1. Epidemiyoloji	4
2.1.2. Psödoeksfoliatif materyalin yapısı ve patogenezi	5
2.1.3. Psödoeksfoliatif sendromda göz bulguları	8
2.1.3.1. Lens	8
2.1.3.2 İris	9
2.1.3.3 Kornea	10
2.1.3.4. Ön kamara	11
2.1.4. Sistemik tutulum	12
2.1.5. Psödoeksfoliasyon ve glokom	12
2.2. Matriks Metalloproteinazlar ve Matriks Metalloproteinaz Doku İnhibitörü	13
2.3. Bağ Dokusu Büyüme Faktörü	19
2.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	32

6. SONUÇ	41
ÖZET	43
İNGİLİZCE ÖZET	45
KAYNAKLAR	47

KISALTMALAR

ark	Arkadaşları
CTGF	Bağ dokusu büyüme faktörü
HA	Hümör aköz
MMP	Matriks metalloproteinaz
PEG	Psödoeksfoliasyon glokomu
PEM	Psödoeksfoliasyon materyali
PES	Psödoeksfoliasyon sendromu
PAAG	Primer açık açılı glokom
TIMP	Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

1. GİRİŞ

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES), gri beyaz renkte fibrogranüler ekstrasellüler bir materyalin oküler ve sistemik olarak üretilmesi ve depolanmasıyla karakterize bir tablodur (1). Histopatolojik ve elektron mikroskopik bulgular sendromun sistemik karakterli olduğunu kanıtlamaktadır. Son yıllarda artan yoğun çalışmalara rağmen, PES etiyoloji ve patogenezini henüz kesin olarak ortaya konamamıştır.

Günümüzde PES'in etiyopatogenezinde yaygın olarak kabul edilen görüşler stresin indüklediği spesifik bir tip elastozis, elastik bir mikrofibrilopati, elastik mikrofibrillerin aşırı üretimi ve birikimi, lizil oksidaz benzeri-1(LOXL1) kapsayan çapraz bağlama süreçleri, transforme edici büyüme faktörü -beta 1 düzeylerinde artış, matriks metalloproteinaz (MMP) ve matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMP) arasındaki proteolitik bir dengesizlik, hücrel ve oksidatif stres artışı ve hücrel stres yanıtında azalma gibi durumları içermektedir (2). Anormal ekstrasellüler matriks sentezi özellikle oksidatif stres ve iskemi/hipoksi gibi hücrel stres durumlarında ve ek olarak profibrotik faktörler ve büyüme faktörlerinin indüklemesiyle uyarılmaktadır.

Yapılan bazı çalışmalarda PES'li gözlerde humör aközde (HA) TIMP düzeylerinde artış, MMP düzeylerinde ise azalma ve MMP/TIMP oranında dengesizlik saptanmıştır. Bu dengedeki bozulma anormal ekstrasellüler matriks yapımına ve bu materyalin yetersiz yıkımına sebep olmaktadır (3). Bağ dokusu büyüme faktörünün (CTGF) de ekstrasellüler madde birikimi, yeniden yapılanması ve yara iyileşmesinde rolü olabileceği bildirilmiştir (4). PES'li gözlerde HA'de CTGF düzeylerinin arttığı ve bu artışın anormal ekstrasellüler matriks sentezini uyardığı öne sürülmüştür (4). Günümüze değin yapılan bazı çalışmalarda proliferatif diyabetik retinopati, neovasküler glokom, primer açık açılı glokom, üveit ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu gibi durumlarda HA ve vitreusta vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeylerinde artış gösterilmiştir (5). Son yıllarda PES tablosunda da gerek plazmada gerekse HA'de VEGF düzeylerinin arttığı iddia edilmiştir (6).

Bu alışmada PES bulunan gözler ile PES bulunmayan gözler arasında HA ve serumda TIMP-1, MMP-9, CTGF ve VEGF düzeylerinin farklı olup olmadığının araştırılması ve dolayısıyla bu faktörleri düzenleyecek koruyucu tedavilerin geliştirilmesinin gelecekte PES tedavisinde potansiyel rolü olup olamayacağına ışık tutulması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Psödoeksfoliasyon Sendromu

PES; ileri yaşlarda görülen, gözün ön segmentinde ekstrasellüler fibriler ya da granüler eksfoliyatif materyalin birikmesiyle karakterize bir klinik tablodur (1). Son yıllarda artan yoğun çalışmalara rağmen, PES etiyoloji ve patogenezi henüz kesin olarak ortaya konamamıştır.

Psödoeksfoliasyon materyali (PEM), lens ön kapsülünde, iris üzerinde, pupilla kenarında, trabeküler yapı, zonüler bölge, siliyer cisim prosesleri, vitreus ön yüzeyi, konjonktiva, kornea, HA, arka siliyer arter cıdarları, vorteks venleri, santral retinal arter, optik sinir kılıfları, orbita bağ doku septaları, ekstraoküler kaslar ve kapak derisinde gösterilmiştir (1, 7). Işık ve elektronmikroskopik incelemeler, immunohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle deri, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve meninkslerde saptanmıştır (1, 7).

PEM ilk defa 1917’de Lindberg tarafından kronik glokom hastalarının %50’sinde biyomikroskopik muayene ile pupilla kenarında saptanan grimsi-beyaz beneklenmeler şeklinde tanımlanmıştır (8). Vought 1925’de bu materyalin lens kapsülünden geliştiğini ileri sürerek ”Senil eksfoliyasyon” ve ”Kapsüler Glokom” deyimlerini tanımlamıştır (9). 1953’de Dvorak-Theobald bu materyalin cam üfleyicilerde görülen gerçek eksfoliyasyondan farklı olduğunu düşünüp ”psödoeksfoliasyon” olarak yeniden adlandırmıştır (1).

Eksfoliyatif materyalin anormal bazal membran sekresyonu olduğuna inanan Eagle ise bu durumu bazal membran eksfoliyasyon sendromu olarak tanımlamıştır (11). Son olarak 1956 yılında Sunde’nin önerisi ile bugün de kabul gören eksfoliyasyon ve psödoeksfoliasyon terimi literatürdeki yerini almıştır (12).

PES, açık açılı glokomun sık nedenlerinden biridir. Glokoma özgül GİB yüksekliği, optik sinir başı ve görme alanı değişiklikleri saptanan olgular psödoeksfoliatif glokom (PEG) olarak adlandırılmaktadır (13).

2.1.1. Epidemiyoloji

PES insidansı ve prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalar birbirinden oldukça farklı sonuçlar vermiştir. Bunun nedenleri arasında ırksal ve etniksel farklılıklar, muayene edilen hastaların yaş ve cinsiyet dağılımları, PES tanısında kullanılan kriterler, erken evrede teşhis edilebilme durumu ve muayene yöntemleri etken olabilir (14).

Coğrafik özellikler göz önüne alınmaksızın dünyada 60 yaş üstü genel popülasyonda PES prevalansının % 10 ila % 20 civarında olduğu düşünülmektedir (15, 16).

PES prevalansı 50 yaş üstü insanlarda, oküler hipertansiyonlularda, glokomlularda, hastaneye yatmış glokomlularda, opere olmuş glokomlularda, absölu glokomlu hastalarda progresif olarak artmaktadır (9).

İskandinavya'da, 60 yaş üzerindeki hastalarla yapılan bir çalışmada, en yüksek oran İzlanda (yaklaşık %25) ve Finlandiya'da (% 20'nin üzerinde) rapor edilmiştir (17). İngiltere, Almanya ve Norveç'te huzurevlerinde yürütülen bir epidemiyolojik çalışmada 60 yaş üstünde, PES prevalansı sırasıyla; % 4, 0, % 4, 7, % 6, 3 bulunmuştur (18). Greenland Eskimolarında % 0 prevalans bildirilmiştir (19).

Ülkemizde yapılan psödoeksfoliasyon prevalansı ile ilgili çalışmalarda ise; 50 yaş üzeri popülasyonda, İrkeç %12 oranında PES bildirmiştir (20). Yalaz Çukurova bölgesinde 60 yaş üzeri kişileri kapsayan çalışmasında PES sıklığını %11.2 olarak bulmuş ve bu olguların %88.1'inde kataraktın eşlik ettiğini tespit etmiştir (21).

Aynı ülkenin farklı etnik bölgelerinde PES prevalansı değişik sonuçlar verebilmektedir. Bu büyük farkların altında yatan neden hala tam olarak aydınlanamazken, diyet, güneş ışığına maruziyet, iris rengi, otoimmünite, enfeksiyöz ajanlar, travma gibi faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir (22).

Bugüne kadar yapılan tüm çalışmalar PES'in ilerleyen yaşla beraber prevalansının arttığını göstermiştir. Finlandiya da 60-69 yaş arasında PES oranı %10 iken, bu oran 70-79 yaş arası %21, 80-89 yaş arasında ise %33 olarak bulunmuştur (19).

PES'de prevalans çalışmaları bazı serilerde kadın predominansını gösterirken (23-25); bazılarında her iki cinsde prevalansın eşit olduğu tespit edilmiş (26, 27), bazılarında ise erkeklerde prevalansın daha yüksek olduğu bulunmuştur (28, 29). Erkeklerde PEG'in kadınlara göre daha sık, daha ciddi ve daha erken oluştuğuna dair yayınlar mevcuttur (30). Buna karşın, birçok çalışmada PEG gelişmesinde kadın ve erkekler arasında farka rastlanmamıştır (14, 31). Yalaz ve ark. Türkiye'de yaptıkları çalışmada PES'in erkeklerde daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir (21).

PES gelişiminde, glokom ve katarakt ile olan birlikteliğinde, genetiğin rolü büyük oranda bilinmemektedir. Ancak genetik yatkınlığı olan bireylerde dış etkenlerin de tetiklemesiyle patolojik sürecin başladığı düşünülmektedir . Damji ve ark. PES’li bireyleri olan 10 Kanadalı aile ile yaptığı çalışmalarında maternal geçişe işaret eden bulgular tespit etmişlerdir (22). Gottfredsdottir ve ark., 60 yaş üzeri İzlandalı ikizler üzerinde yaptıkları çalışmada 8 PES’li monozigot ikizin 5’inde diğer ikiziyle uyumluluk saptamışlardır, bu da etiyojide genetik rolü desteklemektedir (32).

Nedeni bilinmemekle birlikte, PES tek taraflı ya da bilateral olabilir. Klinik olarak tek taraflı PES, iki taraflı PES için sıklıkla öncüdür. Tek taraflı PES tanısı almış bir hastanın diğer gözünde 5 yıl içinde PES görülme sıklığı % 6.8 iken 10 yıl sonra bu oran % 16.8’e çıkmaktadır (33). İki taraflı tutulumu olan hastalar tek taraflı tutulumu olanlara göre daha yaşlı hastalardır ve daha yüksek glokom prevalansına sahiptirler. Aslında PES’i tek taraflı ya da monooküler olarak adlandırmak yanıltıcı olacaktır. Bir gözde PES saptandığında, diğer gözde sıklıkla anormal HA dinamiği ya da glokomatöz hasar mevcuttur. PES’in erken pigmenter bulgularının etkilenmeyen diğer gözlerin çoğunda bulunuyor olması ve etkilenmeyen diğer gözlerin hemen hemen tümünde yapılan konjonktival biopsilerde eksfoliasyon fibrillerinin saptanması bu vakaların aslında iki taraflı asimetric tutulumla seyrettiğini desteklemektedir (34).

Yapılan çalışmalar PES ile glokom arasında yakın birliktelik olduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalarda glokom tanısı almış hastalarda PES görülme sıklığı araştırılmış ve % 0 ile % 93 (İskandinavya) gibi çok farklı sonuçlar yayınlanmıştır (35-38).

PES’li hastalar içinde glokom görülme prevalansı ile ilgili çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Kozart ve Yanoff arka arkaya gelen 100 PES’li hastada % 7 oranında glokom ve % 15 oküler hipertansiyon saptamışlardır (39).

Henry ve ark. PES bulunan ve başlangıçta glokomu bulunmayan gözlerde 5-10 yıllık kümülatif çalışmada, glokom gelişme prevalansını % 5.3 ile % 15.4 olarak açıklamışlardır (40). Gürlü ve Alimgil 94 PES’li gözde yaptıkları çalışmada PEG gelişme oranını % 5 olarak bildirmişlerdir (41).

2.1.2. Psödoeksfoliatif materyalin yapısı ve patogenezi

Eksfoliatif materyaller, ışık mikroskopisinde periodik asit-schiff (PAS) pozitif boya tutulumu gösteren, eozinofilik, nodüler ya da tüysü görünümlü agregatlar olarak ön segment yapılarında görülür (42).

Posterior iris pigment epitel hücreleri, siliyer cisim nonpigmente epitel hücreleri, preekvatoryal lens epitel hücreleri, endotel ve trabeküler ağ hücreleri psödoeksfoliasyon fibrillerinin lokal üretim yeri olduğu ultrastrüktürel çalışmalarla kanıtlanmıştır (33). Ancak kapsamlı araştırmalara rağmen, PEM'in biyokimyasal yapısı tam olarak bilinmemektedir. Yapılan immünohistokimyasal çalışmalar PEM'in bazal membran ve elastik fibrilleri içeren bir glikoprotein-proteoglikan kompleksi olduğunu göstermiştir.

Glikozaminoglikanların aşırı üretimi ve anormal metabolizması PES'de ki önemli mekanizmalardan biri olarak ileri sürülmüştür (43). Amorf bir matriks tarafından çevrelenmiş mikrofibril demetlerinin oluşturduğu karakteristik fibrillerden söz edilmektedir. Yüzey maddesi olarak tanımlanan bu amorf matriksin çeşitli glukokonjugatlar, elastin, tropoelastin, amiloid P, vitronektin, fibrillin 1, mikrofibril bağımlı glikoprotein ve latent TGF-beta bağlayıcı proteinlerden (LTBP-1, LTBP-2) oluştuğu gösterilmiştir (9). Elastik mikrofibril komponentlerinin antidozları, özellikle de LTBP-1, göz dışı diğerk dokulardaki PEM depozitlerini göstermek için kullanılmıştır (44).

Biyokimyasal ve immünohistokimyasal çalışmalarda PEM'in ana komponentinin fibrillin-1 olduğu gösterilmiştir (45-47). Fibrillin-1 TGF bağlayıcı proteine ve epidermal büyüme faktörüne benzer motiflerle ve kalsiyum bağlayıcı dizilerle farklı modüllerin bir mozaik kompozisyonudur ve yüksek sistein içeriğine sahip bir glikoproteindir. PEM'de mevcut olan fibronektin, fibulin 1-2, versican ve LTBP-1 gibi çeşitli matriks komponentleri ile multipl moleküler etkileşim kapasitesine sahiptir (48). PES'de aşırı sentezlenmiş fibrillin-1, matür PES fibrillerini oluşturulan çapraz bağlanmış normal veya anormal mikrofibrillerin içerisinde birikmektedir (49).

Bugüne kadar uygulanan aminoasit analizi sonuçlarında eksfoliasyon materyalinin amiloid, nonkollajen bazal membran komponentleri ve elastik mikrofibriller ile uyumlu olduğu saptanmasına rağmen jel elektroforez ile gerçekleştirilen biyokimyasal çalışmalarda PES 'e spesifik proteinlerle ilgili bir sonuca varılamamıştır (50).

Son zamanlarda tandem kütle spektrometre ile gerçekleştirilen biyokimyasal çalışmalarda, daha önceki immünohistokimyasal çalışmalara benzer şekilde PEM'in yapısında elastik mikrofibril fibrillin-1, fibulin 2, desmocollin-2, vitronektin ve amiloid-P, proteoglikanlar syndecan-3, versican ve ADAM ailesinden metalloproteinazlar (MMPs), ekstrasellüler şaperon clusterin, metalloproteinaz inhibitörü (TIMP-3) , çapraz bağlayıcı enzim lizil oksidaz, kompleman faktör C1q ve diğerk birçok proteinin mevcut olduğu gösterilmiştir (45).

Günümüzde PES'in etiyopatogenezinde yaygın olarak kabul edilen görüşler stresin indüklediği spesifik bir tip elastoze, elastik bir mikrofibrilopati, elastik mikrofibrillerin aşırı üretimi ve birikimi, LOXL1'i kapsayan çapraz bağlama süreçleri, TGF- β 1 düzeylerinde artış, MMP ve TIMP arasındaki proteolitik bir dengesizlik, hücrel ve oksidatif stres artışı ve hücrel stres yanıtında azalma gibi durumları içermektedir (2). Ayrıca son zamanlarda tanımlanan protein alıcı modeli oküler yüzeydeki PEM oluşumunu açıklamaya çalışmaktadır. Bu modelde aberrant nükleuslu bir proteinin, özellikle HA dışında biriken ve oküler yüzeydeki PEM depozitlerini oluşturan büyük bir protein kompleksini oluşturmak için HA'de bulunan diğer proteinlerle bağlandığını ileri sürmektedir (51).

Özellikle oksidatif stres ve iske/hipoksi gibi hücrel stres durumlarında ve ek olarak profibrotik faktörler ve büyüme faktörlerinin indüklemesiyle anormal psödoeksfolyatif fibril sentezi uyarılmaktadır. Glokomun eşlik ettiği veya etmediği PES'li hastalarda HA'de bFGF CTGF, TGF- β 1 ve TGF- β 3 gibi profibrotik büyüme faktörleri saptanmıştır (4, 52, 53). Fibrotik süreçte anahtar bir mediatör olan TGF- β 1 ön segment dokuları tarafından aktif şekilde üretilmektedir ve latent ve aktif formlarının artmış düzeyleri gösterilmiştir. Ayrıca in vitro olarak psödoeksfolyasyon dokularında fibrillin-1, LTBP 1-2, tropoelastin, TG ase 2, clusterin ve LOXL1 gibi çok sayıda düzenleyici genin farklı şekilde eksprese edildiği bulunmuştur. Özellikle TGF- β 1 artışının, elastik mikrofibrillerin aşırı üretimini, onların enzimatik çapraz bağlanımını ve posttranslasyonel glikolizasyonunu sağlayarak, dokular içinde degrade olmayan fakat zamanla birikime uğrayan tipik eksofoliyatif fibrillerin oluşumunu uyardığı düşünülmektedir (52). TGF- β 1 aynı zamanda elastik liflerin oluşumunu etkileyen lizil oksidaz ile etkileşim içindedir (54).

Oksidatif stres ve hipoksi gibi fibrotik süreçle ilişkili diğer çevresel faktörlerin elastin ve fibrillin içeren matriks sentezini ve aktivitesini ve LOXL1 ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir (55).

Son yıllarda PEG'li olgularda yapılan genetik bir çalışmada PEG ile güçlü birliktelik gösteren LOXL1 geninde 3 tek nükleotid polimorfizmi tanımlanmıştır (56).

LOXL1'in PEG moleküler patofizyolojisindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Ekstrasellüler matriks metabolizmasından 5 enzim sorumludur. LOX, LOXL1, LOXL2, LOXL3 ve LOXL4. Ekstrasellüler enzim ailesinden biri olan LOXL1 geni elastik fibril formasyonu ve kollajen çapraz bağlarının bağlanmasına izin veren çoklu fonksiyona sahip enzimlerden biridir (57, 58).

LOXL1 mRNA ve protein ekspresyonu PES sürecinde erken ve ağır tutulum gösteren iriste hayli yüksek seviyelerde olmak üzere tüm oküler dokularda saptanmıştır. Bireysel genotipten ve glokom varlığından bağımsız olarak fibrotik psödoeksfoliasyon sürecinin derecesine bağlı olarak LOXL1 ekspresyonun düzenlendiği bulunmuştur (59).

PES'in erken dönemlerinde matriks komponentleri ile birlikte LOXL1 mRNA ekspresyonu anlamlı şekilde artmasına rağmen, ileri dönemlerde glokom varlığından bağımsız olarak elastinin stabilitesi ve devamlılığını sağlamak için normal homeostatik değerlerin bile altına indiği bulunmuştur (2).

Challa P ve Schmidt S ve ark, Amerikan beyaz popülasyonda LOXL1 birlikteliğini araştırmışlar, 50 PEG ve 235 kontrolde daha önce gösterilen 3 SNPs ile birliktelik olduğunu saptamışlardır. LOXL1 haplotip sıklığı psödoeksfoliasyon da %32.0 kontrolde ise %21.6 bulunmuştur. Ancak LOXL1 penetransını etkileyen başka genler veya çevresel faktörlerinde etkili olabileceği, psödoeksfoliasyonun kompleks bir etiyolojiye sahip olduğu savunulmuştur (60).

Yapılan çalışmalarda PES'de antioksidan savunma sisteminin hasarlandığı ve oksidatif stresin arttığı ileri sürülmüştür (48). PES hastalarının HA, serum ve dokularında askorbik asid ve glutatyon gibi antioksidanların seviyelerinde belirgin şekilde azalma ve tersine 8-isoprostaglandin F2 α , malondialdehit gibi oksidatif stres belirteç seviyelerinde ve ek olarak protein oksidasyon ürünlerinde artış gösterilmiştir (61).

PES özellikle iriste hipoperfüzyon ve ön kamarada hipoksiyle, belirgin olarak oküler iskemi ile ilişkilidir (62). PES hastalarının HA'lerinde artmış homosistein ve endotelin 1 seviyeleri iskemik değişikliklere ve oksidatif strese daha fazla katkı sağlamaktadır (63, 64).

Sonuç olarak PES etiyopatogenezinde genetik ve non-genetik faktörleri içeren multifaktöryel, geç başlangıçlı, kompleks bir hastalıktır.

2.1.3. Psödoeksfoliatif Sendromda Göz Bulguları

2.1.3.1. Lens

Lens ön kapsülünde eksfoliatif materyal birikimi, PES'in en sık ve en önemli bulgusu ayrıca en önemli tanı kriteridir. PEM lens ön kapsülünde çeşitli zonlarda dağılım gösterir. Üç ayrı zondan oluşan klasik patern pupilla tam dilate olduğunda görülür hale gelebilir.

Santral zon: Materyalin orta kısmıdır, genellikle kenarları ortaya doğru kıvrımlı yuvarlak alandır.

Saydam ara zon: En dıştaki periferik zon ile santral zonun arasında, halka şeklindeki bölümdür. İrisin fizyolojik hareketleri ile oluşan sürtünmenin etkisiyle PEM'den temizlenmiş alan olduğu düşünülmektedir.

Periferik zon: Birçok ışınal çizgilenmeler gösteren en dış alandır.

Klasik, hedef tahtası görünümündeki bu 3 zonlu tablonun oluşması uzun kronik bir prelinik dönemden sonra mümkün olur. Biyomikroskopik muayenede erken dönemde lens ön kapsülü yüzeyinde mikrofibriller yaygın, mat, homojen bir tabaka görünümündedir. Bu prekapsüler tabaka kalınlaştıkça, irisin abrazyon yaratan hareketleri ile midperiferal bölgesinde fokal defektler oluşur. Bu defektler önce üst nazal bölgede başlar. Santral beyaz-gri, buzlu cam görünümlü materyal ışınal tarzda görünümüne sahiptir (65-67).

PES'de lens kapsülü ön yüzeyinde klasik PEM birikimi belirgin olmadan çok daha önce kapsül zonülleri etkilenir. Yüksek rezolüsyonlu ultrason biyomikroskopi ile zonüllerdeki bu erken depozitler tespit edilebilir (68). Psödoeksfoliatif materyalin bu bölgelerde yol açtığı dejenerasyon zonüler diyalize, fakodonezise, iris-lens diyafragmanın önüne gelmesine, spontan lens dislokasyonuna yol açmakta ve göz içi cerrahisinde bir takım güçlüklerle yol açmaktadır.

Yapılan çalışmalarda PES'de artmış lens opasifikasyonu gösterilmiştir. PES'de ki sık görülen katarakt tipi nükleer sklerozdur. Bununla beraber PES'li hastalarda sekonder katarakt ve posterior kapsüler opasite sıklığı daha yüksektir (69).

2.1.3.2. İris

PES'li hastalarda iris değişiklikleri erken dönemlerde başlar. Işık mikroskobu ile yapılan çalışmalarda; pupilla kenarında ve iris kriptleri üzerinde PEM saptanmış ve elektron mikroskobu ile de bu materyalin tipik görünümü belirlenmiştir (9).

PES'de iris karakteristik olarak rijid haldedir, dilatasyon potansiyeli çok azalmıştır. psödoeksfoliasyon fibrilleri, stroma ve kas dokularında birikirler ve sfinkter ve dilatatör kasların da bulunduğu stromada dejenerasyona sebep olurlar. PES'de zayıf pupil dilatasyonu, sfinkter ve dilatatör iris kaslarında hipoksiye bağlı atrofiyle açıklanmıştır. Posterior iris pigment epitelinde fokal membran rüptürü ve melanin kaybıyla giden ciddi dejeneratif değişiklikler meydana gelir. Farmakolojik dilatasyondan sonra

meydana gelen melanin granüllerinin dispersiyonuyla peripupiller alanda, güve yeniği manzarasında iris atrofisi tablosu PES için diagnostiktir (70).

İris kan damarı değişiklikleri de PES'de kuraldır. İris hipoperfüzyonu ve ön kamarada azalmış parsiyel oksijen basıncı, iris kan damarlarında dejenerasyona ve obliterasyona yol açmaktadır (62). Floresein ya da indosiyanin yeşili anjiyografi ile iris damarlarındaki sızıntı gibi değişiklikler gösterilebilir (62, 71). Etkilenmiş damarlarda bazal membran anormallikleri, perisitler ve düz kas hücrelerinden endotel hücrelerine kadar, tüm damar duvarı hücrelerinde dejenerasyonlar gözlenmiştir (9). Rubeozis iridis olmadan, özellikle de midriasis sonrasında koyu renk irislerde, spontan intrastromal hemorajiler vasküler hasarın önemli göstergelerindendir.

PES'de irisdeki vaskülopatinin önemli sonuçlarından biri de kan aköz bariyerindeki kronik hasardır. Bu durum klinik olarak artmış aköz flare ile giden psödoüveit tablosuyla sonuçlanır (72). Katarakt cerrahisi, trabekülektomi, lazer trabeküloplasti gibi cerrahilerden sonra PES'li gözlerde PES'siz gözlere göre kan aköz bariyer disfonksiyonu daha uzun sürmektedir (73, 74).

2.1.3.3. Kornea

İleri PES'li olgularda, PEM'i fokal retrokorneal depozitler halinde görmek mümkündür. Korneanın endotelinde ince parçacıklar halinde görülen materyal, presipitasyonlarla karışabilir. Yapılan çalışmalar, fokal PEM üretiminin kornea endotelinden olduğu yönünde kanıtlar göstermektedir (71). Schlötzer-Schrehardt yaptıkları çalışmada endotelde ve descemet membranında PEM tespit etmişler ve materyalin dejenere olmuş endotel hücreleri tarafından salındığını öne sürmüşlerdir (75). Kornea endotel hücrelerinde fokal PEM salınımı ile kornea endotelinde fokal dejenerasyonlar, melanin granüllerinin fagositozu ve anormal ekstrasellüler matriks birikimi sonucu; descemet membranında irregüler kalınlaşma oluşmaktadır. Klinik olarak descemet membranındaki bu kalınlaşma ve endotel hücreleri içinde ve dışında bulunan melanin depozitleri, kornea ödemi ile maskelenebilir. Speküler mikroskopi, hem etkilenmiş hem de tutulum olmayan diğer gözlerde, morfolojik değişiklikler ile birlikte, normal göz içi basıncında dahi anlamlı olarak azalmış bir endotel hücre yoğunluğu göstermektedir (76, 77). Endotel hücrelerinde; bölünme, incelme, sitoplazmik vaküolizasyon, fokal dejenerasyon ve proliferasyon, anormal ekstrasellüler matriks üretimi gibi nonspesifik ultrayapısal değişiklikler gösterilmiştir (75). PEM'in

kendisi bu değişikliklere neden olabildiği gibi, PEM tarafından indüklenen iris hipoperfüzyonu ile HA dinamiklerindeki değişiklikler de sorumlu olabilir (78). Bazı olgularda endotelde yaygın nonspesifik pigmentasyon ‘Krukenberg içi’ görünümünde tespit edilebilir (79). Sonuçta klinik ve histopatolojik çalışmalar, gözlemler ‘PES’e spesifik keratopati’ terimini ortaya çıkarmıştır. PES’e bağlı bu keratopati, erken endotel dekompanzasyon riskini arttırır (80).

2.1.3.4. Ön Kamara

PES’de ön kamara derinliği ile ilgili değişik çalışmalarda değişik sonuçlar bildirilmiştir. PES’de normal popülasyonla kıyaslandığında anlamlı derecede düşük ön kamara derinliği bildirilen çalışmalar olduğu gibi, anlamlı fark bulunamayan çalışmalar da mevcuttur (81-83). Ön kamarada görülen en belirgin değişiklik ağda trabeküler ağda pigmentasyon artışıdır. Trabekulüler ağda genelde inferiora doğru uzanan hiperpigmentasyon vardır. Pigmentler, trabekulum yüzeyi üzerinde uzanır ve yama tarzında dağılım gösterirler (48). Schwalbe hattı üzerinde veya önünde kesik kesik taraksı bir bant oluşturacak şekilde yerleşmiş pigmentasyon PES için karakteristik bir bulgudur. Bu pigmentasyon hattına ‘Sampaolesi hattı’ denir (79).

PES’de kan-aköz bariyerindeki defektin aközün yapısı ve protein içeriğindeki değişikliklerden dolayı aköz flare artışına sebep olduğu düşünülmektedir. Trabeküler ağın jukstakanaliküler bölümlerinde PEM’in pasif birikimini ve aktif lokal üretimini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. PEM’in progresif birikimi ileri evrelerde, jukstakanaliküler dokunun şişmesine ve Schlemm kanal yapısının belirgin dezorganizasyonuna yol açmaktadır (9, 84).

Sonuç olarak PEM’in trabeküler dokuda aşırı birikimi, içediği lizozomal proteinazlar nedeniyle geliştirdiği dejeneratif değişiklikler, hipoksi nedeniyle trabeküler yapıdaki endotelial proliferasyon, kan-aköz bariyerindeki defekt nedeniyle aközde artmış protein seviyeleri ve iris pigment epitelinden salınmış melanin pigment depozisyonu sonucu dışa akım bölgesinde rezistans, kronik basınç yükselmesi ve glokom gelişiminde nedensel faktörler olarak görünmektedir (84).

2.1.4. Sistemik Tutulum

Birçok çalışmada PES’de cilt, akciğer, karaciğer, kalp, safra kesesi ve meninkslerde tutulum gösterilmiştir (1, 7). Yapılan postmortem çalışmalarda da kalp, karaciğer ve akciğerde PEM tespit edilmiştir (7). PES’de en önemli tutulum yerlerinin başında vasküler yapılar gelmektedir.

PES ile PES’in vasküler etkilerini düşündüren hipertansiyon, anjina, myokard infarktüsü ve stroke arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Beş oküler PES’li organ donörlerinden elde edilen aort duvarı örneklerinin histopatolojik incelemesinde, adventisyal ve subendoteliyal konnektif dokuda fokal PEM birikimi, belirgin fibrozis ve tunika intima elastozisi saptanmıştır. Bu nedenle PES’in sistemik vasküler hastalık riski için önemli bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir (85).

PES’de, iç kulaktaki tektorial membranda eksfoliatif fibrillerin depozisyonu saptanmıştır. Yaş ve glokom ile birlikteliğine bakılmaksızın, PES’li hastaların büyük kısmında sensorinöral işitme kaybına rastlanmıştır (86).

2.1.5. Psödoeksfoliasyon ve Glokom

PES tüm dünyada açık açılı glokomun tanımlanabilir en sık sebebidir. Akdeniz ve Arap toplumlarında PES ile ilişkili açık açılı glokom oranları, primer açık açılı glokom (PAAG) oranlarına göre çok daha fazla tespit edilmiştir. Örneğin doğu Arap toplumunda açık açılı glokom olgularının % 77’sini PES’li hastalar oluşturmaktadır (87).

Aslında PES’in gerçek bir glokom nedeni veya PAAG’nin rastlantısal bir bulgusu olup olmadığı eskiden beri tartışılmasına rağmen, özellikle LOXL1 risk varyantlarının PAAG ile ilişkisi olmadığının saptanmasından dolayı PAAG ile bağlantılı olmadığı açıkça kesinleşmiştir (88). Ancak PES’li bazı hastalarda asla glokom gelişmediğinin görülmesiyle glokom gelişimine diğer faktörlerin de bireysel yatkınlık sağladığı saptanmıştır. Psödoeksfoliasyon da kronik basınç artışı, dışa akım kanallarında PEM birikimi sonucu trabeküler ağda artmış rezistansa bağlıdır. Trabeküler ağda fibriller materyalin birikiminin yanında, schlemm kanalı iç katlarının altında, jukstakanaliküler dokuda, posterior siliyer arter ve retinal arter gibi damar duvarlarında ve lamina kribrozanın bağ dokusu tabakalarında da PEM birikimi söz konusudur (89). LOXL1 pozitif PEM depozitleri siliyer kasın ön kısımları başta olmak üzere, trabeküler ağın iç

yüzeyi, schlemm kanalı iç ve dış duvarı, intraskleral aköz kolektör kanalların periferi, aköz venler, episkleral venler ve suprakoroidal alanda yani dışa akım yolları boyunca gösterilmiştir (2). Dışa akım yapılarındaki anormal matriks metabolizması hücre disfonksiyonu ile ilişkili olabilir. Bu gözlemler, PES’de trabeküler ağ hücrelerinin oksidatif strese karşı azalmış savunma ve azalmış yapısal stabiliteyle anormal fizyolojik fonksiyonlarını işaret etmektedir (2).

PEG karakteristik olarak, ciddi göz içi basınç yüksekliği ile giden bir hastalıktır. Ancak glokomatöz hasarda, basınçtan bağımsız risk faktörleri de olabileceği öne sürülmüştür. Bozuk retrobulber ve oküler perfüzyon ile lamina kribrozadaki anormal elastik doku bunlardan ikisidir (90-93). Puska ve ark. normotansif, tek taraflı PES’i olan hastalarda, aynı seviyelerde göz içi basınçlarına sahip olsalar da PES’li gözlerde zamanla optik disk değişikliklerinin oluşabileceğini rapor etmişlerdir. Bu durum PES’in kendisinin optik sinir değişiklikleri için bir risk faktörü oluşturduğu fikrini ortaya çıkartmıştır (94).

PEG tedavisi zor bir glokomdur. PAAG’a göre tedavide başarısızlık insidansı çok daha fazladır. PEG’deki kötü prognostik faktörler; ortalama göz içi basıncının çok yüksek olması, gün içi basınç piklerinin sıklığı ve diüurnal fluktuasyonların fazlalığı olarak bulunmuştur (95, 96).

PEG tanı alır almaz tedaviye başlanması gereken ve diüurnal basınç takibi ile birlikte sıkı takip gerektiren bir hastalıktır. Sıklıkla kombine tedaviler gerektirmektedir.

Medikal tedavi dışında laser trabeküloplasti, rutin filtrasyon cerrahileri ve trabeküler aspirasyon teknikleri gibi birçok tedavi seçenekleri bildirilmiştir (97-99).

2.2. Matriks Metalloproteinazlar ve Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü

MMP’ler ekstrasellüler matriks proteinlerinin ve bazal membran komponentlerinin yıkımından sorumlu ekstrasellüler endoproteinaz ailesidir (100). Kalsiyum ve çinko bağımlı olarak çalışırlar (100, 101). MMP ailesi ilk kez kurbağa yavrusunun kuyruğunda rezorbe olan dokuda kollajenolitik aktivitenin gösterilmesi ile keşfedilmiştir (102). Günümüze kadar omurgalılarda 24, insanda ise 23 farklı MMP üyesi bulunmuştur ve yeni üyeler keşfedilmeye devam etmektedir (101). Geniş substrat spektrumuna sahip olan MMP’ler preproenzim olarak sentezlenip, proenzim olarak salınırlar (101-103). N-terminal propeptit içerirler ve propeptidin proteolitik ayrılması ile aktive olurlar. C-terminal homopeksin ise substrat spesifitesini belirlemektedir.

MMP'ler genellikle substrat spesifitesine göre gruplandırılırlar (101). Tüm gruplarda; ekstrasellüler matriksin en küçük komponentine kadar degradasyonu, katalitik reaksiyon için çinkonun gerekliliği, latent formda salgılanıp propeptidin ayrılması ile etkin hale gelmeleri, endojen TIMP ile regülasyonları ve kollejenazlarda homolog ardışık c DNA görülmesi ortak özellikleridir. Her bir MMP'nin kendine özgü substratı bulunur. Substratlarına göre MMP'ler altı grupta sınıflandırılırlar: Kollejenazlar, Jelatinazlar, Stromelzinler, Matrilizinler, Membran tip MMP'ler ve diğerleri (101).

Kollejenazlar; MMP-1, MMP-8 ve MMP-13'ün oluşturduğu gruptur. İnterstisyel dokuda kollajen tip I, II ve III'ün degradasyonunda rol alırlar. Ayrıca çok sayıda diğer ekstrasellüler matriks ve non-ekstrasellüler matriks moleküllerinin yıkımını düzenlerler. Diğer MMP'ler ve proteinazların yardımıyla jelatin form oluştururlar.

Jelatinazlar; MMP-2 ve MMP-9 bu grubu oluştururlar. Tip IV kollajenaz adı da verilir. Denatüre kollajen ve jelatinlerin yıkımından sorumludurlar.

Stromelzinler; MMP-3 ve MMP-10 bu grubu oluştururlar. Laminin, fibronektin, proteoglikanlar ve non-fibriler kollajenin degradasyonundan sorumludurlar.

Matrilizinler; MMP-7 ve MMP-26'dan oluşurlar. Endometaz adı da verilen bu grup C-terminal homopeksin domaine sahip değildir. Stromelzinler gibi fibronektin, laminin, bazal membran tip IV kollajeni gibi ekstrasellüler matriks komponentlerinin yıkımından sorumludurlar.

Membran tip MMP'ler; 6 tane üyesi olan bu grupta MMP-14, MMP-15, MMP-16 ve MMP-24 tip 1 transmembran proteinleri olup, MMP-17 ve MMP-25 ise glikozilfosfatidilinositol döngüsünün proteinleridir. Bu enzimler birçok ekstrasellüler proteini yıkma kapasitesine sahiptirler. MMP-14 anjiogeneze önemli rol oynamaktadır (104). MMP-17 esas olarak serebellumdan salgılanmaktadır (105). MMP-25'in ise lökositlerden ve anaplastik astrositoma ve glioblastomadan yüksek miktarlarda salgılandığı gösterilmiştir (106, 107).

MMP'lerin anjiogeneze, doku iyileşmesi, inflamasyon, hücre sinyalizasyonu, tümör invazyonu, kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar ve fibrotik durumlar gibi birçok fizyolojik veya patolojik durumda rol aldıkları bildirilmiştir (108-110). Ek olarak ekstrasellüler matriksden büyüme faktörü salgılanması gibi yeni tanımlanan proteolitik fonksiyonları giderek artmaktadır (111).

MMP'lerin aktivite regülasyonu ise; spesifik endojen inhibitörleri tarafından yapılmaktadır. MMP'lerin sıkı regülasyonları transkripsiyon, sekresyon ve aktivasyon basamaklarının tümünde mevcuttur. Ayrıca MMP aktiviteleri, TIMP ve α

makroglobulin gibi spesifik doku inhibitörleri ve nonspesifik plazma inhibitörleri tarafından da kontrol edilmektedir.

TIMP ailesi dört tip protein içerir. TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4. TIMP'lerin yapısında her biri 3 disülfid bağ içeren sırasıyla 125 ve 65 aminoaside sahip N ve C terminal domain mevcuttur (101). Bunlardan TIMP-1 MMP-14 haricinde çoğu MMP'yi inhibe ederken; TIMP-2; MMP-2'nin major inhibitörüdür. TIMP'lerin yapısında ki N terminal domain MMP'lerin yapısındaki katalitik zincire bağlanarak MMP'nin enzimatik aktivitesini inhibe eder. TIMP'ler de tıpkı MMP'ler gibi katalitik çinko atomu taşırlar ve fonksiyonları için kalsiyuma ihtiyaç duyarlar. MMP inhibisyonu dışında, TIMP'ler hücre morfolojik değişikliklerinin indüksiyonu, bazı hücre tiplerinde büyüme stimülasyonu, anjiogenezinin inhibisyonu gibi durumlarda da görev alırlar (112). TIMP-1, TIMP-2 ve TIMP-3'ün fazla ekspresyonunun tümör büyümesini azalttığı gösterilmiştir (113). MMP ve TIMP'lerin kontrolsüz salınımı, fibrotik hastalıklar gibi anormal ekstrasellüler matriks üretimiyle giden hastalıklara sebep olurlar.

MMP ve TIMP'ler transkripsiyon aşamasında çeşitli büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından regüle edilirler. TGF- β 1, MMP-1 ve MMP-3'ün ekspresyonunu azaltırken; MMP-2'nin, TIMP-1 ve TIMP-3'ün ekspresyonlarını arttırdığı ileri sürülmüştür (111, 114, 115).

Gözün dokularına baktığımızda gözyaşı film tabakasından retinaya kadar bütün göz dokularında MMP'ler çalışılmış ve rapor edilmişlerdir. Anormal MMP ekspresyonu ile ilişkili olduğu öne sürülen hastalıklar arasında, proliferatif vitreoretinopati, sekonder katarakt oluşumu, glokomatöz optik sinir başı hasarı, yaşa bağlı makula dejenerasyonu ve kornea enfeksiyonları sayılabilir (116).

Oküler rozasea gibi eksternal oküler inflamatuvar hastalıklarda gözyaşında MMP-9 aktivitesinde artış bildirilmiştir. Antimikrobiyal ajan olan doksisisiklinin MMP aktivitesini inhibe ederek etki ettiği ve rozaseada tedavide önemli yeri olduğu bildirilmiştir (117). Vernal keratokonjonktivitde MMP'ler araştırılmış ve MMP-2 ve MMP-9'un proform ve aktif formları tespit edilmiştir (118). Shield ülseri oluşum mekanizmalarında da MMP-2 ve MMP-9'un rolü olduğu bildirilmiştir (117).

Kornea'da; MMP'lerin yara iyileşmesindeki etkilerine dair çalışmalar mevcuttur. Kornea epitel yaralanmalarında, epitel migrasyon kenarında MMP-1 ve MMP-10 tespit edilmiştir (119). Ye ve arkadaşları hasarlı rat kornealarında MMP-12, MMP-13 ve MMP-14'e dikkat çekmişlerdir (120). Barletta ve arkadaşları sentetik MMP inhibitörü

kullanarak psödomonas ülserasyonunun engellenebileceğini tavşan korneaları üzerinde yaptıkları deneysel bir çalışmada göstermişlerdir (121). Stromal ülserasyonda epitelin kollajenaz aktivitesi önemli rol oynar. Stromal hasarı takiben, o bölgede keratosit migrasyonu ve proliferasyonu görülür. Miyofibroblast aracılığı ile gerçekleşen düz kas kontraksiyonu hasarlı alanın kapatılmasını sağlar. Stromal fibroblastlar tarafından üretilen MMP-2 ve MMP-3 stromanın yeniden şekillenmesinde önemlidir. MMP yapım ve yıkımındaki dengesizlik korneada skar oluşumuna sebep olur.

Korneada hasar neovaskülarizasyon ile de sonuçlanabilir. Neovaskülarizasyonda ilk basamak; damar bazal membranlarının MMP'ler dahil bir çok proteolitik enzimle hasarlanmasıdır. Bazal membrandaki hasarlanmanın ardından, damar endotel hücrelerinden fibroblast büyüme faktörleri ve VEGF salınır. Bu proanjiojenik faktörler TGF- β ve TIMP-3 gibi antianjiojenik faktörlerce dengelenir. Bu dengenin proanjiojenik faktörler lehine bozulması yeni damar oluşumu ile sonuçlanır. Limbal bölge ve kornea stroma neovaskülarizasyonlarında MMP-2 ve VEGF'de artış bildirilmiştir. Aynı şekilde ön kamaranın inflamasyonlarında nötrofil kaynaklı MMP-2'nin kornea neovaskülarizasyonunda rol aldığı belirtilmiştir (116).

Kornea epitel hücrelerinden salınan interlökin-1 β (IL1- β) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) MMP-9 yapımını stimüle etmektedir. Doksisisiklin ve metilprednizolon kullanılarak TNF- α ve IL-1 β aracılı MMP-9 aktivasyonunun engellenebileceğine dair yayınlar vardır (122).

Korneanın refraksiyon cerrahisi sonrası da MMP'lerde artış gösterilmiştir. Nishida ve ark. refraksiyon cerrahisi geçiren kornealarda operasyon sonrası, ekstrasellüler matriksin düzenlenmesinde etkili olan MMP'ler, büyüme faktörleri ve inflamatuvar sitokinler gibi çeşitli faktörler saptamışlardır (123). Gabison ve ark. fotorefraktif keratektomi geçiren kornealarda, operasyon sonrası uzun süreli diklofenak sodyum kullanımı sonucu korneal perforasyon gelişebileceğini bildirmişlerdir. Cerrahi sonrası artan MMP-2 ve MMP-3'ün yara iyileşmesinde gecikmeye sebep olarak bu komplikasyonu ortaya çıkaracağını öne sürmüşlerdir (124).

MMP ve inhibitörleri arasındaki dengesizliğin keratokonus, keratoglobus ve korneal ektazi gibi hastalıklardan da sorumlu olduğu bildirilmiştir. Çalışmalar keratokonusda MMP-2 seviyelerinde artış olduğunu göstermektedir (125).

Katarakt ve arka kapsül opaklaşmasında MMP-2 ve MMP-9'un rolü olduğu bildirilmiştir (126).

Trabeküler ağ; HA dışı akımı ve GİB kontrolü için çok önemli bir dokudur. Trabeküler ağ üveal, korneoskleral ve jukstakanaliküler alanlar olarak üç kısımda incelenebilir. İnsan trabekülumu hücre kültürlerinde ve HA'de MMP ve TIMP'lerin varlığı birçok çalışmada bildirilmiştir (127).

Normal HA'de MMP'lerin kaynağı tam olarak bilinmemektedir. Kornea endoteli, trabeküler ağ gibi çevre dokulardan salındığı düşünülmektedir. Normal doku homeostazı için MMP/TIMP oranının 1:1 olması gerekmektedir. HA'de MMP ve TIMP'lerin çevre dokularda ekstrasellüler matriks homeostazını normal seviyelerde tutmak için gerekli olduğu düşünülmektedir. Özellikle de trabeküler ağdaki ekstrasellüler matriks döngüsünün sağlıklı olması, HA dışı akım regülasyonu açısından çok önemlidir ve PEG patogenezinde vurgulanmıştır (127).

Üveitte MMP-2, MMP-3 ve MMP-9'un HA'de yükselmiş seviyeleri gösterilmiştir. Ancak MMP seviyelerindeki artış TIMP-1 artışıyla dengelenmemektedir, bu bulguda TIMP ekspresyonu değişmeksizin MMP seviyelerinde değişikliklerin kronik ön üveitte doku hasarına ve atrofiye sebep olduğunu desteklemektedir (128).

1994'de Brown ve ark., 1998'de Plantner ve ark. vitreus ve interfotoreseptör matriksde MMP1, MMP-2, MMP-3, MMP-9 ve TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3'ün varlığını göstermişlerdir (129, 130). Yapılan birçok çalışmada arka segment patolojilerinde MMP'lerin artmış olduğu bildirilmiştir. Yaşa bağlı makula dejenerasyonları, proliferatif diyabetik retinopati, glokomatöz optik sinir başı hasarı, vitreus likefaksiyonu, vitreoretinopati bunlardan bazılarıdır (116).

MMP'lerin göz dokularındaki varlığı ve gözün tüm dokularında fizyolojik ve patolojik olaylardaki rolleri anlaşıldıkça çok daha fazla hastalıkla ilişkili oldukları düşünülmektedir. MMP'lerin hem normal hem de patolojik hadiselerde hücrel sinyal yollarını nasıl etkiledikleri halen merak konusudur. Hücre matriks ilişkisindeki önemleri daha çok anlaşılmıştır. Aynı zamanda MMP'lerin gen ekspresyonları ve protein aktivasyonlarını kontrol eden faktörlerin tespiti; enzimatik aktiviteyi bu yollarda inhibe edecek tedavi seçenekleri fikrini ortaya çıkarmıştır. Tablo-1'de MMP aile numaraları ve ilgili oldukları hastalıklar özetlenmiştir.

Tablo 1. Göz dokularında bildirilen MMP aile numaraları ve ilgili oldukları hastalıklar
(116)

MMP ailesi	Bulundukları göz dokuları	İlgili hastalıklar
Kollajenaz 1 (MMP-1)	Kornea stroması Optik sinir başı	Korneada yara iyileşmesi Glokomatöz optik sinir başı hasarı
Jelatinaz A (MMP-2)	Korneanın tüm tabakaları Optik sinir başı İnterfotoreseptör matriks Vitreus Lens epiteli	Korneada yara iyileşmesi, Glokomatöz optik sinir başı hasarı Vitreus likefaksiyonu Yaşa bağlı makula dejenerasyonu Katarakt oluşumu Diyabetik retinopati Üveit
Jelatinaz B (MMP-9)	Kornea epiteli ve stroması Lens epiteli Retina gangliyon hücresi İris, siliyer cisim Vitreus	Korneanın ülserasyonu ve neovaskülarizasyonu Vitreoretinopati Vitreus likefaksiyonu Katarakt oluşumu Üveit
Stromelzin 1 (MMP-3)	Kornea stroması Optik sinir başı	Korneada yara iyileşmesi Optik sinir başı hasarı Diyabetik kornea
Stromelzin 2 (MMP-10)	Kornea epiteli	Diyabetik kornea
Matrilizin (MMP-7)	Kornea epiteli ve stroması	Korneada yara iyileşmesi
Membran tipi MMP'ler	Kornea epiteli	Korneanın enfeksiyonu Korneada yara iyileşmesi Neovaskülarizasyon Diyabetik retinopati

TIMP'lerin oküler dokulardaki fonksiyonları hakkında bilinenler henüz yeterli değildir. Bu konuda yapılacak, özellikle halen devam eden gen inaktivasyon çalışmaları gelecekte birçok hastalık için umut ışığı olacaktır. Tablo-2'de göz dokularında TIMP aile numaraları ve ilgili oldukları hastalıklar özetlenmiştir.

Tablo 2. Göz dokularında bildirilen TIMP aile numaraları ve ilgili oldukları hastalıklar
(116)

TIMP ailesi	Bulundukları göz dokuları	İlgili hastalıklar
TIMP-1	Kornea epitel ve endoteli	Korneada yara iyileşmesi Keratokonus
TIMP-2	Kornea epitel	Korneada yara iyileşmesi Keratokonus
TIMP-3	Retina pigment epitel Bruch's membranı Kornea epitel	Sorsby'nin distrofisi Yaşa bağlı makula dejenerasyonu Retinitis pigmentosa

2.3. Bağ Dokusu Büyüme Faktörü (CTGF)

Fibroblastlarda DNA sentezi ve kemotaksisini uyaran ve kültüre insan endotel hücreleri tarafından salgılanan bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) 1991 yılında Bradham ve ark. tarafından yeni bir polipeptid büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır (131). CTGF, kısaca CCN (Cysteine-rich angiogenic protein 61, CTGF ve Nephroblastoma overexpression gene) adı altında gruplandırılmış düzenleyici proteinler içeren gelişen bir ailenin üyesidir. CTGF'nin TGF- β 'nın fibrojenik etkilerini azaltan önemli bir mediatör olduğu ve TGF- β 'nın CTGF'nin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (132-135). Fibroblastlarda TGF- β 'nın indüklediği CTGF ekspresyonunun hücre proliferasyonu, myofibroblast diferansasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden yapılanmasına neden olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan bir gen çalışmasında da CTGF'nin yara iyileşmesi ve inflamasyon, hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriksin yeniden yapılanmasını içeren üç önemli biyolojik fonksiyona sahip olduğu gösterilmiştir (136). CTGF, ekstrasellüler matriks metabolizmasını direkt olarak kollajen sentezini arttırarak ve MMP, TIMP ekspresyonunu düzenleyerek etkilemektedir (137).

CTGF'nin fazla ekspresyonu skleroderma, renal ve pulmoner fibrozis, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve ateroskleroz gibi çeşitli fibrotik hastalıklarda saptanmıştır (138-142).

Oküler dokularda CTGF ile ilgili çalışmalar yapılmıştır ancak özellikle CTGF'nin etkilediği biyolojik süreçler ve genler hakkındaki bilgiler çok sınırlıdır (136).

Trabeküler ağda yüksek miktarlarda CTGF ekspresyonunu sağlayan genler bulunmuştur (143). Oküler dokularda iris sfinkteri, siliyer kas hücreleri, retina vasküler endotel hücreleri, epi ve subretinal membranlar, subkapsüler katarakt plağı, korneal skar, gözyaşı ve pterjium dokusunda da CTGF ekspresyonu gösterilmiştir (144-150). Aynı zamanda HA'de de varlığı gösterilen CTGF'nin PES'li hastalarda HA'de yükselmiş seviyeleri saptanmıştır (4, 151). Oküler skatrisyel pemfigoidde gelişen konjonktival skarlaşmanın patogeneğinde CTGF'nin rolü olduğu bulunmuştur (152). Proliferatif diyabetik retinopati ve proliferatif vitreoretinopati gibi proliferatif vitreoretinal hastalıkları olan hastaların gözlerinde de CTGF ekspresyon düzeyleri yükselmiştir (153). Filtran glokom cerrahisi sonrası skar oluşumunda CTGF'nin rolü hayvan modellerinde incelenmiştir. Cerrahi sonrası 5. günde CTGF ve TGF β 'nin maksimum ekspresyonu ve bleb dokusunda her ikisinin de proteinlerinin varlığı bulunmuştur (154).

Sonuç olarak CTGF ekstrasellüler matriks sentezini etkileyerek PES'in patogeneğinde yer alan fibrotik patolojiye katkıda bulunmaktadır ve gelecekte uygulanabilecek anti-CTGF tedavileri PES'le ilişkili oküler morbiditenin kontrolü için potansiyel terapötik ajan olabilir.

2.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF damar endotel hücrelerine özgü homodimerik glikoprotein yapısında heparin bağlayan büyüme faktörüdür. VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yer alır (155). Ferrara ve Henzel, 1989'da endotel hücre mitojeni olarak tanımladıkları faktörü VEGF olarak isimlendirmişlerdir (156). VEGF gen ailesi içinde 7 VEGF üyesi tanımlanmıştır.

VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, Plasental büyüme faktörü, VEGF-E ve VEGF-F (157). Temel olarak anjiogenez, lenfanjiogenez ve damar geçirgenliğini düzenleyen bu faktörlerin VEGF reseptörlerine bağlanma özellikleri farklıdır.

VEGF-A anjiogenezis ile en güçlü ilişkisi olan ve üzerinde en çok çalışma yapılan faktördür, anti-VEGF tedavilerin çoğu bu faktör üzerinde yoğunlaşmaktadır (158). Genellikle VEGF diye kısaca ifade edilen faktör aslında VEGF-A'dır.

VEGF-B, hücre dışı matriks degradasyonu, hücre adezyonu ve göçünde rol oynar. Kalp, iskelet kası ve pankreasta fazla miktarda bulunur, endotel hücre fonksiyonunu düzenler (157). VEGF-C ve VEGF-D, lenfanjiogenezini düzenler. VEGF-C ayrıca yara iyileşmesinde rol oynar (156). Plasental büyüme faktörü, endotel hücrelerinde en çok

bulunan VEGF üyesidir. VEGF-A'ya bağlı endotel hücre çoğalmasını indüklerken kendi başına zayıf mitojenik etkilidir (156-158). VEGF-E ve VEGF-F VEGF-A'nın insanlar dışındaki canlılardaki homologlarıdır (159).

İnsan VEGF'nin (VEGF-A) bugüne dek 9 isoformu tanımlanmıştır (160). VEGF izoformlarının içerdikleri aminoasit sayıları ve heparine bağlanma özellikleri farklıdır. En çok bilinen major izoformlar VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206'dır (156, 161). Çalışmalar, en çok bulunan ve anjiogeneze ana rolü oynayan izoformun VEGF165 olduğunu göstermektedir (157).

VEGF gen ekspresyonunda ana düzenleyici, hipoksinin indüklediği faktör-1'dir (HIF-1) (162, 163). Diğer büyüme faktörleri (epidermal büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü α ve β , keratinosit büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü), hipofiz hormonları, nitrik oksit, inflamatuvar sitokinler (İnterlökin-1 α (IL-1 α), IL-1 β , IL-6, IL-8) ve onkojenik mutasyonlarla da VEGF ekspresyonu düzenlenir (159, 164, 165).

Vasküler düz kas hücreleri ve perisitlerden VEGF üretilmektedir. Oküler dokularda ise kornea endoteli, iris pigment epiteli, retina pigment epiteli, retina ganglion hücreleri, astrositler, müller hücreleri, üveal melanositler ve koroidal fibroblastlar tarafından VEGF üretimi ve ekspresyonu gösterilmiştir (166-172).

VEGF'in HA ve vitreusta varlığı aynı zamanda proliferatif diabetik retinopati, neovasküler glokom, regmatogenöz retina dekolmanı, PAAG, PES, üveit, prematür retinopatisi, kornea neovaskülarizasyonu ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu gibi durumlarda artmış düzeyleri saptanmıştır (6, 173-182).

PES'de, HA'de VEGF konsantrasyonunda artışın sebebi iskemi, hipoksi veya reaktif oksijen ürünlerinde artış ile ilişkili olabilir ve bu tablonun çok güncel olan anti-VEGF tedavilerden yararlanabileceği düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Temmuz 2009- Kasım 2010 tarihleri arasında, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniğinde katarakt ameliyatı endikasyonu konulan, PES mevcut olan (PES grubu) ve katarakt haricinde oküler patolojisi bulunmayan (kontrol grubu) hastalar dahil edildi. Fakoemülsifikasyon tekniği ile lens ekstraksiyonu ve intraoküler lens implantasyonu planlanan 72 hastanın 72 gözü çalışma kapsamında incelendi. Çalışma için Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı, çalışmaya dahil edilen hastalar bu konuda ayrıntılı olarak bilgilendirildi ve gönüllü onam formları alındı.

Senil katarakt dışında kataraktı olanlar (travmatik, metabolik gibi), Behçet hastalığı, romatoid artrit, Sjögren sendromu, sistemik lupus gibi kronik inflamatuvar hastalığı olanlar, daha önce herhangi bir göz operasyonu geçirmiş olanlar, uzun süreli topikal kortikosteroid kullanmış hastalar, keratokonus, keratoglobus, keratokonjonktivitis sikka gibi patolojileri olanlar, üveit hastaları ve proliferatif diyabetik retinopatisi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya alınan tüm hastaların demografik özellikleri kaydedildi. Görme keskinliği ölçümü, GİB ölçümü, biyomikroskopik muayene ve fundus muayenesini içeren tam bir oftalmolojik muayene yapıldı. Biyomikroskopik muayenede ön segment, lens ve vitreus değerlendirildi. Ardından %1 siklopentolat hidroklorür ve %2.5 fenilefrin ile midriyazis sağlandıktan sonra +90 dioptrilik asferik lens ile fundus muayenesi yapıldı. Fundusu aydınlatılamayan yoğun kataraktı bulunan hastalarda B-mod ultrasonografi ile arka segment değerlendirilmeye çalışıldı. Operasyon planlanan gözlere kontakt yöntemle biyometrik ölçüm yapıldı.

Çalışma kapsamına alınan hastalardan ön kamara açısı açık, GİB ölçümleri 22 mmHg altında, ön segmentte katarakt dışında hiçbir patolojisi olmayanlar ve fundus muayenesi normal olanlar kontrol grubuna dahil edildi.

Hastalardan ön kamara açısı açık, farklı zamanlarda ölçülen GİB değerleri 22 mmHg'nin altında olup optik sinir başında glokomatöz değişiklikler bulunmayan, biyomikroskopik muayenelerinde pupilla kenarında ve lens ön yüzeyinde tipik PEM saptanan tüm olgular; PES grubuna dahil edildiler.

PES grubundaki hastalardan ön kamara açısı açık, farklı zamanlarda ölçülen GİB değerleri 22 mmHg ve üstünde olup, diskte glokomatöz hasarı tespit edilenler ya da daha önceden glokom tanısı alıp, antiglokomatöz tedavi altında olanlar ve

biyomikroskopik muayenelerinde pupilla kenarında ve lens ön yüzeyinde tipik PEM saptananlar “PEG+” alt grubu olarak belirlendi. Glokom saptanmayan PES olguları ise “PEG-“ alt grubu olarak belirlendi.

Operasyona alınan hastalardan operasyon gününde aç olarak biyokimya tüpüne kan örnekleri (5 ml) alındı ve santrifüj edilerek hazırlanan serum örnekleri Eppendorf tüplerine konuldu. Örnekler -80 santigrad derecede dondurulup, analiz edilinceye kadar aynı ortamda muhafaza edildi.

Operasyona alınan hastaların tümüne fakoemülsifikasyon tekniği ile lens ekstraksiyonu ve göz içi lens implantasyonu uygulandı. Fakoemülsifikasyona başlamadan önce 20 gauge MVR bıçak ile yan girişler açıldı. Ön kamaraya viskoelastik madde verilmeden önce bu yan girişlerden 27 gauge ön kamara iğnesi ile girilerek yaklaşık 100 µl HA örneği alınıp Eppendorf tüplerine konuldu. Örnekler alınırken konjonktiva, kornea, iris, lens kapsülü ve lense hiç temas olmamasına özen gösterildi. Toplanan örnekler hiç bekletilmeden -80 santigrad derecede dondurulup, analiz edilinceye kadar aynı derecede muhafaza edildi.

Hastalardan alınan HA ve serum örneklerinin analizi Celal Bayar Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. HA örneklerinin analizinde örnek hacminin (100 µl) kısıtlı olması nedeniyle yalnızca MMP-9 ve TIMP-1 düzeyi ölçümleri yapıldı, VEGF ve CTGF analizi yapılmadı. Serum örneklerinde ise 4 maddenin (MMP-9, TIMP-1, VEGF, CTGF) düzeylerinin ölçümleri yapıldı.

HA ve serum örneklerinde TIMP-1 (R&D Systems Europe, Ltd. Abingdon, İngiltere), MMP-9 (R&D Systems Europe, Ltd. Abingdon, İngiltere) ve VEGF (R&D Systems Europe, Ltd. Abingdon, İngiltere) düzeyleri enzim linked immunoassay yöntemiyle (ELİSA) analiz edildi. CTGF (Uscn Life Science Inc. Wuhan, PR China) düzeyleri de ELİSA metodu ile çalışıldı.

TIMP-1 analizinde kullanılan kitin çalışma içi intra-assay korelasyon katsayısı (CV) 0.48 ng/mL konsantrasyonda %4.2, 1.27 ng/mL konsantrasyonda %3.9 ve 6.95 ng/mL konsantrasyonda %5 olarak saptandı. TIMP-1 kitinin çalışmalar arası inter-assay CV değerleri 0.51 ng/mL konsantrasyonda %3.9, 1.28 ng/mL konsantrasyonda %3.9 ve 6.9 ng/mL konsantrasyonda %4.9 olarak saptandı.

MMP-9 analizinde kullanılan kitin çalışma içi intra-assay CV değerleri 0, 83 ng/mL konsantrasyonda %2, 0, 2, 04 ng/mL konsantrasyonda %1.9 ve 11, 0 ng/mL konsantrasyonda %2, 9 olarak saptandı. MMP-9 kitinin çalışmalar arası inter-assay CV

değerleri 0.972 ng/mL konsantrasyonda %7.9, 2, 35 ng/mL konsantrasyonda %7, 8 ve 12, 2 ng/mL konsantrasyonda %6.9 olarak saptandı.

VEGF analizinde kullanılan kitin çalışma içi intra-assay CV değerleri 53, 7 pg/mL konsantrasyonda %6, 7, 235 pg/mL konsantrasyonda %4, 5 ve 910 pg/mL konsantrasyonda %5, 1 olarak saptandı. VEGF kitinin çalışmalar arası inter-assay CV değerleri 64, 5 ng/mL konsantrasyonda %8, 8, 250 pg/mL konsantrasyonda %7, 0 ve 1003 pg/mL konsantrasyonda %6, 2 olarak saptandı. CTGF analizinde kullanılan kitin ölçüm aralığı 31, 2-2, 000 pg/ml olarak bildirilmiştir.

Ölçümler sonucu elde edilen verilerde PES ve kontrol gruplarında HA'de MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri, serumda MMP-9, TIMP-1 CTGF ve VEGF düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Ayrıca glokomu olan PES hastaları (PEG+) ile glokomu olmayan PES hastalarının (PEG -) HA'de MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri, serumda MMP-9, TIMP-1 CTGF ve VEGF düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows 15.0 istatistik paket programında gerçekleştirilmiştir. PES ve kontrol gruplarında değerlerin normal dağılıp dağılmadığı histogram grafiği ile görsel olarak ve Kolmogorov Smirnov testi ile test edilmiştir. Kontrol grubunda serum CTGF, PES grubunda serum TIMP, serum CTGF, HA TIMP değerleri normal dağılım göstermemektedir. Bu nedenle tüm karşılaştırmalar için parametrik olmayan bir test seçilmiş, 2'li grup karşılaştırmalarında grup ortalamaları arasındaki farklılık Mann Whitney u testi ile test edilmiştir. PEG+ alt grubu ile PEG- alt gruplarının HA ve serumda yapılan ölçüm düzeylerinin karşılaştırılması için Mann Whitney u testi kullanılmıştır. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi $p < 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil olan 72 hastanın 31'i kadın, 41'i erkekti. Gruplara göre cinsiyet dağılımları ise şöyleydi; kontrol grubunda , hastaların 21'i kadın (% 50), 21'i erkekti (% 50). PES hastalarının 10'u kadın (% 33, 3), 20'si erkekti (% 66, 6). Çalışmaya alınan tüm hastaların yaş ortalamaları, kontrol grubunda; 64, 1±21, 4 yıl, PES hastalarında; 73, 5±11, 9 yıl olarak bulundu. PES grubunda yaş ortalaması belirgin derecede yüksekti ve normal kontrol grubuyla karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (Student t testi p<0, 05). Tablo 3'de hasta gruplarında yaş ve cinsiyet dağılımı verilmiştir.

Tablo 3. Hastaların yaş (ortalama S.D.) ve cinsiyet özellikleri (n, %)

Grup	Yaş (yıl)	Kadın n (%)	Erkek n (%)
Kontrol	64, 1 ± 21, 4	21 (50)	21 (50)
PES	73, 5 ± 11, 9	10 (33, 3)	20 (66, 6)

PES: psödoeksfoliasyon sendromu

Serum örneklerinin bazılarında hemoliz meydana geldiğinden hatalı sonuçlardan kaçınmak amacıyla hemolizli bu örnekler çalışma dışı bırakıldı. Bu nedenle kontrol grubunda 30 serum örneği, PES grubunda 23 serum örneğinde ölçümler yapıldı. Bazı olgularda HA örneklerinin derin dondurucuda dehidratasyonuna bağlı Eppendorf tüpü içinde yetersiz HA örneği kalması üzerine TIMP-1 kontrol grubunda 33 örnekte, PES grubunda 24 örnekte değerlendirildi. Yine aynı nedenden ve ek olarak bazı HA örneklerinde MMP-9 düzeyinin ticari kitin hassasiyet sınırı altında (0.156 ng/ml) kalması nedeniyle HA'de MMP-9 düzeyi kontrol grubunda 13 örnekte, PES grubunda 12 örnekte ölçüldü.

Her bir grup için HA’de tespit edilen MMP-9 seviyeleri; kontrol grubunda ortalama $4, 16 \pm 6, 11$ ng/ml, PES grubunda $3, 54 \pm 5, 09$ ng/ml seviyelerinde bulundu. HA’de MMP-9 seviyeleri PES grubunda, kontrol grubuna göre azalmış seviyelerde tespit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,709$) (Tablo 4).

Tablo-4. PES ve kontrol gruplarında hümör aközde MMP-9 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Göz sayısı (n)	MMP-9 (ng/ml)	p
Kontrol	13	$4, 16 \pm 6, 11$ (0.24-18.72)	0, 709
PES	12	$3, 54 \pm 5, 09$ (0-19.36)	

Her bir grup için HA’de tespit edilen TIMP-1 seviyeleri; kontrol grubunda ortalama $21, 1 \pm 16, 08$ ng/ml, PES grubunda $31, 2 \pm 37, 9$ ng/ml seviyelerinde bulundu. HA’de TIMP-1 seviyeleri PES grubunda, kontrol grubuna göre artmış düzeyde tespit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,202$) (Tablo 5).

Tablo-5. PES ve kontrol gruplarında hümör aközde TIMP-1 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Göz sayısı (n)	TIMP-1 (ng/ml)	p
Kontrol	33	$21, 1 \pm 16, 08$ (4.16-84.66)	0, 202
PES	24	$31, 2 \pm 37, 9$ (1.46-190.32)	

Her bir grup için serumda tespit edilen MMP -9 seviyeleri; kontrol grubunda ortalama $427, 4 \pm 435, 7$ ng/ml, PES grubunda $283, 7 \pm 348, 6$ ng/ml seviyelerinde bulundu.

Serumda MMP-9 seviyeleri PES grubunda, kontrol grubuna göre azalmış seviyelerde tespit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,085$) (Tablo 6).

Tablo-6. PES ve kontrol gruplarında serumda MMP-9 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	MMP-9 (ng/ml)	p
Kontrol	30	427, 4 \pm 435, 7 (8.20-1942.87)	0, 085
PES	23	283, 7 \pm 348, 6 (4.60-1480.68)	

Her bir grup için serumda tespit edilen TIMP-1 seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 97, 5 \pm 57, 9 ng/ml, PES grubunda 122, 4 \pm 150, 3 ng/ml seviyelerinde bulundu. Serumda TIMP-1 seviyeleri PES grubunda kontrol grubuna göre artmış düzeyde tespit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,311$) (Tablo 7).

Tablo-7. PES ve kontrol gruplarında serumda TIMP-1 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı(n)	TIMP-1 (ng/ml)	p
Kontrol	30	97, 5 \pm 57, 9 (18.72-231.92)	0, 311
PES	23	122, 4 \pm 150, 3 (22.88-630.76)	

Her bir grup için serumda tespit edilen CTGF seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 449, 4 \pm 459, 6 ng/ml, PES grubunda 570, 9 \pm 1222, 1 ng/ml seviyelerinde bulundu. Serumda CTGF seviyeleri PES grubunda, kontrol grubuna göre artmış düzeyde tespit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,199$) (Tablo 8).

Tablo-8. PES ve kontrol gruplarında serumda CTGF (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	CTGF (ng/ml)	p
Kontrol	30	449, 4 ± 459, 6 (65.0-1981.0)	0, 199
PES	23	570, 9 ± 1222, 1 (10.0-5939.0)	

Her bir grup için serumda tespit edilen VEGF seviyeleri; kontrol grubunda ortalama 381, 7±226, 2 ng/ml, PES grubunda 333±241, 7 ng/ml seviyelerinde bulundu. Serumda VEGF seviyelerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0, 404) (Tablo 9).

Tablo-9. PES ve kontrol gruplarında serumda VEGF (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	VEGF (ng/ml)	p
Kontrol	30	381, 7 ± 226, 2 (76.0-982.0)	0, 404
PES	23	333 ± 241, 7 (25.0-974.0)	

PES grubu içinde bulunan hastaların ayrıca PEG- ve PEG+ alt grupları olarak ikiye ayrılmasıyla yapılan analizde HA'de MMP-9 seviyeleri, sırasıyla; 10, 77 ± 24, 9 ng/ml, 6, 24 ± 7, 39 ng/ml saptandı. PEG+ alt grubunda PEG- alt grubuna göre MMP-9 seviyelerinin daha düşük olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildi (p=0, 149) (Tablo 10).

Tablo-10. PEG- ve PEG+ alt gruplarında hümor aközde MMP-9 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Göz sayısı (n)	MMP-9 (ng/ml)	p
PEG- alt grubu	7	10, 77 ± 24, 9 (0.24-67.28)	0, 149
PEG + alt grubu	5	6, 24 ± 7, 39 (1.36-19.36)	

PEG- alt grubu ile PEG+ alt grupları arasında HA'de TIMP-1 seviyelerini karşılaştırdığımızda; PEG+ grubunda PEG- alt grubuna göre belirgin derecede artış saptandı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu (p=0, 012) (Tablo 11).

Tablo-11. PEG- ve PEG+ alt gruplarında hümor aközde TIMP-1 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Göz sayısı (n)	TIMP-1 (ng/ml)	P
PEG- alt grubu	18	19, 4 ± 10, 01 (1.46-37.23)	0, 012
PEG + alt grubu	6	66, 8 ± 65, 29 (17.06-190.32)	

PEG- alt grubu ile PEG+ alt grupları arasında serumda tespit edilen MMP-9 seviyeleri, sırasıyla; 315, 8 ± 382, 3 ng/ml, 223, 5 ± 288, 5 ng/ml saptandı. PEG+ alt grubunda PEG- alt grubuna göre daha düşük MMP-9 değeri tesit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamadı (p=0, 591) (Tablo 12).

Tablo-12. PEG- ve PEG+ alt gruplarında serumda MMP-9 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	MMP-9 (ng/ml)	P
PEG – alt grubu	15	315, 8 ± 382, 3 (4.60-1480.68)	0, 591
PEG + alt grubu	8	223, 5 ± 288, 5 (41.5-913.59)	

PEG- alt grubu ile PEG+ alt grubu arasında serumda TIMP-1 seviyelerini karşılaştırdığımızda; PEG- alt grubunda PEG+ alt grubuna göre artış saptandı. İki grup arasında bulunan fark istatistiksel olarak sınırda anlamsız bulundu (p=0, 065) (Tablo 13).

Tablo-13. PEG- ve PEG+ alt gruplarında serumda TIMP-1 (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	TIMP-1 (ng/ml)	P
PEG – alt grubu	15	149, 55 ± 174, 51 (30.68-630.76)	0, 065
PEG + alt grubu	8	71, 56 ± 75, 12 (22.88-244.40)	

PEG- ve PEG + alt gruplarında serumda tespit edilen CTGF seviyeleri, sırasıyla; 307, 13 ± 314, 77 ng/ml, 1065, 62 ± 2016, 73 ng/ml saptandı. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0, 681) (Tablo 14).

Tablo-14. PEG- ve PEG+ alt gruplarında serumda CTGF (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	CTGF (ng/ml)	p
PEG – alt grubu	15	307, 13 ± 314, 77 (75.0-1225.0)	0, 681
PEG + alt grubu	8	1065, 62 ± 2016, 73 (10.0-5939.0)	

PEG- ve PEG + alt gruplarında serumda tespit edilen VEGF seviyeleri, sırasıyla; 334, 26 ± 280, 17 ng/ml, 330, 87 ± 163, 24 ng/ml saptandı. İki grubun serum VEGF seviyeleri hemen hemen benzerdi ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (p=0, 776) (Tablo 15).

Tablo-15. PEG- ve PEG+ alt gruplarında serumda VEGF (ng/ml) seviyeleri

Grup	Hasta sayısı (n)	VEGF (ng/ml)	p
PEG – alt grubu	15	334, 26 ± 280, 17 (25.0-974.0)	0, 776
PEG + alt grubu	8	330, 87 ± 163, 24 (71.0-546.0)	

5. TARTIŞMA

PES anormal ekstrasellüler matriks materyalinin çeşitli oküler dokularda yapılması ve birikmesi ile karakterize tablodur. Altmış yaş ve üzerinde %10-20 sıklıkla görülen PES tüm dünyada glokomun bilinen en sık nedenidir. Epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde tüm dünyada yaygın olduğu, ancak değişik sıklıkta görüldüğü dikkat çekmektedir. PES'in görülme sıklığı toplumdan topluma, etnik gruplara, araştırma şekillerine ve yaşa göre değişse de, yaşla birlikte görülme sıklığının arttığı görülmüştür (33). Nitekim çalışmamızda da PES'li olan grubumuz $73, 5 \pm 11, 9$ yıl yaş ortalamasına sahipken kontrol grubumuzun yaş ortalaması ise $64, 1 \pm 21, 4$ idi ve her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu. Cinsiyete göre psödoeksfoliasyon prevalansında tam bir fikir birliği olmamasına rağmen bir çok çalışmada kadın-erkek oranının eşit olduğu görülmüştür (9). Bu tez çalışmasında ise kontrol grubunda kadın erkek oranı eşitken PES grubunda erkek cinsiyet tutulumunun daha ön planda olduğu gözükmemektedir (kadın %33, 3 , erkek %66, 6).

PES göz ön segmentindeki dokularda birikmesi sonucu, glokom ve katarakta ek olarak fakodonesis, lens subluksasyonu, yetersiz midriyasiz, posterior sineşi, melanin pigment dispersiyonu, kan-aköz bariyeri bozulması ve korneal endotelial dekompanzasyonu gibi komplikasyonlardan da sorumludur. Etiyopatogenezinde ise genetik ve non-genetik faktörleri içeren multifaktöryel, geç başlangıçlı, kompleks bir hastalıktır.

Psödoeksfoliasyonun dokularda hangi mekanizmalarla ortaya çıktığı ve nasıl engellenebileceği ve böylece; belki de bazı hastalarda daha hastalık ortaya çıkmadan bir takım önlemler alınabileceği düşüncesi ile bazı çalışmalar yapılmaktadır (3-4). Yapılan deneysel çalışmalarda PES'li hastaların çoğunlukla HA kompozisyonları incelenmiş ve analiz edilmiştir (52, 63, 183-186). Tüm ön segment oküler dokuları bu sıvıyla temas halinde olduğundan, HA'ün , bu dokularda etkili olan faktörlerden etkilenmiş olması kuvvetle muhtemeldir.

HA ve trabeküler ağda MMP ve TIMP'lerin varlığı geçmişte yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Çoğunlukla zimografi ve immunblot tekniklerinin kullanıldığı bu çalışmalarda, HA ve trabeküler ağda MMP ve inhibitörlerinin kantitatif değerleri ve birbirlerine oranları tartışılmıştır (187-190).

Schlötzer-Schrehardt ve ark.'nın 2003'de yayımladıkları geniş ve ayrıntılı çalışmalarında ise HA ve serumda MMP ve TIMP'ler geniş bir spektrumda ele alınmıştır. Zymografi, immunoblot ve ELİSA tekniklerini kullanarak yaptıkları çalışmalarında; birçok MMP ve TIMP'in HA ve serumdaki varlıkları, aktiviteleri ve kantitatif konsantrasyonları tespit edilmiştir. Yüz katarakt (kontrol grubu), 100 PES'li hasta, 100 PEG'li hasta ve 100 PAAG'lı hastanın HA ve serum örnekleri analiz edilmiştir. Sonuçta PES'li hastalarda (glokomu mevcut olan ve olmayanların tümünde), normal kontrol grubuyla karşılaştırıldığında total MMP-2 konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı artış saptandığı bildirilmiştir. MMP-9'un ise tüm gruplarda standart kitlerle gösterilemeyecek kadar az konsantrasyonda olduğu bulunmuştur. Bazı çalışmalarda serebrospinal sıvıda ultra sensitif immunoassay yöntemiyle MMP-9'un minimal miktarlarda saptandığı gösterildiği için bu yöntem kullanılmış ancak bu yöntemle de gruplar arasında anlamlı fark olmadığı rapor edilmiştir (3, 191). Bu çalışmada kontrol grubuna göre, PES, PEG ve PAAG'da MMP-9'un serum düzeylerinde belirgin olarak azalma saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. Aynı çalışmada HA'de TIMP-1 düzeyleri; 210, 8 ng/ml ile 1803, 8 ng/ml arasında değişen miktarlarda tüm gruplarda gösterilmiştir. HA TIMP-1 düzeyinde PES ve PEG'de, kontrol ve PAAG'a göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Bu artış PEG'de, PES'e göre daha belirgindir. PES'li hastalarda, glokomlu ya da glokomsuz tümünde, kontrol ve PAAG gruplarıyla karşılaştırıldığında serum TIMP-1 konsantrasyonlarında artış saptandığı bildirilmiştir ancak istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildir. Bu çalışmada PES grubunda serum TIMP-1 seviyeleri 1441.5 ± 480.1 ng/ml saptanırken, PEG grubunda 1428.1 ± 599.7 ng/ml saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda da HA MMP-9 seviyeleri kontrol grubunda ortalama $4, 16 \pm 6, 11$ ng/ml, PES grubunda ise $3, 54 \pm 5, 09$ ng/ml seviyelerinde bulundu. PES grubunda, kontrol grubuna göre azalmış MMP-9 seviyeleri tespit edilmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Schlötzer-Schrehardt ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde bazı hastalarımızda MMP-9 seviyeleri standart kitlerle gösterilemeyecek kadar az konsantrasyonlarda saptanmıştır ve bu hastalar çalışmadan çıkarılmıştır.

PES grubu içindeki PEG(-) ve PEG (+) alt gruplarında HA'de MMP-9 seviyeleri sırasıyla; $10, 77 \pm 24, 9$ ng/ml, $6, 24 \pm 7, 39$ ng/ml saptandı. PEG(+) alt grupta PEG (-) alt grubuna göre daha düşük düzeylerde MMP-9 saptanmasına rağmen, Schlötzer-Schrehardt ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildi.

Bu tez çalışmasında serum MMP-9 seviyeleri; PES grubunda $283, 7 \pm 348, 6$ ng/ml, kontrol grubunda ise $427, 4 \pm 435, 7$ ng/ml düzeylerinde tespit edildi. Schrehardt ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde PES grubunda kontrol grubuna göre serum MMP-9 seviyelerinde azalma saptanmasına rağmen çalışmamızda iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır.

PES grubunda glokomu mevcut olanlar ve olmayanları karşılaştırdığımızda PEG(+) alt grubunda PEG(-) alt grubuna göre serum MMP-9 seviyeleri daha azalmış düzeydeydi fakat iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildi. Schrehardt ve ark.'nın çalışmasında da en düşük serum MMP-9 seviyeleri PEG grubundaki hastalara aitti.

Çalışmamızda HA'de TIMP-1 seviyeleri; kontrol grubunda ortalama $21, 1 \pm 16, 08$ ng/ml, PES grubunda $31, 2 \pm 37, 9$ ng/ml seviyelerinde bulundu. HA'de TIMP-1 seviyeleri PES grubunda, kontrol grubuna göre artmış düzeylerde tespit edildi, ancak iki grup karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık saptanamadı. PES grubu içindeki PEG(-) alt grubu ve PEG (+) alt gruplarında HA'de TIMP-1 seviyeleri sırasıyla; $19, 4 \pm 10, 01$ ng/ml, $66, 8 \pm 65, 29$ ng/ml saptandı. PEG (+) alt grubunda PEG(-) alt grubuna göre HA TIMP-1 seviyelerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çalışmamızda, Schlötzer-Schrehardt ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde, serumda TIMP-1 seviyeleri PES grubunda kontrol grubuna göre artmış düzeylerde tespit edilmesine (sırasıyla $122 \pm 150, 3$ ve $97, 5 \pm 57, 9$ ng/ml) rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. Yine çalışmamızda, Schlötzer-Schrehardt ve ark.'nın çalışmasına benzer şekilde; PEG (+) alt grubunda, PEG (-) alt gruba göre serum TIMP-1 seviyeleri daha düşük düzeylerde tespit edildi ve iki grup arasında istatistiksel olarak sınırda anlamsızlık saptandı.

Bradley ve ark.'nın perfüze insan ön segment doku kültürlerinde yaptıkları çalışmasında TIMP'lerin HA dışı akım oranını azalttığı rapor edilmiştir (192). TIMP-1 MMP-9'un latent ve aktif formlarının her ikisine birden bağlanarak onu inhibe etmektedir (193).

Ho ve ark.'nın çalışmasında çalışmamızda bahsedilen sonuçlara benzer olarak PES'de HA'de MMP-9 düzeyleri standart kitlerle saptanamayacak kadar düşük değerlerde saptanmıştır. Ancak TIMP-1 düzeylerinde kontrol grubuna göre PEG grubunda 2 kat, PES grubunda ise 1.5 kat artış saptanmıştır. Bu tez çalışmasında da Ho ve ark.'nın çalışmasına benzer olarak HA TIMP-1 düzeylerinde PES grubunda yaklaşık 1, 5 kat, PEG(+) alt grubunda ise 3 kat artış saptandı. Anormal ekstrasellüler matriks birikiminin eşlik ettiği fazla TIMP-1 ekspresyonu, yeni sentezlenen matriks yıkımını engelleyerek PES patogenezinde yer alan matriks metabolizmasındaki disregülasyon hipotezini desteklemektedir (4). Yükselmiş TGFB1 seviyeleri ve ek olarak azalmış oksijen basıncı da PES'de HA'de TIMP-1 artışına katkıda bulunmaktadır (9, 52, 72, 195).

Tüm bu çalışmaların aksine, Gartaganis ve ark. tarafından yapılan daha küçük kapsamlı bir çalışmada, 15 katarakt (kontrol grubu) ve 19 PES hastasının HA örneklerinde MMP ve TIMP düzeyleri analiz edilmiştir. Bu çalışmada HA'de PES'de kontrol grubuna göre matriks metalloproteinazlardan özellikle MMP-2 ve MMP-9 düzeylerinde artış, TIMP-1 düzeylerinde ise azalma saptanmıştır. Diğer çalışmalardan aksi yönde sonuçlar elde edilen bu çalışmada Gartaganis ve ark. MMP düzeylerinde artışın sebebinin; kan aköz bariyerinde defekt veya HA dışı akımında azalmadan ziyade, cerrahi öncesi yapılan pupil dilatasyonu sonrasında iris pigment epitelinin lens kapsülüne doğru hareketiyle oluşan sürtünmeyle MMP salınımında artışın neden olduğu düşünülmüştür (185).

PES'de, ekstrasellüler matriks bileşenlerinin artmış sentezi veya azalmış döngüsü söz konusudur. Ekstrasellüler matriks döngüsü, HA'de varlığı gösterilmiş olan MMP'ler tarafından düzenlenmektedir. Normal ekstrasellüler matriks dengesi için, MMP ve TIMP oranı 1:1 olmalıdır (3). Bu orandaki herhangi bir dengesizlik aşırı veya yetersiz matriks yıkımına ve matriks birikimine neden olabilir. Proteazların aşırı sentezi veya MMP aktivitesinin artması, inflamatuvar hastalıklarda olduğu gibi anormal matriks yıkımına yol açar (111, 115, 190, 196-199). Buna zıt olarak, inhibitörlerin aşırı sentezi veya MMP aktivitesinin azalması, kronik fibrotik hastalıklarda olduğu gibi anormal matriks birikimine neden olabilir (115, 197, 200).

Normal HA'de MMP'lerin kaynağı tam olarak bilinmemektedir. Kornea endoteli ya da trabeküler ağ gibi çevre doku ve hücrelerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda yapılan bir çalışmada PEG ve PAAG'lu hastalara derin sklerektomi

uygulanmış ve alınan doku örneklerinde schlemm kanalı iç duvarı ve jukstakanaliküler dokuda TIMP ve MMP ekspresyonu immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir (201).

PAAG ve PEG’de aközde artmış seviyelerdeki MMP ve TIMP’lerin ön segment dokularından kaynaklanabileceği gibi bozulmuş kan aköz bariyeri nedeniyle de olabileceği bildirilmiştir (72). PAAG ve PEG’de trabeküler ağda anormal ekstrasellüler matriks birikimi gösterilmiştir. Trabeküler ağ HA’ün dışa akımını kontrol eder. Bu nedenle burada oluşacak birikim dışa akım direncini etkileyecektir. Aynı zamanda PES’de TGF β 1 seviyelerinde de artış gösterilmiştir (52). TGF- β 1 birçok fibrotik hastalıkta matriks formasyonu oluşumunda majör mediatör olarak rol almaktadır. PES’de HA’de hem latent hem de aktif formları artmış olan TGF- β 1’in ön segment dokuları tarafından üretildiği düşünülmektedir. İn vitro şartlarda PEM oluşumunu hızlandırdığı tespit edilen TGF- β 1’in, PES’de kilit rolü oynayan bir aracı olduğu düşünülmektedir (52).

CTGF yara iyileşmesi ve inflamasyon, hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks yeniden yapılanmasını içeren önemli fonksiyonlara sahiptir (136). Yapılan çalışmalarda CTGF’nin ekstrasellüler matriks metabolizmasını direkt olarak kollajen sentezini arttırarak ve MMP, TIMP ekspresyonunu düzenleyerek etkilediği gösterilmiştir (137). Aynı zamanda trabeküler ağ ve HA’dan CTGF ekspresyonunun mevcut olduğu saptanmıştır (143).

HA’de CTGF düzeylerinin değerlendirildiği ilk çalışma Van Setten ve ark. tarafından yapılmıştır. Sadece kataraktı mevcut olan 10 normal hastadan katarakt cerrahisi esnasında alınan HA örneklerinin analiz edildiği bu çalışmada ortalama CTGF düzeyleri 1.24 ± 0.26 ng/ml saptanmıştır (149).

Ho ve ark.’nın yaptıkları çalışma ise PES hastalarında CTGF düzeylerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu çalışmada PES’de, HA’de MMP ve TIMP’in yanı sıra CTGF düzeyleri de araştırılmıştır. Çalışmada 69 PES hastası (glokumu olan veya olmayan) , 17 üveit hastası ve 119 katarakt (kontrol grubu) hastasından alınan HA örnekleri değerlendirilmiştir. CTGF düzeylerinin tespit edilmesinde ELİSA yöntemi kullanılmıştır. PES ‘de özellikle glokomun eşlik ettiği grupta HA CTGF düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (4). Aynı çalışmada PES’li hastaların HA örneklerinde yüksek düzeylerde saptanan TIMP-1 ile birlikte CTGF’nin bereaber çalışarak ekstrasellüler matriks sentezini arttırdığı ve patolojiyi hızlandırdığı düşünülmektedir (4).

Çalışmamızda CTGF düzeylerini saptayabilmek için yeterli miktarda HA mevcut olmadığı için CTGF düzeyleri yalnızca serumda analiz edilmiştir. Yapılan literatür araştırmasında günümüze değin PES veya PEG hastalarının serum örneklerinde CTGF düzeylerinin araştırıldığı hiçbir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamız bu özelliği nedeniyle bir ilktir. Çalışmamızda serum örneklerinde ELİSA yöntemi ile değerlendirilen CTGF seviyeleri PES grubunda $570, 9 \pm 1222, 1$, kontrol grubunda $449, 4 \pm 459, 6$ ng/ml olarak saptandı. PES grubunda kontrol grubuna göre CTGF düzeyleri daha yüksek olmasına rağmen iki grup arasında anlamlı farklılık saptanamadı. PES grubu içindeki PEG(-) alt grubu ve PEG (+) alt gruplarını karşılaştırdığımızda serum CTGF seviyeleri PEG (+) alt grubunda belirgin olarak yükselmişti ancak bu iki grup arasında da anlamlı farklılık saptanamadı. İstatistiksel anlamlılık olmasa da çalışmamızda PES olgularında CTGF düzeylerinin kontrol olgularından yüksek bulunması PES’de fibrotik patolojiyi destekler niteliktedir.

Yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada 25 PEG, 25 PAAG ve 25 katarakt (kontrol grubu) hastasından alınan HA örnekleri analiz edilmiştir. MMP-2, TIMP-2, CTGF düzeylerinin ELİSA yöntemi ile değerlendirildiği bu çalışmada CTGF konsantrasyonunda PEG grubunda , PAAG ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır. Bu çalışmada aynı zamanda PEG grubunda, kontrol grubuna göre MMP-2 düzeylerinde de anlamlı artış saptanmıştır. PEG’li hastalarda, CTGF ve MMP-2 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. CTGF ve MMP-2 düzeylerinde ki artışa, sirkülasyondan pasif geçişlerinden ziyade ön segment dokuları tarafından lokal üretiminde artışın neden olduğu bu bulguyla desteklenmektedir (202).

Browne ve ark. tarafından yapılan çalışmada PEG, PES, PAAG ve katarakt hastalarının oluşturduğu grupların HA örnekleri analiz edilmiştir ve en yüksek CTGF düzeyleri PEG grubunda saptanmıştır. Bu çalışmada PEG grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (203).

CTGF TGF- β ’nın fibrojenik etkisini azaltan kritik bir mediatördür. TGF- β ‘ye benzer şekilde ekstrasellüler matriksin artışı ile giden patolojik durumlarda CTGF ekspresyonu artmaktadır. Kültüre edilmiş trabeküler ağ hücrelerinin TGF- β 2 ile tedavisi CTGF ekspresyonunda artışa neden olmaktadır (204). Aynı zamanda trabeküler ağda mekanik gerginlik sonrası CTGF düzeylerinde artış saptanmıştır (205). Bu etkiye olasılıkla trabeküler ağ hücrelerinde gerginlik sonrası artan TGF- β 1’in CTGF ekspresyonunu indüklemesi neden olmaktadır (206).

Bazı çalışmalarda oküler dokularda HA dışında vitreus örneklerinde de CTGF düzeyleri araştırılmıştır. Özellikle fibrozis ile ilişkili vitreoretinal hastalıklardan proliferatif diabetik retinopati, proliferatif vitreoretinopati, epiretinal membran ve makuler hole sahip hastalardan alınan vitreus örnekleri incelenmiştir (207). CTGF düzeyleri ile fibrozis ve neovaskülarizasyon dereceleri arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada fibrozis derecesi ile CTGF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmıştır (207). Ana rolü ekstrasellüler matriks oluşumunu indükleyen CTGF'nin bu hastalıklarda yüksek düzeylerde tespit edilmesi akla anti-CTGF tedavileri ile fibrozis oluşumunu engellemeyi getirmektedir.

VEGF, özellikle damar oluşumunda kritik rol oynadığı, endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilen embriyogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, miyokardial iskemi, oküler neovasküler hastalıklar gibi bir çok fizyolojik ve fizyopatolojik olaylarda gerekli bir faktördür (208, 209).

VEGF ekspresyonunda ana düzenleyici, hipoksinin indüklediği faktör-1'dir (HIF-1) (162, 163). Aynı zamanda , iskemi, protein kinaz C aktivasyonu ve reaktif oksijen ürünleri ile VEGF ekspresyonu indüklenmektedir (210, 211). VEGF, proliferatif diabetik retinopati, neovasküler glokom, primer açık açılı glokom, üveit ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu gibi oküler hastalıklarda HA ve vitreusta yüksek konsantrasyonda saptanmıştır(173-182).

Vasküler düz kas hücreleri ve perisitlerden VEGF üretilmektedir. Oküler dokularda ise kornea endoteli, iris pigment epiteli, retina pigment epiteli, retina ganglion hücreleri, astrositler, müller hücreleri, üveal melanositler ve koroidal fibroblastlar tarafından VEGF üretimi ve ekspresyonu gösterilmiştir (166-172). HA'de VEGF konsantrasyonu ile ilgili çalışmalar sadece glokomun birkaç subtipinde mevcuttur.

Hu ve ark. çalışmasında PAAG'lu 27 göz, PEG'li 16 göz ve dar açılı glokomlu 8 göz ile kontrol grubu olarak sadece katarakt mevcut olan 33 gözü çalışma kapsamında değerlendirilmiştir. Hastalardan katarakt cerrahisi esnasında alınan HA ve cerrahi öncesi alınan plazma örnekleri analiz edilmiş ve gruplar arasındaki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Sadece katarakt mevcut olan kontrol grubunda; HA VEGF konsantrasyonu diğer 3 glokom grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır. Glokom grupları arasında ise HA VEGF düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu çalışmada PEG'li gözlerdeki HA VEGF düzeyleri diğer glokom gruplarına göre daha yüksek düzeylerde saptanmamıştır. Olasılıkla PEG'in daha ileri seviyelerinde VEGF konsantrasyonunda artış olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada aynı zamanda

HA'deki VEGF kökenini belirlemek için 46 hastadan (40 hasta glokom, 6 hasta katarakt) alınan plazma örnekleri incelenmiştir. Glokom grubunda plazma VEGF düzeylerinde artış mevcuttur ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. Gruplar arasında plazma VEGF konsantrasyonu ile HA VEGF konsantrasyonları arasında anlamlı ilişkinin saptanamadığı bu çalışmada gruplardaki HA VEGF düzeyleri plazma düzeylerinden oldukça yüksek bulunmuştur. Hipoksi, iskemi, uzun süreli yüksek glukoz düzeyleri durumlarında ön ve arka kamaradaki birçok hücre tipinden VEGF üretilmekte ve lokal olarak üretimin artmasına bağlı olarak çeşitli glokom gruplarında HA'de VEGF konsantrasyonu artmaktadır (5).

Tripathi ve ark.'nın çalışmasında ise sadece PAAG'lu hastalar ile katarakt (kontrol) hastalarındaki HA VEGF konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada 20 katarakt hastasının sadece 4'ünde, 28 PAAG'lu hastanın ise 15'inde HA VEGF düzeyleri analiz edilmiştir. PAAG'lu hastaların HA VEGF düzeylerinde artış saptanmıştır. Hu ve ark.'nın çalışmasında ise çalışmaya katılan bütün gözlerde VEGF düzeyleri analiz edilebilmiş ve aynı zamanda PEG ve dar açılı glokomda da HA VEGF konsantrasyonlarında artış saptanmıştır (176). İki çalışma sonuçları arasında farklılığın en önemli nedeni kullanılan methodların farklı olmasıdır.

Çalışmamızda VEGF düzeylerini saptayabilmek için yeterli miktarda HA mevcut olmadığı için VEGF düzeyleri yalnızca serumda analiz edilmiştir. Kontrol grubunda serum VEGF düzeyleri ortalama $381,7 \pm 226,2$ ng/ml, PES grubunda ise $333 \pm 241,7$ ng/ml seviyelerinde bulunmuştur ve her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. Hu ve ark. çalışmasında bizim çalışmamızdan farklı olarak plazmada VEGF düzeyleri incelenmiştir, ancak bu çalışmada da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır (5). Çalışmamızda PEG (-) ve PEG (+) alt gruplarının serum VEGF düzeyleri birbirine yakındır ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcut değildir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise PES'de HA'de VEGF düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir(6). Borazan ve ark., 37'si PES, 15 PEG'li ve 32 kontrol olguda HA ve plazmada VEGF ve nitrik oksit (NO) düzeylerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada PES'li ve PEG'li hastaların, HA ve plazmasında VEGF düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek seviyelerde tespit etmişlerdir. PEG'li grupta HA ve plazma VEGF düzeyleri, PES grubuna göre daha yüksek düzeylerde saptanmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır. HA NO düzeyleri anlamlı olarak yüksekken, plazmada her üç grupta

da NO düzeyleri arasında fark bulunamamıştır. Gruplar karşılaştırıldığında hem HA hem de plazmada VEGF ve NO düzeyleri arasında korelasyon saptanamamıştır. Bu çalışmada HA ve plazmada VEGF düzeylerinde artışta PES'in iskemik doğasının etken olduğu ileri sürülmektedir (6). PES'de ve PEG'de HA'de, VEGF konsantrasyonunda artışın sebebi iskemi, hipoksi veya reaktif oksijen ürünlerinde artış ile ilişkili olabilir ve bu tablonun çok güncel olan anti-VEGF tedavilerden yararlanabileceği düşünülmektedir (6).

Bu tez çalışmasının temel kısıtlamaları HA örneklerinin analizinde örnek hacminin (100 µl) kısıtlı olması nedeniyle HA'de VEGF ve CTGF düzeyi ölçümlerinin yapılamamış olması ve ayrıca bazı olgularda HA örneklerinin derin dondurucuda dehidratasyonuna bağlı örnek hacminin yetersiz kalması nedenleriyle toplamda incelenen HA örneği sayısının planlananın altında kalmış olmasıdır. Ayrıca serum örneklerinin bazılarında hemoliz görülmesi üzerine hatalı sonuçlardan kaçınmak amacıyla bu örnekler çalışma dışı bırakıldı. Ek olarak bazı HA örneklerinde MMP-9 düzeyinin ticari kitin hassasiyet sınırı altında kalması nedeniyle sonuç alınan örnek sayısı kısıtlı kalmıştır. Örnek sayılarındaki kısıtlamalar gruplar arasında yapılan karşılaştırmaların bazılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamasının sebebi olabilir. Bu kısıtlamalara rağmen bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürle uyum içindedir.

6. SONUÇ

PES, gri beyaz renkte fibrogranüler ekstrasellüler bir materyalin oküler ve sistemik olarak üretilmesi ve depolanmasıyla karakterize bir tablo olup nedeni henüz kesin olarak ortaya konamamıştır. Etiyopatogeneizde öne sürülen görüşler stresin indüklediği spesifik bir tip elastozis, elastik mikrofibrillerin aşırı üretimi ve birikimi, LOXL1 kapsayan çapraz bağlama süreçleri, TGF β -1 düzeylerinde artış, MMP ve TIMP arasındaki proteolitik dengesizlik, hücresel ve oksidatif stres artışı gibi durumlardır.

Oküler dokularda ekstrasellüler matriks döngüsü MMP'ler tarafından düzenlenmektedir. MMP ile onun inhibitörü olan TIMP düzeylerinde dengesizlik aşırı veya yetersiz matriks yıkımına ve matriks birikimine neden olabilir. Bu çalışmada PES mevcut olan ve katarakt haricinde oküler patolojisi bulunmayan kontrol grubu hastalarda HA ve serum örneklerinde TIMP-1, MMP-9, CTGF, VEGF düzeyleri ELİSA yöntemiyle analiz edildi.

HA örneklerinde PES grubunda kontrol grubuna göre MMP-9 düzeylerinde azalma, TIMP-1 düzeylerinde artış saptandı. Benzer şekilde serum örneklerinde de MMP-9 düzeyleri PES grubunda daha düşük, TIMP-1 ise daha yüksek olarak tespit edildi. PES grubu glokomu mevcut olanlar (PEG + alt grubu) ve olmayanlar (PEG- alt grubu) olarak ikiye ayrıldığında; PEG+ alt grubunda PEG- alt grubuna göre HA ve serum MMP-9 seviyelerinde azalma ve serum TIMP-1 seviyelerinde belirgin artış saptandı. Bu durum glokom gelişen PES olgularında ekstrasellüler matriks döngüsünün daha abartılı olarak bozulduğu izlenimi vermektedir.

CTGF yara iyileşmesi ve inflamasyon, hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks yeniden yapılanmasını içeren önemli fonksiyonlara sahiptir. Bu çalışmada serum CTGF düzeylerinin PES grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması CTGF'nin PES patogenezinde yer alan fibrotik patolojiyi hızlandırdığını düşündürmektedir. Serum CTGF seviyelerinin PEG (+) alt grubunda PEG (-) alt grubundan daha yüksek oluşu ise CTGF'nin glokom gelişimine katkıda bulunabileceği ya da glokomun ortaya çıkışının PES'in daha ileri bir formu olduğuna işaret edebilir. Ayrıca CTGF'nin yüksek

düzeylerdeki TIMP-1 ile birlikte çalışarak ekstrasellüler matriks sentezini arttırdığı ve patolojiyi hızlandırdığı da düşünülebilir.

Bu çalışmada serum VEGF düzeyleri PES ve kontrol gruplarında birbirine oldukça yakın düzeylerde bulunmuştur. VEGF düzeylerinde değişikliklerin PES gelişimine katkısının olup olmadığı net olarak ortaya konulamamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada PES olgularında hem HA'de hem serumda düşük MMP-9 seviyesi ve artmış TIMP-1 seviyesi bulunması bu olgularda ekstrasellüler matrikste proteolitik aktivitenin bozulmuş olduğunu desteklemektedir. Matriks döngüsündeki bu dengesizliğin PES etiyopatogenezinde önemli mekanizmalardan biri olduğu ve ayrıca glokom gelişimine de katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. Gelecekte MMP/TIMP ekspresyonunu düzenleyecek tedavi yöntemlerinin ve anti-CTGF'lerin geliştirilmesinin PES'e bağlı oküler morbiditeyi önlemede potansiyeli olabileceği öngörülmüştür.

ÖZET

Amaç: Ülkemizde sık rastlanan psödoeksfoliasyon sendromunda (PES) etiopatogenez halen tartışmalı bir konudur. Bu çalışmada PES bulunan ve PES bulunmayan bireyler arasında hümor aközde (HA) ve serumda matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri 1 (TIMP-1), matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9), bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) düzeylerinin farklı olup olmadığını ve dolayısıyla bu maddelerin regülasyonunun gelecekte PES tedavisinde potansiyel rolü olup olamayacağını incelemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya katarakt ameliyatı geçiren toplam 72 hastanın 72 gözü (PES grubu n:30, katarakt haricinde okuler patolojisi bulunmayan kontrol grubu n:42) dahil edildi. Pseudoeksfoliatif glokomu (PEG) olan PES hastaları “PEG +” alt grubu, glokom saptanmayan PES hastaları ise “PEG -” alt grubu olarak belirlendi. Hastalardan operasyon gününde koldan 5 ml kan örneği, operasyon başlangıcında ön kamaradan 100-200 µl HA örneği alındı. Kan örneklerinin santrifüjü sonrası elde edilen serum örnekleri ile HA örnekleri derin dondurucuda analiz edilinceye kadar muhafaza edildi. HA örneklerinde TIMP-1 ve MMP-9 düzeyleri, serum örneklerinde TIMP-1, MMP-9, CTGF ve VEGF düzeyleri ELİSA kitleri kullanılarak belirlendi.

Bulgular: Ortalama HA MMP-9 ve TIMP seviyeleri PES grubunda sırasıyla 3, 54±5, 09 ng/ml ve 31, 2±37, 9 ng/ml, kontrol grubunda sırasıyla 4, 16±6, 11 ng/ml ve 21, 1±16, 08 ng/ml olarak saptandı (p>0.05). Serum MMP-9 ve TIMP seviyeleri PES grubunda sırasıyla 283, 7±348, 6 ng/ml ve 122, 4±150, 3 ng/ml, kontrol grubunda sırasıyla 427, 4±435, 7 ng/ml ve 97, 5±57, 9 ng/ml olarak saptandı (p>0.05). Serum örneklerinde ortalama VEGF ve CTGF düzeyleri PES grubunda sırasıyla 333, 08±241, 73 ng/ml ve 570, 95±1222, 13 ng/ml, kontrol grubunda sırasıyla 381, 73±226, 2 ng/ml ve 449, 48±459, 64 ng/ml olarak saptandı (p>0.05). HA’de ortalama TIMP-1 seviyesi PEG+ alt grubunda PEG- alt grubuna göre belirgin derecede yüksek (p=0.012), HA

ortalama MMP-9 seviyesi ise PEG+ alt grubunda PEG- alt grubundan daha düşük olarak belirlendi ($p>0.05$). Ortalama serum TIMP-1 seviyesi PEG- alt grubunda PEG+ alt grubuna göre daha yüksek, ortalama serum MMP-9 seviyesi PEG+ alt grubunda PEG- alt grubuna göre daha düşük olarak saptandı ($p>0.005$). Ortalama serum CTGF düzeyi PEG+ alt grubunda PEG- alt grubundan daha yüksek iken ($p>0.005$), ortalama serum VEGF düzeyi iki alt grup arasında çok yakın düzeydeydi ($p>0.005$).

Sonuç: PES bulunan olgularda gerek HA gerekse serumda MMP , TIMP ve CTGF düzeylerinde PES bulunmayan olgulardan farklılıklar mevcuttur. Bu durum ekstrasellüler matriks homeostazının ekstrasellüler matriksin birikimi yönünde bozulduğunu desteklemektedir. PEG mevcut olgularda MMP-9, TIMP ve CTGF düzeylerinin glokomu olmayan PES olgularından farklı bulunması PEG'un PES tablosunun daha ileri bir formu olduğunu düşündürmektedir. Gelecekte MMP-9, TIMP ve CTGF arasındaki ilişkileri düzenleyecek koruyucu tedavilerin geliştirilmesiyle PES'nun gelişiminin engellenebileceği veya yavaşlatılabileceği öngörülebilir.

Anahtar kelimeler: psödoeksfoliasyon sendromu, psödoeksfoliasyon glokomu, hümor aköz, ekstrasellüler matriks, MMP-9, TIMP-1, CTGF.

RESEARCH OF TIMP, MMP, CTGF, VEGF LEVELS IN AQUEOUS HUMOR AND BLOOD, IN THE EYES OF PATIENTS. WITH AND WITHOUT PSEUDOEXFOLIATION SYNDROME

SUMMARY

Purpose: Etiopathogenesis of pseudoexfoliation syndrome (PES) which is commonly seen in our country is still controversial. In this study we aimed to determine if aqueous humor (AH) and serum levels of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 (TIMP-1), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), connective tissue growth factor (CTGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) differed between patients with PES and without PES, thus whether regulation of these substances might have a potential role in the treatment of PES.

Materials and Methods: Seventy-two eyes of 72 patients (PES group n:30, control group without any other ocular pathology except cataract n:42) undergoing cataract surgery were included in the study. Patients with pseudoexfoliative glaucoma (PEG) were further considered as PEG+ subgroup and patients without glaucoma as PEG-subgroup. Blood specimens (5 ml) were collected on the day of cataract surgery from the forearm and AH samples from the anterior chamber (100 µl) during cataract surgery. Serum specimens obtained after centrifugation of blood samples and AH samples were stored in deep freezer until analysis. TIMP-1 and MMP-9 levels were determined in AH samples and TIMP-1, MMP-9, CTGF and VEGF levels were determined in serum samples using specific enzyme immunoassays (ELISA).

Results: The mean MMP-9 and TIMP-1 AH levels were 3.54 ± 5.09 ng / ml and 31.2 ± 37.9 ng / ml in the PES group, and 21.1 ± 16.08 ng / ml and $31, 2 \pm 37.9$ ng / ml in the control group, respectively ($p > 0.05$). The mean serum levels of MMP-9 and TIMP-1 were 283.7 ± 348.6 ng / ml and 122.4 ± 150.3 in the PES group, and $427.4 \pm$

435.7 ng / ml and 97.5 ± 57.9 ng / ml in the control group, respectively ($p>0.05$). The mean VEGF and CTGF levels in serum samples were $333, 08 \pm 241, 73$ ng/ml and $570, 95 \pm 1222, 13$ ng/ml in the PES group, and $381, 73 \pm 226, 2$ ng/ml and $449, 48 \pm 459, 64$ ng/ml, in the control group respectively ($p>0.05$). HA TIMP levels were significantly higher in PEG+ subgroup compared to PEG- subgroup ($p=0.012$), while HA MMP-9 levels were lower in PEG+ subgroup compared to PEG- subgroup ($p>0.05$). Mean serum TIMP-1 level was higher in PEG - subgroup compared to PEG+ subgroup , and mean serum MMP-9 level was lower in PEG+ subgroup compared to PEG- subgroup ($p>0.005$). Mean serum CTGF levels were higher in PEG+ subgroup compared to PEG- subgroup ($p>0.005$), while mean serum VEGF levels were very close in both subgroups ($p>0.005$).

Conclusion: MMP-9, TIMP-1 and CTGF levels differ in PES patients from patients without PES in both AH and serum. This supports that extracellular homeostasis is disturbed resulting in accumulation of extracellular matrix. The findings that patients with PEG had different levels of MMP-9, TIMP-1 and CTGF compared to PES patients without glaucoma make think that PEG is a more severe form of PES. It might be foreseen that development of preventive treatments in the future by regulation of interactions between MMP-9, TIMP-1 and CTGF will inhibit or slow down the progression of PES.

Key Words: pseudoexfoliation syndrome, aqueous humor, extracellular matrix, MMP-9, TIMP-1, CTGF

KAYNAKLAR

- 1- Schlötzer-Schrehardt U, Koca MR, Nauman GOH, Volkholz H. Pseudoexfoliation Syndrome. Ocular manifestation of a systemic disease. Arch Ophthalmol.1992;110:1752-56.
- 2- Schlötzer-Schrehardt U. Molecular pathology of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma – New insights from LOXL1 gene associations. Exp Eye Res. 2009;88:776–85.
- 3- Schlötzer-Schrehardt U, Lommatzsch J, Kühle M, Konstas AGP, Naumann GOH. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44:1117-25.
- 4- Ho S.L, Dogar G.F, Wang J, Crean J, Wu Q.D, Oliver N, Weitz S, Murray A, Cleary P.E, O'Brien C. Elevated aqueous humour tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and connective tissue growth factor in pseudoexfoliation syndrome. Br. J Ophthalmol. 2005;89:169–73.
- 5- Hu DN, Ritch R, Liebmann J, Liu Y, Cheng B, Hu MS. Vascular endothelial growth factor is increased in aqueous humor of glaucomatous eyes. J Glaucoma. 2002;11:406-10.
- 6- Borazan M, Karalezli A, Küçükerdönmez C, Bayraktar N, Kulaksızoğlu 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;19:207-11.
- 7- Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC, Keshgegian AA. Pseudoexfoliative fibrilopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. Arch Ophthalmol 1992;110:1757–62.
- 8- Lindberg JG. Clinical investigations on depigmentation of the pupillary border and translucency of the iris in cases of senile cataract and in normal eyes in elderly persons. Acta Ophthalmol 1989;190:1–96.

- 9- Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Survey Ophthalmol* 2001;45:265-315.
- 10- Dvorak-Theobald G. Pseudo-exfoliation of the lens capsule:relation to true exfoliation of the lens capsule as reported in the literature and role in the production of glaucoma capsulocuticularis. *Am J Ophthalmol* 1954;37:1-12.
- 11- Eagle RC Jr, Font RL, Fine BS. The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1979;97:510-5.
- 12- Sunde OA. On the so-called senile exfoliation of the anterior lens capsule; a clinical and anatomical study. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1956; 45:1-85.
- 13- Mitchell P, Wang JJ, Hourihan F. The relationship between glaucoma and pseudoexfoliation: the Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 1999;117:1319-24.
- 14- Aasved H. The geographical distribution of fibrillogluthia epitheliocapsularis, so-called senile exfoliation or pseudoexfoliation of the anterior lens capsule. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1969; 47:792-810.
- 15- Ringvold A. Epidemiology of the pseudo-exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand.* 1999;77:371-5.
- 16- Forsius H, Forsman E, Fellman J, Eriksson AW. Exfoliation syndrome: frequency, gender distribution and association with climatically induced alterations of the cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol Scand.* 2002;80:478-84.
- 17- Forsius H. Prevalence of pseudoexfoliation of the lens in Finns, Lapps, Icelanders, Eskimos, and Russians. *Trans Ophthalmol Soc U K.* 1979;99:296-8.
- 18- Aasved H. Prevalence of fibrillogluthia epitheliocapsularis (pseudoexfoliation) and capsular glaucoma. *Trans Ophthalmol Soc U K.* 1979; 99:293-5.
- 19- Krause U. Frequency of capsular glaucoma in central Finland. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1973;51:235-40.
- 20- İrkeç M. Senil psödoeksfoliasyonun epidemiyolojik özellikleri üzerine bir inceleme. *Türk Oft Gaz.* 1979;9:263-68.
- 21- Yalaz M, Othman I, Nas K, Eroğlu A, Homurlu D, Çikintaş Z, Ashouri A. The frequency of the pseudoexfoliation syndrome in the eastern Mediterranean area of Turkey. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1992;70:209-13.
- 22- Damji KF, Bains HS, Stefansson E. Is pseudoexfoliation syndrome inherited? A review of genetic and nongenetic factors and a new observation. *Ophthalmic Genet.*1998;19:175-85.

- 23- Crittendon JJ, Shields MB. Exfoliation syndrome in the southeastern United States.II. Characteristics of patient population and clinical course. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1988;184:103-6.
- 24- Aasved H. Mass screening for fibrillogluthia epitheliocapsularis, so-called senile exfoliation or pseudoexfoliation of the anterior lens capsule. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1971;49:334-43.
- 25- Ekström C. Prevalence of open-angle glaucoma in central Sweden. The Tierp Glaucoma Survey. *Acta Ophthalmol Scand.* 1996;74:107-12.
- 26- Moreno Montanes J, Alcolea Paredes A, Campos Garsia S. Prevalence of pseudoexfoliation syndrome in the northwest of Spain. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1989;67:383-5.
- 27- Shimizu K, Kimura Y, Aoki K. Prevalence of exfoliation syndrome in the Japanese. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1988;184:112-5.
- 28- Forsius H. Exfoliation syndrome in various ethnic populations. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1988;184:71-85.
- 29- Bartholomew RS. Incidence of pseudoexfoliation in South African Negroes and Scots. *Trans Ophthalmol Soc U K.* 1979;99:299-301.
- 30- Gillies WE, Brooks AM. The presentation of acute glaucoma in pseudoexfoliation of the lens capsule. *Aust N Z J Ophthalmol.* 1988;16:101-6.
- 31- Blika S, Ringvold A.The occurrence of simple and capsular glaucoma in Middle-Norway. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1987;182:11-6.
- 32- Gottfredsdottir MS, Sverrisson T, Musch DC, Stefansson E. Chronic open-angle glaucoma and associated ophthalmic findings in monozygotic twins and their spouses in Iceland. *J Glaucoma.* 1999;8:134-9.
- 33- Hammer T, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Unilateral or asymmetric pseudoexfoliation syndrome? An ultrastructural study. *Arch Ophthalmol.* 2001;119:1023-31.
- 34- Prince AM, Streeten BW, Ritch R, Dark AJ, Sperling M. Preclinical diagnosis of pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1987;105:1076– 82.
- 35- Sveinsson K. The frequency of senile exfoliation in Iceland. Fibrillogluthia or pseudoexfoliation. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1974;52:596-602.
- 36- Valle O. Prevalence of simple and capsular glaucoma in the Central Hospital District of Kotka. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1988;184:116-9.

- 37- Lindblom B, Thorburn W. Observed incidence of glaucoma in Halsingland, Sweden. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1984;62:217-22.
- 38- Ohrt V, Nehen JH. The incidence of glaucoma capsulare based on a Danish Hospital material. *Acta Ophthalmol*. 1981;59:888-93.
- 39- Kozart DM, Yanoff M. Intraocular pressure status in 100 consecutive patients with exfoliation syndrome. *Ophthalmology*. 1982;89:214-8.
- 40- Henry JC, Krupin T, Schmitt M, Lauffer J, Miller E, Ewing MQ, Scheie HG. Long-term follow-up of pseudoexfoliation and the development of elevated intraocular pressure. *Ophthalmology*. 1987;94:545-52.
- 41- Gürlü VP, Alimgil ML. Psödoeksfoliasyon sendromlu olgularda glokom gelişme riski. *Türk Oft. Gaz*. 2004;4:371-5.
- 42- Morrison JC, Green WR. Light microscopy of the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1988;184:5-27.
- 43- Schlötzer-Schrehardt U, Dörfler S, Naumann GO. Immunohistochemical localization of basement membrane components in pseudoexfoliation material of the lens capsule. *Curr Eye Res*. 1992;11:343-55.
- 44- Schlötzer-Schrehardt U, Küchle M, Hoffman-Rummelt C, Kraiser A, Kirchner T. Latent TGF- β 1 binding protein (LTBP-1); a new marker for intra-and extraocular PEX deposits. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2000;216:412-9.
- 45- Ovodenko B, Rostagno A, Neubert TA, Shetty V, Thomas S, Yang A, Liebmann J, Ghiso J, Ritch R. Proteomic analysis of exfoliation deposits. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:1447-57.
- 46- Zenkel M, Pöschl E, von der Mark K, Hofmann-Rummelt C, Naumann GO, Kruse FE, Schlötzer-Schrehardt U. Differential gene expression in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:3742-52.
- 47- Schlötzer-Schrehardt U, von der Mark K, Sakai LY, Naumann GO. Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38:970-84.
- 48- Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:921-37.
- 49- Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. Elastic fibres. *J Cell Sci*. 2002;115:2817-28.
- 50- Ringvold A. A preliminary report on the amino acid composition of the pseudo-exfoliation material (PE material). *Exp Eye Res*. 1973;15:37-42.

- 51- Lee RK. The molecular pathophysiology of pseudoexfoliation glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol*. 2008;19:95–101.
- 52- Schlötzer-Schrehardt U, Zenkel M, Kühle M, Sakai LY, Naumann GO. Role of transforming growth factor-beta1 and its latent form binding protein in pseudoexfoliation syndrome. *Exp Eye Res*. 2001;73:765-80.
- 53- Yoneda K, Nakano M, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Disease-related quantitation of TGF-beta3 in human aqueous humor. *Growth Factors*. 2007;25:160–7.
- 54- Oleggini R, Gastaldo N, Di Donato A. Regulation of elastin promoter by lysyl oxidase and growth factors: cross control of lysyl oxidase on TGF-beta1 effects. *Matrix Biol*. 2007;26:494–505.
- 55- Smith-Mungo LI, Kagan HM. Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology. *Matrix Biol*. 1998;16:387–98.
- 56- Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, Walters GB, Gudbjartsson DF, Stefansson H, Jonsson T, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Stefansdottir G, Masson G, Hardarson GA, Petursson H, Arnarsson A, Motalebipour M, Wallerman O, Wadelius C, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Jonasson F, Stefansson K. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science*. 2007; 317:1397–400.
- 57- Csiszar K. Lysyl oxidases: a novel multifunctional amine oxidase family. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*. 2001;70:1-32.
- 58- Maki JM, Rasanen J, Tikkanen H, Sormunen R, Mäkilallio K, Kivirikko KI, Soininen R. Inactivation of the lysyl oxidase gene *Lox* leads to aortic aneurysms, cardiovascular dysfunction, and perinatal death in mice. *Circulation*. 2002;106:2503-9.
- 59- Schlötzer-Schrehardt U, Pasutto F, Sommer P, Hornstra I, Kruse FE, Naumann GO, Reis A, Zenkel M. Genotype-correlated expression of lysyl oxidase-like 1 LOXL1 in ocular tissues of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and normal patients. *Am J Pathol*. 2008;173:1724-35.
- 60- Challa P, Schmidt S, Liu Y, Qin X, Vann RR, Gonzalez P, Allingham RR, Hauser MA. Analysis of LOXL1 polymorphisms in a United States population with pseudoexfoliation glaucoma. *Mol Vis*. 2008;14:146-9.

- 61- Koliakos GG, Befani CD, Mikropoulos D, Ziakas NG, Konstas AG. 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;246:1477-83.
- 62- Helbig H, Schlötzer-Schrehardt U, Noske W, Kellner U, Foerster MH, Naumann GO. Anterior-chamber hypoxia and iris vasculopathy in pseudoexfoliation syndrome. *Ger J Ophthalmol*. 1994;3:148-53.
- 63- Koliakos GG, Konstas AG, Schlötzer-Schrehardt U, Hollo G, Mitova D, Kovatchev D, Maloutas S, Georgiadis N. Endothelin-1 concentration is increased in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol*. 2004;88:523-7.
- 64- Bleich S, Roedl J, Von Ahsen N, Schlötzer-Schrehardt U, Reulbach U, Beck G, Kruse FE, Naumann GO, Kornhuber J, Jünemann AG. Elevated homocysteine levels in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2004;138:162-4.
- 65- Layden WE, Shaffer RN. Exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 1974;78:835-41.
- 66- Ruprecht KW, Hoh G, Guggenmoos-Holzmann T, Naumann GO. Pseudoexfoliation syndrome. Clinic and statistical studies. *Klin Monbl Augenheilkd*. 1985;187:9-13.
- 67- Eivind H. The frequency of senile exfoliation of the anterior surface of the lens in inflammatory glaucoma. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1948;26:231-5.
- 68- Inazumi K, Takahashi D, Taniguchi T, Yamamoto T. Ultrasound biomicroscopic classification of zonules in exfoliation syndrome. *Jpn J Ophthalmol*. 2002;46:502-9.
- 69- Puska P, Tarkkanen A. Exfoliation syndrome as a risk factor for cataract development: five-year follow-up of lens opacities in exfoliation syndrome. *J Cataract Refract Surg*. 2001;27:1992-8.
- 70- Asona N, Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. A histopathologic study of iris changes in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology*. 1995;102:1279-90.
- 71- Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U, Küchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist. Intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology*. 1998;105:951-68.

- 72- Küchle M, Nguyen NX, Hannappel E, Naumann GO. The blood-aqueous barrier in eyes with pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmic Res.* 1995;27:136-42.
- 73- Nguyen NX, Küchle M, Martus P, Naumann GO. Quantification of blood-aqueous barrier breakdown after trabeculectomy: pseudoexfoliation versus primer open-angle glaucoma. *J Glaucoma.* 1999;8:18-23.
- 74- Schumacher S, Nguyen NX, Küchle M, Naumann GO. Quantification of aqueous flare after phacoemulsification with intraocular lens implantation in eyes with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1999;117:733-5.
- 75- Schlötzer-Schrehardt U, Dörfler S, Naumann GO. Corneal endothelial involvement in pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol.* 1993;11:666-74.
- 76- Wang L, Yamasita R, Hommura S. Corneal endothelial changes and aqueous flare intensity in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmologica.* 1999;213:387-91.
- 77- Wirbelauer C, Anders N, Pham DT, Wollensak J, Laqua H. Intraocular pressure in nonglaucomatous eyes with pseudoexfoliation syndrome after cataract surgery. *Ophthalmic Surg Lasers.* 1998;29:466-71.
- 78- Brooks AM, Grant G, Robertson IF, Gillies WE. Progressive corneal endothelial cell changes in anterior segment disease. *Aust N Z J Ophthalmol.* 1987;15:71-8.
- 79- Sampaolesi R, Zarate J, Croxato O. The chamber angle in exfoliation syndrome. Clinical and pathological findings. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1988;184:48-53.
- 80- Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation: a clinicopathologic study. *Ophthalmology.* 2000;107:1111-24.
- 81- Bartholomew RS. Anterior chamber depth in eyes with pseudoexfoliation. *Br J Ophthalmology.* 1980;64:322-3.
- 82- Forsius H, Sveinsson K, Als E, Luuka H. Pseudoexfoliation of the lens capsule and depth of anterior chamber in northern Iceland. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1974;52:421-8.
- 83- Jünemann A, Martus P, Händel A, Naumann GOH. Ocular dimensions in pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmic Res.* 1997;(suppl):29-31.
- 84- Vesti E, Kivelä T. Exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Prog Retin Eye Res.* 2000;19:345-68.
- 85- Shrum KR, Hattenhauer MG, Hodge D. Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol.* 2000;129:83-6.

- 86- Turacli ME, Ozdemir FA, Tekeli O, Gökcan K, Gerçeker M, Dürük K. Sensorineural hearing loss in pseudoexfoliation. *Can J Ophthalmol*. 2007;42:56-9.
- 87- Bialasiewicz AA, Wali U, Shenoy R, Al-Saeidi R. Patients with secondary open-angle glaucoma in pseudoexfoliation (PEX) syndrome among a population with high prevalence of PEX. Clinic findings and morphological and surgical characteristics. *Ophthalmologie*. 2005;102:1064-8.
- 88- Liu Y, Schmidt S, Qin X, Gibson J, Hutchins K, Santiago-Turla C, Wiggs JL, Budenz DL, Akafo S, Challa P, Herndon LW, Hauser MA, Allingham RR. Lack of association between LOXL1 variants and primary open-angle glaucoma in three different populations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:3465-8.
- 89- Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Trabecular meshwork in pseudoexfoliation syndrome with and without open-angle glaucoma. A morphometric, ultrastructural study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:1750-64.
- 90- Yüksel N, Karabaş VL, Arslan A, Demirci A, Çağlar Y. Ocular hemodynamics in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Ophthalmology*. 2001; 108:1043-9.
- 91- Harju M, Vesti E. Blood flow of the optic nerve head and peripapillary retina in exfoliation syndrome with unilateral glaucoma or ocular hypertension. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001;239:271-7.
- 92- Ocakoglu O, Koyluoglu N, Kayiran A, Tamcelik N, Ozkan S. Microvascular blood flow of the optic nerve head and peripapillary retina in unilateral exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Scand*. 2004;82:49-53.
- 93- Netland PA, Ye H, Streeten BW, Hernandez MR. Elastosis of lamina cribrosa in pseudoexfoliation syndrome with glaucoma. *Ophthalmology*. 1995;102:878-86.
- 94- Puska P, Vesti E, Tomita G, Ishida K, Raitta C. Optic disc changes in normotensive persons with unilateral exfoliation syndrome: a 3-year follow-up study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1999;237:457-62.
- 95- Konstas AG, Stewart WC, Stroman GA, Sine SC. Clinical presentation and initial treatment patterns in patients with exfoliation glaucoma versus primary open-angle glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers*. 1997;28:111-7.
- 96- Konstas AG, Mantziris DA, Stewart WC. Diurnal intraocular pressure in untreated exfoliation and primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol*. 1997;115:182-5.

- 97- Threlkeld AB, Hertzmark E, Sturm RT, Epstein DL, Allingham RR. Comparative study of the efficacy of argon laser trabeculoplasty for exfoliation and primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma*. 1996;5:311-6.
- 98- Jacobi PC, Krieglstein GK. Trabecular aspiration. A new mode to treat pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995;36:2270-6.
- 99- Grüb M, Mielke J, Rohrbach JM, Schlote T. Trabecular aspiration in pseudoexfoliative glaucoma-surgery to primarily reduce intraocular pressure. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2002;219:353-7.
- 100- Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999;274:21491-4.
- 101- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92:827-39.
- 102- Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1962;48:1014-22.
- 103- Kerrigan JJ, Mansell JP, Sandy JR. Matrix turnover. *J Orthod*. 2000;27:227-33.
- 104- Pepper MS. Extracellular proteolysis and angiogenesis. *Thromb Haemost*. 2001;86:346-55.
- 105- Sekine-Aizawa Y, Hama E, Watanabe K, Tsubuki S, Kanai-Azuma M, Kanai Y, Arai H, Aizawa H, Iwata N, Saido TC. Matrix metalloproteinase (MMP) system in brain: identification and characterization of brain-specific MMP highly expressed in cerebellum. *Eur J Neurosci*. 2001;13:935-48.
- 106- Velasco G, Cal S, Merlos-Suárez A, Ferrando AA, Alvarez S, Nakano A, Arribas J, López-Otín C. Human MT6-matrix metalloproteinase: identification, progelatinase A activation, and expression in brain tumors. *Cancer Res*. 2000;60:877-82.
- 107- Pei D. Leukolysin/MMP25/MT6-MMP: a novel matrix metalloproteinase specifically expressed in the leukocyte lineage. *Cell Res*. 1999;9:291-303.
- 108- John A, Tuszynski G. The role of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis and tumor metastasis. *Pathol Oncol Res*. 2001;7:14-23.
- 109- Mohammed FF, Smookler DS, Khokha R. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:43-7.
- 110- Seiki M. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase: a key enzyme for tumor invasion. *Cancer Lett*. 2003;194:1-11.

- 111- Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NH. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:654-66.
- 112- Brew K, Dinakarbandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1477:267-83.
- 113- Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol.* 1997;74:111-22.
- 114- Edwards DR, Leco KJ, Beaudry PP, Atadja PW, Veillette C, Riabowol KT. Differential effects of transforming growth factor-beta 1 on the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in young and old human fibroblasts. *Exp Gerontol.* 1996;31:207-23.
- 115- Herbst H, Wege T, Milani S, Pellegrini G, Orzechowski HD, Bechstein WO, Neuhaus P, Gressner AM, Schuppan D. Tissue inhibitor of metalloproteinase- 1 and -2 RNA expression in rat and human liver fibrosis. *Am J Pathol.* 1997;150:1647-59.
- 116- Sivak JM, Fini ME. MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology. *Prog Retin and Eye Res.* 2002;21:1-14.
- 117- Sobrin L, Liu Z, Monroy DC, Solomon A, Selzer MG, Lokeshwar BL, Pflugfelder SC. Regulation of MMP-9 activity in human tear fluid and corneal epithelial culture supernatant. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:1703-9.
- 118- Kumagai N, Yamamoto K, Fukuda K, Nakamura Y, Fujitsu Y, Nuno Y, Nishida T. Active matrix metalloproteinases in the tear fluid of individuals with vernal keratoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;110:489-91.
- 119- Vaaloma M, Leivo T, Saarialho-Kere U. Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, -2, -3, -4) in normal and aberrant wound healing. *Hum Pathol.* 1999;30:795-802.
- 120- Ye HQ, Maeda M, Yu FS, Azar DT. Differential expression of MT1-MMP (MMP-14) and collagenase III (MMP-13) genes in normal and wounded rat corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2894-9.
- 121- Barletta JP, Angella G, Balch KC, Dimova HG, Stern GA, Moser MT, van Setten GB, Schultz GS. Inhibition of pseudomonal ulceration in rabbit corneas by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37:20-8.

- 122- Dursun D, Kim MC, Solomon A, Pflugfelder SC. Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids. *Am J Ophthalmol.* 2001;132:8-13.
- 123- Nishida T, Tanaka T. Extracellular matrix and growth factors in corneal wound healing. *Curr Opin Ophthalmol.* 1996;7:2-11.
- 124- Gabison EE, Chastang P, Menashi S, Mourah S, Doan S, Oster M, Mauviel A, Hoang-Xuan T. Late corneal perforation after photorefractive keratectomy associated with topical diclofenac: involvement of matrix metalloproteinases. *Ophthalmology.* 2003;110:1626-31.
- 125- Smith VA, Hoh HB, Littleton M, Easty DL. Over-expression of a gelatinase A activity in keratoconus. *Eye (London).* 1995;9:429-33.
- 126- Tamiya S, Wormstone IM, Marcantonio JM, Gavrilovic J, Duncan G. Induction of matrix metalloproteinases 2 and 9 following stress to the lens. *Exp Eye Res.* 2000;71:591-7.
- 127- Van Buskirk EM, Cioffi GA. Glaucomatous optic neuropathy. *Am J Ophthalmol.* 1992;113:447-52.
- 128- Di Girolamo N, Verma MJ, McCluskey PJ, Lloyd A, Wakefield D. Increased matrix metalloproteinases in the aqueous humor of patients and experimental animals with uveitis. *Curr Eye Res.* 1996;15:1060-8.
- 129- Brown D, Hamdi H, Bahri S, Kenny MC. Characterization of an endogenous metalloproteinase in human vitreous. *Curr Eye Res.* 1994;13:639-47.
- 130- Plantner JJ, Smine A, Quinn TA. Matrix metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors in human interphotoreceptor matrix and vitreous. *Curr Eye Res.* 1998;17:132-40.
- 131- Bradham DM, Igarashi A, Potter RL, Grotendorst GR. Connective tissue growth factor: a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the SRC-induced immediate early gene product CEF-10. *J Cell Biol.* 1991;114:1285-94.
- 132- Ihn H. Pathogenesis of fibrosis: role of TGF-beta and CTGF. *Curr Opin Rheumatol.* 2002;14:681-5.
- 133- Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J.* 2004; 18:816-27.

- 134- Fuchshofer R, Birke M, Welge-Lüssen U, Kook D, Lütjen-Drecoll E. Transforming growth factor-beta 2 modulated extracellular matrix component expression in cultured human optic nerve head astrocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:568-78.
- 135- Yang DH, Kim HS, Wilson EM, Rosenfeld RG, Oh Y. Identification of glycosylated 38-kDa connective tissue growth factor (IGFBP-related protein 2) and proteolytic fragments in human biological fluids, and up-regulation of IGFBP-rP2 expression by TGF-beta in Hs578T human breast cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2593-6.
- 136- Seher A, Nickel J, Mueller TD, Kneitz S, Gebhardt S, ter Vehn TM, Schlunck G, Sebald W. Gene expression profiling of connective tissue growth factor (CTGF) stimulated primary human tenon fibroblasts reveals an inflammatory and wound healing response in vitro. *Mol Vis.* 2011;17:53-62.
- 137- Brigstock DR. Regulation of angiogenesis and endothelial cell function by connective tissue growth factor (CTGF) and cysteine-rich 61 (CYR61). *Angiogenesis.* 2002;5:153-65.
- 138- Sato S, Nagaoka T, Hasegawa M, Tamatani T, Nakanishi T, Takigawa M, Takehara K. Serum levels of connective tissue growth factor are elevated in patients with systemic sclerosis: association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis. *J Rheumatol.* 2000;27:149-54.
- 139- Yamamoto T, Sawada Y, Katayama I, Nishioka K. Nodular scleroderma: increased expression of connective tissue growth factor. *Dermatology* 2005;211:218-23.
- 140- Ito Y, Aten J, Bende RJ, Oemar BS, Rabelink TJ, Weening JJ, Goldschmeding R. Expression of connective tissue growth factor in human renal fibrosis. *Kidney Int.* 1998;53:853-61.
- 141- di Mola FF, Di Sebastiano P, Gardini A, Innocenti P, Zimmermann A, Büchler MW, Friess H. Differential expression of connective tissue growth factor in inflammatory bowel disease. *Digestion.* 2004;69:245-53.
- 142- Cicha I, Yilmaz A, Klein M, Raithel D, Brigstock DR, Daniel WG, Goppelt-Strube M, Garlich CD. Connective tissue growth factor is overexpressed in complicated atherosclerotic plaques and induces mononuclear cell chemotaxis in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1008-13.

- 143- Tomarev SI, Wistow G, Raymond V, Dubois S, Malyukova I. Gene expression profile of the human trabecular meshwork: NEIBank sequence tag analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44:2588-96.
- 144- Liang Y, Li C, Guzman VM, Evinger AJ 3rd, Protzman CE, Krauss AH, Woodward DF. Comparison of prostaglandin F₂alpha, bimatoprost (prostamide), and butaprost (EP2 agonist) on Cyr61 and connective tissue growth factor gene expression. *J Biol Chem.* 2003;278:27267-77.
- 145- Wunderlich K, Senn BC, Todesco L, Flammer J, Meyer P. Regulation of connective tissue growth factor gene expression in retinal vascular endothelial cells by angiogenic growth factors. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2000;238:910-5.
- 146- Meyer P, Wunderlich K, Kain HL, Prunte C, Flammer J. Human connective tissue growth factor mRNA expression of epiretinal and subretinal fibrovascular membranes: a report of three cases. *Ophthalmologica.* 2002;216:284-91.
- 147- Wunderlich K, Pech M, Eberle AN, Mihatsch M, Flammer J, Meyer P. Expression of connective tissue growth factor (CTGF) mRNA in plaques of human anterior subcapsular cataracts and membranes of posterior capsule opacification. *Curr Eye Res.* 2000;21:627-36.
- 148- Wunderlich K, Senn BC, Reiser P, Pech M, Flammer J, Meyer P. Connective tissue growth factor in retrocorneal membranes and corneal scars. *Ophthalmologica.* 2000;214:341-6.
- 149- van Setten GB, Blalock TD, Grotendorst G, Schultz GS. Detection of connective tissue growth factor (CTGF) in human tear fluid: preliminary results. *Acta Ophthalmol Scand.* 2003;81:51-3.
- 150- van Setten G, Aspiotis M, Blalock TD, Grotendorst G, Schultz G. Connective tissue growth factor in pterygium: simultaneous presence with vascular endothelial growth factor-possible contributing factor to conjunctival scarring. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2003;241:135-9.
- 151- van Setten GB, Blalock TD, Grotendorst G, Schultz G. Detection of connective tissue growth factor in human aqueous humor. *Ophthalmic Res.* 2002;34:306-8.
- 152- Razzaque MS, Foster CS, Ahmed AR. Role of connective tissue growth factor in the pathogenesis of conjunctival scarring in ocular cicatricial pemphigoid. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003; 44:1998-2003.

- 153- Kita T, Hata Y, Miura M, Kawahara S, Nakao S, Ishibashi T. Functional characteristics of connective tissue growth factor on vitreoretinal cells. *Diabetes*. 2007; 56:1421-8.
- 154- Esson DW, Neelakantan A, Iyer SA, Blalock TD, Balasubramanian L, Grotendorst GR, Schultz GS, Sherwood MB. Expression of connective tissue growth factor after glaucoma filtration surgery in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45:485-91.
- 155- Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation*. 1996;93:1493-5.
- 156- Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;161:851-8.
- 157- Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF). *J Cell Mol Med*. 2005;9:777-94.
- 158- Bhisitkul RB. Vascular endothelial growth factor biology: clinical implications for ocular treatments. *Br J Ophthalmol*. 2006;90:1542-7.
- 159- Shams N, Ianchulev T. Role of vascular endothelial growth factor in ocular angiogenesis. *Ophthalmol Clin North Am*. 2006;19:335-44.
- 160- Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989;246:1306-9.
- 161- Zhang SX, Ma JX. Ocular neovascularization: Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Prog Retin Eye Res*. 2007;26:1-37.
- 162- Arjamaa O, Nikinmaa M. Oxygen-dependent diseases in the retina: role of hypoxia-inducible factors. *Exp Eye Res*. 2006;83:473-83.
- 163- Ozaki H, Yu AY, Della N, Ozaki K, Luna JD, Yamada H, Hackett SF, Okamoto N, Zack DJ, Semenza GL, Campochiaro PA. Hypoxia inducible factor-1alpha is increased in ischemic retina: temporal and spatial correlation with VEGF expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40:182-9.
- 164- Tong JP, Yao YF. Contribution of VEGF and PEDF to choroidal angiogenesis: a need for balanced expressions. *Clin Biochem*. 2006;39:267-76.

- 165- Lin RC, Rosenfeld PJ. Antiangiogenic therapy in neovascular age-related macular degeneration. *Int Ophthalmol Clin*. 2007;47:117-37.
- 166- Bednarz J, Weich HA, Rodokanaki-von Schrenck A, Engelmann K. Effect of differentiation on expression of genes for growth factors and growth factor receptors in human corneal endothelial cells. *Ophthalmologe*. 1996;93:268-74.
- 167- Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES, Chatzistefanou K, Ferrara N, Adamis AP. Vascular endothelial growth factor is sufficient to produce iris neovascularization and neovascular glaucoma in a nonhuman primate. *Arch Ophthalmol*. 1996;114:964-70.
- 168- Adamis AP, Shima DT, Yeo KT, Yeo TK, Brown LF, Berse B, D'Amore PA, Folkman J. Synthesis and secretion of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;193:631-8.
- 169- Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, Takagi H, Iwamoto MA. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol*. 1995;113:1538-44.
- 170- Murata T, Nakagawa K, Khalil A, Ishibashi T, Inomata H, Sueishi K. The relation between expression of vascular endothelial growth factor and breakdown of the blood-retinal barrier in diabetic rat retinas. *Lab Invest*. 1996;74:819-25.
- 171- Amin RH, Frank RN, Kennedy A, Elliott D, Puklin JE, Abrams GW. Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38:36-47.
- 172- Kvant A. Expression and regulation of vascular endothelial growth factor in choroidal fibroblasts. *Curr Eye Res*. 1995;14:1015-20.
- 173- Shinoda K, Ishida S, Kawashima S, Wakabayashi T, Uchita M, Matsuzaki T, Takayama M, Shinmura K, Yamada M. Clinical factors related to the aqueous levels of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res*. 2000;21:655-61.
- 174- Zhou H, Zhang H. A comparative study of vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 1997;33:247-50.

- 175- Burgos R, Simo R, Audi L, Mateo C, Mesa J, García-Ramírez M, Carrascosa A. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 1997;40:1107-9.
- 176- Tripathi RC, Li J, Tripathi BJ, Chalam KV, Adamis AP. Increased level of vascular endothelial growth factor in aqueous humor of patients with neovascular glaucoma. *Ophthalmology*. 1998;105:232-7.
- 177- Sone H, Okuda Y, Kawakami Y, Hanatani M, Suzuki H, Kozawa T, Honmura S, Yamashita K. Vascular endothelial growth factor level in aqueous humor of diabetic patients with rubeotic glaucoma is markedly elevated. *Diabetes Care*. 1996;19:1306-7.
- 178- Kozawa T, Sone H, Okuda Y, Kawakami Y, Sekine Y, Imai M, Hommura S, Inatomi M, Yaguchi S, Matsuo K, Segawa T, Suzuki H, Yamashita K. Vascular endothelial growth factor levels in the aqueous and serum in diabetic retinopathy with or without neovascular glaucoma. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*. 1998;102:731-8.
- 179- Moromizato Y, Hayashi H, Kato H, Ozaki H, Oshima K. Concentration of vascular endothelial growth factor within the subretinal space and vitreous fluid in rhegmatogenous retinal detachment. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1997;101:498-502.
- 180- Viores SA, Chan CC, Viores MA, Matteson DM, Chen YS, Klein DA, Shi A, Ozaki H, Campochiaro PA. Increased vascular endothelial growth factor (VEGF) and transforming growth factor beta (TGFbeta) in experimental autoimmune uveoretinitis: upregulation of VEGF without neovascularization. *J Neuroimmunol*. 1998;89:43-50.
- 181- Viores SA, Youssri AI, Luna JD, Chen YS, Bhargava S, Viores MA, Schoenfeld CL, Peng B, Chan CC, LaRochelle W, Green WR, Campochiaro PA. Upregulation of vascular endothelial growth factor in ischemic and non-ischemic human and experimental retinal disease. *Histol Histopathol* 1997;12:99-109.
- 182- Kvanta A, Algvere PV, Berglin L, Seregard S. Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996;37:1929-34.

- 183- Gartaganis SP, Georgakopoulos CD, Exarchou AM, Mela EK, Lamari F, Karamanos NK. Increased aqueous humor basic fibroblast growth factor and hyaluronan levels in relation to the exfoliation syndrome and exfoliative glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79:572–5.
- 184- Hu DN, Ritch R. Hepatocyte growth factor is increased in the aqueous humor of glaucomatous eyes. *J Glaucoma* 2001;10:152–7.
- 185- Gartaganis SP, Georgakopoulos CD, Mela EK, Exarchou A, Ziouti N, Assouti M, Vynios DH. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in exfoliation syndrome. *Ophthalmic Res* 2002;34:165–71.
- 186- Koliakos GG, Konstas AGP, Schlötzer-Schrehardt U, et al. 8-Isoprostaglandin F2A and ascorbic acid concentration in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol* 2003;87:353–6
- 187- Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Chevez P, Abramham CR, Montano M, Selman-Lama M. A latent collagenase in human aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989;30:332–5.
- 188- Ando H, Twining SS, Yue BYJT, et al. MMPs and proteinase inhibitors in the human aqueous humor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993;34:3541–3548.
- 189- Kee C, Son S, Ahn BH. The relationship between gelatinase A activity in aqueous humor and glaucoma. *J Glaucoma.* 1999;8:51–5.
- 190- El-Shabrawi Y, Christen WG, Foster CS. Correlation of metalloproteinase-2 and -9 with proinflammatory cytokines interleukin-1 β , interleukin-12 and the interleukin-1 receptor antagonist in patients with chronic uveitis. *Curr Eye Res.* 2000;20:211–4.
- 191- Maliszewska M, Mäder M, Schöll U, Azeh I, Hardeland R, Felgenhauer K, Beuche W, Weber F. Development of an ultrasensitive enzyme immunoassay for the determination of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels in normal human cerebrospinal fluid. *J Neuroimmunol.* 2001;116:233-7.
- 192- Bradley JM, Vranka J, Colvis CM, Conger DM, Alexander JP, Fisk AS, Samples JR, Acott TS. Effect of matrix metalloproteinases activity on outflow in perfused human organ culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:2649-58.
- 193- O'Connell JP, Willenbrock F, Docherty AJ, Eaton D, Murphy G. Analysis of the role of the COOH-terminal domain in the activation, proteolytic activity, and tissue inhibitor of metalloproteinase interactions of gelatinase B. *J Biol Chem.* 1994;269:14967-73.

- 194- Kuiper EJ, Van Nieuwenhoven FA, de Smet MD, van Meurs JC, Tanck MW, Oliver N, Klaassen I, Van Noorden CJ, Goldschmeding R, Schlingemann RO. The angiofibrotic switch of VEGF and CTGF in proliferative diabetic retinopathy. *PLoS One*. 2008;7:2675
- 195- Koliakos GG, Schlötzer-Schrehardt U, Konstas AG, Bufidis T, Georgiadis N, Dimitriadou A. Transforming and insulin-like growth factors in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001;239:482-7.
- 196- Milani S, Herbst H, Schuppan D, et al. Differential expression of matrix metalloproteinase-1 and -2 genes in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol*. 1994;144:528–37.
- 197- Kossakowska AE, Edwards DR, Lee SS, et al. Altered balance between matrix metalloproteinases and their inhibitors in experimental biliary fibrosis. *Am J Pathol*. 1998;153:1895–902.
- 198- De La Paz MA, Itoh Y, Toth CA, Nagase H. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in human vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:1256–60.
- 199- Kon CH, Occleston NL, Charteris D, Daniels J, Aylward GW, Khaw PT. A prospective study of matrix metalloproteinases in proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:1524–9.
- 200- Hembry RM, Ehrlich HP. Immunolocalization of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) in hypertrophic scar tissue. *Br J Dermatol*. 1986;115:409–20.
- 201- Rönkkö S, Rekonen P, Kaarniranta K, Puustjärvi T, Teräsvirta M, Uusitalo H. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245:697-704.
- 202- Iman A, Fahmy, Soher A. Mohammed Ismail, Maha Abd-EL-Hamid. Role of aqueous humor matrix metalloproteinase-2 and its inhibitor and connective tissue growth factor in the pathogenesis of primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma. *Rawal Med J*. 2008;33:179-82.
- 203- Browne JG, Ho SL, Kane R, Oliver N, Clark AF, O'Brien CJ, Crean JK. Connective tissue growth factor is increased in pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;17 (Epub ahead of print)

- 204- Fuchshofer R, Yu AH, Welge-Lüssen U, Tamm ER. Bone morphogenetic protein-7 is an antagonist of transforming growth factor-beta2 in human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:715-26.
- 205- Chudgar SM, Deng P, Maddala R, Epstein DL, Rao PV. Regulation of connective tissue growth factor expression in the aqueous humor outflow pathway. *Mol Vis.* 2006;12:1117-26.
- 206- Liton PB, Liu X, Challa P, Epstein DL, Gonzalez P. Induction of TGF-beta1 in the trabecular meshwork under cyclic mechanical stress. *J Cell Physiol.* 2005;205:364-71.
- 207- Kuiper E J, de Smet MD, van Meurs JC, Tan HS, Tanck MW, Oliver N, van Nieuwenhoven FA, Goldschmeding R, Schlingemann RO. Association of connective tissue growth factor with fibrosis in vitreoretinal disorders in the human eye. *Arch Ophthalmol.* 2006; 124:1457-62.
- 208- Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature.* 1996;380:435-9.
- 209- Kowanetz M, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor signaling pathways: therapeutic perspective. *Clin Cancer Res.* 2006;12:5018-22.
- 210- Aiello LP, Northrup JM, Keyt BA, et al. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Arch Ophthalmol.* 1995;113:1538-44.
- 211- Kuroki M, Voest EE, Amano S, et al. Reactive oxygen intermediates increase vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. *J Clin Invest.* 1996;98:1667-75.