



**T.C.**

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SİNİRBİLİM DOKTORA PROGRAMI**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULMUŞ STEROİDE BAĞLI OKÜLER  
HİPERTANSİYON MODELİNDE OPTİK SİNİR AKSON  
DEĞİŞİKLİKLERİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Prof. Dr. Gökhan PEKEL**

**Ocak 2023**

**Denizli**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA OLUŞTURULMUŞ STEROİDE BAĞLI OKÜLER  
HİPERTANSİYON MODELİNDE OPTİK SİNİR AKSON  
DEĞİŞİKLİKLERİ**

**SİNİRBİLİM DOKTORA PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ**

**Prof. Dr. Gökhan PEKEL**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Esat ADIGÜZEL**

**Denizli, 2023**

## **Yayın Beyan Sayfası**

Pamukkale Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uygulama Esasları Yönergesi Madde 24-(2) "Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora öğrencileri için: Doktora tez savunma sınavından önce, doktora bilim alanında kendisinin yazar olduğu uluslararası atıf indeksleri kapsamında yer alan bir dergide basılmış ya da basılmak üzere kesin kabulü yapılmış en az bir makalesi olan öğrenciler tez savunma sınavına alınır. Yüksek lisans tezinin yayın haline getirilmiş olması bu kapsamda değerlendirilmez. Bu ek koşulu yerine getirmeyen öğrenciler, tez savunma sınavına alınmazlar" gereğince yapılan yayın/yayınların listesi aşağıdadır (Tam metin/metinleri ekte sunulmuştur):

Ek-1. Akbulut S, **Pekel G**, Pekel E, Cetin EN. Alterations in retinal and choroidal thickness following nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Int Ophthalmol* 2021; 41(8): 2723-2728.

## ***Bilimsel Etik Sayfası***

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öğrenci Adı Soyadı:

Prof. Dr. Gökhan PEKEL

## ÖZET

**Amaç:** Steroide bağlı oküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçan modelinde, optik sinir akson sayısı, akson çapı, akson kesit alanı ve miyelin kılıf kalınlığı parametrelerini elektron mikroskopuyla, retina hücre sayılarını da ışık mikroskopuyla inceleyip sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmaktır.

**Metot:** Çalışmaya 7 tanesi çalışma grubunda ve 10 tanesi kontrol grubunda olmak üzere toplam 17 sıçan alındı. Çalışma grubundaki sıçanlara 4 hafta boyunca topikal steroid damlatılarak oküler hipertansiyon oluşturuldu. Her deneğin göz içi basınçları (GİB) başlangıçta, 2. ve 4. haftaların sonlarında Tonopen XL cihazıyla ölçüldü. Deneklerden elde edilen retina dokusunda, ışık mikroskop incelemesiyle retina kalınlığı, retina gangliyon hücre sayısı, iç ve dış nükleer tabakaların hücre sayısı tespit edildi. Elektron mikroskop ile incelenen optik sinir kesitlerinde akson sayımı, akson çapı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri yapıldı.

**Bulgular:** Çalışma grubundaki ortalama GİB değeri ilk ölçümde  $9.4 \pm 0.8$  mmHg iken son ölçümde  $18.3 \pm 2.3$  mmHg idi ( $p=0.001$ ). Kontrol grubunda ilk ( $9.6 \pm 1.3$  mmHg) ve son ( $9.8 \pm 1.1$  mmHg) GİB ölçümleri benzer kalmıştı ( $p=0.52$ ). Çalışma ve kontrol gruplarında retina kalınlıkları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı ( $p=0.36$ ). Fakat retina gangliyon hücre, iç ve dış nükleer tabaka hücre sayıları çalışma grubunda kontrol grubuna nazaran istatistiksel anlamlı olarak azalmıştı ( $p<0.05$ ). Her iki grupta da optik sinir akson sayısı, akson çapı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı benzer olarak tespit edildi ( $p>0.05$ ). Dejenerasyona uğramış akson oranı, çalışma grubunda  $18.8 \pm 2.1$  iken kontrol grubunda  $14.4 \pm 3.5$  idi ( $p=0.02$ ).

**Sonuç:** Steroide bağlı oküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçan modelinde, retina katmanlarındaki hücre sayıları kontrol grubuna nazaran daha az bulunmuştur. Ayrıca toplam optik sinir akson sayısı çalışma ve kontrol gruplarında benzer olmasına rağmen, dejenerasyona uğramış akson sayısı oküler hipertansiyonlu grupta daha fazla saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Elektron mikroskop, oküler hipertansiyon, optik sinir aksonu, retina gangliyon hücresi, steroide bağlı glaukom

**Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.**

## ABSTRACT

**Purpose:** To examine the optic nerve axon number, axon diameter, axon cross-sectional area, and myelin sheath thickness parameters with an electron microscope and retinal cell numbers with a light microscope in a rat model with steroid-induced ocular hypertension and compare them with the healthy control group.

**Methods:** A total of 17 rats, 7 of which were in the study group and 10 in the control group, were included in the study. Ocular hypertension was induced by instilling topical steroids in the rats in the study group for 4 weeks. The intraocular pressures (IOP) of each subject were measured with the Tonopen XL device at the beginning and at the end of the 2<sup>nd</sup> and 4<sup>th</sup> weeks. In the retinal tissue obtained from the subjects, retinal thickness, retinal ganglion cell number, and the cell number of the inner and outer nuclear layers were determined by light microscope examination. Axon count, axon diameter, axon area and myelin sheath thickness were measured in the optic nerve sections examined with electron microscope.

**Results:** The mean IOP values in the study group were  $9.4\pm 0.8$  mmHg at the first measurement and  $18.3\pm 2.3$  mmHg at the last measurement ( $p=0.001$ ). The IOP measurements of the control group at the first time ( $9.6\pm 1.3$  mmHg) and the last time ( $9.8\pm 1.1$  mmHg) were similar ( $p=0.52$ ). There was no significant difference between the retinal thicknesses in the study and control groups ( $p=0.36$ ). However, the counts of retinal ganglion, inner and outer nuclear layer cells were statistically significantly decreased in the control group compared to the study group ( $p<0.05$ ). Optic nerve axon number, axon diameter, axon area and myelin sheath thickness were found to be similar in both groups ( $p>0.05$ ). While the rate of degenerated axons was  $18.8\pm 2.1\%$  in the study group, it was  $14.4\pm 3.5\%$  in the control group ( $p=0.02$ ).

**Conclusion:** In the rat model with steroid-induced ocular hypertension, the cell numbers in the retinal layers were found to be lower than in the control group. In addition, although the total optic nerve axon count was similar in the study and control groups, the number of degenerated axons was higher in the group with ocular hypertension.

**Keywords:** Electron microscope, ocular hypertension, optic nerve axon, retinal ganglion cell, steroid-induced glaucoma

**This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit.**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım üniversitemiz Sinirbilim doktora programının çok değerli hocalarına teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Eğitimim boyunca her zaman destek ve yardımlarını gördüğüm değerli Sinirbilim öğrenci arkadaşlarıma da minnet ve sevgilerimi sunarım.

Özel bir teşekkürü ise tezimin oluşmasında büyük katkıları olan sayın hocam Prof. Dr. Esat Adıgüzel'e sunmak isterim. Değerli hocamın önerisi ile başladığım Sinirbilim eğitimim boyunca her aşamada ve her konuda zamanını, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşmasına tüm kalbimle müteşekkirim.

Son olarak da her konuda olduğu gibi Sinirbilim eğitim ve tez yazımı aşamasında da sabır ve anlayışla desteğini esirgemeyen en değerli varlıklarım 'sevgili aileme' teşekkürlerimi sunarım.

**Prof. Dr. Gökhan PEKEL**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>iv, v</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Amaç.....	2
<b>2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI</b> .....	<b>3</b>
2.1. Sıçan Göz Yapısı.....	3
2.2. Sıçan Gözünün İnsan Gözüyle Karşılaştırılması.....	4
2.3. Göz İçi Basınç.....	5
2.4. Oküler Hipertansiyon.....	5
2.5. Glokom.....	6
2.5.1. Glokom Sınıflaması.....	6
2.5.2. Steroide Bağlı Glokom.....	7
2.5.3. Glokomda Optik Sinir Hasarı.....	8
2.5.4. Glokomda Retina Hasarı.....	10
2.5.5. Glokomda Beyin Hasarı.....	12
2.5.6. Glokom Tanısı.....	14
2.6. Deneysel Hayvan Glokom Modelleri.....	15
2.7. Hipotez.....	17



<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	18
3.1. Çalışmaya Alınan Hayvanların Özellikleri.....	18
3.2. Deney Protokolü.....	18
3.3. Doku Hazırlama .....	21
3.4. Işık Mikroskopisi İnceleme Prosedürleri.....	21
3.5. Transmisyon Elektron Mikroskopisi İnceleme Prosedürleri.....	23
3.6. Aksonların Morfometrik İncelenmesi.....	23
3.7. İstatistiksel Analiz.....	24
<b>4. BULGULAR</b> .....	25
4.1. Göz İçi Basınç Ölçümleri.....	25
4.2. Retina Hücre Sayımları.....	25
4.3. Optik Sinir Akson Sayımı.....	27
4.4. Aksonların Morfometrik Ölçümleri.....	30
4.5. Korelasyon Analizleri.....	32
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	34
<b>6. SONUÇLAR</b> .....	42
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	43
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	51

## 9. EKLER

Ek-1. Akbulut S, **Pekel G**, Pekel E, Cetin EN. Alterations in retinal and choroidal thickness following nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Int Ophthalmol* 2021; 41(8): 2723-2728.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1:** Sıçan ve insan gözünün şematik kesitsel çizimleri

**Şekil 2:** Göz ön segmenti ve aköz hümör yolları

**Şekil 3:** Retinadan görme korteksine kadar görme yolları

**Şekil 4:** Sıçanların ötenazi sırasında sol ventrikülden üç yollu musluk kullanılarak, buzlu salin solüsyonu ve %4 paraformaldehit ile perfüze edilip (**a,b**), kan ve sıvı dışarı akımı için sağ atriyumun perfore edilmesi (**c,d**)

**Şekil 5:** Göz küresi ve optik sinirin çıkartılması işlemleri (**a,b,c,d**)

**Şekil 6:** Işık mikroskopunda sayılan hücrelerin bulunduğu retina katmanları (40x objektif lens büyütmesi)

**Şekil 7:** Bir deneğin EM incelemesi öncesi Toluidin mavisi ile hazırlanan optik sinir kesiti

**Şekil 8:** Bir deneğin optik sinir kesitinin EM'de 8000x büyütmede çekilmiş fotoğrafında sağlıklı ve az sayıda dejenere aksonların birlikte görünümü

**Şekil 9:** EM'de 20000x büyütmede fotoğraflanmış bir optik sinir kesitindeki aksonlar

**Şekil 10:** Dejenerasyona uğramış (yuvarlak veya oval şeklini büyük ölçüde kaybetmiş, ebat olarak çok küçük veya çok büyük, hiperdens veya boş, miyelin kılıfı lameller ayrılmış) bazı akson örneklerinin sarı oklarla işaretlenmesi

**Şekil 11:** Elektron mikroskopta akson çapı ölçümleri

**Şekil 12:** Elektron mikroskopta akson alanı ölçümleri

**Şekil 13:** Elektron mikroskopta akson miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri

**TABLolar DİZİNİ**

**Tablo 1:** Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin ortalama göz içi basınç değerleri

**Tablo 2:** Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin ışık mikroskop incelemesiyle (200 µm x 10 µm kesit) ölçülen retina parametreleri

**Tablo 3:** Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin elektron mikroskop incelemesiyle ölçülen optik sinir akson parametreleri

**SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>DNT</b> .....	Dış nükleer tabaka
<b>EM</b> .....	Elektron mikroskop
<b>GHT</b> .....	Gangliyon hücre tabakası
<b>GİB</b> .....	Göz içi basınç
<b>İNT</b> .....	İç nükleer tabaka
<b>İPT</b> .....	İç pleksiform tabaka
<b>LGC</b> .....	Lateral genikulat cisim
<b>MRG</b> .....	Magnetik rezonans görüntüleme
<b>OKT</b> .....	Optik koherens tomografi
<b>RGH</b> .....	Retina gangliyon hücresi
<b>RSLT</b> .....	Retina sinir lifi tabakası
<b>SKK</b> .....	Santral kornea kalınlığı

## 1. GİRİŞ

Oküler hipertansiyon akabinde gelişen glokomun dünyada tüm körlük sebepleri arasında oranı yaklaşık olarak %7 olup listenin üst sıralarındadır (Bourne vd 2016). Glokom, optik sinir başında çukurlaşmaya yol açan, retina gangliyon hücrelerinin dejenerasyonu ile karakterize, özel görme alanı kayıpları oluşturan, tedavi edilmediği zaman optik atrofi yaparak tam görme kaybına neden olan bir göz hastalığıdır (Bourne vd 2016, Tham vd 2014). Erişkin nüfusta glokom prevalansı yaklaşık olarak %3.5 olup 2020 yılı itibarıyla dünya genelinde 76 milyon glokom hastası olduğu tahmin edilmektedir (Tham vd 2014).

Oküler hipertansiyon terimi normalden yüksek göz içi basınç değerlerini ifade etmek için kullanılmaktadır. Yüksek göz içi basıncı, glokomun optik sinir hasarının ortaya çıkmasındaki en önemli faktördür (Schuster vd 2020). Ortaya çıktıktan sonra, glokom hasarını geriye döndürmek pek mümkün olmamaktadır. Günümüzde glokom tedavisinin en önemli basamağı, medikal veya cerrahi yöntemlerle göz içi basıncını düşürmektir (Schuster vd 2020).

Oküler hipertansiyona ve akabinde glokoma neden olan etkenlerden bir tanesi kortikosteroid ilaçlardır (Phulke vd 2017). Bu nedenle deneysel hayvan modellerinde glokom oluşturmak için göze topikal kortikosteroid uygulanabilmektedir (Overby ve Clark 2015, Sawaguchi vd 2005). Bu tip çalışmalarda, nispeten kolay elde edilebilmesi, maliyet avantajı, deneylerin rahat uygulanabilmesi ve insan glokom patofizyolojisiyle benzer olması nedenleriyle hayvan modeli olarak sıçanlar sıklıkla tercih edilmektedir (Biswas ve Wan 2019).

Daha önce yapılmış çalışmalarda, glokom oluşturulmuş hayvanların optik sinirlerinde akson kaybı, mitokondri parçalanması ve miyelin kılıf değişiklikleri saptanmıştır (Zhu vd 2018, Ju vd 2008). Literatürde sinirlerdeki akson sayımını kolaylaştırıcı yöntemler üzerine birçok çalışma dikkati çekmektedir (More vd 2011, Mysona vd 2020, Ritch vd 2020). Glokom hasarını geriye döndürebilecek bir tedavinin henüz keşfedilememiş olması ve hastalığın dünya genelindeki yaygınlığı göz önüne alındığında, mevcut konunun daha uzun yıllar literatürde sıcaklığını koruyacağı olasıdır.

Deneysel glokom modelleri, hastalığın patogenezinin daha net anlaşılmasına ve yeni tedavi yöntemleri keşfedilmesine katkıda bulunmaktadır. Glokomun ortaya çıkış mekanizmalarını ve yaptığı hasarları ultrastrüktürel olarak gösterebilmek, bu hastalığın tedavisini daha etkin yapmak adına faydalıdır. Çalışmamızda, yüksek göz içi basıncının esas hasar verdiği yapılar olan retina gangliyon hücreleri ve aksonlarını detaylı olarak inceledik. Bu sonuçların glokomda yeni tedavi yöntemlerini denerken bir temel model olarak yararlı olacağını düşünüyoruz.

**1.1 Çalışmanın amacı**

Bu çalışmanın amacı, steroide bağlı oküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçan modelinde, optik sinir akson sayısı, akson çapı, akson kesit alanı ve miyelin kılıf kalınlığı parametrelerini elektron mikroskopla, retina içi hücre sayılarını da ışık mikroskopla inceleyip sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırmaktır.

## 2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI

### 2.1. Sıçan Göz Yapısı

Sıçan gözünün temel kısımları insan ve diğer omurgalılarla benzerlik gösterir. Kornea, konjonktiva, sklera, iris, lens, siliyer cisimler, ön kamara, koroid, vitreus, retina, optik sinir ve ekstraoküler kaslar sıçan gözünün temel parçalarıdır (Maynard ve Downes 2019). Sıçan gözü özellikle lateralde kemik orbita ile çevrili olmadığından hafif dışa çıkık görünümündedir. Sıçanın göz hareketleri ekstraoküler kaslar sayesinde gerçekleşir.

Sıçan konjonktivası üstte non-keratinize epitel ve altta lamina propriadan oluşmakta olup içerisinde gözyaşı salgılayan bezler bulunmaktadır (Maynard ve Downes 2019). Sıçan korneasında epitel, stroma, Descemet membranı ve endotel hücre tabakaları mevcuttur. Sıçan korneası yaklaşık 250 µm kalınlığında olup skleradan daha kalındır. Damar ağlarından oluşan koroid dokusu albino sıçanlarda diğer sıçanlardan farklı olarak melanosit hücreleri içermez (Maynard ve Downes 2019).

Sıçan gözünde, irisin arkasında ve lensin periferinde 360 derece dizili, yaklaşık 100 adet siliyer cisimcik, aköz hümör üretiminde görev alır (Maynard ve Downes 2019). Üretilen aköz hümör, irido-korneal açıda yer alan trabeküler ağdan emilerek önce Schlemm kanalına, oradan da skleral venlere dökülür. Siliyer cisimciklerden lens ekvatoruna uzanan zonül lifleri lensin yerinde kalmasını sağlar. Göze giren ışığın miktarını ayarlayan iris dokusu albino sıçanlarda pigment açısından fakirdir (Maynard ve Downes 2019). Küremsi bir şekli olan sıçan lensi, göze giren ışığın kırılarak vitreusu geçip retina üzerine odaklanmasını sağlar. Lens dışta çevreleyici bir kapsül, ön kapsülün altında epitel tabakası ve içte fibrillerden oluşmaktadır. Transparan olan sıçan vitreusu, asıl bileşen olan suya ilave olarak hiyaluronik asit ve kollajen içermektedir (Maynard ve Downes 2019).

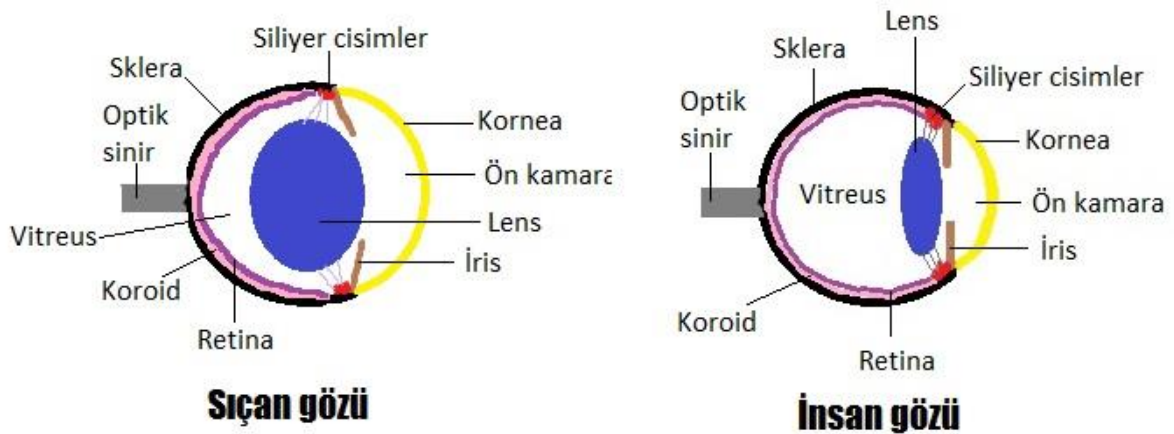
Sıçan retinası da insan retinası gibi 10 tabakadan oluşur. Bu tabakalar, içten dışa doğru, iç limitan membran (Müller hücrelerinin ayaksız uzantılarından oluşur), sinir lifi tabakası (gangliyon hücre aksonlarından oluşur), gangliyon hücre tabakası (gangliyon hücre çekirdeklerinden oluşur), iç pleksiform tabaka (bipolar hücreler, gangliyon hücreleri ve amakrin hücrelerin sinaps yaptığı alandır), iç nükleer tabaka (bipolar hücre çekirdekleri bulunur), dış pleksiform tabaka (fotoreseptör hücreleri, bipolar hücreler ve horizontal hücrelerin sinaps yaptığı alandır), dış nükleer tabaka (fotoreseptör hücrelerinin çekirdekleri bulunur), dış limitan membran (gerçek bir membran olmayıp Müller hücrelerin periferik uzantılarından oluşur), fotoreseptör tabakası (rod ve kon hücrelerinin dış tabakalarından oluşur) ve pigment epiteli (nörosensöriyel retina ve koroid arasında bulunan kübik hücrelerden oluşur) olarak sıralanmaktadır (Maynard ve Downes 2019).

Retina gangliyon hücre aksonlarından oluşan sıçan optik siniri, göz küresinin arka kısmında yuvarlak sklera açıklığından çıktıktan sonra orbital alanda bir miktar seyredip kiyazmaya ulaşmaktadır. Her iki gözden gelen optik sinir aksonlarının yaklaşık %90'ı kiyazmada çaprazlaşarak ve %10'u da ipsilateral olarak optik traktusta seyreder (Levere 1978). Optik traktus liflerinin bir kısmı pretektal alanlarda bir kısmı da talamusun lateral genikülat çekirdeğinde sonlanır (Levere 1978).

## 2.2. Sıçan Gözünün İnsan Gözüyle Karşılaştırılması

Sıçan ve insan gözü aynı kısımlara sahiptir. Fizyolojik olarak da sıçan ve insan gözünün işleyişi benzerdir. Fakat her iki göz tipinde bazı farklılıklar da mevcuttur. Sıçan gözünün ortalama aksiyel uzunluğu yaklaşık olarak 6.3 mm'dir (Pazos vd 2015). İnsan gözünün ortalama aksiyel uzunluğu ise 24 mm'dir.

Sıçan korneası insan korneasına nazaran göz dış duvarının daha büyük miktarını oluşturur (kornea alanı / sklera alanı oranı daha büyüktür). Sıçan lensi insan lensine kıyasla glob (göz küresi) içerisinde daha fazla yer kaplar. Sıçan lensinin ve insan lensinin ultraviyole ve görünür ışığı geçirme oranları tam olarak aynı değildir (sıçan lensi ultraviyole A'yı daha fazla geçirir) (Gorgels ve van Norren 1992). Sıçan siliyer cisimleri daha az gelişmiştir ve sıçan lensinin akomodasyon kapasitesi daha azdır (Artal vd 1998). Sıçan retinasında insan retinasına nazaran daha az koni hücresi tipi mevcuttur (Levere 1978). Optik sinirin göz küresinden çıktığı sklera boşluğu insandakinden yaklaşık 4 kat küçüktür. Sıçan optik siniri yaklaşık 0.11 milyon akson içerirken insan optik siniri 1.2 milyon akson içerir (Pazos vd 2015).



**Şekil 1:** Sıçan ve insan gözünün şematik kesitsel çizimleri (Tez yazarının kendi çizimi)



### 2.3. Göz İçi Basınç

Göz küresinin herhangi bir yöne doğru genişleme kapasitesi çok sınırlı olduğu için, göz içi basınç (GİB), siliyer cisim tarafından salgılanan aköz hü­mör sıvısının üretim ve dışa akım farkından doğar (Özçetin 2009). Aköz hü­mör sıvısının üretim veya dışa akımındaki de­ğişiklikler doğrudan GİB de­ğişikliklerine neden olur. Azalmış aköz sıvısı üretimi veya artmış dışa akım GİB'ni düşürürken, artmış üretim veya azalmış dışa akım GİB'ni artırır.

Aköz hü­mor, göz küresini belirli bir gerginlikte tutarak göz küresinin yapısal ve optik işlevlerinin devamını sağlar. Aköz hü­mor, gözün damarsız olan kornea, lens ve vitreus gibi yapılarının metabolik gereksinimlerini karşılar. Aköz hü­mor ayrıca içeriğindeki moleküllerle antioksidan ve antimikrobiyal özellik gösterir (Özçetin 2009).

İnsanda normal GİB 10 - 20 mmHg arasında de­ğişirken, sıçanlarda bu de­ğer ortalama 8 - 18 mmHg civarındadır (Kim vd 2016, Ficarrotta vd 2020, Lani vd 2019). GİB, glokom hastalığında arttığı gibi valsalva manevrası, göze mekanik baskı yapılması, hipertiroidi ve çeşitli ilaçlar ile (ketamin, steroidler, vb.) de artabilir. GİB, göz dış duvar bütünlüğünün bozulması gibi patolojik durumlarda azalacağı gibi kronik egzersiz ve hamilelik gibi fizyolojik durumlarda da azalabilir (Özçetin 2009).

GİB ölçümü tonometreler ile yapılır. GİB ölçümü, girişimsel (bir kanül yardımıyla ön kamaraya girerek) veya girişimsel olmayan (temaslı veya temassız olarak) yöntemlerle yapılabilir (Özçetin 2009). Genelde kliniklerde kullanılan yöntem girişimsel olmayan temassız (havalı tonometre) tonometrelerdir. Hayvan deneylerinde ise girişimsel olmayan korneaya temas eden Tonopen cihazı, GİB ölçümlerinde sıklıkla kullanılır.

### 2.4. Oküler Hipertansiyon

Oküler hipertansiyon, GİB 21 mmHg'nin üzerinde olmasına rağmen optik sinir ve görme alanında glokoma ba­ğlı hasarların gözlenmediği klinik bir tablodur (Yıldırım 2004). Oküler hipertansiyonu, şüpheli glokom veya erken dönem primer açık açılı glokom olarak kabul eden bazı görüşler de mevcuttur (Yıldırım 2004). Oküler hipertansiyon dünya genelinde yaşlı nüfusta %3 ile %7 arasında görülmektedir (Boey ve Mansberger 2014).

Her oküler hipertansiyon vakası glokoma dönüşmemektedir. Oküler hipertansiyonun glokoma dönüşme riskini arttıran faktörler genetik yatkınlık, optik disk çukurluğunun geniş olması, korneanın inceliği, yaş ve yüksek GİB ölçüm de­ğerleri olarak sıralanabilir (Boey ve Mansberger 2014). Belirli aralıklarla çekilen optik disk ve görme alanı tetkiklerinde patolojilerin saptanması oküler hipertansiyonun glokoma dönüştüğünün habercisi olmaktadır.

Sıçan ve fare modellerinde, oküler hipertansiyonun, gangliyon hücre ölümüne giden süreçte meydana getirdiği etkiler araştırılmıştır (Nickells 2007). Bu aşamalar; optik diskte glia hücre sağlığının bozulması (evre 1), gangliyon hücre aksonlarında oto-yıkımın tetiklenmesi (evre 2), nörotrofik desteğin kaybı ve retina gangliyon hücre gövdesinde apoptotik değişiklikler (evre 3), glutamat eksitotoksitesinin de etkisiyle bir grup retina gangliyon hücresinde olan apoptozisin çevre hücrelere yayılması (evre 4) ve ölen gangliyon hücrelerinin yerini glia hücrelerinin skarla doldurması (evre 5) olarak sıralanabilir (Nickells 2007).

## **2.5. Glokom**

Glokom, yüksek GİB ve oküler kan akımı dengesizliği sonucu retina gangliyon hücrelerinin hasarı ile optik sinirde ilerleyici atrofiye neden olan ve bunun neticesinde görme alanı kaybı ile seyreden kronik bir optik nöropatidir (Stein vd 2021). Sinsi seyirli bir hastalık olan glokom, dünyada körlüğün en sık nedenlerinden birisidir. Erken tanı ve tedavi uygulanmadığı zaman ciddi görme kaybı riski yüksek olduğundan, glokom tanı ve tedavisi konusunda araştırmalar halen yoğun olarak devam etmektedir (Stein vd 2021).

Kırk yaş sonrası glokom prevalansı dünya genelinde yaklaşık olarak %2-4 civarındadır (Yanoff ve Duker 2019). Glokom riskini arttıran faktörler ileri yaş, genetik yatkınlık, aile hikayesi, yüksek göz içi basınç, ince kornea, yüksek miyopi veya hipermetropi, düşük oküler perfüzyon basıncı, travma, psödoeksfolyasyon, göz cerrahisi, diyabet ve çeşitli ilaçlar olarak sıralanabilir (Yanoff ve Duker 2019).

Glokom patojenezinde iki ana etken tespit edilmiştir. Bunlar yüksek göz içi basınca ikincil mekanik hasar ve optik sinir başında vasküler perfüzyon bozukluğudur (Sihota ve Tandon 2015). Mekanik hasar özellikle optik sinir aksonlarının globu terk ettiği poröz yapıdaki lamina kribroza bölgesinde gerçekleşmektedir (Sihota ve Tandon 2015). Optik sinir başında oluşan vasküler perfüzyon bozukluğu ise otoregülatör mekanizmaların eksikliği, kapiller kan akımında azalma, vazospazm ve sistemik hipotansiyon sonucu ortaya çıkmaktadır (Sihota ve Tandon 2015).

### **2.5.1. Glokom Sınıflaması**

Glokom sınıflaması 3 temel grup olarak primer erişkin (edinsel) glokom, sekonder glokomlar ve konjenital glokom şeklinde yapılabilir. Dünya genelinde en sık görülen glokom tipi primer erişkin açık açılı glokomdur. Glokom tiplerinin görülme sıklığı ülkelere göre değişmektedir. Örneğin Çin ve Hindistan'da primer kapalı açılı glokom daha sık iken ülkemizde, Avrupa ve Afrika'da primer açık açılı glokom daha sıktır (Özçetin 2009, Sihota ve Tandon 2015).

Primer erişkin glokom, iridokorneal açının açık veya kapalı olmasına göre, açık açılı ve kapalı açılı olarak 2 temel sınıfa ayrılır. Sekonder glokomlar steroide bağı, psödoeksfolyatif, pigmenter, travmatik, afakik, psödofakik, üveitik ve neovasküler glokomları içerir. Konjenital glokom da primer ve anomalilerle ilişkili olarak 2 gruba ayrılır (Yanoff ve Duker 2019, Sihota ve Tandon 2015). Primer erişkin glokom, temel olarak aköz hümor dışa akımına direnç gelişmesi nedeniyle oluşur. Sekonder glokomlar, aköz hümor dışa akım azalmasına neden olan göz içi veya sistemik bozukluklarla ilişkilidir. Konjenital glokomlarda ise aköz hümor dışa akımının en önemli dokusu olan trabeküler ağda doğumsal yapısal bozukluk mevcuttur (Yanoff ve Duker 2019, Sihota ve Tandon 2015).

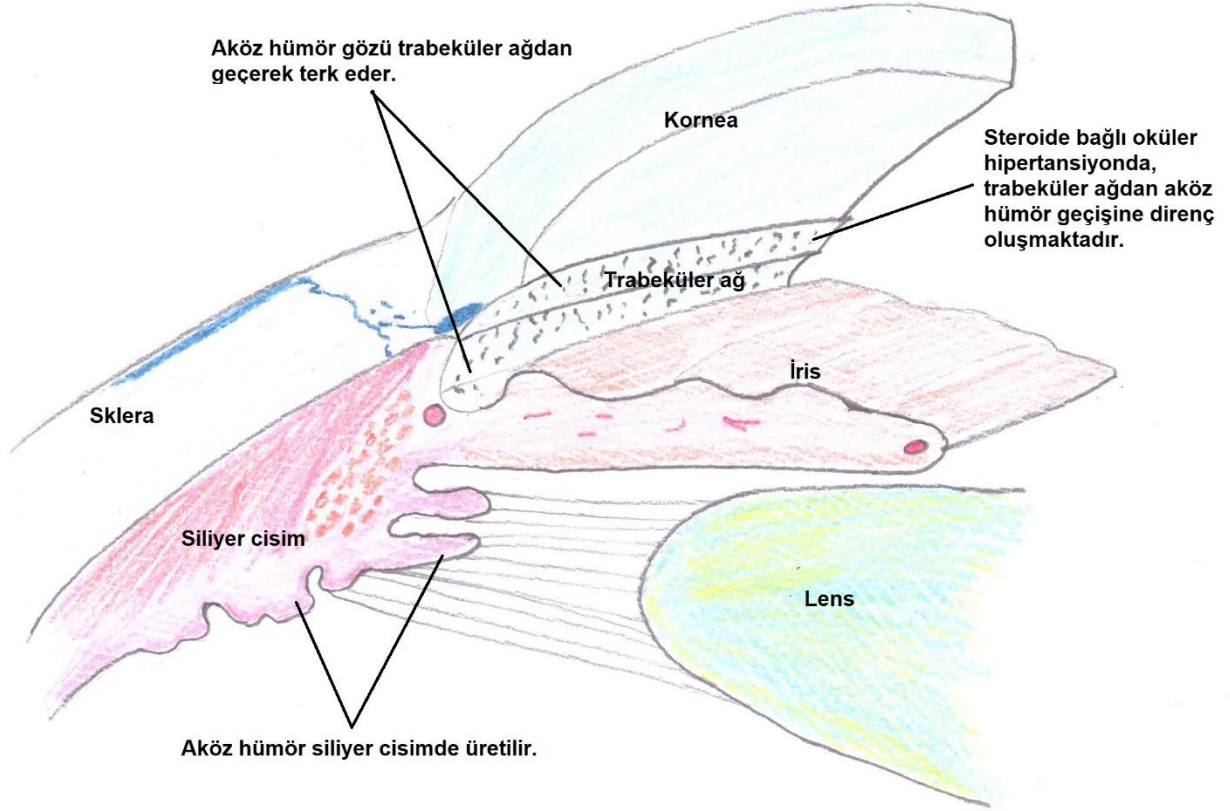
### **2.5.2. Steroide Bağı Glokom**

Steroidler çeşitli oküler ve sistemik hastalıkların tedavisinde etkili olan ve yaygın olarak kullanılan anti-enflamatuvar ilaçlardır. Steroidler uzun süreli kullanımda göz içi basıncının yükselmesine ve glokoma yol açabilmektedir. Steroid kullanımı sonrası göz içi basınç değeri yaklaşık 5-10 mmHg artan hastalara 'steroide duyarlı' denilmektedir (Roberti vd 2020).

En çok topikal damla veya göz içi uygulamalarla glokom riski olmakla beraber vücuda herhangi bir yolla (oral, intravenöz, inhaler, dermatolojik) uzun süreli steroid kullanımı glokoma yol açabilir. Kullanılan steroidin potensi arttıkça göz içi basıncı yükseltme ihtimali de artar. Steroid duyarlılığı durumunda topikal steroidli damlaların 3 hafta süreyle devamlı uygulanması oküler hipertansiyona yol açmaktadır (Roberti vd 2020). Özellikle prednizolon ve deksametazon gibi güçlü steroidlerin oküler uygulaması oküler hipertansiyon riskini arttırır.

Steroide bağı oküler hipertansiyon veya glokom genellikle yavaş seyirlidir. Akut olarak göz içi basınç yüksekliği gözlenmez. Ön kamara açısı açıktır. Çocuklarda steroide bağı glokom daha şiddetli seyredebilmektedir. Bu tip glokomda ağrı ve kızarıklık gibi semptomlar sık olmadığından uzun süreli göz içi basınç yüksekliği körlükle sonuçlanabilir (Roberti vd 2020).

Steroide bağı göz içi basınç yüksekliğinden sorumlu mekanizmalar; trabeküler ağda yapısal bozulma (ekstraselüler matriks ve sıkı bağlantılarda değişiklikler), trabeküler fagositozun azalması, lizozomal membranların stabilizasyonu ve prostaglandin sekresyonunun azalması (prostaglandinler aköz dışa akımını arttırır) olarak sıralanabilir (Roberti vd 2020). Steroid tedavisi kesilince, belli bir süre sonra göz içi basınç değerleri normale dönmektedir.



**Şekil 2:** Göz ön segmenti ve aköz hümör yolları (*Tez yazarının kendi çizimi*)

### 2.5.3. Glokomda Optik Sinir Hasarı

Glokomda ilk olarak etkilenen alan, retina gangliyon hücre (RGH) tabakasıdır. RGH aksonları birleşerek optik siniri oluşturduğundan, RGH hasarına neden olan faktörler direkt olarak optik sinir hasarına yol açmaktadır. Glokomda optik sinir hasarı mekanik, immünojenik, vasküler ve moleküler temelde oluşmaktadır (Samelska vd 2021).

İmmünojenik ilişkili glokom nöropatisinde ana etkenler kompleman sistemi, TNF-alfa yolları ve toll-like reseptör (TLR) yollarıdır (Samelska vd 2021). Glokomlu gözlerin optik sinirinde artmış kompleman aktivitesi tespit edilmiştir (Samelska vd 2021). Glokomlu hastalarda retina ve optik sinirde artmış TNF-alfa seviyeleri gösterilmiştir (Tezel 2008). TLR 4 polimorfizminin glokom patogenezinde rol oynadığı ve hastalık taramasında kullanılabileceği belirtilmiştir (Chaiwang ve Poyomtip 2019).

Optik sinir başındaki glokom hasarına glia hücrelerinin de etkisi olmaktadır (Chaiwang ve Poyomtip 2019). Glia hücreleri hem aksonları koruma ve besleme hem de akson dejenerasyonu sinyallerini düzenlemektedir. Astrositler glokomda, optik sinir başında TNF-alfa, endotelin, IL-6 ve diğer sitokinlerin de üretimini yaparak dejenerasyon sürecinde rol almaktadır (Chaiwang ve Poyomtip 2019, Almasieh vd 2012). Optik sinir başındaki oksidatif

stres hasarında reaktif astrositozisin de rolü vardır (Ghosh vd 2020). Ayrıca glokomatöz hasarın olduğu optik sinir bölgesine monosit hücre göçünün, glokom hasarını arttırdığı gösterilmiştir (Howell vd 2012).

Oksidatif stres, optik sinirde gözlenen glokom hasarında rol oynamaktadır (Tezel 2006). Glokomda optik sinir başındaki astrositlerin oksidatif stres nedeniyle etkilendiği gösterilmiştir (Tezel 2006, Ju vd 2019). Glokomda astrositlerde siklik adenzin monofosfat / protein kinaz A (cAMP/PKA) yolunun aktive olup cAMP artışı, mitokondri disfonksiyonu, kaspaz-3 aktivasyonu ve hücre ölümü ile giden bir süreç başladığı tespit edilmiştir (Ju vd 2019).

Glokomatöz optik sinir akson hasarında glutamat eksitotoksitesisi de rol oynamaktadır (Vorwerk vd 1999, Evangelho vd 2019). Retinada ve vitreusta artmış glutamat konsantrasyonu retina gangliyon hücre ölümüne neden olmaktadır (Vorwerk vd 1999). Artmış göz içi basıncın, aşırı glutamat üretimini tetiklediği ileri sürülmüştür (Vorwerk vd 1999). Glutamat eksitotoksitesisi, oksidatif strese de neden olarak retina gangliyon hücre ve optik sinir akson ölümünü hızlandırmaktadır (Vorwerk vd 1999).

Yapılan deneysel çalışmalarda, göz içi basıncının mekanik zararlı etkisinin gözde ilk önce optik sinir başında ortaya çıktığı gösterilmiştir (Tamm vd 2017). Bu duruma sebep olan çeşitli etkenler vardır. Öncelikle, optik sinirin ortasındaki fizyolojik çukurluk, göz içi basınç arttığında ortaya çıkabilecek hasara yatkınlık oluşturmaktadır. Ayrıca, optik sinir aksonlarının globu terk ederken içlerinden geçtikleri lamina kribroza adlı elek şeklindeki porlu sklera dokusu, yüksek göz içi basıncının etkisiyle geriye yaylanmakta ve akabinde porların çapı azalıp aksonlara mekanik bası yapmaktadır (Tamm vd 2017).

Transforming büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ )'nin sklera dokusunun rijiditesinde artış yaptığı ve glokomda optik sinir hasarında rol oynadığı belirtilmektedir (Tamm vd 2017). Yine TGF- $\beta$  etkisiyle optik sinir başındaki astrositlerde reaktif değişiklikler olup astrogliosis gelişmektedir (Tamm vd 2017). Glokom modelinde yapılan deneysel çalışmalarda, TGF- $\beta$  inhibisyonunun retina gangliyon hücresi harabiyetini ve dolayısıyla optik sinir akson hasarını azalttığı saptanmıştır (Tamm vd 2017).

Glokomun optik sinir hasarında kan dolaşımının etkisi net olarak gösterilememiştir. Fakat normotansif glokomda oluşan hasarda, optik sinir iskemisinin rol oynadığı bilinmektedir. Lokal kan akımını çeşitli parametreler açısından ölçmek bu konuyla ilgili daha net veri sağlamada yararlı olabilir (Tamm vd 2017). Özellikle kısa arka siliyer arterlerin skleradan ve optik sinir

dokusu içerisinde geçerken uğrayabileceği değişiklikleri saptamak, glokom patojenezinde kan akımı etkisini ortaya çıkarmak adına önemlidir (Tamm vd 2017).

Optik koherens tomografi anjiyografi (OKTA) ile yapılan glokomda optik disk damarsal yapısı çalışmaları son zamanlarda literatürde fark edilmektedir (Suh vd 2022, Montorio vd 2022, Kamalipour vd 2022). Yapılan çalışmalarda glokomun optik disk mikrovasküler yapısında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Suh vd 2022). Primer açık açılı glokomda optik sinir pial arter çapının azaldığı da saptanmıştır (Montorio vd 2022). Ayrıca, glokomda optik sinir çevresi vasküler yoğunluk azalmasıyla görme kaybı arasında korelasyon saptanmıştır (Kamalipour vd 2022).

Bilindiği üzere yaş arttıkça glokom riski artmaktadır. Yaşın artmasıyla optik sinir başı bağ dokusunun sertliğinde artış olmaktadır. Artmış skleral sertlik de optik sinire mekanik baskı uygulamakta ve akson hasarı ortaya çıkmaktadır (Stowell vd 2017). Yaş arttıkça glokomdan bağımsız olarak optik sinirlerde akson kaybı da olasıdır.

#### **2.5.4. Glokomda Retina Hasarı**

Retina gangliyon hücre (RGH) ölümü glokomun ilk ortaya çıkan retina hasarı olarak bilinmektedir (Davis vd 2016). RGH ölümü, görme alanı defektleri ve görme kaybına yol açmaktadır. Normal insan retinasında yaklaşık olarak 1.5 milyon RGH bulunmaktadır. RGH hücre kaybı normal yaşlanma sürecinde de olmakla beraber glokomda bu durum normale göre çok artmıştır (Davis vd 2016).

Glokomda görülen RGH ölümü genel olarak apoptozis neticesinde gerçekleşmektedir. Apoptozis, nekroza ziyade, kaza sonucu ölümü ifade eden kontrollü hücre ölümü sürecidir (Garcia-Valenzuela vd 1995). Apoptoziste, kromatin yoğunlaşması, DNA parçalanması, oksidatif hasar ve otofajik dejenerasyon oluşmaktadır. Glokomda RGH akson dejenerasyonu, soma dejenerasyonuna nazaran daha fazla görülmektedir (Calkins 2012).

Mekanik olarak oluşan glokomun retina hasarında, RGH hücre aksonlarında, nörotrofik faktörlerin retrograd aksoplazmik taşınmasında inhibisyon olduğu gösterilmiştir (Davis vd 2016). Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF) ve Nörotrofinler 4/5 (NT4/5) gibi moleküllerin inhibisyonu RGH dejenerasyon ve apoptozisi ile ilişkilidir (Davis vd 2016). In vivo ve in vitro glokom modellerinde ekzojen olarak verilen BDNF gibi moleküllerin RGH apoptozisini önlediği gösterilmiştir (Davis vd 2016).

İskemi ve mitokondri fonksiyon bozukluğu, glokomdaki retina hasarında rol oynamaktadır (Banerjee vd 2013). Mitokondri işlevlerindeki bozulma özellikle RGH akson taşınmasında eksikliğe yol açmaktadır. Ayrıca mitokondrilerdeki patolojiler, RGH'lerini oksidatif strese duyarlı hale getirmektedir (Banerjee vd 2013).

Glokomda, RGH'lerde otofaji düzenleme bozukluğu olduğu tespit edilmiştir (Davis vd 2016). Otofaji düzenli kendi kendine yıkım ve istenmeyen hücre içeriklerinin geri dönüşümüdür. Otofajide bozukluk olması glokom haricinde çeşitli nörolojik hastalıklarda da saptanmıştır (Nixon 2013).

Glokom patojenezinde rol oynayabilen Müller hücreleri, retinada iç limitan membran ve dış limitan membran arasında yerleşmiş bir glia hücre çeşididir (Seitz vd 2013). Müller hücreleri, iç kan retina bariyerinin oluşumunda, iyon ve su homeostazisinde, glukoz metabolizmasında ve nörotransmitter yenilenmesinde rol alırlar. Glokomda retina hasarı durumunda, reaktif Müller hücre gliozisi gelişince, nöron koruma görevi (örneğin, nöron koruyucu faktörlerin salınımı) yanında nöron hasarı oluşturan bazı olumsuz etkileri (örneğin, skar oluşumu) de olabilmektedir (Seitz vd 2013).

Glokom patojenezinde rol oynayan diğer bir retina hücresi mikrogliadır (Seitz vd 2013). Mikroglia hücreleri santral sinir sistemi ve retinadaki immünolojik olayların düzenleyicisidir. Retina hasarı durumunda fagositoz ve çeşitli enflamatuar protein salınımı yaparlar (Seitz vd 2013). Yapılan bazı deneysel çalışmalarda, glokom hasarında mikroglia inhibisyonunun RGH yaşamına olumlu katkı sağladığı gösterilmiştir (Seitz vd 2013).

Yapılan çeşitli çalışmalarda glokomda retina kan akımında azalma saptanmıştır (Logan vd 2004, Nicoleta vd 1996). Bu kan akımındaki azalma, özellikle insan çalışmalarında ve optik disk çevresindeki retinada tespit edilmiştir (Logan vd 2004, Nicoleta vd 1996). Ayrıca retina kan hacmindeki azalmayla glokom hasarı arasında pozitif bir ilişki olduğu da bildirilmiştir (Logan vd 2004). Glokomda retinadaki azalmış kan akımının glokoma yol açan bir faktör mü yoksa glokomun oluşturduğu bir bozukluk mu olduğu tam net değildir.

Glokomda retina hasarı elektroretinogram (ERG) tetkikiyle de gösterilebilmektedir. ERG tetkiki retinayı bütün olarak etkileyen hastalıklarda bozuk çıkmaktadır. Glokomda ERG'de a ve b dalga amplitüdlerinin düştüğü tespit edilmiştir (Mittag vd 2000). Ayrıca, oküler hipertansiyon oluşturulmuş hayvan deneyi çalışmalarında retinadaki hasarın sadece RGH ve glia hücreleriyle sınırlı kalmadığı iç ve dış retina katlarında genel anlamda anatomik harabiyet

olduğu gösterilmiştir (Vidal-Sanz vd 2012). İnsan çalışmalarında da glokomun iç ve dış nükleer tabakalarda hücre kaybına sebebiyet verdiği tespit edilmiştir (Vidal-Sanz vd 2012).

### **2.5.5. Glokomda Beyin Hasarı**

Glokomda beyinde nörodejenerasyon olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Chan vd 2021, Helmer vd 2013, Yan vd 2017, Yücel vd 2001, Hell 2014, Yücel vd 2006, Yu vd 2013, Qing vd 2010, Frezzotti vd 2016). Beyindeki dejenerasyon gözlenen alanlar özellikle görme ile ilgili beyin bölümleridir. RGH aksonlarının beyin içerisinde ilk sinaps yaptığı yer olan talamusun lateral genikulat cismi (LGC) ve en son sonlanım yeri olan oksipital lob hasarları dikkat çekicidir (Chan vd 2021, Helmer vd 2013, Yan vd 2017, Yücel vd 2001, Hell 2014, Yücel vd 2006, Yu vd 2013).

Glokomda beyin hasarının oluşumunda özellikle trans-sinaptik yayılım üzerinde durulmuştur. Glokomda trans-sinaptik nörodejenerasyon mekanizmasında defektif tau proteinlerinin rol aldığını gösteren çalışmalarda tau yayılması, yanlış ayrılması, agregasyonu ve hiperfosforilasyonu tespit edilmiştir (Chan vd 2021). Tau, hücre içi akson taşımacılığında görev yapan ve hücre iskeletini oluşturan mikrotübüllerin düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir proteindir. Tau protein fonksiyonlarındaki bozulma dentritik çıkıntı hasarına yol açmaktadır (Chan vd 2021).

Amiloid-beta metabolizmasındaki bozukluğun glokomda gözlenen beyin hasarıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Helmer vd 2013). Glokom hayvan modellerinde RGH apoptozisi ile amiloid-beta arasında bir ilişki saptanmıştır (Chan vd 2021). Ayrıca glokom hayvan modellerinde LGC'de anormal tau ve amiloid-beta birikimi saptanmıştır (Yan vd 2017). Glokomda amiloid beta ve tau metabolizmasında fark edilen bozuklukların temelde Alzheimer hastalığı patojenezinde rol alması, bu iki hastalık arasında bir ilişki olabileceğine işaret edebilmektedir (Chan vd 2021, Helmer vd 2013).

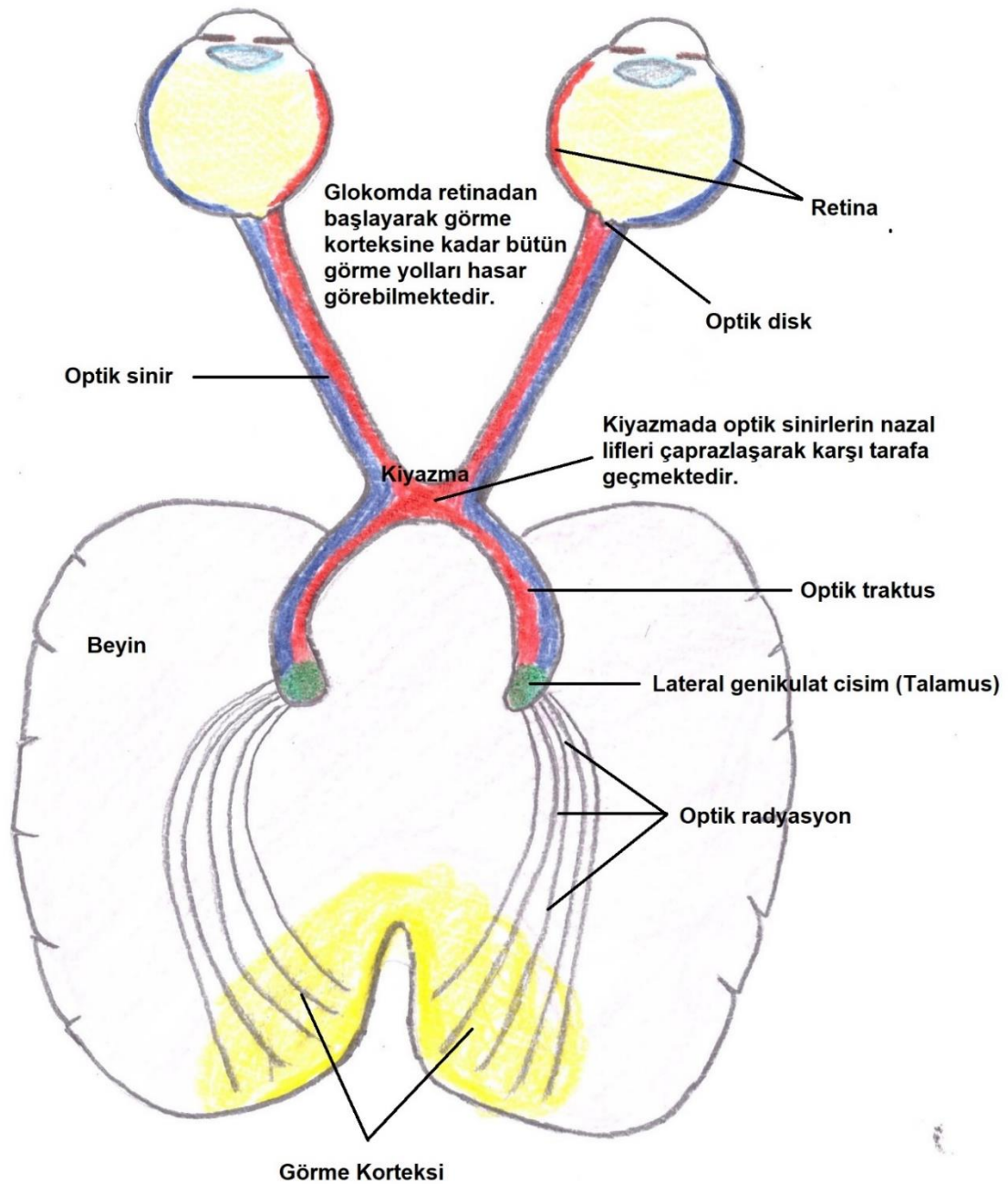
Deneysel glokom modellerinde göz içi basınç arttıkça LGC'deki hasarın da arttığı saptanmıştır (Yücel vd 2001). Bu hasarın oluşumunda sinaptik güç ve yoğunluğu düzenleyen CaMK2-alfa proteininde eksikliğin rol oynayabileceği belirtilmiştir (Hell 2014). Glokomda beyindeki (talamus, optik radyasyon, kalkarin sulkus etrafı korteks) hasar lokalizasyonu ile retina hasarı lokalizasyonu arasında doğrudan korelasyon da mevcuttur (Chan vd 2021).

Yapılan manyetik rezonans görüntülemelerinde (MRG) glokomda LGC'de atrofi ve hacim kaybı saptanmıştır (Chan vd 2021). Saptanan bu LGC atrofisiyle nöron kaybı arasında korelasyon mevcuttur (Yücel vd 2006). Glokomdaki retina sinir lifi tabakası (RSLT) incilmesi ile oksipital



lob korteks incelmesi arasında da korelasyon vardır (Yu vd 2013). Ayrıca, fonksiyonel MRG ile glokomda primer görme korteksinde azalmış aktivite gösterilmiştir (Qing vd 2010).

İlginç olarak glokomda görme korteksi ve görme yolları dışındaki beyin alanlarında hasar gelişebildiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Chan vd 2021). Görmeyle direkt ilişkisi olmadığı düşünülen beyin beyaz madde alanlarında glokom şiddetiyle korelasyon gösteren hasarlar saptanmıştır (Frezzotti vd 2016). Açık açılı glokomda hipokampus ve frontal kortekste atrofi geliştiği de yine aynı çalışmada saptanmıştır (Frezzotti vd 2016).



**Şekil 3:** Retinadan görme korteksine kadar görme yolları (Tez yazarının kendi çizimi)

### 2.5.6. Glokom Tanısı

Glokom tanısının konulmasında dikkate alınan ana faktörler göz içi basınç, aile öyküsü, gonyoskopi, santral kornea kalınlığı (SKK), görme alanı, optik disk çukurluğu ve optik koherens tomografi bulguları olarak sıralanabilir. Özellikle birinci derece akrabalarda glokom olması kişide glokom gelişme riskini yaklaşık 5-10 kat artırır. Göz içi basınç değerinin 21 mmHg'nin üzerinde olması glokom şüphesini doğurur. Ortalama göz içi basınç değeri yaklaşık 15.5 mmHg'dir. Artmış diüurnal göz içi basınç değişimi de glokom lehine bir bulgudur (Şimşek 2018, Başer 2016).

Gonyoskopiyle glokomun açık veya kapalı açılı olup olmadığı tespit edilir. Bu ayırım tedavi yaklaşımını doğrudan etkilediğinden önemlidir. İridokorneal açının değerlendirilmesinde ön segment biyomikroskopi ve ön segment optik koherens tomografisinin de yeri vardır. Bu gelişmiş cihazlar özellikle iris konfigürasyonu hakkında değerli bilgiler verir (Şimşek 2018, Başer 2016).

Temel göz muayenesiyle çoğu hastada glokom tanısı koymak mümkündür. Glokomda görme keskinliği ve kontrast görme azalmaktadır. Biyomikroskopla yapılan ön segment muayenesinde psödoeksfolyasyon varlığı, iris atrofi, iris yapışıklıkları, geçirilmiş üveit varlığına işaret eden keratik presipitatlar, pigment dispersiyonu, lens patolojileri (özellikle glokomfleken, subluksasyon, vb.) ve ön kamara derinlik değişiklikleri glokom tanısı koymada yardımcı bilgiler sağlar (Başer 2016).

SKK glokom tanısı koyarken dikkate alınacak parametrelerden birisidir. SKK, glokomlu bireylerde normalden (ortalama 540 mikron) daha incedir. SKK'daki her 40 mikronluk incelik glokom riskini yaklaşık olarak %40 arttırmaktadır. Oküler hipertansiyonda ise kornea normale göre daha kalındır (Başer 2016).

Fundus muayenesinde optik disk incelemesi glokom tanısını koymada önemli bir basamaktır. Optik diskte çukurlaşma veya normal optik disk fizyolojik çukurluğunda genişleme glokom lehine bir bulgudur. Çukurlaşma oranının 0.3'den büyük olması, çukurlaşmanın özellikle vertikal planda olması, optik diskte hemoraji ve peripapiller atrofi saptanması glokom tanısına yaklaştırır (Avrupa Glokom Birliği 2021).

Glokom tanısı koymada ilk istenen tetkiklerden birisi görme alanıdır. Görme alanı muayenesi glokom tanı ve takibinde halen fonksiyonel açıdan altın standart tetkik olmayı sürdürmektedir. Fakat erken dönemde glokomu yakalama oranı nispeten düşüktür. Çünkü RGH'lerde %30 civarı kayıp olmadan bulgu vermemektedir. Glokomda görme alanı defektleri, RGH

aksonlarının optik diske yönelim düzeniyle ilişkilidir (örneğin, ark şeklinde skotomlar, nazal basamak skotomu, vb.) (Başer 2016).

Glokom teşhisinde yardımcı tetkiklerden bir diğeri optik koherens tomografi (OKT) ile retina sinir lifi tabakası (RSLT) kalınlığının ölçülmesidir. RSLT'de inceme glokom lehine bir bulgudur. İnsanlarda ortalama RSLT kalınlığı 90-110 mikron olup 80 mikronun altındaki kalınlıklarda glokom şüphesi doğar. Bir insanın iki gözünde 10 mikrondan fazla RSLT kalınlık farkı olması da patolojik olarak değerlendirilebilir (Başer 2016).

Optik sinir başının glokom açısından morfometrik incelenmesinde konfokal tarayıcı lazer oftalmoskop sistemi değerlidir. Bu sistemi kullanan cihazlarla normal ve glokomatöz optik diskler ayırt edilebilir. Bu cihazlarda en çok bakılan optik sinir başı parametreleri, disk alanı, çukurluk alanı ve hacmi, rim alanı, çukurluk/disk oranı, çukurluk şekil ölçümü ve ortalama çukur derinliğidir. Genel olarak glokomda çukurluk alanı, hacmi ve derinliği artarken, özellikle dikey planda rim alanı azalır (Başer 2016).

## 2.6. Deneysel Hayvan Glokom Modelleri

Deneysel hayvan modellerinin, glokom hastalığının patojenezini anlamada ve tedavi yolları bulmada uzun yıllardır önemli yararları olmuştur. Glokom modellerinin geçerliliği, insan fizyolojisiyle benzerliği ile modelin ekonomik ve pratik olmasına göredir. Glokom hayvan modellerinde domuz, köpek ve maymun gibi büyük hayvanlar kullanıldığı gibi fare, sıçan ve tavşan gibi kemirgenler de kullanılmıştır. Bu hayvan modellerinde glokomun ana tipleri (açık açılı, kapalı açılı ve konjenital glokomlar) oluşturulabilmektedir. Bu modellerde glokom oluştururken çeşitli doku ve fizyolojik mekanizmalar hedef alınır, fakat en çok kullanılan yöntem göz içi basıncının yükselmesini sağlamaktır (Bouhenni vd 2012).

Sıçan, deneysel glokom modeli olarak en çok kullanılan hayvanlardandır. Sıçanlar, hemen her çeşit glokomda kullanılabilir. Bunun sebepleri arasında insan gözüyle hem fizyolojik hem anatomik açıdan benzer olması, ekonomik yönden ucuz olması, temin edilebilmesinin kolay olması, genetik manipülasyona uygun olması, kısa hayat süreleri, beslenme ve barınma koşullarının nispeten rahat olması sayılabilir (Johnson ve Tomarev 2010). Ayrıca sıçanlarda göz tansiyonu ölçümlerinde, hemen her göz kliniğinde bulunabilen TonoPen göz tansiyonu ölçüm cihazı başarılı sonuçlar vermektedir.

Sıçanlarda oküler hipertansiyon veya glokom modelleri oluştururken genellikle 'in vivo' iki yöntem kullanılmaktadır. Birincisi farmakolojik, genetik veya cerrahi yollarla göz içi basıncını arttırıp oküler hipertansiyon oluşturmaktır. İkincisi ise optik sinir veya retina ganglion

hücrelerinde travma veya toksik ajanlar vasıtasıyla hasar oluşturmaktır. Ayrıca sıçanlarda glokom modellemesi, hücre ve doku kültürü kullanılarak 'in vitro' olarak da yapılabilmektedir. Hiçbir glokom modeli aslını tam olarak yansıtmasa da gerçeğe çok yakın sonuçlar vermektedir.

Göz içi basıncın yüksek olduğu süre ne kadar artarsa RGH ve optik sinir hasarının da o kadar arttığı çeşitli hayvan modellerinde gösterilmiştir (Johnson ve Tomarev 2010). Hayvan modellerinde göz içi basıncı en doğru şekilde ölçme metodu, ön kamaraya direkt mikro-İğneler yoluyla girip bir sıvı manometresi kullanmaktır. Fakat bu tekniğin, genel anestezi gerektirmesi ve girişimsel olması gibi olumsuz yönleri vardır (Johnson ve Tomarev 2010). Genel olarak sıçan modellerinde en çok kullanılan göz içi basınç ölçme yöntemi, girişimsel olmayan temaslı darbe indüksiyon tonometresidir (TonoPen).

Genetik sıçan ve fare glokom modelleri (transgenik kemirgenler), aköz hümör dinamikleri, iris dokusu, trabeküler ağ yapısı ve RGH biyolojisi genetik olarak değiştirilerek elde edilebilmektedir (Johnson ve Tomarev 2010). Bu tür modellerin avantajları, daha öngörülebilir göz içi basınç artışı oluşması ve dolayısıyla optik sinir ve retina hasarlarının daha standart olmasıdır. Genetik teknikler kullanılarak normotansif glokom ve nispeten daha nadir görülen konjenital glokom modelleri de oluşturulabilmektedir. Transgenik hayvan modellerinin dezavantajlarını ise temin etmenin biraz daha zor olması, pahalı olmaları ve deneysel manipülasyona fazla yatkın olmamaları olarak sıralayabiliriz (Johnson ve Tomarev 2010).

Özellikle sıçanlarda olmak üzere deneysel oküler hipertansiyon hayvan modeli oluşturmada çeşitli girişimsel teknikler kullanılmaktadır. Bunlar trabeküler ağın lazer fotokoagülasyonu, episkleral venlere hipertonic tuzlu sıvı enjeksiyonu, episkleral venlerin koterizasyonu ve ön kamaraya madde enjeksiyonudur (Johnson ve Tomarev 2010). Girişimsel teknikleri uygulamak nispeten daha zor olup özel ekipman ve tecrübe gerektirmektedir. Ayrıca oluşacak göz içi basınç yüksekliği ve işleme ait komplikasyonlar her denekte aynı olmayabilir (Johnson ve Tomarev 2010).

Glokom modeli oluştururken trabeküler ağa lazer fotokoagülasyon yapılmasındaki amaç aköz hümörün gözü terk etmesindeki ilk basamağın, yani trabeküler ağdaki deliklerin kapatılmasıdır. Episkleral venlerin kapatılması ise gözü terk etmek için bu venöz dolaşıma iletilmesi gereken aköz hümörün geçişini engellemektir (Biswas ve Wan 2019, Pang ve Clark 2020). Gözü terk etme yollarında tıkanıklık olduğunda aköz hümör göz içerisinde fazladan birikerek oküler hipertansiyona yol açmaktadır. Ön kamaraya trabeküler ağın deliklerinden geçemeyecek büyüklükte maddeler enjekte etmek de bu yapının tıkanmasına neden olup aköz hümörün dışarı drenajını engellemektedir (Biswas ve Wan 2019, Pang ve Clark 2020).

Ön kamaraya madde enjeksiyonuna benzer şekilde, uzun süreli topikal steroid uygulamaları da trabeküler ağı hedef alarak aköz hümör dışarı drenajını azaltmaktadır. Göz içi basıncını yükseltmeden glokom modeli oluşturmak ise glokomun hedef olarak hasar verdiği ana yapılar olan retina ve optik sinire çeşitli travmalar (mekanik, iskemik, toksik) uygulamak vasıtasıyla gerçekleştirilmektedir (Johnson ve Tomarev 2010).

## **2.7. Hipotez**

Yaklaşık bir ay süreyle topikal deksametazon uygulamasıyla oküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçan modelinde, retina ve optik sinir düzeyinde, ultrastrüktürel ölçekte iç ve dış retina hücrelerinde sayısal azalma ile optik sinir aksonlarında yapısal bozulma ortaya çıkar.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Çalışmaya Alınan Hayvanların Özellikleri

Mevcut çalışmaya yaklaşık 200-300 gram ağırlığında, 6 aylık yaşta, 7 tanesi çalışma grubunda 10 tanesi kontrol grubunda olmak üzere sağlıklı toplam 17 Sprague Dawley sıçanı alındı. Sprague Dawley sıçanları albino olup tıbbi amaçlı deneylerde en çok kullanılan hayvan gruplarından biridir. En önemli avantajları nispeten sakin mizaçlı olup kolay tutulabilmeleridir. Deneyler süresince hayvanların karışmaması için kuyruklarına numaralar işaretlendi.

Çalışmada, oküler hipertansiyon oluşturulmuş grup ve kontrol grubu olmak üzere iki grup kullanıldı. Hayvanları iki gruba ayırırken randomizasyon uygulandı (aynı kafesten hayvanları çıkarırken sırasıyla bir hayvan çalışma grubu diğer hayvan kontrol grubu olarak etiketlendi). Her hayvana standart ad libitum olarak su ve pelet tipte yemleme (hayvanın önünde sürekli su ve yem bulunup ihtiyacı kadar istediği zaman beslenme) sağlandı. Hayvanlar ortalama 21°C ısı ve %55 nemde ılık ve temiz havanın sağlandığı barınaklarda tutuldu. Barınaklarda normal gece ve gündüz döngüsü (12 saat gece, 12 saat gündüz) sağlandı.

Hayvanlar çalışma için seçilmeden önce genel sağlık parametrelerinin yanı sıra kornea, ön kamara, konjonktiva, sklera, orbita ve göz içi basıncı bakımından incelemeye tutuldu. Herhangi bir anormallik fark edilen hayvanlar çalışmaya seçilmedi. Çalışmaya alınan bütün hayvanların deneyler öncesinde göz muayene bulguları doğaldı ve göz içi basınç değerleri normal sınırlardaydı. Çalışmanın her aşaması uluslararası ve ulusal kabul gören hayvan deneyleri etik kurallarına bağlı kalınarak gerçekleştirildi. Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu izni (PAUHDEK-2020/13 no'lu çalışma, 02/06/2020 tarih ve 2020/02 sayılı toplantı) alındıktan sonra deneyler yapıldı. Sunulan hayvan deneyi çalışması girişimsel ve ileriye dönük (prospektif) özelliktedir.

#### 3.2. Deney Protokolü

Çalışma grubu olarak seçilen sıçanların bir gözüne (sağ gözler) tek taraflı olarak günde 4 kez 4 hafta boyunca topikal (damla formunda) deksametazon (Onadron Simple %0,1 Göz Kulak Damlası, İ.E. Ulagay, Türkiye) uygulanıp o gözlerde oküler hipertansiyon ve glokom oluşturuldu. Deksametazon sentetik bir adrenokortikal steroid olup uzun dönem kullanımında göz tansiyonuna yol açmaktadır. Kontrol grubu ise herhangi bir işleme tabi tutulmadı. Çalışma grubunda sadece sağ gözlerin kullanılmasının amacı, standardizasyonu sağlamak ve yanlılıkla gözleri karıştırma riskini önlemek içindi.

Her hayvanın göz içi basınçları başlangıçta, 2. ve 4. haftaların sonlarında Tonopen XL (Reichert Technologies, NY, USA) cihazıyla ölçüldü. Göz içi basınç ölçümleri öncesi sıçanların gözlerine topikal %0.5 proparakain hidroklorit (Alcaine, Alcon, Fort Worth, USA) damlatılarak anestezi sağlandı. İşlem öncesinde anestezi ilaç damlatılmasının amacı, hem hayvanı olası bir acıdan kurtarmak hem de göz kapağının kırılma refleksini azaltarak yanlış ölçüm riskini önlemektir. Tonopen XL cihazı ile ardışık olarak yapılan 3 göz içi basınç ölçümünün ortalaması kaydedildi. Her ölçüm öncesi cihazın ucu temiz bir mendille silindi. Her ölçüm gününde, üretici firmanın önerilerine uygun olarak cihaz kalibrasyonu yapıldı. Göz içi basıncın normal diurnal (bir günlük) değişimlerinden etkilenmemek için göz içi basınç ölçümleri hep aynı zaman aralığında yapıldı (öğleden önce saat 10:00-11:00 arası).

Oküler hipertansiyon oluşturulan hayvanlara ve kontrol grubundaki hayvanlara 4 haftanın sonunda anestezi altında glob ve optik sinir çıkartılması uygulandı. Deney protokolünün uygulanmasından sonra sıçanlara yüksek doz anestezi madde verilerek ötenazi yapıldı. Elektron ve ışık mikroskopi inceleme kalitesini arttırmak için hayvanlar ötenazi esnasında üç yollu musluk kullanılarak buzlu salin solüsyonu ve %4 paraformaldehit ile sol ventrikülden perfüze edildi. Kan ve sıvı dışarı akımı için sağ atriyum perfore edildi. Şekil 4'te bu yapılan işlemlerin kısaca bir özeti, görsel olarak sunulmaktadır.





**Şekil 4:** Sıçanların ötenazi sırasında sol ventrikülden üç yollu musluk kullanılarak, buzlu salin solüsyonu ve %4 paraformaldehit ile perfüze edilip (**a,b**), kan ve sıvı dışarı akımı için sağ atriyumun perfore edilmesi (**c,d**)



### 3.3. Doku hazırlama

Enükleasyon (göz küresi olarak da adlandırılan globun tamamının cerrahi olarak çıkartılması) işlemi esnasında optik sinir gerilmesini azaltmak için geniş bir lateral kantotomi (iki göz kapağının birleştiği temporal alandaki fibröz dokunun makasla kesilmesi) uygulandı. Globun arka kısmından itibaren yaklaşık 5 mm'lik optik sinir çıkartıldı (Şekil 5). Optik sinir etrafındaki dura tabakası dikkatlice sıyrıldı. Elde edilen optik sinir parçaları 0,1 M Sorenson fosfat tamponunda (SFT) hazırlanmış %4'lük glutaraldehit ile 2 gün +4 C°'de fikse edildi. İlk fiksasyon işleminden sonra 0.1 M SFT ile dokular yıkandı. İkinci fiksasyon işlemi osmium tetroksit ile 2 saat karanlık oda sıcaklığında yapıldı. Tekrar SFT tamponu ile yıkama işleminden sonra dokular dehidrasyon işlemi için %30-%50-%70-%80-%90-%95-%100 alkol serilerinde 15 dakika bekletildi. Son olarak toluol içinde 30 dakika bekletilip infiltrasyon işlemi için EPON'a gömüldü. Polimerizasyon işlemi için bir gece 45 C°'de, ertesi gün de yine bir gece 60 C°'de bekletildi. Yarı ince kesitler için doku ultramikrotom ile 1500 nm kalınlıkta kesildi. Toluidin mavisi ile boyandı. Uygun alan tespit edildikten sonra dokudan 50-70 nm aralıklarında ince kesitler alındı. İnce kesiti alınan dokuyu elektron mikroskopunda görünür hale getirebilmek için uranil asetat ve kurşun sitrat ile negatif kontrastlama yapıldı. Çekime hazır hale gelen doku, PAÜ İLTAM' da Zeiss marka SUPRA 40VP model elektron mikroskop (EM) cihazında görüntülendi.

### 3.4. Işık Mikroskop İnceleme Prosedürleri

Glob ve retina çıkartıldıktan sonra %4'lük paraformadehit çözeltisinde 24 saat bekletildi. Ardından %30'luk sükröz çözeltisinde bir gün tutularak dehidrate edildi. Retina kriyostat cihazında (Leica CM3050 S) dondurularak 10 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Ardışık olarak kesitlere Hematoksilen ve Eozin boyama uygulandı. Hematoksilen ve Eosin boyama işlemi sırasıyla ksilende bekletme, alkolde bekletme, distile suda yıkama, hematoksilen boyama, distile suda yıkama, Eosin boyama, distile suda yıkama, alkolde bekletme ve tekrar ksilende bekletip lamel ile kapama basamaklarını içermektedir. İncelemelerde 40x objektif lens büyütmesi kullanıldı. Ölçümlerde standardizasyon için her örnekten sınırları belirli bir çerçeve alan seçildi. Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin ışık mikroskop incelemesiyle (200 µm x 10 µm kesit alanında) ölçülen retina parametreleri; retina kalınlığı, retina gangliyon hücre sayısı, iç ve dış nükleer tabakalar hücre sayısını içermektedir. Deneklerden çıkartılan retina parçalarının midperifer alandan seçilmesine dikkat edildi.



**Şekil 5:** Göz küresi ve optik sinirin çıkartılması işlemleri (*a,b,c,d*)

### 3.5. Transmisyon Elektron Mikroskop (EM) İnceleme Prosedürleri

EM görüntülemesi için mikrotom ile yarı-ince ve çok ince kesitler hazırlandı. EM için hazırlanan kesitler yaklaşık olarak 0.06 µm kalınlığında idi. Çok ince kesitlerden 8000x, 10000x, 20000x ve 30000x büyütmelerde EM'de görüntüler elde edildi. İncelemeler için elde edilen fotoğrafların tam ekran görüntüsü kullanıldı.

### 3.6. Aksonların Morfometrik İncelenmesi

**Akson sayımı** için elektron mikroskop görüntülerinden 8000x büyütmede 38 µm x 26 µm kesit ölçütlerinde standart bir alan seçildi. EM'de örnek kesitlerin alanının belirlenmesinde orijinal fotoğraflardaki ölçek değerleri göz önüne alındı. Bölgesel akson sayısı, sağlam miyelin kılıflı aksonların manuel tek tek sayımlarından hesaplandı. Fotoğrafın kenarlarında az kısmı gözüken aksonlar sayılmadı.

Yuvarlak veya oval şeklini büyük oranda kaybetmiş, ebat olarak çok küçük veya çok büyük izlenen, hiperdens, elektron yoğun aksoplazmaya sahip, miyelin kılıfı lameller ayrılmış, mitokondrisi şişmiş veya boş aksonlar dejenere olarak kabul edildi. Dejenere akson oranı optik sinir kesitindeki tüm akson sayısı dikkate alınarak hesaplandı. Oküler hipertansiyon ve kontrol grubu aksonal dejenerasyon açısından karşılaştırıldı.

**Akson çapı** ölçümünde ImageJ programındaki uzunluk ölçüm fonksiyonundan yararlanıldı. Yuvarlak aksonlarda direkt olarak ölçülen çap kaydedildi. Eliptik aksonlarda en uzun ve en kısa çap ölçülerek ortalaması istatistiksel analiz için kaydedildi. Akson çapı ölçümleri için elektron mikroskop görüntülerinden 20000x büyütmede 14,8 µm x 10,4 µm kesit ölçütlerinde standart bir alan seçildi. Standart kesit alanına giren aksonların hepsinin çapı ölçüldü.

**Akson alanlarını** ölçmek için ImageJ programı kullanıldı. Fotoğraftaki ölçek uzunlukları analiz programıyla ayarlandı. ImageJ programının alan ölçümü fonksiyonuyla akson alanları manuel olarak seçilerek hesaplandı. Akson alanı ölçümleri için elektron mikroskop görüntülerinden 30000x büyütmede 9,85 µm x 6,86 µm kesit ölçütlerinde standart bir alan seçildi. Standart kesit alanına giren aksonların hepsinin alanı ölçüldü.

**Miyelin kılıf kalınlığı** da diğer akson ölçüm tekniklerine benzer şekilde, ImageJ programında EM kesit ölçeği ayarlaması yapılarak manuel olarak ölçüldü. Her bir optik sinir kesitinde, 30000x büyütmede, aksonlardan uygun olan hepsinin miyelin kalınlığı 4 kadranda ölçülüp ortalaması alındı.

### **3.7. İstatistiksel analizler**

İstatistiksel analiz için SPSS 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, ABD) programı kullanıldı. 'P<0.05' istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sayısal veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak ifade edildi. Oküler hipertansiyon ve kontrol grupları arası karşılaştırmalarda Mann Whitney U-testi kullanıldı. Işık mikroskop ve elektron mikroskop ölçümlerinin korelasyon analizlerinde Spearman testi uygulandı. Göz içi basınç ölçümleri ve ışık mikroskop analizleri çalışmaya alınan tüm deneklerde eksiksiz uygulanmışken, elektron mikroskop incelemesi kontrol grubundaki iki adet örneğe teknik sebeplerle uygulanamadı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Göz İçi Basınç Ölçümleri

Çalışma ve kontrol gruplarındaki işlem öncesi, ara dönem (2 hafta) ve son (4 hafta) göz içi basınç (GİB) değerlerinin karşılaştırması Tablo 1'de verilmiştir. Çalışma grubundaki ortalama GİB değeri son ölçümde istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmışken, kontrol grubunda sabit kalmıştı. Çalışma grubunda ara dönem ortalama GİB değerine bakıldığında, artışın dengeli olduğu izlenmektedir. Kontrol grubunda her üç zamanda alınan GİB değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Çalışma grubunda, başlangıç GİB değeriyle karşılaştırıldığında, ara dönemde %38, son dönemde ise %95 GİB artışı olmuştur.

**Tablo 1:** Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin ortalama göz içi basınç değerleri

	İlk GİB (mmHg)	Ara GİB (mmHg)	Son GİB (mmHg)	p
<b>Çalışma grubu</b>	9.4 ± 0.8	13.0 ± 1.7	18.3 ± 2.3	0.001
<b>Kontrol grubu</b>	9.6 ± 1.3	9.9 ± 1.5	9.8 ± 1.1	0.52

GİB: göz içi basınç

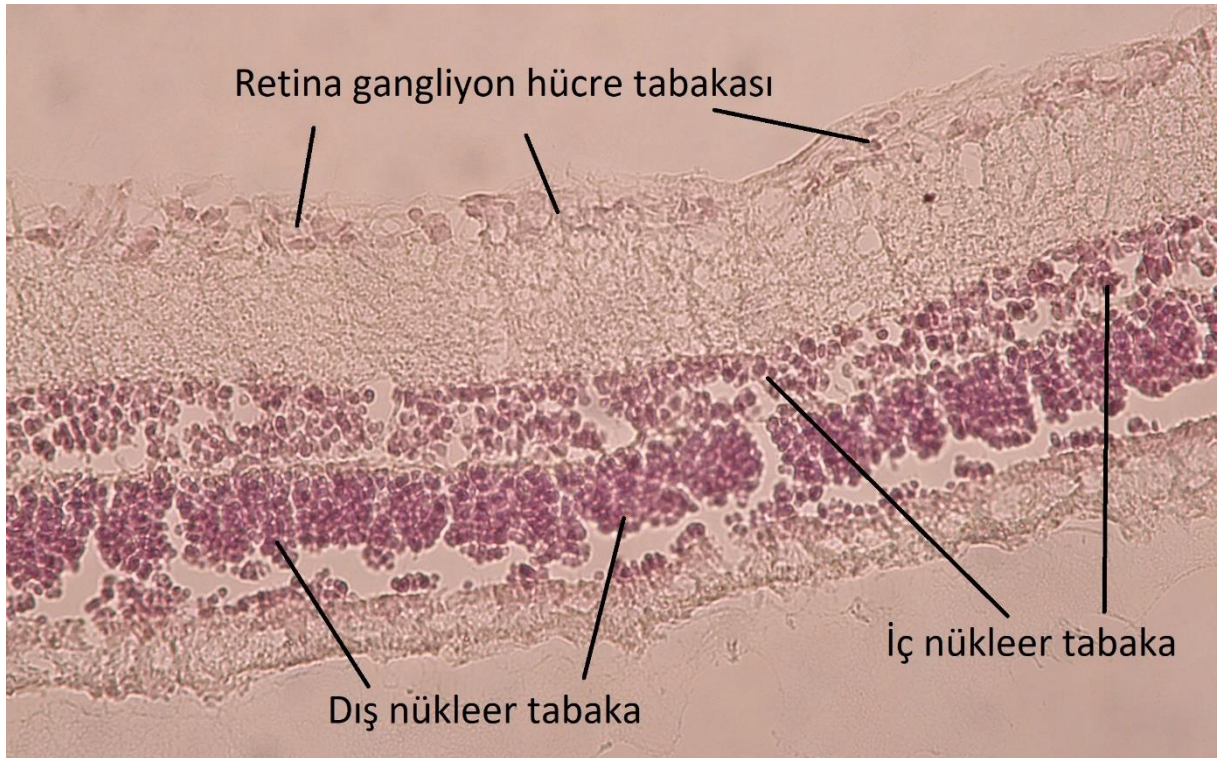
### 4.2. Retina Hücre Sayımları

Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin ışık mikroskopi incelemesiyle (200 µm x 10 µm kesit alanında) ölçülen retina parametreleri Tablo 2'de gösterilmektedir. Çalışma ve kontrol gruplarında retina kalınlığı benzer saptandı. Çalışma grubunda retina kalınlığı kontrol grubundan yaklaşık %6.4 kadar ince olmasına rağmen aralarında istatistiksel anlamlı bir fark yoktu. Fakat retina gangliyon hücre, iç nükleer tabaka hücre ve dış nükleer tabaka hücre sayıları çalışma grubunda kontrol grubuna nazaran istatistiksel anlamlı olarak azalmıştı. Şekil 6'da örnek bir ışık mikroskopi inceleme görüntüsü verilmiştir.

**Tablo 2:** Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin ışık mikroskop incelemesiyle (200  $\mu\text{m}$  x 10  $\mu\text{m}$  kesit) ölçülen retina parametreleri

	Çalışma grubu	Kontrol grubu	p
Retina kalınlığı ( $\mu\text{m}$ )	108.6 $\pm$ 12.1	116.0 $\pm$ 15.1	0.36
RGH sayısı ( <i>n</i> )	11.6 $\pm$ 2.2	13.9 $\pm$ 1.4	0.04
İNT hücre sayısı ( <i>n</i> )	68.9 $\pm$ 18.0	95.4 $\pm$ 20.1	0.01
DNT hücre sayısı ( <i>n</i> )	219.1 $\pm$ 57.4	285.5 $\pm$ 72.0	0.04

RGH: retina gangliyon hücresi, İNT: iç nükleer tabaka, DNT: dış nükleer tabaka

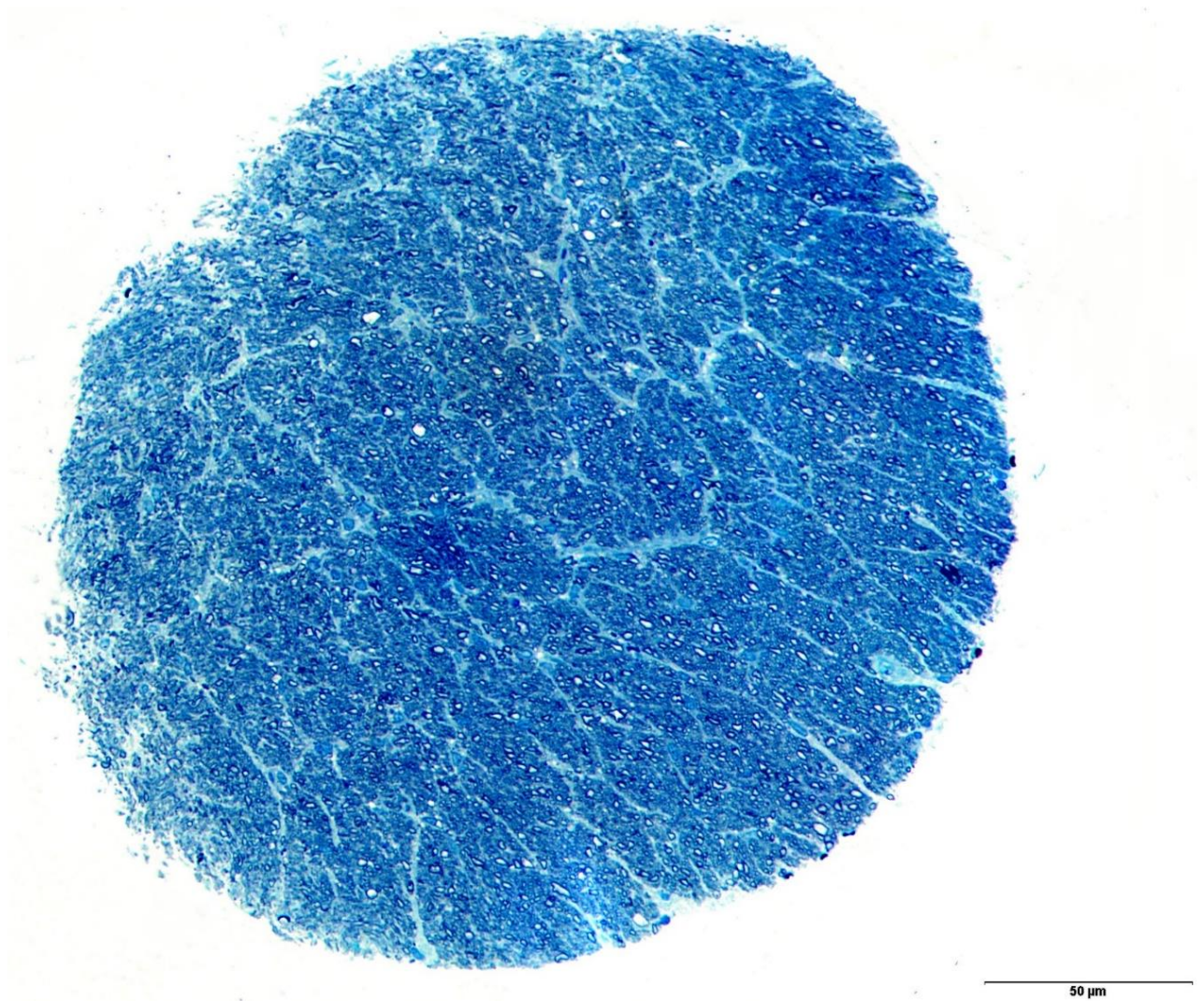


**Şekil 6:** Işık mikroskopunda sayılan hücrelerin bulunduğu retina katmanları (40x objektif lens büyütmesi)

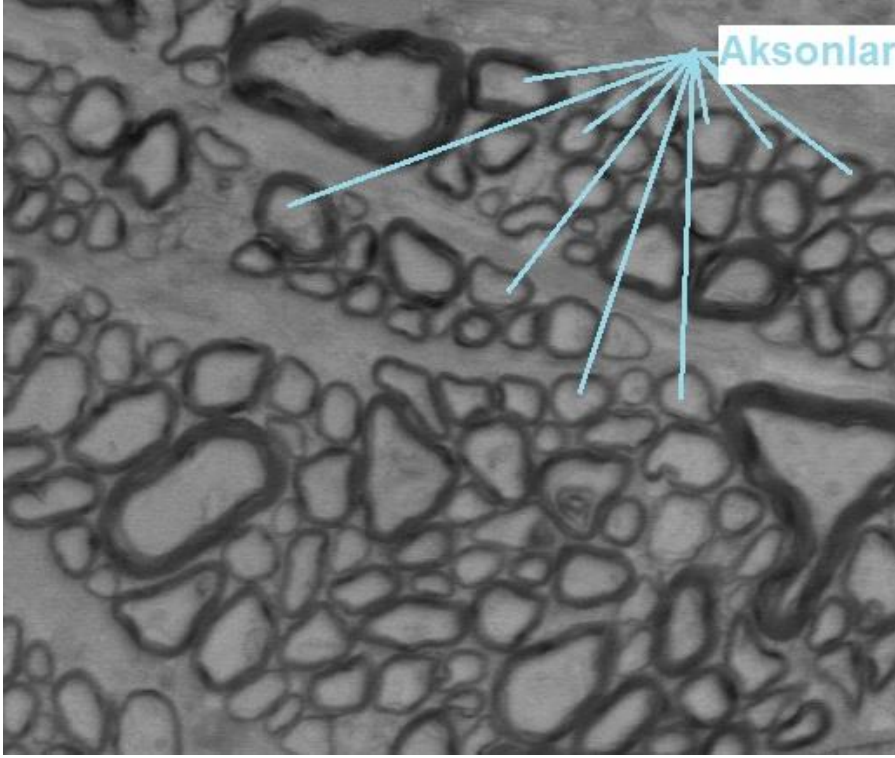


### 4.3. Optik Sinir Akson Sayımı

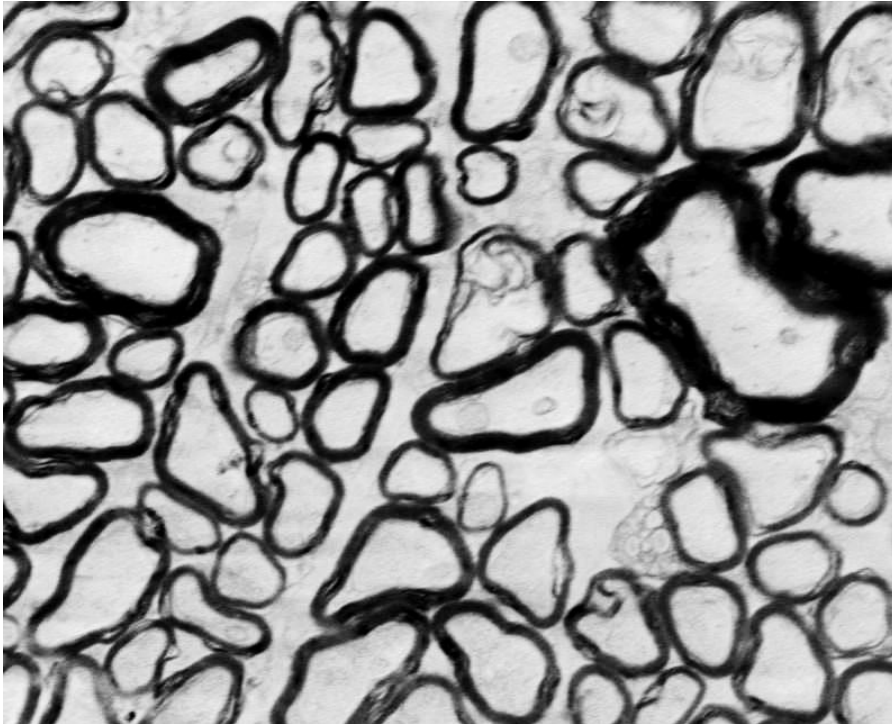
Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin EM'de 8000x büyütmede standart ölçüde alınan kesitlerdeki (38  $\mu\text{m}$  x 26  $\mu\text{m}$ ) akson sayıları arasında istatistiksel bakımdan fark saptanmadı. Akson sayısı, çalışma grubunda  $323.1 \pm 52.8$  iken kontrol grubunda  $298.5 \pm 65.0$  idi ( $p=0.40$ ). Şekil 7'de bir deneğin optik sinirinden alınan kesitin Toluidin mavisi ile boyanan preparatı gösterilmektedir. Şekil 8'de bir deneğin optik sinir kesitinin EM'de 8000x büyütmede çekilmiş fotoğrafı yer almaktadır. Şekil 9 ise EM'de 20000x büyütmede fotoğraflanmış bir optik sinir kesitini göstermektedir.



**Şekil 7:** Bir deneğin EM incelemesi öncesi Toluidin mavisi ile hazırlanan optik sinir kesiti



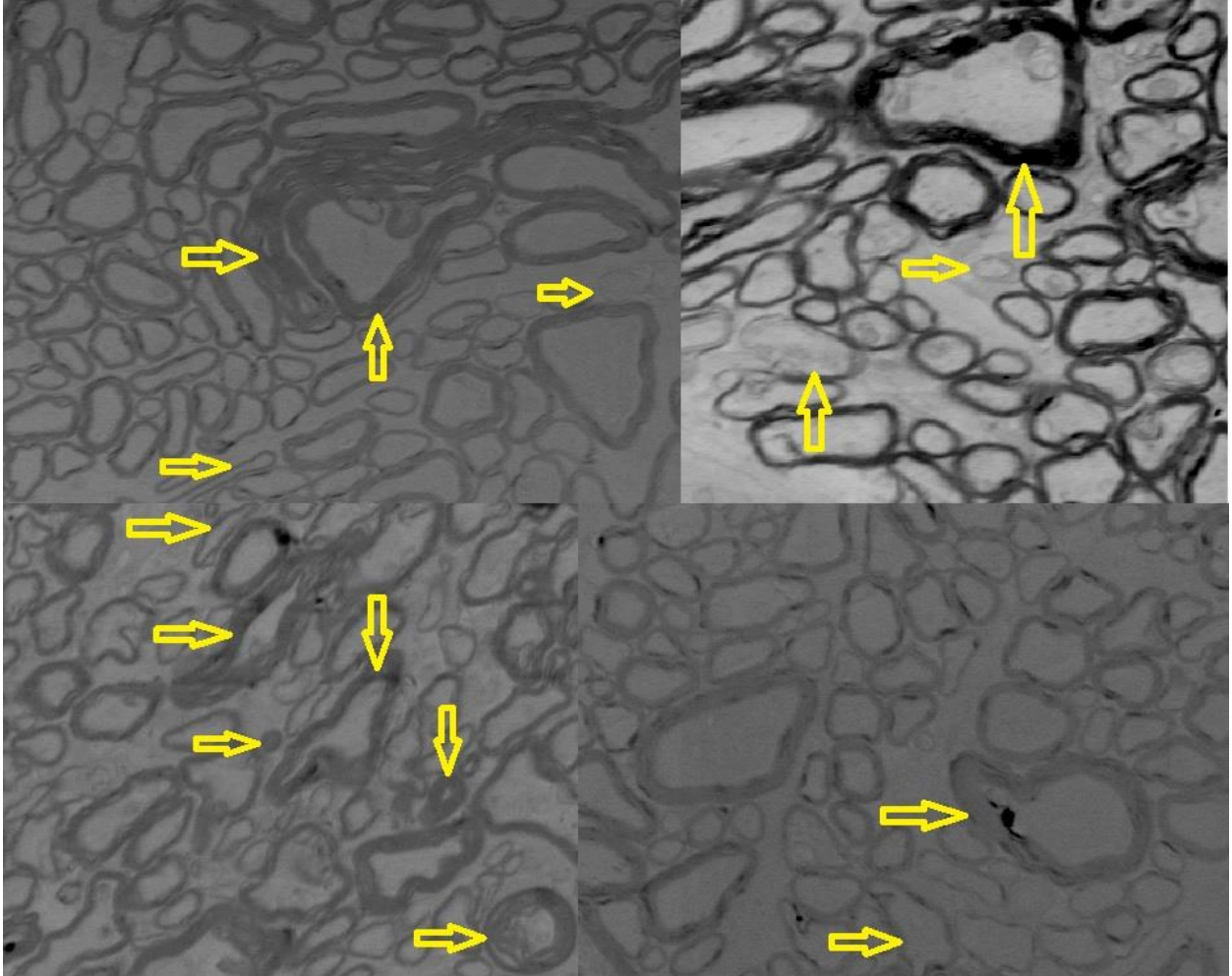
**Şekil 8:** Bir deneğin optik sinir kesitinin EM'de 8000x büyütmede çekilmiş fotoğrafında sağlıklı ve az sayıda dejenere aksonların birlikte görünümü



**Şekil 9:** EM'de 20000x büyütmede fotoğraflanmış bir optik sinir kesitindeki aksonlar



Dejenerasyona uğramış akson sayısı ile bunların toplam akson sayısı içerisindeki oranını hesaplamak için de EM'de 8000x büyütmede standart ölçüde alınan kesitler (38  $\mu\text{m}$  x 26  $\mu\text{m}$ ) kullanıldı. Dejenerasyona uğramış akson oranı, çalışma grubunda %18.8 $\pm$ 2.1 iken kontrol grubunda %14.4 $\pm$ 3.5 idi (p=0.02). Çalışma grubunda dejenere akson oranı istatistiksel olarak anlamlı şekilde fazlaydı. Şekil 10'da dejenerasyona uğramış akson örnekleri gösterilmektedir.



**Şekil 10:** Dejenerasyona uğramış (yuvarlak veya oval şeklini büyük ölçüde kaybetmiş, ebat olarak çok küçük veya çok büyük, hiperdens veya boş, miyelin kılıfı lameller ayrılmış) bazı akson örneklerinin sarı oklarla işaretlenmesi

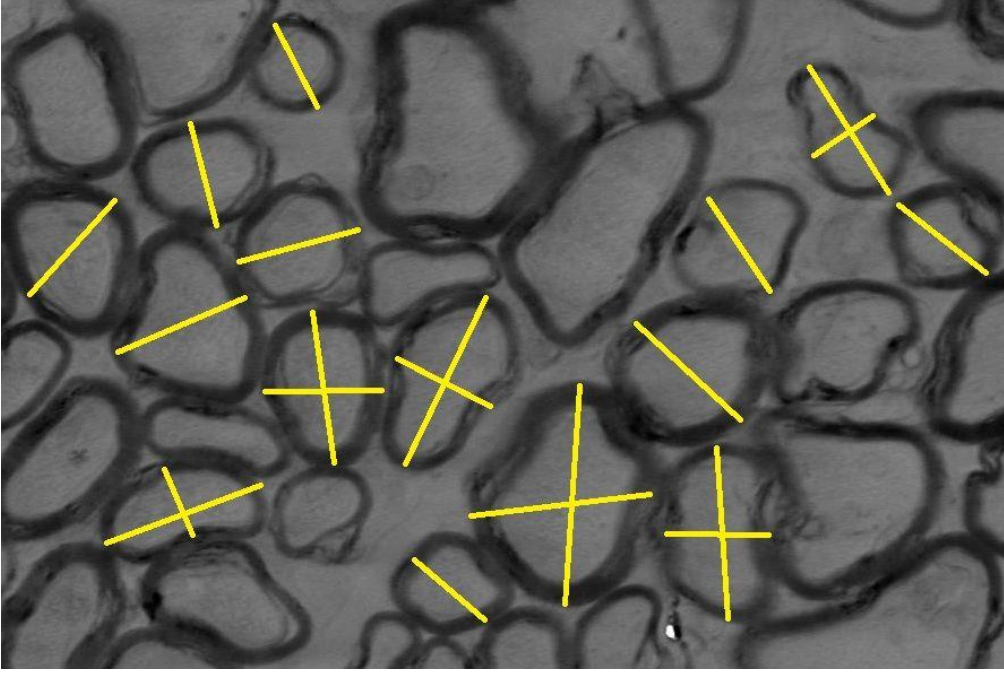
#### 4.4. Aksonların Morfometrik Ölçümleri

Çalışma ve kontrol gruplarındaki deneklerin akson çapı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri Tablo 3'te gösterilmektedir. Akson çapı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı her iki grupta birbirine benzer değerlerde saptanmıştır.

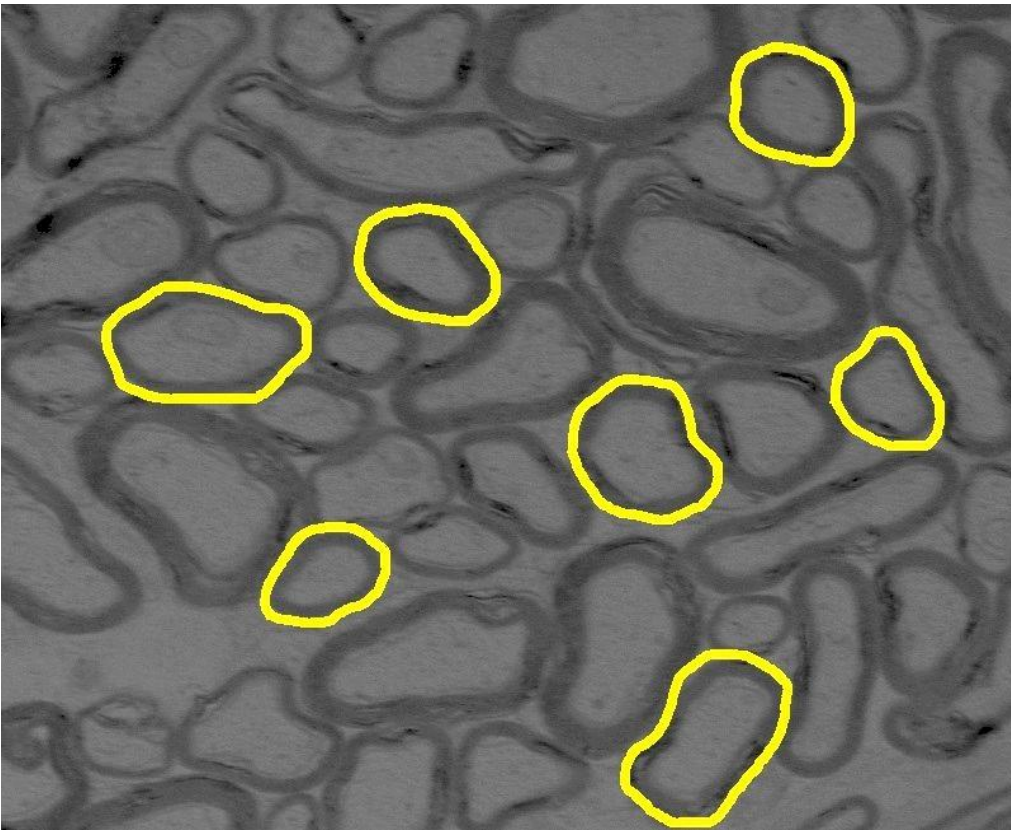
**Tablo 3:** Çalışma ve kontrol grubundaki deneklerin elektron mikroskop incelemesiyle ölçülen optik sinir akson parametreleri

	<b>Çalışma grubu</b>	<b>Kontrol grubu</b>	<b>p</b>
<b>Akson Çapı (<math>\mu m</math>)</b>	0.96 $\pm$ 0.35	0.97 $\pm$ 0.39	0.61
<b>Akson Alanı (<math>\mu m^2</math>)</b>	0.83 $\pm$ 0.10	0.83 $\pm$ 0.08	0.95
<b>Miyelin Kılıf Kalınlığı (<math>\mu m</math>)</b>	0.15 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.01	0.39

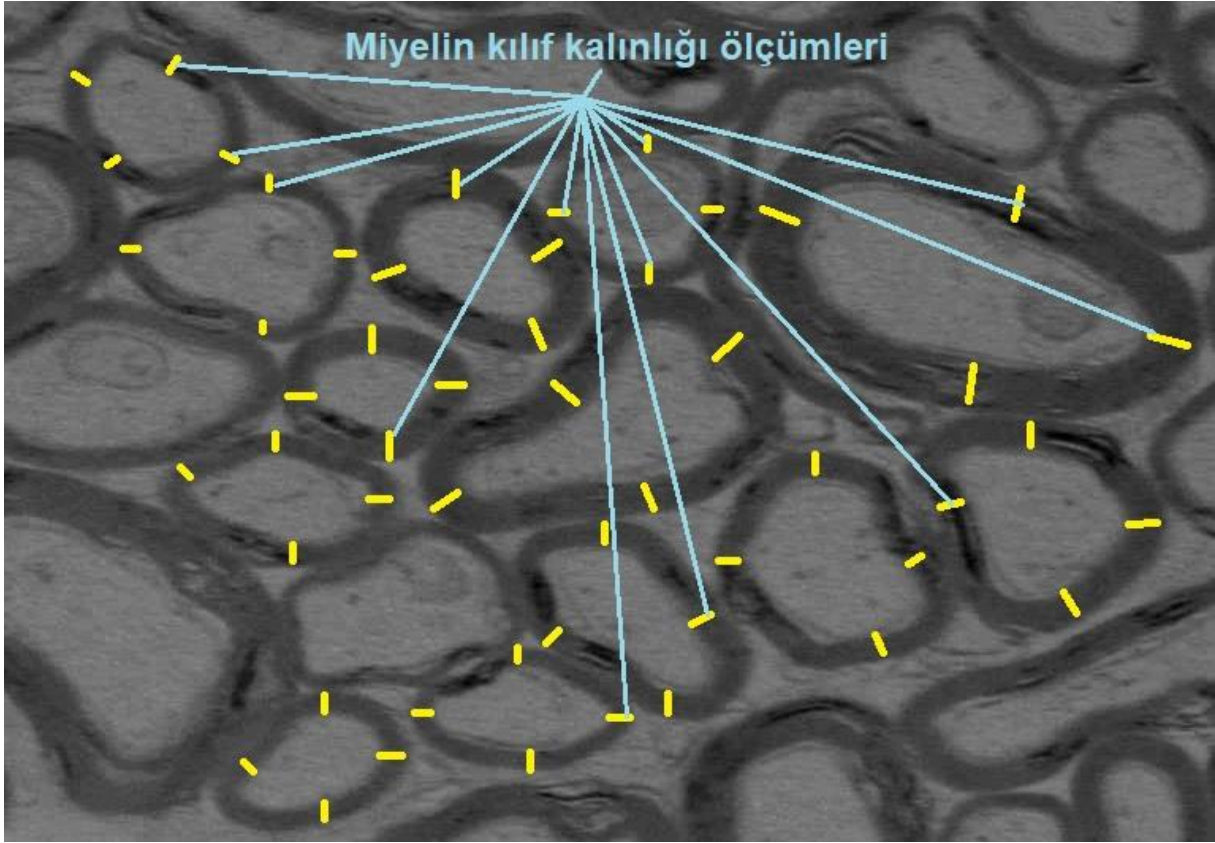
Şekiller 11, 12 ve 13'te EM'de alınan, sırasıyla akson çapı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlık ölçümlerini gösteren fotoğraflar bulunmaktadır. Çalışmamızda bu ölçümlerden bazılarını 50000x ve üzeri büyütmelemede yapmak planlanmıştır. Fakat teknik kısıtlılıklardan dolayı çok yüksek büyütmede yapılan fotoğraflamalar istenilen kalitede elde edilemedi. Bu yüzden bu ölçümler için 20000x ve 30000x büyütmelemede kullanıldı.



**Şekil 11:** Elektron mikroskofta akson çapı ölçümleri



**Şekil 12:** Elektron mikroskofta akson alanı ölçümleri



**Şekil 13:** Elektron mikroskopta akson miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri

#### 4.5. Korelasyon Analizleri

Işık mikroskop ile elde edilen parametreler (retina kalınlığı, gangliyon hücre sayısı, iç nükleer tabaka hücre sayısı ve dış nükleer tabaka hücre sayısı) ile elektron mikroskop ile elde edilen parametreler (optik sinir akson sayısı, dejenere akson oranı, miyelin kılıf kalınlığı, akson çapı ve akson alanı) arasındaki korelasyona bakıldı.

Retina kalınlığı ile optik sinir akson sayısı ( $r_s=-0.03$ ,  $p=0.92$ ), dejenere akson oranı ( $r_s=0.05$ ,  $p=0.83$ ), miyelin kılıf kalınlığı ( $r_s=0.34$ ,  $p=0.21$ ), akson çapı ( $r_s=-0.05$ ,  $p=0.87$ ) ve akson alanı ( $r_s=-0.20$ ,  $p=0.48$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Gangliyon hücre sayısı ile optik sinir akson sayısı ( $r_s=-0.30$ ,  $p=0.28$ ), dejenere akson oranı ( $r_s=-0.36$ ,  $p=0.19$ ), miyelin kılıf kalınlığı ( $r_s=0.27$ ,  $p=0.33$ ), akson çapı ( $r_s=-0.22$ ,  $p=0.42$ ) ve akson alanı ( $r_s=-0.09$ ,  $p=0.74$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

İç nükleer tabaka hücre sayısı ile optik sinir akson sayısı ( $r_s=-0.12$ ,  $p=0.68$ ), dejenere akson oranı ( $r_s=-0.46$ ,  $p=0.09$ ), miyelin kılıf kalınlığı ( $r_s=0.30$ ,  $p=0.28$ ), akson çapı ( $r_s=-0.07$ ,  $p=0.82$ )

ve akson alanı ( $r_s=0.01$ ,  $p=0.96$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Dış nükleer tabaka hücre sayısı ile optik sinir akson sayısı ( $r_s=-0.28$ ,  $p=0.31$ ), dejenere akson oranı ( $r_s=-0.38$ ,  $p=0.17$ ), miyelin kılıf kalınlığı ( $r_s=0.04$ ,  $p=0.89$ ), akson çapı ( $r_s=0.06$ ,  $p=0.83$ ) ve akson alanı ( $r_s=-0.25$ ,  $p=0.38$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın en önemli sonucu, elektron mikroskop incelemesinde, her iki grupta toplam optik sinir akson sayısının benzer olmasına karşılık, dejenerasyona uğramış akson oranının, oküler hipertansiyonlu sıçan gözlerinde, sağlıklı gözlerle nazaran daha yüksek tespit edilmesidir. Ayrıca, ışık mikroskop incelemesinde, oküler hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda, retina gangliyon hücre sayısı, retina iç ve dış nükleer tabakaların hücre sayısı, sağlıklı kontrol grubuna göre daha az saptanmıştır.

Mevcut çalışma klinik insan deneyine uygun olmadığı için hayvan modeli kullanıldı. Bu çalışmadaki hayvan seçimi kemirgen sınıfına ait olan sıçandı. Bu seçimdeki ana etkenler sıçanların temin edilme, bakım, beslenme ve barınma ihtiyaçlarının daha kolay sağlanabilmesiydi. Sıçan göz anatomisinin insan gözüyle uyumlu olması ise aranan ilk kriterdi. Sıçan, deneysel glokom modeli olarak sıklıkla kullanılan hayvanlardandır (Pang ve Clark 2020). Eğer bu çalışmada glokom cerrahisi veya başka bir girişimsel işlem uygulansaydı, sıçan yerine tavşanın seçilmesi, büyük gözleri nedeniyle daha uygun olurdu (van Mechelen vd 2022).

Bu araştırmaya 7 tanesi çalışma grubunda ve 10 tanesi kontrol grubunda olmak üzere sağlıklı toplam 17 deney hayvanı (sıçan) alındı. Denek sayısı seçilirken daha önceki benzer çalışmalardan fikir alındı. Genel olarak deney hayvanı sayısı arttıkça, bir çalışmanın sonuçları daha güvenilir hale gelmektedir. Fakat hayvan sayısının artmasının, maliyet ve iş yükünü arttırması yanında daha fazla hayvan ölümüne yol açacağı da açıktır.

Sıçanda oluşturulan oküler hipertansiyon ve glokom hastalığının, optik sinir ve retinada, insandakine benzer patolojiler oluşturduğu gösterilmiştir (Pang ve Clark 2020). Bu patolojilerin histolojik ve oftalmolojik standart tekniklerle ölçülebilmesi, sıçan modeli kullanımının avantajlarından. Anti-glokomatöz ilaçlar ve glokom cerrahileri insanda olduğu gibi sıçanda da göz içi basıncını benzer oranda düşürmektedir (Pang ve Clark 2020, van Mechelen vd 2022). Sıçanlarda genetik ve cerrahi glokom modelleri de olmakla beraber, mevcut çalışmada bir steroid olan deksametazon kullanılarak oküler hipertansiyon ve glokom oluşturulmuştur.

Bu çalışmada, göz içi basıncını arttırıp oküler hipertansiyon ve glokom oluşturmak için, deneklere 4 hafta boyunca günde 4 kez topikal deksametazon damla uygulandı. Kullanılan bu doz, kliniklerdeki oküler cerrahi işlemlerden sonra hastalara verilen rutin reçete önerilerine benzerdi. Çalışmamızda glokom oluşturmak için steroid kullanma sebeplerimiz ise bu işlemin hem daha kolay hem de hayvana eziyetsiz olmasıydı. Ayrıca diğer girişimsel ve genetik



yöntemlere göre daha ucuzdu ve ek komplikasyon riski çok azdı. Dezavantajı ise daha fazla iş yükü gerektirmesiydi.

Bilindiği üzere, göz kliniklerinde, steroid kullanımına bağlı oküler hipertansiyon çok nadir bir durum değildir (Altan ve Basarir 2021). Özellikle uzun süreli deksametazon damla kullanılması gereken üveit gibi hastalıklarda daha sık gözlenmektedir. Hatta ülkemizden bir çalışmada, üveit hastalarında ortaya çıkan glokomun en önemli sebeplerinden birisinin steroide bağlı oküler hipertansiyon olduğu saptanmıştır (Altan ve Basarir 2021).

Steroide bağlı oküler hipertansiyon, basınca bağlı optik sinir hasarına ve sonuçta glokoma neden olabilmektedir. Steroide bağlı glokomun gelişmesinde kesin olmamakla beraber çeşitli risk faktörleri belirtilmektedir. Bu risk faktörleri arasında genetik yatkınlık, genç yaş, diyabet ve miyopi vardır (Choi vd 2022). Bizim çalışmamızda genç ve genetiği benzer sağlıklı sıçanlar kullanılmıştı.

Steroidler vücuda herhangi bir yolla (oral, intravenöz, solunumla, cilt altı, vb.) alındığında göz içi basınç artışına yol açabilirler. Steroide bağlı oküler hipertansiyon gelişiminde, uygulanan ilacın kullanım yolunun önemi fazladır. Genel olarak göz içine (konjonktiva altı, vitreus içi, Tenon zarı altı) veya topikal olarak göz yüzeyine uygulandığında oküler hipertansiyon riski daha fazladır (Yanoff ve Duker 2019). Topikal steroidlerin göz içi basıncı arttırma etkisi ilaçların kategorisine ve uygulama sıklığına göre değişmektedir. Bizim çalışmamızda kullanılan deksametazon, topikal uygulamada en güçlü oküler hipertansiyon yapma etkisine sahip steroid türüdür (Yanoff ve Duker 2019).

Lam vd (2005) çocuklarda kullanılan deksametazon damlanın, doza bağlı olarak oküler hipertansiyon yaptığını ve günde 4 kez yerine 2 kez %0.1 deksametazon damla kullanımının daha güvenli olduğunu saptamışlardır. Fakat her iki doz seçeneği uygulamasında, 4 haftanın sonunda, iki grupta da göz içi basınçlar istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Lam vd 2005). Ayrıca bu çalışmada çocukların yaşı küçüldükçe oküler hipertansiyonun daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir (Lam vd 2005). Bizim çalışmamızda denekler nispeten genç yaştan (6 aylık) seçilmişti.

İnsanlarda normal GİB değeri ortalama 14-16 mmHg civarındadır. Genel olarak sağlıklı sıçanlarda insanlara benzer ortalama GİB değerleri elde edilmektedir. Yaş azaldıkça ortalama GİB değerleri düşmektedir. GİB değerinin 21 mmHg üzerinde olması ise oküler hipertansiyon ve glokom lehine bir bulgudur (Yıldırım 2004). Bizim çalışmamızda sıçanlarda ölçülen ilk GİB değeri 9-10 mmHg arasında değişmekteydi. Topikal deksametazon uygulaması sonrası ise

18-20 mmHg GİB değerleri gözlemlendi. Yani bazal değerlerin yaklaşık iki katına çıkmış oldu. Bu durum oküler hipertansiyon ve glokom lehine bir bulgu olarak kabul edildi.

Bilindiği üzere cihazdan cihaza GİB ölçümleri değişebilmektedir. Özellikle kliniklerde sıkça kullanılan havalı ve temassız GİB ölçüm tekniği, temaslı tekniklere nazaran daha yüksek ölçüm sonuçları verebilmektedir. Çalışmamızda kullanılan Tonopen XL cihazı, temaslı bir yöntem kullanıp sıçanlarda tutarlı ve doğru GİB ölçümleri sağlamaktadır (Bai vd 2014, Cuny vd 2010). Bu çalışmada, hep aynı cihazla ölçüm yapmak standardizasyon adına uygun olmuştur.

Göz içi basınç değerlerinde günün farklı zamanlarında bazı değişiklikler (diüurnal varyasyonlar) olabilmektedir (Gao vd 2017). Diüurnal GİB farklılıkları özellikle glokom hastalarında daha fazladır ve bu bulgu glokom tanısı koymada değerlidir (Kim vd 2010). Köpek ve inek gibi memeli hayvanlarda yapılan çalışmalarda da göz içi basıncının gün içi farklı zaman dilimlerinde farklılık gösterdiği saptanmıştır (Garzon-Ariza vd 2018, Kulualp vd 2019). Çalışmamızda, GİB diüurnal varyasyonlarından etkilenmemek için ölçümler hep aynı zaman aralığında, öğleden önce saat 10:00-11:00 arasında yapılmıştır.

Deneyler sonlandırılırken, ötenazi esnasında hayvanlar, sol ventrikülden üç yollu musluk kullanılarak buzlu salin solüsyonu ve %4 paraformaldehit ile perfüze edilmişti. Akabinde kan ve sıvı dışarı akımı için sağ atriyum perfore edilmişti. Bu işlemdeki amaç ışık ve elektron mikroskop görüntüleme kalitesini arttırmaktı. Bilindiği üzere elektron mikroskop ile net görüntüler elde etmek için doğru numune hazırlamak önemlidir. Doku örneklerinin yapılarını korumak ve stabilize etmek için formaldehit uygun bir maddedir (Shehadat vd 2018).

Mevcut çalışmada, oküler hipertansiyon tanısını koymada, temaslı GİB ölçüm yöntemi kullanılmıştı. Deneklerde glokom gelişip gelişmediğini anlamak ve glokomatöz hasarı tespit etmek ise ışık ve elektron mikroskop incelemelerinden sonra mümkün olabilmişti. Doğal olarak bu mikroskop incelemeleri için hayvanlardan doku örnekleri almak gerekmişti ki insan deneylerinde bu yöntem olası değildir. Kliniklerde oküler hipertansiyon tanısı yine benzer metotla konulurken, glokom tanısını koymak için farklı bir takım teknik ve cihazlar kullanılmaktadır. Günümüzde insanlarda, glokom tanısında ve glokomatöz hasarı tespit etmede en çok kullanılan yardımcı tetkikler biyomikroskopi, gonyoskopi, pakimetri, görme alanı ve optik koherens tomografidir. Bu tetkiklerin çalışmamızda uygulanması yarar sağlardı; fakat teknik zorluklar ve çalışmanın asıl amacı düşünüldüğünde önemli bir eksiklik doğmamıştır.

Çalışmamızda retina kalınlığı, glokomlu gözlerde sağlıklı kontrollere nazaran daha ince saptanmıştı, fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Klinik pratikte glokom tanı ve



takibinde retina kalınlığı önemli bir parametredir. Yüksek göz içi basıncın özellikle retina iç katlarında hasara yol açtığı bilinmektedir. Bu hasarın miktarını belirlemek için en çok kullanılan yöntem retina sinir lifi tabakası kalınlığının ölçümüdür. Bizim çalışmamızda retinanın katmanları ayrı olarak değil de tüm kesitin kalınlığı ölçülebilmisti.

Normalde kliniklerde, teknik rahatlık, standardizasyon sağlanması ve daha yüksek teşhis özelliği nedenleriyle cihazlarla ölçülen retina alanları daha çok peripapiller bölgeyi kapsamaktadır. Anatomik olarak optik disk çukurluğunun ve hemen çevresindeki retinanın (peripapiller alan) glokom hasarına daha yatkın olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda kalınlık ölçümleri midperiferik retina alanında yapılmıştı. Bu sebeple çalışmamızda olduğu gibi erken glokom evresinde midperiferik retinada önemli bir kalınlık değişimi olmadığı tespiti literatüre yeni bir bilgi olarak sunulabilir.

Peripapiller retina sinir lifi tabakası (RSLT) kalınlığı, glokomlu gözlerde normal gözlerle karşılaştırıldığında belirgin şekilde incedir (Kampougeris vd 2013). Erken evreden son evreye doğru glokomun şiddeti arttıkça RSLT daha da incelmektedir (Bhat vd 2022). Ayrıca glokomlu gözlerde, peripapiller retina alanında, kapiller damar yoğunluğunun azaldığı tespit edilmiştir (Mangouritsas vd 2019). Park vd (2018) göz içi basıncın genel kabul edilen normal sınırlarda (10-21 mmHg) izlendiği nomotansif glokom hastalarında, peripapiller alanda, RSLT haricinde koroid tabakasının da incelendiğini rapor etmişlerdir.

Glokomda retina kalınlık ölçümünde ikinci sıklıkta kullanılan alan maküladır. Tıpkı peripapiller alan gibi maküla kalınlığı da kliniklerde optik koherens tomografi (OKT) cihazıyla ölçülmektedir. OKT cihazı, farklı doku katmanlarından farklı optik yansıma olması prensibiyle çalışmakta ve içerisindeki yazılım vasıtasıyla retina kalınlık ölçümünü yapmaktadır. OKT bir çeşit 'girişimsel olmayan' doku biyopsisi olarak kabul edilmektedir. Bizim çalışmamızda kalınlık ölçümü, alınan retina biyopsisinin ışık mikroskopta incelenip ölçülmesiyle saptanmıştı.

Maküla kalınlık ölçümleri (özellikle iç tabaka kalınlığı) glokom teşhisinde önemli bilgiler sağlamaktadır (Rao vd 2017). Bambo vd (2017) glokom teşhisinde, maküla gangliyon hücre tabakası (GHT) - iç pleksiform tabakası (İPT) kompleksi kalınlığının, peripapiller RSLT kalınlığı ölçümünden daha başarılı olabileceğini bildirmiştir. Mahmoudinezhad vd (2022) yaptıkları bir çalışmada, erken glokom teşhis başarısında, maküla GHT kalınlığı ile GHT - İPT kombine kalınlığını karşılaştırmışlardır. Her iki yöntemin de glokomun erken teşhisinde benzer başarıya sahip olduğunu saptamışlardır (Mahmoudinezhad vd 2022).

Glokom hastalığında tüm retina katmanlarının incilmesi genel olarak beklenen bir durum değildir. Fakat erken evre glokom hastalığında, maküla bölgesinde retinanın genel kalınlığında azalma olduğunu belirten çalışmalar da vardır (Aksoy vd 2020). Farklı olarak, Silverstein vd (2016) pediatrik glokomlu hastalarda yaptıkları bir çalışmada, retinaların en içteki üç tabakasının (RSLT, GHT ve İPT) incelendiğini, fakat dış tabakaların kalınlıklarında önemli bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Chua vd (2020) glokomun erken tanısında en faydalı iki retina ölçümünün, peripapiller RSLT ve maküla GHT kalınlık ölçümleri olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda retina retina gangiyon hücre (RGH) sayısı ile iç ve dış nükleer tabakalar hücre sayıları, glokom grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak düşük saptandı. Retina histolojisinde, hücre çekirdeklerinin buldukları kısımlar iç ve dış nükleer tabakalar ile RGH tabakasıdır. Retina içerisindeki ilk sıra nöronlar fotoreseptörler (koniler ve rodler), ikinci sıra nöronlar bipolar hücreler ve üçüncü sıra nöronlar RGH'dir. Hücre sayımlarını yaptığımız dış nükleer tabaka, fotoreseptör hücre çekirdeklerinden oluşmaktadır. İç nükleer tabakada esas olarak bipolar hücreler bulunup bazı destek hücreler de (amakrin, horizontal ve Müller hücreler) yer almaktadır. RGH ise en yüzeydeki sinir lifi tabakasının hemen altında yer almaktadır.

Çalışmamızda da tespit edildiği üzere, glokom hastalığında RGH hücre sayısının azaldığı genel olarak bilinmektedir. Khan vd (2015) deneysel fare oküler hipertansiyon modelinde, göz içi basıncının sürekli yüksek olmasının, RGH hücre ölümüne ve retina fonksiyon bozukluğuna yol açtığını bildirmiştir. Pitha vd (2018) deneysel sıçan glokom modelinde, anti-glokomatöz ilaç tedavisinin RGH hücre ölümünü durdurduğunu saptamıştır. Hirooka vd (2016) glokomun progresyon hızıyla RGH ölüm hızı arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirtmiştir.

Her ne kadar oküler hipertansiyon ve glokomun, iç nükleer tabaka ve onun esas hücresi olan bipolar hücre sayısı üzerine etkisi çok net olmasa da mevcut çalışmada, hasta grubunda bu tabaka hücre sayısında azalma fark edildi. Sonuçlarımızla ilişkili olabilecek şekilde, Raz vd (2003) deneysel maymun glokom modelinde, iç ve dış nükleer tabaka hücrelerinde fonksiyonel bozulma tespit etmiştir. Gunn vd (2011) deneysel fare glokom modelinde, bir iç nükleer tabaka hücresi olan amakrin hücrelerde bozulma olduğunu saptamıştır. Gallego-Ortega vd (2020) deneysel sıçan oküler hipertansiyon modelinde, bipolar hücre sayılarının azaldığını bildirmiştir.

Anatomik konum olarak, glokomdan en az etkilenebilecek hücre grubu, çekirdekleri dış nükleer tabakada bulunan fotoreseptörlerdir. Çalışmamızda, fotoreseptör hücre sayıları, oküler hipertansiyon grubunda, sağlıklı kontrollere nazaran azalmış bulundu. Literatürde bizimle aynı

tarz deney sonrası tamamen aynı sonuçlara işaret eden yayınlara pek rastlanmamakla beraber, destekleyici veriler bolca mevcuttur. Obanina vd (2022) son evre glokomda fotoreseptör hücre sayısının azaldığını tespit etmiştir. Ha vd (2018) erken-orta evre glokomda fotoreseptör hücrelerde yapısal bozulmalar olabileceğini bildirmiştir. Yine benzer şekilde, Fan vd (2011) glokomda fotoreseptör tabaka kalınlığında değişmeler saptamıştır. Choi vd (2011) görme alanı bozukluğunun eşlik ettiği glokomda, fotoreseptör hücre yoğunluğunun azaldığını rapor etmiştir.

Mevcut çalışmada, sağlıklı kontrol ve oküler hipertansiyon gruplarında, optik sinir akson sayıları benzer saptandı. Fakat dejenerasyona uğramış akson sayısı, çalışma grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazlaydı. Mevcut bulgular eşliğinde, erken evre çok şiddetli olmayan glokom hastalığında, akson sayısının bariz olarak azalmadığı, fakat aksonlarda yapısal bozulma ortaya çıktığı söylenebilir. Yapısal bozulmalar, sonuç olarak fonksiyonel bozulmalar da ortaya çıkarmaktadır, fakat çalışmamızda fonksiyonel açıdan (görme keskinliği, görme alanı, vb.) değerlendirme yapılmamıştır.

Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, Fortune vd (2016) tek taraflı hayvan deneysel glokom modelinde, akson sayısında azalma olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, akson sayısındaki azalma ile peripapiller RSLT kalınlığı arasında kuvvetli bir korelasyon olduğunu saptamıştır (Fortune vd 2016). Cull vd (2012) maymunlarda oluşturdukları glokom sonrası, optik sinir akson sayısında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan akson sayma yöntemi, bütün optik sinir akson kesitini içeriyor ve otomatik bir sayma tekniği kullanıyordu. Bizim çalışmamızda ise sadece belirli bir kesitten manuel olarak sayım yapılmıştı. Elektron mikroskop ile yüksek büyütmelelerde, tüm optik sinir kesit alanından fotoğraflama ve sayım yapmak pek olası değildir. Ayrıca, otomatize akson sayma tekniklerinde genellikle dejenere aksonlar sayım dışı kalabildiğinden ve bizim çalışmamızda bunlar da sayıldığından, çalışmaların sonuçları arasında fark olması muhtemel görünmektedir.

Çalışmamızda, oküler hipertansiyon ve kontrol gruplarında optik sinir akson çapı ve akson alanı benzer olarak saptandı. Bu sonuçların bulunmasında, deney gruplarındaki denek sayılarının az olması etken olabileceği gibi, çalışmamızdaki erken glokom evresinin ve şiddetinin, henüz akson alan ve çaplarında fazlaca değişiklik yapmaya yetecek düzeyde olmaması etken olabilir.

Araştırmamızda da tespit edildiği gibi, glokomda, RGH akson dejenerasyonu olduğu bilinmektedir (Daniel vd 2019). Zaten glokom nörodejeneratif bir hastalık olarak değerlendirilmektedir (Daniel vd 2019). Optik sinirde seyreden aksonlar, RGH'lerin uzantıları

olduğu için, glokomda en çok hasar gören yapılardan olan RGH tabakasındaki değişimler, optik sinir akson dejenerasyonu ile ilişkili olmaktadır (Daniel vd 2019).

Samuels vd (2018) deneysel fare glokom modelinde, göz içi basınç değerleri arttıkça akson sayısında azalmanın da arttığını saptamıştır. Bizim çalışmamızda, son göz içi basınç değerleri aşırı yüksek seviyelere çıkmamıştı ve denekler arasında göz içi basınç değerlerinde önemli farklılıklar yoktu. Bosco vd (2016) kronik ileri evre glokomda, optik sinirdeki akson kaybının, glia hücre proliferasyonu ve skarlaşma ile doldurulduğunu rapor etmiştir. Daha önce de belirttiğimiz üzere, oluşturduğumuz glokom tipi nispeten akut ve erken evre olduğundan, bariz akson sayısı azalması ve skar dokusu oluşumu ortaya çıkmamıştı.

Sıçan optik sinir kesitlerindeki aksonların, elektron mikroskop ile incelenip sayılmasıyla ilgili literatürde yayınlar mevcuttur (Kim vd 2016, Ebnetter vd 2012). Bizim çalışmamızda uyguladığımız manuel sayma metodunun otomatik sayma metotlarıyla benzer sonuçlar ortaya çıkardığı bildirilmektedir (Kim vd 2016, Ebnetter vd 2012). Literatürde bir çalışmada, daha önce glokom tanısı almış insan kadavrası optik sinir elektron mikroskop incelemesinde, yoğun koyu boya tutmuş patolojik alanlar olduğu bildirilmiştir (May 2015). Yine aynı çalışmada, orta evre glokomlu gözlerdeki akson sayısının, erken evre glokomlu gözlerdekinin yaklaşık yarısı kadar olduğu tespit edilmiştir (May 2015).

Çeşitli araştırmalarda, deneysel hayvan glokom modellerinde, RGH hücre soma ve akson dejenerasyon ile ölüm zamanlamaları incelenmiştir. Soto vd (2011) glokom sıçan modelinde, RGH akson dejenerasyonunun, RGH soma kaybından daha önce ortaya çıktığını bildirmiştir. Salinas-Navarro vd (2010) oküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda, önce optik sinir akson taşımacılığının bozulup, sonra RGH'lerde ilerleyici dejenerasyona yol açtığını tespit etmiştir. Yine diğer çalışmalara benzer şekilde, Buckingham vd (2008) glokom oluşturulmuş fare modelinde, RGH dejenerasyonunun, akson kaybından önce geliştiğini belirtmiştir. Joos vd (2010) günlük sadece bir saat süreli akut göz içi basınç artışlarının, altı haftanın sonunda, sıçanlarda optik sinir aksonlarında dejenerasyona ve akson sayısında %6 düşüşe neden olduğunu bulmuştur.

Mevcut çalışmada, oküler hipertansiyon ve sağlıklı kontrol gruplarında, optik sinir aksonlarının ortalama miyelin kılıf kalınlıkları arasında önemli bir fark saptanmadı. Shen vd (2021) deneysel tavşan glokom modelinde, optik sinir miyelin yapısında bozulmalar olduğunu belirtmiştir. Ayrıca glokomda, optik sinir akson miyelin kılıflarındaki Ranvier boğumlarında çeşitli patolojiler geliştiği de bulunmuştur (Smith vd 2018). İlave olarak, optik sinirdeki demiyelinizasyonun, glokomun altta yatan bir etkeni olabileceğine işaret eden görüşler vardır (Xue vd 2021).

Bu araştırmada, ışık mikroskop ile bakılan retina parametreleri ve elektron mikroskop ile bakılan optik sinir parametreleri arasında bir ilişki saptanmadı. Normalde olması beklenebilecek korelasyon, RGH ve akson sayısı arasında idi. Fakat, erken evre glokomda retina ve optik sinir akson hasarları yaygın olmayıp lokal kalmaktadır. İleri evre glokom hasarında beklenen korelasyonların ortaya çıkması daha muhtemeldir.

Çalışmamızın çeşitli kısıtlılıkları sıralanabilir. Öncelikle deney hayvanlarının OKT cihazı ile ölçümlerinin yapılabilmesi, glokomdaki normal klinik yaklaşıma benzer bir girişim olurdu. Fakat teknik zorluklar nedeniyle bu durum pek olası değildi. Çalışmanın kapsamını genişletmek adına retina damarları da incelemeye alınabilirdi, çünkü glokom ve retina damar sağlığı arasında bir ilişki olduğu düşünölmektedir. İleriki araştırmalarda, uygun tedavi uygulaması sonrası, incelenen parametrelerde ne gibi değişikliklerin gözlenebileceği çalışılabilir. Farklı glokom alt tipleri yerine sadece steroide bağlı glokomun çalışılması da bir kısıtlılık olarak gösterilebilir, fakat literatürdeki benzer deneysel glokom çalışmalarında genellikle sadece bir glokom alt tipinin oluşturulduğu tespit edilmiştir. Son olarak daha uzun süre takipli gruplar (örneğin, 3 ay veya 6 ay) alışmaya eklenebilirdi.

Çalışmanın bir takım güçlü yanları da göze çarpmaktadır. Öncelikle mevcut konunun önemine rağmen, literatürde yayınlanmış az sayıdaki çalışmaya katkı sağlamaktadır. Özellikle ölkemiz ve kurumumuz özelinde optik sinir elektron mikroskop incelemelerinin yapılmış olması, daha fazla benzer teknikli araştırmaya teşvik edici olabilir. Yine çalışmada tespit edilen bulgular, önümüzdeki yıllarda, glokom hastalığının takip ve tedavi süreçlerine az da olsa katkı sunabilir.

Sonuç olarak, steroide bağlı oküler hipertansiyon oluşturulmuş sıçan modelinde, retina katmanlarındaki hücre sayıları kontrol grubuna nazaran daha az bulunmuştur. Ayrıca toplam optik sinir akson sayısı çalışma ve kontrol gruplarında benzer olmasına rağmen, dejenerasyona uğramış akson sayısı oküler hipertansiyonlu grupta daha fazla saptanmıştır. Bunlarla beraber, glokomlu ve normal gözlerde periferik retina kalınlığı, optik sinir akson çapı, akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı benzer değerlerde ölçölmüştür.

## 6. SONUÇLAR

1. Dört hafta boyunca günde 4 kez dexametazon damlatılan sıçan gözlerinde oküler hipertansiyon ortaya çıkmıştır.
2. Işık mikroskop yardımıyla, sıçan retinalarında hücre sayımı yapılabilmektedir.
3. Oküler hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda ışık mikroskopla değerlendirilen retina kalınlığı, sağlıklı kontrol grubuyla benzer saptanmıştır.
4. Oküler hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda, retina gangliyon hücre sayısı, sağlıklı kontrol grubuna göre daha az tespit edilmiştir.
5. Oküler hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda, retina iç ve dış nükleer tabakaların hücre sayısı, sağlıklı kontrol grubuna göre daha az tespit edilmiştir.
6. Elektron mikroskop yardımıyla, sıçan optik sinirlerinde aksonların kantitatif ve morfometrik incelemesi yapılabilmektedir.
7. Elektron mikroskop incelemesi sonucunda, optik sinir akson sayıları, oküler hipertansiyonlu sıçan gözlerinde ve sağlıklı kontrollerde benzer bulunmuştur.
8. Dejenerasyona uğramış akson oranı, oküler hipertansiyonlu sıçan gözlerinde, sağlıklı gözlere nazaran daha fazla tespit edilmiştir.
9. Ortalama optik sinir akson çapı, oküler hipertansiyonlu ve sağlıklı sıçan gözlerinde benzer saptanmıştır.
10. Ortalama optik sinir akson alanı, oküler hipertansiyonlu ve sağlıklı sıçan gözlerinde benzer saptanmıştır.
11. Ortalama optik sinir akson miyelin kılıf kalınlığı, oküler hipertansiyonlu ve sağlıklı sıçan gözlerinde benzer saptanmıştır.
12. Işık mikroskopla ölçülmüş retina kalınlığı ile elektron mikroskopla ölçülmüş optik sinir akson sayısı, dejenere akson oranı, miyelin kılıf kalınlığı, akson çapı ve akson alanı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır.
13. Işık mikroskopla ölçülmüş retina gangliyon hücre sayısı ile elektron mikroskopla ölçülmüş optik sinir akson sayısı, dejenere akson oranı, miyelin kılıf kalınlığı, akson çapı ve akson alanı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır.
14. Işık mikroskopla ölçülmüş retina iç ve dış nükleer tabakaların hücre sayısı ile elektron mikroskopla ölçülmüş optik sinir akson sayısı, dejenere akson oranı, miyelin kılıf kalınlığı, akson çapı ve akson alanı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır.

## 7. KAYNAKLAR

Aksoy FE, Altan C, Yılmaz BS, Yılmaz I, Tunç U, Kesim C, Kocamaz M, Pasaoglu I. A comparative evaluation of segmental analysis of macular layers in patients with early glaucoma, ocular hypertension, and healthy eyes. *J Fr Ophthalmol* 2020; 43(9): 869-878.

Almasieh M, Wilson AM, Morquette B, Cueva Vargas JL, Di Polo A. The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2012; 31(2): 152-181.

Altan C, Basarir B. Aetiology and clinical characteristics of uveitic glaucoma in Turkish patients. *Int Ophthalmol* 2021; 41(6): 2225-2234.

Artal P, Herreros de Tejada P, Muñoz Tedó C, Green DG. Retinal image quality in the rodent eye. *Vis Neurosci* 1998; 15(4): 597-605.

Avrupa Glokom Birliği. Glokom için Terminoloji ve Kılavuzlar. *Platform Network* Kısım 2, bölüm 1, 2021: s.53-88.

Bai Y, Zhu Y, Chen Q, Xu J, Sarunic MV, Saragovi UH, Zhuo Y. Validation of glaucoma-like features in the rat episcleral vein cauterization model. *Chin Med J (Engl)* 2014; 127(2): 359-364.

Bambo MP, Güerri N, Ferrandez B, Cameo B, Fuertes I, Polo V, Garcia-Martin E. Evaluation of the Macular Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer and the Circumpapillary Retinal Nerve Fiber Layer in Early to Severe Stages of Glaucoma: Correlation with Central Visual Function and Visual Field Indexes. *Ophthalmic Res* 2017; 57: 216-223.

Banerjee D, Banerjee A, Mookherjee S, Vishal M, Mukhopadhyay A, Sen A, Basu A, Ray K. Mitochondrial genome analysis of primary open angle glaucoma patients. *PLoS One* 2013; 8(8): e70760.

Başer E. Glokom Şüphesi Olan Hastada Yönetim. *Glo-Kat Özel Sayı* 2016; 11: 33-46.

Bhat KS, Reddy MV, Pai V. Correlation of retinal nerve fiber layer thickness with perimetric staging in primary open-angle glaucoma - A cross-sectional study. *Oman J Ophthalmol* 2022; 15(1): 36-42.

Biswas S, Wan KH. Review of rodent hypertensive glaucoma models. *Acta Ophthalmol* 2019; 97(3): e331-e340.

Boey PY, Mansberger SL. Ocular hypertension: an approach to assessment and management. *Can J Ophthalmol* 2014; 49(6): 489-496.

Bosco A, Breen KT, Anderson SR, Steele MR, Calkins DJ, Vetter ML. Glial coverage in the optic nerve expands in proportion to optic axon loss in chronic mouse glaucoma. *Exp Eye Res* 2016; 150: 34-43.

Bouhenni RA, Dunmire J, Sewell A, Edward DP. Animal models of glaucoma. *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 692609.

Bourne RR, Taylor HR, Flaxman SR, Keeffe J, Leasher J, Naidoo K, Pesudovs K, White RA, Wong TY, Resnikoff S, Jonas JB. Number of People Blind or Visually Impaired by Glaucoma Worldwide and in World Regions 1990 - 2010: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11(10): e0162229.

Buckingham BP, Inman DM, Lambert W, Oglesby E, Calkins DJ, Steele MR, Vetter ML, Marsh-Armstrong N, Horner PJ. Progressive ganglion cell degeneration precedes neuronal loss in a mouse model of glaucoma. *J Neurosci* 2008; 28(11): 2735-2744.

Calkins DJ. Critical pathogenic events underlying progression of neurodegeneration in glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2012; 31(6): 702-719.

Chaiwiang N, Poyomtip T. The association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with primary open angle glaucoma susceptibility: a meta-analysis. *Biosci Rep* 2019; 39(4): BSR20190029.

Chan JW, Chan NCY, Sadun AA. Glaucoma as Neurodegeneration in the Brain. *Eye Brain* 2021; 13: 21-28.

Choi SS, Zawadzki RJ, Lim MC, Brandt JD, Keltner JL, Doble N, Werner JS. Evidence of outer retinal changes in glaucoma patients as revealed by ultrahigh-resolution in vivo retinal imaging. *Br J Ophthalmol* 2011; 95(1): 131-141.

Choi W, Kim JD, Bae HW, Kim CY, Seong GJ, Kim M. Axial Length as a Risk Factor for Steroid-Induced Ocular Hypertension. *Yonsei Med J* 2022; 63(9): 850-855.

Chua J, Tan B, Ke M, Schwarzhans F, Vass C, Wong D, Nongpiur ME, Wei Chua MC, Yao X, Cheng CY, Aung T, Schmetterer L. Diagnostic Ability of Individual Macular Layers by Spectral-Domain OCT in Different Stages of Glaucoma. *Ophthalmol Glaucoma* 2020; 3(5): 314-326.

Cull GA, Reynaud J, Wang L, Cioffi GA, Burgoyne CF, Fortune B. Relationship between orbital optic nerve axon counts and retinal nerve fiber layer thickness measured by spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(12): 7766-7773.

Cuny CS, Joachim SC, Gramlich OW, Gottschling PF, Pfeiffer N, Grus FH. Repeated intraocular pressure measurement in awake Lewis rats does not bias retinal ganglion cell survival. *Curr Eye Res* 2010; 35(11): 1034-1039.

Daniel S, Meyer KJ, Clark AF, Anderson MG, McDowell CM. Effect of ocular hypertension on the pattern of retinal ganglion cell subtype loss in a mouse model of early-onset glaucoma. *Exp Eye Res* 2019; 185: 107703.

Davis BM, Crawley L, Pahlitzsch M, Javaid F, Cordeiro MF. Glaucoma: the retina and beyond. *Acta Neuropathol* 2016; 132(6): 807-826.

Ebnetter A, Casson RJ, Wood JP, Chidlow G. Estimation of axon counts in a rat model of glaucoma: comparison of fixed-pattern sampling with targeted sampling. *Clin Exp Ophthalmol* 2012; 40(6): 626-633.

Evangelho K, Mogilevskaya M, Losada-Barragan M, Vargas-Sanchez JK. Pathophysiology of primary open-angle glaucoma from a neuroinflammatory and neurotoxicity perspective: a review of the literature. *Int Ophthalmol* 2019; 39(1): 259-271.

Fan N, Huang N, Lam DS, Leung CK. Measurement of photoreceptor layer in glaucoma: a spectral-domain optical coherence tomography study. *J Ophthalmol* 2011; 2011: 264803.

Ficarrotta KR, Mohamed YH, Passaglia CL. Experimental glaucoma model with controllable intraocular pressure history. *Sci Rep* 2020; 10(1): 126.



- Fortune B, Hardin C, Reynaud J, Cull G, Yang H, Wang L, Burgoyne CF. Comparing Optic Nerve Head Rim Width, Rim Area, and Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer Thickness to Axon Count in Experimental Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(9): OCT404-412.
- Frezzotti P, Giorgio A, Toto F, De Leucio A, De Stefano N. Early changes of brain connectivity in primary open angle glaucoma. *Hum Brain Mapp* 2016; 37(12): 4581-4596.
- Gallego-Ortega A, Norte-Muñoz M, Miralles de Imperial-Ollero JA, Bernal-Garro JM, Valiente-Soriano FJ, de la Villa Polo P, Avilés-Trigueros M, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M. Functional and morphological alterations in a glaucoma model of acute ocular hypertension. *Prog Brain Res* 2020; 256(1): 1-29.
- Gao K, Li F, Aung T, Zhang X. Diurnal Variations in the Morphology of Schlemm's Canal and Intraocular Pressure in Healthy Chinese: An SS-OCT Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(13): 5777-5782.
- Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC. Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* 1995; 61(1): 33-44.
- Garzón-Ariza A, Guisado A, Galán A, Martín-Suárez E. Diurnal variations in intraocular pressure and central corneal thickness and the correlation between these factors in dogs. *Vet Ophthalmol* 2018; 21(5): 464-470.
- Ghosh AK, Rao VR, Wisniewski VJ, Zigrossi AD, Floss J, Koulen P, Stubbs EB Jr, Kaja S. Differential Activation of Glioprotective Intracellular Signaling Pathways in Primary Optic Nerve Head Astrocytes after Treatment with Different Classes of Antioxidants. *Antioxidants (Basel)* 2020; 9(4): 324.
- Gorgels TG, van Norren D. Spectral transmittance of the rat lens. *Vision Res* 1992; 32(8): 1509-1512.
- Gunn DJ, Gole GA, Barnett NL. Specific amacrine cell changes in an induced mouse model of glaucoma. *Clin Exp Ophthalmol* 2011; 39(6): 555-563.
- Ha A, Kim YK, Jeoung JW, Park KH. Ellipsoid Zone Change According to Glaucoma Stage Advancement. *Am J Ophthalmol* 2018; 192: 1-9.
- Hell JW. CaMKII: claiming center stage in postsynaptic function and organization. *Neuron* 2014; 81(2): 249-265.
- Helmer C, Malet F, Rougier MB, Schweitzer C, Colin J, Delyfer MN, Korobelnik JF, Barberger-Gateau P, Dartigues JF, Delcourt C. Is there a link between open-angle glaucoma and dementia? The Three-City-Alienor cohort. *Ann Neurol* 2013; 74(2): 171-179.
- Hirooka K, Izumibata S, Ukegawa K, Nitta E, Tsujikawa A. Estimating the rate of retinal ganglion cell loss to detect glaucoma progression: An observational cohort study. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(30): e4209.
- Howell GR, Soto I, Zhu X, Ryan M, Macalinao DG, Sousa GL, Caddle LB, MacNicol KH, Barbay JM, Porciatti V, Anderson MG, Smith RS, Clark AF, Libby RT, John SW. Radiation treatment inhibits monocyte entry into the optic nerve head and prevents neuronal damage in a mouse model of glaucoma. *J Clin Invest* 2012; 122(4): 1246-1261.

- Johnson TV, Tomarev SI. Rodent models of glaucoma. *Brain Res Bull* 2010; 81(2-3): 349–358.
- Joos KM, Li C, Sappington RM. Morphometric changes in the rat optic nerve following short-term intermittent elevations in intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(12): 6431-6440.
- Ju WK, Kim KY, Lindsey JD, Angert M, Duong-Polk KX, Scott RT, Kim JJ, Kukhmazov I, Ellisman MH, Perkins GA, Weinreb RN. Intraocular pressure elevation induces mitochondrial fission and triggers OPA1 release in glaucomatous optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(11): 4903-4911.
- Ju WK, Shim MS, Kim KY, Park TL, Ahn S, Edwards G, Weinreb RN. Inhibition of cAMP/PKA Pathway Protects Optic Nerve Head Astrocytes against Oxidative Stress by Akt/Bax Phosphorylation-Mediated Mfn1/2 Oligomerization. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 8060962.
- Kamalipour A, Moghimi S, Jacoba CM, Yarmohammadi A, Yeh K, Proudfoot JA, Hou H, Nishida T, David RC, Rezapour J, El-Nimri N, Weinreb RN. Measurements of OCTA Complement OCT for Diagnosing Early Primary Open Angle Glaucoma. *Ophthalmol Glaucoma* 2022; 5(3): 262-274.
- Kampougeris G, Spyropoulos D, Mitropoulou A, Zografou A, Kosmides P. Peripapillary retinal nerve fibre layer thickness measurement with SD-OCT in normal and glaucomatous eyes: distribution and correlation with age. *Int J Ophthalmol* 2013; 6(5): 662-665.
- Khan AK, Tse DY, van der Heijden ME, Shah P, Nusbaum DM, Yang Z, Wu SM, Frankfort BJ. Prolonged elevation of intraocular pressure results in retinal ganglion cell loss and abnormal retinal function in mice. *Exp Eye Res* 2015; 130: 29-37.
- Kim CY, Rho S, Lee N, Lee CK, Sung Y. Semi-automated counting method of axons in transmission electron microscopic images. *Vet Ophthalmol* 2016; 19(1): 29-37.
- Kim YK, Oh WH, Park KH, Kim JM, Kim DM. Circadian blood pressure and intraocular pressure patterns in normal tension glaucoma patients with undisturbed sleep. *Korean J Ophthalmol* 2010; 24(1): 23-28.
- Kulualp K, Kilic S, Aytakin O. Effects of sex, eye-side, diurnal variation on intraocular pressure in calves. *Pol J Vet Sci* 2019; 22(1): 67-74.
- Lam DS, Fan DS, Ng JS, Yu CB, Wong CY, Cheung AY. Ocular hypertensive and anti-inflammatory responses to different dosages of topical dexamethasone in children: a randomized trial. *Clin Exp Ophthalmol* 2005; 33(3): 252-258.
- Lani R, Dias MS, Abreu CA, Araújo VG, Gonçalo T, Nascimento-Dos-Santos G, Dantas AM, Allodi S, Fiorani M, Petrs-Silva H, Linden R. A subacute model of glaucoma based on limbal plexus cautery in pigmented rats. *Sci Rep* 2019; 9(1): 16286.
- Levere TE. The primary visual system of the rat: A primer of its anatomy. *Physiological Psychology* 1978; 6(2): 142-169.
- Logan JF, Rankin SJ, Jackson AJ. Retinal blood flow measurements and neuroretinal rim damage in glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2004; 88(8): 1049-1054.
- Mahmoudinezhad G, Mohammadzadeh V, Martinyan J, Edalati K, Zhou B, Yalzadeh D, Amini N, Caprioli J, Nouri-Mahdavi K. Comparison of Ganglion Cell Layer and Ganglion Cell/Inner

Plexiform Layer Measures for Detection of Early Glaucoma. *Ophthalmol Glaucoma* 2022; S2589-4196(22)00103-X.

Mangouritsas G, Koutropoulou N, Ragkousis A, Boutouri E, Diagourtas A. Peripapillary Vessel Density In Unilateral Preperimetric Glaucoma. *Clin Ophthalmol* 2019; 13: 2511-2519.

May CA. Specific densified regions in the postlaminal human glaucomatous optic nerve. *Open Ophthalmol J* 2015; 9: 20-24.

Maynard RL, Downes N. Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research. *Elsevier Inc.* First ed., 2019: s.284-291.

Mittag TW, Danias J, Pohorenc G, Yuan HM, Burakgazi E, Chalmers-Redman R, Podos SM, Tatton WG. Retinal damage after 3 to 4 months of elevated intraocular pressure in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(11): 3451-3459.

Montorio D, Cennamo G, Breve MA, Menna F, Reibaldi M, Cennamo G, Morra VB. Correlation between the optic nerve pial diameter and radial peripapillary vascular changes in primary open-angle glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2022; 260(5): 1593-1599.

More HL, Chen J, Gibson E, Donelan JM, Beg MF. A semi-automated method for identifying and measuring myelinated nerve fibers in scanning electron microscope images. *J Neurosci Methods* 2011; 201(1): 149-158.

Mysona BA, Segar S, Hernandez C, Kim C, Zhao J, Mysona D, Bollinger KE. QuPath Automated Analysis of Optic Nerve Degeneration in Brown Norway Rats. *Transl Vis Sci Technol* 2020; 9(3): 22.

Nickells RW. From ocular hypertension to ganglion cell death: a theoretical sequence of events leading to glaucoma. *Can J Ophthalmol* 2007; 42(2): 278-287.

Nicolela MT, Hnik P, Drance SM. Scanning laser Doppler flowmeter study of retinal and optic disk blood flow in glaucomatous patients. *Am J Ophthalmol* 1996; 122(6): 775-783.

Nixon RA. The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nat Med* 2013; 19(8): 983-997.

Obanina NA, Bgatova NP, Eremina AV, Trunov AN, Chernykh VV. Autophagy in Human Retinal Neurons in Glaucoma. *Bull Exp Biol Med* 2022; 173(4): 468-474.

Overby DR, Clark AF. Animal models of glucocorticoid-induced glaucoma. *Exp Eye Res* 2015; 141: 15-22.

Özçetin H. Göz Tansiyonu ve Glokomlar. *Nobel Tıp Kitabevi.* İkinci baskı, 2009: s.5-50.

Pang IH, Clark AF. Inducible rodent models of glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2020; 75: 100799.

Park JH, Yoo C, Kim YY. Peripapillary choroidal thickness in untreated normal-tension glaucoma eyes with a single-hemifield retinal nerve fiber layer defect. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(23): e11001.

Pazos M, Yang H, Gardiner SK, Cepurna WO, Johnson EC, Morrison JC, Burgoyne CF. Rat optic nerve head anatomy within 3D histomorphometric reconstructions of normal control eyes. *Exp Eye Res* 2015; 139: 1-12.

Phulke S, Kaushik S, Kaur S, Pandav SS. Steroid-induced Glaucoma: An Avoidable Irreversible Blindness. *J Curr Glaucoma Pract* 2017; 11(2): 67-72.

Pitha I, Kimball EC, Oglesby EN, Pease ME, Fu J, Schaub J, Kim YC, Hu Q, Hanes J, Quigley HA. Sustained Dorzolamide Release Prevents Axonal and Retinal Ganglion Cell Loss in a Rat Model of IOP-Glaucoma. *Transl Vis Sci Technol* 2018; 7(2): 13.

Qing G, Zhang S, Wang B, Wang N. Functional MRI signal changes in primary visual cortex corresponding to the central normal visual field of patients with primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(9): 4627-4634.

Rao HL, Hussain RS, Januwada M, Pillutla LN, Begum VU, Chaitanya A, Senthil S, Garudadri CS. Structural and functional assessment of macula to diagnose glaucoma. *Eye (Lond)* 2017; 31(4): 593-600.

Raz D, Perlman I, Percicot CL, Lambrou GN, Ofri R. Functional damage to inner and outer retinal cells in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(8): 3675-3684.

Ritch MD, Hannon BG, Read AT, Feola AJ, Cull GA, Reynaud J, Morrison JC, Burgoyne CF, Pardue MT, Ethier CR. AxoNet: A deep learning-based tool to count retinal ganglion cell axons. *Sci Rep* 2020; 10(1): 8034.

Roberti G, Oddone F, Agnifili L, Katsanos A, Michelessi M, Mastropasqua L, Quaranta L, Riva I, Tanga L, Manni G. Steroid-induced glaucoma: Epidemiology, pathophysiology, and clinical management. *Surv Ophthalmol* 2020; 65(4): 458-472.

Salinas-Navarro M, Alarcón-Martínez L, Valiente-Soriano FJ, Jiménez-López M, Mayor-Torroglosa S, Avilés-Trigueros M, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M. Ocular hypertension impairs optic nerve axonal transport leading to progressive retinal ganglion cell degeneration. *Exp Eye Res* 2010; 90(1): 168-183.

Samelska K, Zaleska-Żmijewska A, Bałan B, Grąbczewski A, Szaflik JP, Kubiak AJ, Skopiński P. Immunological and molecular basics of the primary open angle glaucoma pathomechanism. *Cent Eur J Immunol* 2021; 46(1): 111-117.

Samuels BC, Siegwart JT, Zhan W, Hethcox L, Chimento M, Whitley R, Downs JC, Girkin CA. A Novel Tree Shrew (*Tupaia belangeri*) Model of Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(7): 3136-3143.

Sawaguchi K, Nakamura Y, Nakamura Y, Sakai H, Sawaguchi S. Myocilin gene expression in the trabecular meshwork of rats in a steroid-induced ocular hypertension model. *Ophthalmic Res* 2005; 37(5): 235-242.

Schuster AK, Erb C, Hoffmann EM, Dietlein T, Pfeiffer N. The Diagnosis and Treatment of Glaucoma. *Dtsch Arztebl Int* 2020; 117(13): 225-234.

Seitz R, Ohlmann A, Tamm ER. The role of Müller glia and microglia in glaucoma. *Cell Tissue Res* 2013; 353(2): 339-345.

Shehadat SA, Gorduysus MO, Hamid SSA, Abdullah NA, Samsudin AR, Ahmad A. Optimization of scanning electron microscope technique for amniotic membrane investigation: A preliminary study. *Eur J Dent* 2018; 12(4): 574-578.

Shen X, Guo J, Fan N, Lai M, Huang L, Wang J, Li Q. Protective effect of ultrasound microbubble combined with gross saponins of *tribulus terrestris* on glaucomatous optic nerve damage. *Ann Transl Med* 2021; 9(18): 1436.

Sihota R, Tandon R. Parsons' Diseases of the Eye. The Glaucomas (Chapter 19). **Elsevier Inc** 22nd ed., 2015: s.287-290.

Silverstein E, Freedman S, Zéhil GP, Jiramongkolchai K, El-Dairi M. The macula in pediatric glaucoma: quantifying the inner and outer layers via optical coherence tomography automatic segmentation. **J AAPOS** 2016; 20(4): 332-336.

Smith MA, Plyler ES, Dengler-Crish CM, Meier J, Crish SD. Nodes of Ranvier in Glaucoma. **Neuroscience** 2018; 390: 104-118.

Soto I, Pease ME, Son JL, Shi X, Quigley HA, Marsh-Armstrong N. Retinal ganglion cell loss in a rat ocular hypertension model is sectorial and involves early optic nerve axon loss. **Invest Ophthalmol Vis Sci** 2011; 52(1): 434-441.

Stein JD, Khawaja AP, Weizer JS. Glaucoma in Adults-Screening, Diagnosis, and Management: A Review. **JAMA** 2021; 325(2): 164-174.

Stowell C, Burgoyne CF, Tamm ER, Ethier CR, Lasker/IRRF Initiative on Astrocytes and Glaucomatous Neurodegeneration Participants. Biomechanical aspects of axonal damage in glaucoma: A brief review. **Exp Eye Res** 2017; 157: 13-19.

Suh MH, Jung DH, Weinreb RN, Zangwill LM. Optic Disc Microvasculature Dropout in Glaucoma Detected by Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography: Optic Disc Microvasculature Dropout detected by SS-OCTA. **Am J Ophthalmol** 2022; 236: 261-270.

Şimşek T. Primer Açık Kapanması Glokomunda Güncel Tanı ve Tedavi. **Osmangazi Tıp Dergisi** 2018; 40(2): 90-100.

Tamm ER, Ethier CR, Lasker/IRRF Initiative on Astrocytes and Glaucomatous Neurodegeneration Participants. Biological aspects of axonal damage in glaucoma: A brief review. **Exp Eye Res** 2017; 157: 5-12.

Tham YC, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng CY. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. **Ophthalmology** 2014; 121(11): 2081-2090.

Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. **Prog Retin Eye Res** 2006; 25(5): 490-513.

Tezel G. TNF-alpha signaling in glaucomatous neurodegeneration. **Prog Brain Res** 2008; 173: 409-421.

van Mechelen RJS, Wolters JE, Bertens CJF, Webers CAB, van den Biggelaar FJHM, Gorgels TGMF, Beckers HJM. Animal models and drug candidates for use in glaucoma filtration surgery: A systematic review. **Exp Eye Res** 2022; 217: 108972.

Vidal-Sanz M, Salinas-Navarro M, Nadal-Nicolás FM, Alarcón-Martínez L, Valiente-Soriano FJ, de Imperial JM, Avilés-Trigueros M, Agudo-Barriuso M, Villegas-Pérez MP. Understanding glaucomatous damage: anatomical and functional data from ocular hypertensive rodent retinas. **Prog Retin Eye Res** 2012; 31(1): 1-27.

Vorwerk CK, Gorla MS, Dreyer EB. An experimental basis for implicating excitotoxicity in glaucomatous optic neuropathy. **Surv Ophthalmol** 1999; 43 Suppl 1: S142-150.

Xue J, Zhu Y, Liu Z, Lin J, Li Y, Li Y, Zhuo Y. Demyelination of the Optic Nerve: An Underlying Factor in Glaucoma? **Front Aging Neurosci** 2021; 13: 701322.

Yan Z, Liao H, Chen H, Deng S, Jia Y, Deng C, Lin J, Ge J, Zhuo Y. Elevated Intraocular Pressure Induces Amyloid- $\beta$  Deposition and Tauopathy in the Lateral Geniculate Nucleus in a Monkey Model of Glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(12): 5434-5443.

Yanoff M, Duker JS. Ophthalmology. Epidemiology of Glaucoma (Part 10.1); *Elsevier Inc* 5th edition, 2019: s.1007-1012.

Yanoff M, Duker JS. Ophthalmology. Inflammatory and Corticosteroid-Induced Glaucoma. *Elsevier* 5th edition, 2019: s.1085-1088.

Yıldırım N. Oküler Hipertansiyon. *Turkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2004; 13(1 Suppl 1): 58-61.

Yu L, Xie B, Yin X, Liang M, Evans AC, Wang J, Dai C. Reduced cortical thickness in primary open-angle glaucoma and its relationship to the retinal nerve fiber layer thickness. *PLoS One* 2013; 8(9): e73208.

Yücel YH, Gupta N, Zhang Q, Mizisin AP, Kalichman MW, Weinreb RN. Memantine protects neurons from shrinkage in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2006; 124(2): 217-225.

Yücel YH, Zhang Q, Weinreb RN, Kaufman PL, Gupta N. Atrophy of relay neurons in magno- and parvocellular layers in the lateral geniculate nucleus in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(13): 3216-3222.

Zhu Y, Pappas AC, Wang R, Seifert P, Sun D, Jakobs TC. Ultrastructural Morphology of the Optic Nerve Head in Aged and Glaucomatous Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(10): 3984-3996.

## 9. EKLER

Ek-1. Akbulut S, **Pekel G**, Pekel E, Cetin EN. Alterations in retinal and choroidal thickness following nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Int Ophthalmol* 2021; 41(8): 2723-2728.



# Alterations in retinal and choroidal thickness following nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy

Selen Akbulut · Gökhan Pekel · Evre Pekel · Ebru Nevin Cetin

Received: 22 September 2020 / Accepted: 29 March 2021  
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2021

## Abstract

**Purpose** To show alterations of retinal arteriolar caliber (RAC), retinal venular caliber (RVC), retinal nerve fiber layer thickness (RNFLT), peripapillary choroidal thickness (ppCT), and central macular thickness (CMT) in acute and chronic phases of nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy (NAION).

**Methods** Forty-one eyes of 41 patients with NAION were included in this retrospective study. RAC, RVC, RNFLT, ppCT, and CMT measurements were performed via spectral-domain optical coherence tomography in the acute and chronic phases of NAION.

**Results** RVC, RNFLT, ppCT, and CMT were significantly thinner in the chronic phase compared to the acute phase ( $p < 0.001$ ), whereas RAC remained similar throughout the visits ( $p = 0.26$ ). The visual acuity difference between the acute and chronic

phases was not correlated with the changes of RAC, RVC, RNFLT, ppCT, or CMT.

**Conclusions** RVC, RNFLT, ppCT, and CMT decreases in the chronic phase when compared to the acute phase of NAION, whereas RAC does not change significantly.

**Keywords** Ischemic optic neuropathy · Retinal vascular caliber · Retinal nerve fiber layer · Choroidal thickness · Macular thickness

## Introduction

Ischemic optic neuropathy (ION) is the most common acute optic neuropathy in individuals older than 50 years of age [1]. Classification of ION is done as anterior or posterior, according to the segment of affected optic nerve [1, 2]. Anterior ION and posterior ION are further divided into two categories which are arteritic (i.e., related to vasculitis) and nonarteritic (i.e., not related to vasculitis) [1–3]. Nonarteritic anterior ION (NAION) accounts for the most of the ION cases [3].

NAION is manifested as sudden, painless, and monocular vision loss accompanied by optic disk edema [4]. Acute phase optic disk edema subsides in approximately 8 weeks and is followed by disk pallor and atrophy [5]. Although the exact pathogenesis of

---

S. Akbulut  
Eye Clinic, Zile State Hospital, Tokat, Turkey

G. Pekel (✉)  
Ophthalmology Department, Pamukkale University,  
Denizli 20070, Turkey  
e-mail: gkhanpekel@yahoo.com

E. Pekel  
Eye Clinic, Denizli State Hospital, Denizli, Turkey

E. N. Cetin  
Ophthalmology, Pamukkale University, Denizli, Turkey



NAION is not fully understood, it appears to be a multifactorial disease, mainly due to a deterioration in the blood supply of the optic nerve head leading to hypoperfusion and ischemia [6, 7]. Decreased circumpapillary perfusion density, reduced peripapillary choroidal vascularity index, thinned retinal nerve fiber layer, and decreased macular ganglion cell complex thickness were reported in NAION in the recent years [8–11].

In the present study, our aim was to demonstrate the alterations of the retinal arteriolar caliber (RAC), retinal venular caliber (RVC), retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness, peripapillary choroidal thickness (ppCT), and central macular thickness (CMT) in the acute and chronic phases of NAION. We also wanted to test the hypothesis that age or visual acuity gain may be associated with the amount of retina-choroidal thickness changes. Though some information has been identified about risk factors and clinical presentation of NAION, much remains unclear about its pathophysiology and treatment. The present study tries to fill a little gap in the huge unknown areas of NAION.

## Methods

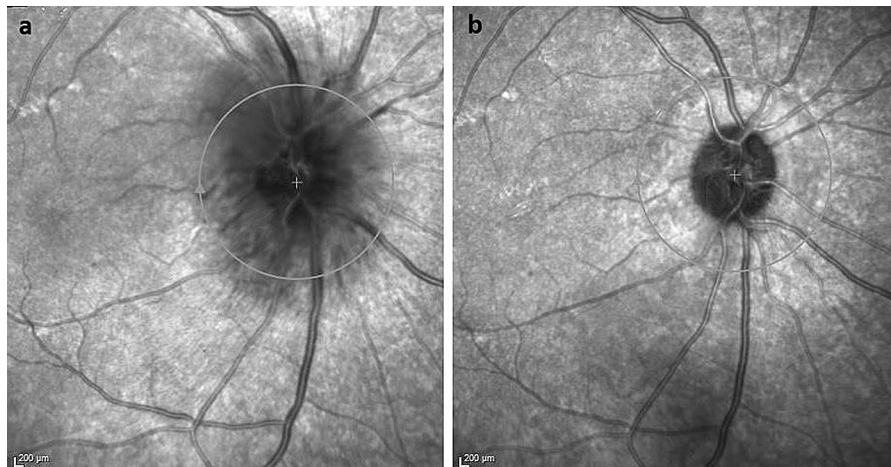
Forty-one eyes of 41 patients with non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy (NAION) were included in this retrospective study. The medical records of the patients covered the time period between the years 2015 and 2019 in a tertiary referral center. This research was carried out in compliance with the ethical principles set out in the Helsinki Declaration and approved by the Institutional Ethical Committee.

The patients had been diagnosed as NAION after detailed ophthalmological and neurological examinations. In addition, cardiovascular system, rheumatology, and infectious disease consultations were made for some of the patients to confirm the diagnosis. For the present study, ophthalmological examination records of the patients included visual acuity assessment (Snellen chart), biomicroscopy, indirect ophthalmoscopy, intra-ocular pressure, and optical coherence tomography (OCT) measurements. Visual field analysis of the patients showed inferior altitudinal defect or central scotoma. All of the patients had abnormalities on color vision in the affected eyes. The measurements were done at the acute phase (i.e.,

edematous disk and newly onset symptoms) and chronic phase (i.e., establishment of optic atrophy at least 2 months from the beginning of the disease) (Fig. 1). The treatment procedure was similar for all patients, including intravenous methylprednisolone followed by oral prednisone. Acetylsalicylic acid (Aspirin®) was also prescribed. The patients had been followed up at least 3 months. Exclusion criteria were any history of ocular surgery other than uneventful phacoemulsification and any ocular disease other than mild cataract or refractive errors. Patients with giant cell arteritis, optic neuritis, and other neurologic or ophthalmic disorders (e.g., diabetic retinopathy, hypertensive retinopathy, glaucoma, multiple sclerosis, optic disk drusen, etc.), which may affect optic nerve, were excluded.

The retinal arteriolar caliber (RAC), retinal venular caliber (RVC), retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness, peripapillary choroidal thickness (ppCT), and central macular thickness (CMT) measurements were performed by the help of spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT, Spectralis, Heidelberg, Germany). Measurements of the retinal vessel caliber (RAC and RVC) were taken using manual caliber tools on the optic disk screen provided by the SD-OCT software. First, superior and inferior temporal retinal arterioles and venules passing through an area one-half to one-disk diameter from the optic disk margin were measured. Then, the average caliber values of superior and inferior temporal retinal vessels were calculated for each eye. The average and quadrantal RNFL thickness measurements were calculated automatically by the SD-OCT device. The ppCT was measured from the outer part of the hyper-reflective line corresponding to the retinal pigment epithelium to the inner surface of the sclera in the peripapillary region at approximately 1.0 mm from the nasal optic disk margin. In all relevant SD-OCT records, the chorio-scleral interface was clearly visualized. The CMT signified the mean thickness of a 1-mm-diameter circular area at the foveal center. The ocular measurements including choroidal thickness were taken during the same period of the day (between 10:00 and 12:00 a.m.) in order to avoid diurnal variations.

The Statistical Package of the Social Sciences (SPSS, version 17.0, Chicago, IL) was used for statistical analysis. '*p*' values lower than 0.05 were accepted as statistically significant. Visual acuity



**Fig. 1** Optic disk images of a patient with NAION in the acute (a) and chronic (b) phases of the disease

values were converted from Snellen to logMAR for statistical analysis. Paired samples *t* test was used for comparison of the parameters at acute and chronic disease stages. The Pearson correlation analysis was performed in order to detect associations between age, visual acuity gain, and retina-choroidal thickness changes. The ppCT, RAC, and RVC in both acute and chronic phases were measured by 2 different researchers (SA, GP). The average of their measurements was recorded. The interobserver correlation for all the 6 sets of data was  $> 0.90$ .

## Results

A total of 41 patients (24 male, 17 female) was included in this study. The mean age of the patients was  $61.2 \pm 8.9$  years (range 46–86 years). The mean time period between the measurements at the acute and chronic stages of the disease was  $3.1 \pm 1.0$  months (range 2–5 months). Right eyes were affected in 18 cases (44%), and left eyes were affected in 23 cases (56%). Pseudo-Foster Kennedy syndrome was noticed in 13 patients (32%).

The mean visual acuity values at the acute and chronic disease stages were  $0.98 \pm 0.65$  logMAR and  $0.66 \pm 0.60$  logMAR, respectively ( $p < 0.001$ ). At the last visit, the visual acuity remained the same in 22 eyes (54%), increased in 17 eyes (41%), and decreased in 2 eyes (5%). The mean intra-ocular pressure values at the acute and chronic disease stages were

$15.3 \pm 2.7$  mmHg and  $15.0 \pm 2.9$  mmHg, respectively ( $p = 0.37$ ).

The mean retinal arteriole caliber (RAC), retinal venule caliber (RVC), peripapillary choroidal thickness (ppCT), and central macular thickness (CMT) measurements of the patients at the acute and chronic stages are shown in Table 1. The RVC, ppCT, and CMT were significantly thinner in the chronic stages compared to the acute stage ( $p < 0.001$ ), whereas RAC remained similar throughout the visits ( $p = 0.26$ ).

The mean average peripapillary RNFL measurements at the acute and chronic disease stages were  $225.3 \pm 72.1$   $\mu\text{m}$  and  $71.9 \pm 21.5$   $\mu\text{m}$ , respectively ( $p < 0.001$ ). The mean quadrantal peripapillary RNFL thickness (i.e., inferior, superior, nasal, and temporal quadrants) measurements of the patients in the acute

**Table 1** Retinal vascular caliber, choroidal thickness, and central macular thickness measurements of the patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy in the acute and chronic phases are shown

	Acute phase	Chronic phase	<i>p</i>
RAC ( $\mu\text{m}$ )	$88.0 \pm 8.1$	$86.4 \pm 7.9$	0.26
RVC ( $\mu\text{m}$ )	$141.1 \pm 17.0$	$119.2 \pm 14.3$	$< 0.001$
ppCT ( $\mu\text{m}$ )	$178.0 \pm 57.0$	$162.3 \pm 55.2$	$< 0.001$
CMT ( $\mu\text{m}$ )	$311.0 \pm 78.3$	$254.9 \pm 30.2$	$< 0.001$

RAC retinal arteriolar caliber, RVC retinal venular caliber, ppCT peripapillary choroidal thickness, CMT central macular thickness

and chronic phases were statistically significantly different as shown in Table 2.

The correlations of age and the retina-choroidal thickness changes at the visits were analyzed. Age was not found to be correlated with RAC change ( $r = 0.02$ ,  $p = 0.92$ ), RVC change ( $r = 0.23$ ,  $p = 0.15$ ), average RNFL thickness change ( $r = 0.12$ ,  $p = 0.45$ ), ppCT change ( $r = 0.09$ ,  $p = 0.59$ ), and CMT change ( $r = -0.12$ ,  $p = 0.49$ ) at the acute and chronic phases of the disease.

The associations of visual acuity change and the retina-choroidal thickness changes at the acute and chronic phases were also analyzed. Visual acuity change was not correlated with RAC change ( $r = 0.24$ ,  $p = 0.14$ ), RVC change ( $r = -0.10$ ,  $p = 0.56$ ), average RNFL thickness change ( $r = 0.01$ ,  $p = 0.95$ ), ppCT change ( $r = -0.05$ ,  $p = 0.80$ ), and CMT change ( $r = -0.03$ ,  $p = 0.87$ ).

## Discussion

The outcomes of the present study show that the thickness of retina and choroid is decreased in the chronic phase compared to acute phase of NAION. Different from previously published research, this study showed that RVC is decreased, whereas RAC remained similar in the course of time. In addition, age was not found to be associated with the degree of retina-choroidal thickness alteration between the two visits. Another new finding was that visual acuity difference between the acute and chronic phases was not correlated with RAC change, RVC change, average RNFL change, ppCT change, or CMT change. Also, choroidal thickness change between acute and chronic phases of the disease was firstly evaluated in the present study.

The SD-OCT is a useful tool for monitoring RNFL thickness alterations following NAION. The thinning of RNFL after several months from the onset of NAION is shown in several studies [12–14]. In chronic stage of NAION, peripapillary RNFL atrophy is usually seen in all quadrants, but in some cases specific quadrantal RNFL damage could be seen [14–16]. In the present study, all RNFL quadrants were atrophic at the chronic stage, but were consistent with the ISNT rule. In the acute phase, superior quadrant RNFL edema was more marked, which was consistent with the inferior altitudinal visual field defect commonly seen in NAION.

In this study, the enlarged retinal venules observed in the acute phase of NAION might be due to constriction of central retinal vein by edematous optic disk. Since arteries are more resistant to compression compared to veins, caliber alteration of retinal arterioles throughout resolution was not observed in the present study. Remond et al. reported that acute NAION is associated with enlargement of both retinal arterioles and venules, while resolution NAION yielded normalization of those values [17]. As expected in most before-after studies, we did not use a control group in this study, since confounding factors (i.e., systemic hypertension, diabetes, etc.) might affect retinal vessel calibers in different individuals.

Several studies reported that mean ppCT was greater in NAION eyes compared to control group [18–21]. They suggested that a thicker choroid was not the effect, but the cause of NAION [18–21]. They hypothesized that a thick choroid may constrict optic nerve and its vessels [20, 21]. In addition to those published outcomes, we found that acute phase NAION is associated with thicker choroid compared to chronic phase. In contrast to those suggestions, one might think that thicker choroid is a compensatory

**Table 2** Segmental peripapillary RNFL thickness (inferior, superior, nasal, and temporal quadrants) measurements of the patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy in the acute and chronic phases are shown

	Acute phase	Chronic phase	<i>p</i>
Inferior quadrant ( $\mu\text{m}$ )	253.8 $\pm$ 94.6	100.6 $\pm$ 37.3	< 0.001
Superior quadrant ( $\mu\text{m}$ )	261.9 $\pm$ 96.1	81.8 $\pm$ 31.0	< 0.001
Nasal quadrant ( $\mu\text{m}$ )	174.0 $\pm$ 80.5	57.9 $\pm$ 21.3	< 0.001
Temporal quadrant ( $\mu\text{m}$ )	210.1 $\pm$ 123.2	47.5 $\pm$ 16.6	< 0.001

RNFL retinal nerve fiber layer

mechanism in the acute phase of the disease according to the outcomes of the present study.

Macular edema can accompany NAION [22, 23]. Type of macular edema seen in NAION is usually subretinal fluid accumulation. In parallel to our outcomes, it was reported that submacular fluid is resorbed in the chronic phase of NAION [22, 23]. Since vision loss in NAION is due to optic nerve axonal ischemia, resolution of macular edema in the chronic phase was not found to be associated with visual acuity gain in the present study.

The present study has some limitations. Since it is a retrospective study, it has inferior level of evidence compared to prospective studies. Measurements with OCT angiography might improve the study, but our clinic did not have this device. The lack of correlation of the visual field tests with the SD-OCT measurements was another limitation, since our archive records of visual field analysis only included types of scotomas (i.e., inferior altitudinal defect, central scotoma).

In conclusion, the RVC, RNFL thickness, ppCT, and CMT decreased in the chronic phase when compared to acute phase of NAION, whereas RAC did not change significantly. Visual acuity change was not associated with the amount of retina-choroidal thickness reduction from the acute phase to the chronic phase (in approximately 3 months). Those outcomes may be helpful for determining the timing and type of future therapeutic approach in NAION. Future studies having larger sample size and longer follow-up times should be needed to confirm the outcomes of the present research.

**Funding** None.

#### Declarations

**Conflict of interest** All authors declare that they have no conflict of interest.

**Ethical approval** All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

**Informed consent** N/A since it is a retrospective study.

## References

- Biousse V, Newman NJ (2015) Ischemic optic neuropathies. *N Engl J Med* 372:2428–2436
- Hayreh SS (2013) Ischemic optic neuropathies—where are we now? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 251:1873–1884
- Morrow MJ (2019) Ischemic optic neuropathy. *Continuum (Minneapolis Minn)* 25:1215–1235
- Berry S, Lin WV, Sadaka A, Lee AG (2017) Nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy: cause, effect, and management. *Eye Brain* 9:23–28
- Hayreh SS, Zimmerman MB (2007) Optic disc edema in non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 245:1107–1121
- Patel HR, Margo CE (2017) Pathology of ischemic optic neuropathy. *Arch Pathol Lab Med* 141:162–166
- Peeler C, Cestari DM (2016) Non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy (NAION): a review and update on animal models. *Semin Ophthalmol* 31:99–106
- Mastropasqua R, Agnifili L, Borrelli E, Fasanella V, Brescia L, Di Antonio L, Mastropasqua L (2018) Optical coherence tomography angiography of the peripapillary retina in normal-tension glaucoma and chronic nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Curr Eye Res* 43:778–784
- Pellegrini M, Giannaccare G, Bernabei F, Moscardelli F, Schiavi C, Campos EC (2019) Choroidal vascular changes in arteritic and nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 205:43–49
- Duman R, Yavas GF, Veliyev I, Dogan M, Duman R (2019) Structural changes of macula and optic disk of the fellow eye in patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Int Ophthalmol* 39:1293–1298
- Sun MH, Liao YJ (2017) Structure-function analysis of nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy and age-related differences in outcome. *J Neuroophthalmol* 37:258–264
- Fard MA, Afzali M, Abdi P, Yasseri M, Ebrahimi KB, Moghimi S (2016) Comparison of the pattern of macular ganglion cell-inner plexiform layer defect between ischemic optic neuropathy and open-angle glaucoma. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 57:1011–1016
- Saito H, Tomidokoro A, Tomita G, Araie M, Wakakura M (2008) Optic disc and peripapillary morphology in unilateral nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy and age- and refraction-matched normals. *Ophthalmology* 115:1585–1590
- Bellusci C, Savini G, Carbonelli M, Carelli V, Sadun AA, Barboni P (2008) Retinal nerve fiber layer thickness in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy: OCT characterization of the acute and resolving phases. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 246:641–647
- Quigley HA, Miller NR, Green WR (1985) The pattern of optic nerve fiber loss in anterior ischemic optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 100:769–776
- Saito H, Tomidokoro A, Sugimoto E et al (2006) Optic disc topography and peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in nonarteritic ischemic optic neuropathy and open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 113:1340–1344

17. Remond P, Aptel F, Cunnac P et al (2019) Retinal vessel phenotype in patients with nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Am J Ophthalmol* 208:178–184
18. Pérez-Sarriegui A, Muñoz-Negrete FJ, Noval S, De Juan V, Rebolleda G (2018) Automated evaluation of choroidal thickness and minimum rim width thickness in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *J Neuroophthalmol* 38:7–12
19. Nagia L, Huisingh C, Johnstone J et al (2016) Peripapillary pachychoroid in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 57:4679–4685
20. Fard MA, Abdi P, Kasaei A, Soltani Mogaddam R, Afzali M, Moghimi S (2015) Peripapillary choroidal thickness in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 56:3027–3033
21. Nikkhah H, Feizi M, Abedi N, Karimi S, Yaseri M, Esfandiari H (2020) Choroidal thickness in acute non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy. *J Ophthalmic Vis Res* 15:59–68
22. Tomsak RL, Zakov ZN (1998) Nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy with macular edema: visual improvement and fluorescein angiographic characteristics. *J Neuroophthalmol* 18:166–168
23. Hedges TR 3rd, Vuong LN, Gonzalez-Garcia AO, Mendoza-Santiesteban CE, Amaro-Quierza ML (2008) Subretinal fluid from anterior ischemic optic neuropathy demonstrated by optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol* 126:812–815

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.