

**YAŞA BAĞLI KATARAK OLGULARINDA SIRT1 GENİ  
EKSPRESYON DÜZEYİ İLE HASTALIK ARASINDAKİ  
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**NİHAT BUĞRA AĞAOĞLU**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
DOÇ.DR. SALİHA HANDAN YILDIZ**

**Tez No: 2018-002**

**2018 - Afyonkarahisar**

T.C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YAŞA BAĞLI KATARAK OLGULARINDA SIRT1 GENİ  
EKSPRESYON DÜZEYİ İLE HASTALIK ARASINDAKİ  
İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**NIHAT BUĞRA AĞAOĞLU**

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**DOÇ.DR. SALİHA HANDAN YILDIZ**

**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon  
Birimi tarafından BAP 16SAĞ.26 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez No: 2018-002**

**2018 - AFYONKARAHİSAR**

**KABUL ve ONAY**

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Tıbbi Genetik Anabilim Dalı**

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez savunma tarihi: **28.02.2018**

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ  
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Sırrı ÇAM  
Celal Bayar Üniversitesi  
Üye

  
Doç. Dr. Saliha Handan YILDIZ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Danışman

  
Yrd. Doç. Dr. Nuray VAROL  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

Yrd. Doç. Dr. Rahmi DUMAN  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye



Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Doktora Programı Öğrencisi Nihat Buğra AĞAOĞLU'nun "YAŞA BAĞLI KATARAK OLGULARINDA SIRTİ GENİ EKSPRESYON DÜZEYİ İLE HASTALIK ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ" başlıklı tezi ..... günü saat ..... 'te Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN  
Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

|  |      |
|--|------|
| KABUL VE ONAY .....  | ii   |
| İÇİNDEKİLER .....  | iii  |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                       | vi   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....   | viii |
| TABLolar DİZİNİ .....  | x    |
| 1. GİRİŞ .....   | 11   |
| 1.1. Anatomi .....   | 11   |
| 1.1.1 Göz.....   | 11   |
| 1.1.2 Lens Anatomisi .....   | 13   |
| 1.1.2.1 Lens Kapsülü .....   | 15   |
| 1.1.2.2 Zonuler Fiberler .....   | 15   |
| 1.1.2.3 Lens Epiteli .....   | 16   |
| 1.1.2.4 Nükleus ve Korteks.....  | 17   |
| 1.2. Gözün Gelişmesi .....   | 18   |
| 1.2.1 İnsanlarda Gözün Gelişmesi .....                                     | 18   |
| 1.2.2 İnsanlardaki Lens Gelişmesinde Morfogenez, Farklılaşma ve Büyüme ... | 20   |
| 1.3 Lensin Fizyolojisi .....   | 22   |
| 1.3.1 Lenste Su ve Katyon Dengesinin Korunması .....                       | 22   |
| 1.3.2 Lens Epiteli: Aktif Transport Bölgesi.....                           | 23   |
| 1.3.3 Pompa-Sızıntı Teorisi .....  | 23   |
| 1.4 Katarakt .....   | 25   |
| 1.4.1 Katarakt Etyolojisi .....  | 26   |
| 1.4.1.1 Yaşlanma .....   | 26   |
| 1.4.1.2 Diyabet.....   | 27   |
| 1.4.1.3 Diğer Hastalıklar .....  | 27   |
| 1.4.1.4 Travma .....   | 28   |
| 1.4.1.5 Toksikite.....   | 29   |
| 1.4.1.6 Konjenital Faktörler .....   | 29   |

|   |    |
|---|----|
| 1.4.2 Katarakt Sınıflandırması .....  | 29 |
| 1.4.2.1 Çocukluk Çağı Kataraktı .....   | 30 |
| 1.4.2.2 Yaşlanmaya Bağlı Katarakt .....                                       | 33 |
| 1.4.2.2.1 Nükleer Katarakt.....   | 36 |
| 1.4.2.2.2 Kortikal Katarakt .....   | 38 |
| 1.4.2.2.3 Posteriyor Subkapsüler Katarakt .....                               | 40 |
| 1.4.3 Katarakt Epidemiyolojisi .....  | 40 |
| 1.5 Katarakt Genetiği ve SIRT1 .....  | 44 |
| 1.5.1 Konjenital Kataraktlar.....   | 47 |
| 1.5.1.1 Kristalin Proteinleri .....   | 49 |
| 1.5.1.1.1 $\alpha$ -Kristalin Proteinleri .....                               | 49 |
| 1.5.1.1.2 $\beta$ -Kristalin Proteinleri .....                                | 50 |
| 1.5.1.1.3 $\gamma$ -Kristalin Proteinleri .....                               | 51 |
| 1.5.1.1.4 Beaded Filament Yapısal Proteini 2 (BFSP2) .....                    | 52 |
| 1.5.1.3 Membran Proteinleri .....   | 52 |
| 1.5.1.3.1 Aquaporin Proteinleri .....   | 53 |
| 1.5.1.3.2 Lens İntrinsik Membran Proteini 2 (LIM2).....                       | 54 |
| 1.5.1.3.3 Gap Bağlantı Proteinleri .....                                      | 54 |
| 1.5.1.4 Transkripsiyon Faktörleri .....                                       | 55 |
| 1.5.1.4.1 Isı Şok Transkripsiyon Faktörü 4 (HSF4).....                        | 56 |
| 1.5.1.4.2 Musculo Aponeurotic Fibrosarcoma (MAF) Transkripsiyon Faktörü ..... | 56 |
| 1.5.1.4.3 Hipofiz Homeobox 3 (PITX3) Transkripsiyon Faktörü .....             | 57 |
| 1.5.1.4.4 Paired Box 6 (PAX6) Transkripsiyon Faktörü .....                    | 57 |
| 1.5.2 Yaşa Bağlı Katarakt .....   | 58 |
| 1.5.2.1 Bağlantı (Linkage) Analizi Çalışmaları .....                          | 59 |
| 1.5.2.2 İlişki (Association) Analizi Çalışmaları .....                        | 60 |
| 1.5.3 Katarakt Epigenetiği .....  | 61 |
| 1.6 Çalışmanın Amacı .....  | 67 |
| 2. GEREÇ VE YÖNTEM .....  | 69 |
| 2.1. Kullanılan Cihazlar.....   | 70 |
| 2.2. Kullanılan Kimyasallar.....  | 71 |

|  |    |
|--|----|
| 2.3. Yöntemler .....   | 71 |
| 2.3.1. Hücre Kültürü ve Primer Kültür .....  | 71 |
| 2.3.2. RNA İzolasyonu .....  | 72 |
| 2.3.3 cDNA Sentezi .....   | 73 |
| 2.3.4 Genlerin İfade Edilmesinin Real-Time PCR ile Ölçümü .....  | 74 |
| 2.4. İstatistiksel Analiz Yöntemleri .....   | 76 |
| 3. BULGULAR .....  | 77 |
| 3.1 Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Değerlendirilmesi .....  | 77 |
| 3.1.1 Katarakt Anterior Kapsül Örneklerinde Kantitatif <i>SIRT1</i> Genlerinin İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi ..... | 78 |
| 3.1.2 Katarakt Periferik Kan Örneklerinde Kantitatif <i>SIRT1</i> Genlerinin İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi .....   | 79 |
| 4. TARTIŞMA .....  | 83 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....  | 87 |
| KAYNAKLAR .....  | 90 |
| ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ .....  | 96 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

DNA : Deoksiribonükleik asit

RNA : Ribonükleik asit

SIRT1 : Sirtuin 1

GAPDH : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

ATP : Adenozin tri fosfat

STALK : Optik vezikül sapı

MIP : Major intrinsic protein

mV : minivolt

nM : nanomolar

$\mu$ M : mikromolar

PSC : Posteriyor subkapsüler katarakt

WHO : Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

AREDS : Yaşa bağlı göz hastalıkları çalışması (AgeRelated Eye Disease Study)

LSC : Uzun dönemli katarakt çalışması (Longitudinal Study of Cataract)

LOCS III : Lens Opasiteleri Sınıflandırma Sistemi III (Lens Opacities Classification System III)

HSF4 : heat shock transcription factor 4 gene

BFSP : beaded filament yapısal protein

CX : Connexin

MAF : musculo aponeurotic fibrosarcoma

PITX3 : hipofiz homeobox 3 geni (pituitary homeobox gene 3)

PAX6 : paired homeobox 6

GALK1 : Galaktokinaz

EPHA2 : Eph-receptor type-A2

SNP : Single-nucleotide polymorphism

ASMD : Anteriyor segment mezenkimal disgenezi

OD : otozomal dominant

OR : otozomal resesif

XL : X-bağımlı

ATCC : American Type Culture Collection

ml : mililitre

cDNA : komplementer DNA

mRNA : mesajcı RNA

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

SPSS (Statistical Package for Social Sciences)

AK : Anterior Kapsül



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| Şekil 1.1: Gözün yüzey anatomisi.....   | 11 |
| Şekil 1.2: A) Göz küresinin genel anatomisi, B) Göz küresinin kutupları ve ekvatorları .....  | 12 |
| Şekil 1.3: Lensin gözdeki yerleşimi ve çevresel yapılarla bağlantısı.....   | 12 |
| Şekil 1.4: Sağlıklı insan lensinin yapısı.....  | 14 |
| Şekil 1.5: A) Yetişkin insan lens kapsülünün farklı noktalarındaki kalınlık, B) Memeli lens yapısının kesitsel görüntüsü. Oklar, epitelden kortekse olan hücre göçünün yönünü göstermektedir .....  | 17 |
| Şekil 1.6: Optik vezikül ve optik sapın formasyonu .....  | 19 |
| Şekil 1.7: Lens vezikülün ve lens çukurunun formasyonu .....  | 19 |
| Şekil 1.8: A) Fetal gelişimin ilk ayı: Ektoderm invajinasyon yapar ve daha sonrasında optik çukur olarak adlandırılan yapıya dönüşür. B) Lens vezikülü tamamen invajine olur. Primer lens fiberleri büyür ve embriyonik nükleusu oluşturmaya başlar. C) Lensin yaşam evrelerine bağlı anteriyör ve yan açıdan anatomik görüntüleri .....  | 21 |
| Şekil 1.9: Yaşa bağlı ve konjenital kataraktlar. A) Dilate göz bebeğinden görülen yaşa bağlı matür katarakt. B) Sağlıklı bireyin algıladığı görüntü. C) Orta dereceli ilerlemiş yaşa bağlı kataraktı olan bireyin algıladığı görüntü (Opasite merkezi olarak artmaktadır). D) Konjenital katarakt. E) Zonüler tip konjenital katarakt. Lensin bir bölgesinde gözlenir ve korteks göreceli olarak temizdir .....   | 34 |
| Şekil 1.10: Yaşa bağlı katarakt. A-B) Koroner tipli kortikal katarakt (önden ve kesitsel görüntüleri): yavaş gelişen merkezi lensleri temiz çomak-biçimli periferal opasiteler. C) Kama (Cuneiform) tipli kortikal katarakt: yavaş gelişen periferal spiküller ve temiz merkezi lens. D) Nükleer sklerotik katarakt: yavaş gelişen genellikle nükleusu etkileyen dağınık opasite. E) Posteriyör subkapsüler katarakt: hızlı şekilde gelişebilen posteriyör kapsül üzerinde granüler opasite plağı. F) Morgagnian tipi (hipermatür lens): tüm lensin opaklaştığı ve lens nükleusunun alt tarafa doğru düştüğü katarakt ..... | 35 |
| Şekil 1.11: A) Difüz illüminasyon ile görüntülenen nükleer katarakt, B) Slit-beam ile görüntülenen nükleer katarakt, C) Nükleer kataraktın şematik görünümü .....   | 37 |
| Şekil 1.12: A) Erken safhadaki kortikal kataraktta vakuoller, B) Matür olamayan kortikal kataraktın şematik görünümü .....  | 39 |

- Şekil 1.13: Slit-lamp biyomikroskopunda görüntülenen posteriyor subkapsüler katarakt, B) İndirekt illüminasyon ile görüntülenen posteriyor subkapsüler katarakt, C) Posteriyor subkapsüler kataraktın şematik görünümü .....44
- Şekil 1.14: SIRT1'in fare gözündeki lokalizasyonu. SIRT1, kornea, mercek (epitelyal hücreler), iris, siliyer vücut ve retinayı içeren birçok oküler dokuda eksprese edilir. Korneada, SIRT1 kornea epitel hücrelerde, keratositlerde ve kornea endotel hücrelerinde bulunur. Retinada, SIRT1, retina pigment epitelyumunda (RPE), dışsal nükleer tabakada (outer nuclear layer, ONL), içsel nükleer tabaka (inner nuclear layer, INL) ve ganglion hücre tabakasında (ganglion cell layer, GCL) bulunur (Mimura ve ark., 2013). .....46
- Şekil 2.1: Referans değere göre hedef değeri hesaplayan Pfaffl eşitliği .....75
- Şekil 3.1: *SIRT1* ve *GAPDH* genlerinin mRNA düzeyinde ifadesini kantitatif olarak gösteren amplifikasyon eğrileri. *SIRT1* ve *GAPDH* geninin Real Time PCR tepkimesine ait Cp değerleri yatay ekseninde yer almaktadır. Dikey ekseninde floresan sinyal izlenmektedir. ....77
- Şekil 3.2: *SIRT1* ve *GAPDH* genlerine ait erime eğrileri. *SIRT1* ve *GAPDH* geninin Melting Curve analizine ait sıcaklık dereceleri yatay ekseninde yer almaktadır. Dikey ekseninde floresan sinyal izlenmektedir. ....78
- Şekil 3.3: Anterior kapsül örneklerinde *SIRT1* geninin mRNA düzeyinde değişimler. Hedef genin ifade düzeyi *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi. ....79
- Şekil 3.4: İleri yaş katarakt hastalarına ait periferik kan örneklerinde *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ . ....80
- Şekil 3.5: İleri yaş katarakt hastalarına ait periferik kan örnekleri, sağlıklı bireylere ait kan örnekleri ile karşılaştırıldığında *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ . ....80
- Şekil 3.6: Sağlıklı bireylere ait periferik kan örnekleri, insan lens epitel hücresi HLE B3 hücreleri ile karşılaştırıldığında *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ . ....81
- Şekil 3.7: Kataraktlı bireye ait anterior kapsül ve periferik kan örneklerinde *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\* ve \*\* ;  $p<0,05$ . ....82

## TABLolar DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| Tablo 1.1: Katarakt tipleri, nedenleri ve özellikleri .....   | 31 |
| Tablo 1.2: Haritalanmış sendromik olmayan mendeliyan katarakt genleri .....   | 62 |
| Tablo 2.1. Hedef genlere ait RefSeq ve RT <sup>2</sup> qPCR primer assay katalog numaraları .....                                       | 74 |
| Tablo 2.2. <i>SIRT1</i> ve <i>GAPDH</i> Real-Time PCR tepkime karışımı .....  | 74 |
| Tablo 2.3. <i>SIRT1</i> ve <i>GAPDH</i> genlerinin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan Real Time PCR tepkime programı ..... | 75 |

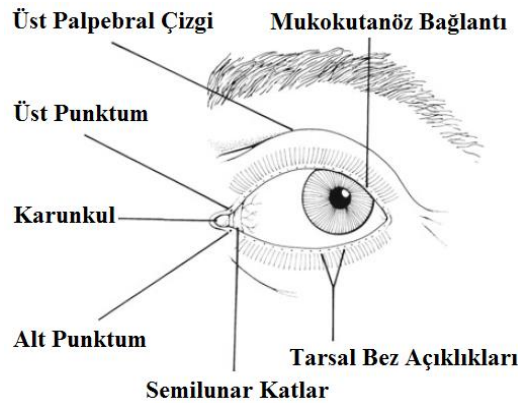
## 1. GİRİŞ

### 1.1. Anatomi

#### 1.1.1 Göz

Göz, görme duyusunun birincil organıdır. Her bir göz küresi hacimsel olarak 5'te 1'ini kapladıkları orbita içerisinde yer alır (Şekil 1). Geriye kalan hacim, ekstra oküler kaslar, yağ, kan damarları ve lakrimal bezlerden oluşmaktadır (Crick, 2003).

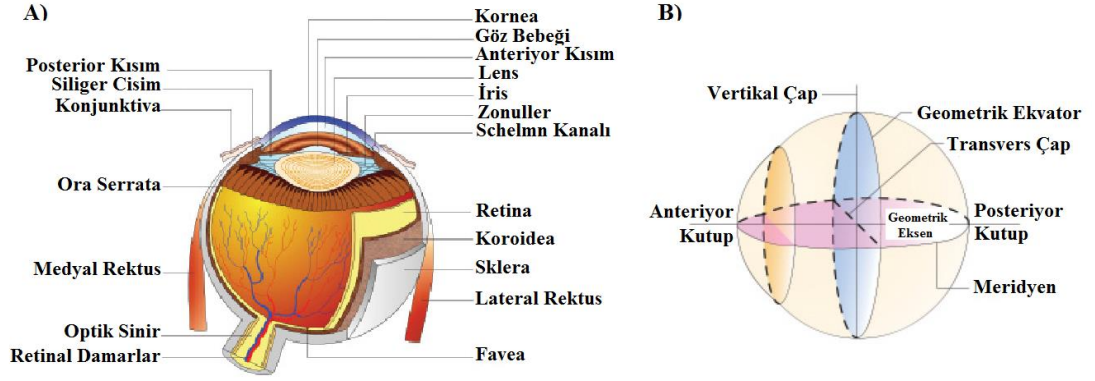
Göz, embriyolojik olarak merkezi sinir sisteminin bir uzantısıdır. Bu sebeple anatomik ve fizyolojik olarak beyinle birçok ortak özellik göstermektedir. Her biri kemikli duvarlarla korunur, fibröz yapılara sahiptir ve temel sinirsel tabakaları için dual kan beslemesi almaktadır. Ayrıca göz ve beyin kompozisyonları ve basınç özellikleri benzer özelliklerdeki akışkanlarla perfüze edilen internal kaviterde yer almaktadır (Galloway, 2016).



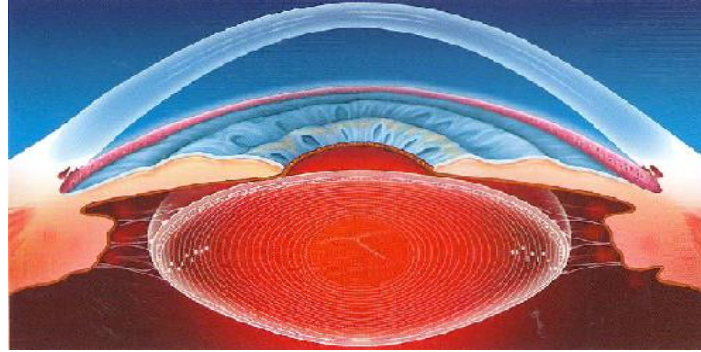
**Şekil 1.1:** Gözün yüzey anatomisi (Galloway, 2016).

Her bir göz küresi içerisinde belirli bir basınç sağlanan kistik bir yapıdır (Şekil 1.2A). Küre olarak tanımlanmasına rağmen, göz küresi küresele yakın bir formdadır. Göz küresinin anterior ve posterior kurvatörlerinin maksimal

konveksiteleri üzerindeki merkezi noktalar sırasıyla anterior ve posterior kutuplar olarak adlandırılır. Göz küresinin ekvatoru bu iki kutup arasındaki ortak düzlemde bulunur (Şekil 1.2B) (Şekil 1.3) (Khurana, 2007).



**Şekil 1.2:** A) Göz küresinin genel anatomisi, B) Göz küresinin kutupları ve ekvatorları (Khurana, 2007).



**Şekil 1.3:** Lensin gözdeki yerleşimi ve çevresel yapılarla bağlantısı (Bobrow, 2011).

Göz küresi üç katmandan meydana gelmektedir. Bunlar: Dış (fibröz), orta (vasküler) ve iç (sinirsel) katmanlardır. Fibröz katman, intraoküler bileşenleri koruyan güçlü yoğun bir duvardır. Bu katmanın anterior bölgesindeki 1/6'lık kısım saydamdır ve kornea olarak adlandırılır. Posterior 5/6'lık opak kısımda sklera olarak adlandırılır. Kornea sklera içerisine bir saat camı gibi yerleşmiştir. Kornea ve sklera'nın birleştiği yer limbus olarak adlandırılır. Konjunktiva limbusa sıkı biçimde bağlıdır. Vasküler katman (uveal doku), göz küresinin çeşitli birimlerini besler.

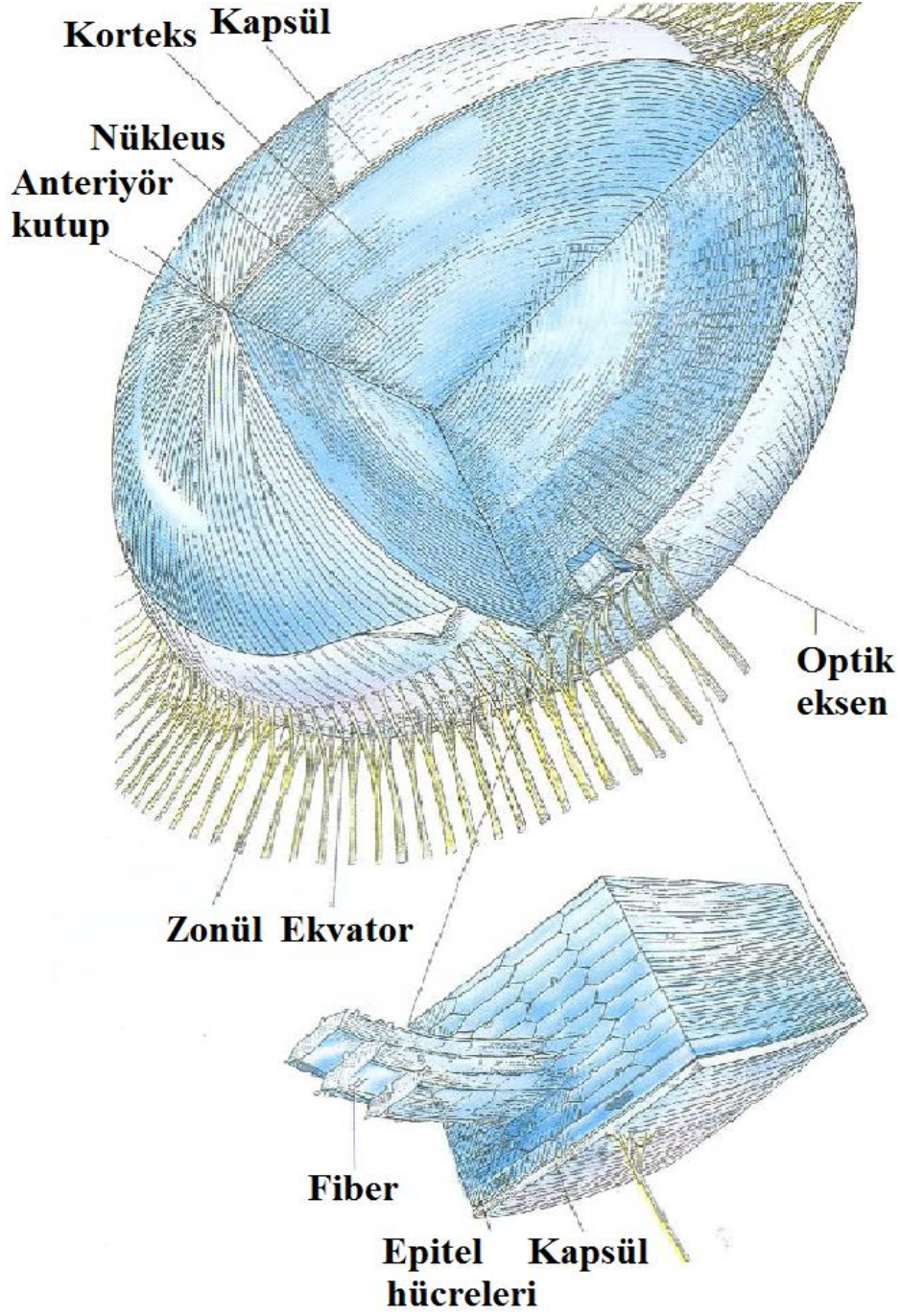
Anteriyordan posteriyora iris, silyer cisim ve koroidea olarak üç bölümden oluşmaktadır. Sinirsel katman (retina), görme fonksiyonlarıyla ilişkilidir (Khurana, 2007).

Göz küresi anteriyor ve posteriyor olarak iki segmente ayrılmaktadır. Anteriyor segment siliyer cisim aracılığıyla asılı durumda bulunan kristallin lenslerini ve bunların anteriyor yönünde iris, kornea ve “Aköz humour” olarak tanımlanan plazma sıvısıyla dolu anteriyor ve posteriyor odacıklardan oluşur. Anteriyor odacık korneanın arkasındadır ve iris-siliyer cismin önündedir (Crick, 2003). Sağlıklı yetişkinlerde anteriyor odacığın merkezi 2.5 mm derinliğindedir. Bireyin her iki gözünde aynı boyutta olup, derinliğin hipermetroplarda kısalması, miyoplarda uzaması gözlenir. Yaklaşık olarak 0.25 ml “Aköz humour” içerir. Posteriyor odacık, 0.06 ml “Aköz humour” plazması içerir. İrisin ve siliyer cisimlerin bir bölümüne anteriyor tarafından, kristallin lenslerine-zonüllerine posteriyor tarafından, siliyer cisimlere yan tarafından bağlanır. Posteriyor segment, lense posteriyor konumda bulunan retina, koroid, optik disk ve “vitreous humour” akışkanını içerir (Khurana, 2007).

### **1.1.2 Lens Anatomisi**

Lens, iris ile “vitreous humour” arasında bulunmaktadır. Saydam ve bi-konveks yapıdaki lens zonular fiberler aracılı silyer cisimler sayesinde askıda kalır. Boyutları merkezinde yaklaşık olarak çap için 9 mm, kalınlık için 4 mm’dir. Anteriyor yüzeyi posteriyor yüzeyine göre daha az konvekstir (Şekil 1.3). Lensin en anteriyor kısmı anteriyor kutup olarak, en posteriyor aksiyal kısmı posteriyor kutup olarak, periferi de ekvator olarak adlandırılır (Şekil 1.4) (Bobrow, 2011). Lens yapısı, kapsül, epitel ve lens fiberlerinden oluşur. Anteriyor kapsülün altında epitelyal hücre katmanı yer alır. Lensin geriye kalan kısmı diğer epitelyal hücrelerden türevlenen lens fiberlerinden oluşur. Bu yüzden posteriyor epitel bulunmaz. Merkezi lens fiberleri nükleus, periferal fiberler korteks olarak adlandırılır. Fetal lens, embriyonik yaşamın başlangıç evresinde optik veziküle üzerinde bulunan yüzey ektoderminin kalınlaşması şeklinde gözlenir. Bu ektodermal kalınlaşma lensin gelişeceği vezikülü

oluşturur. Yeni lens fiberleri yaşam boyunca gelişir ve lens nükleusu yaş ilerledikçe sertleşir ve kehribar rengini alır (Nükleer sklerozis). Lens fiberlerinin daimi uzaması, lensin boyutunun kademeli artışına yol açar (Galloway, 2016).



Şekil 1.4: Sağlıklı insan lensinin yapısı (Bobrow, 2011)

Lens yapısında kan damarı bulunmaz ve beslenmesi için metabolik ürünleri difüzyon yoluyla Aköz humour ve vitreoustan sağlamaktadır. Les kapsülü yarı geçirgen bir membran özelliğindedir. Les epiteli ve lens fiberleri, lense normal şartlar altında dehidre formda tutan aktif transport mekanizmalarına sahiptir. Lens yapısal olarak Aköz ve vitroz'den daha fazla potasyum ve daha az sodyum içerir (Crick, 2003).

### **1.1.2.1 Lens Kapsülü**

Lens kapsülü elastik ve saydam bir bazal membrandır. Tip 4 kollajenden üretilir ve epitel hücrelerinin üstünde bulunur. Kapsülün dış yüzeyi (zonüller lamella), zonüler fiberlerin tutunma noktası olarak işlev görür. Lens kapsülünün en kalın olduğu bölgeler ekvatorial düzleme yakın anterior ve posterior bölgeleri, en ince olduğu bölge ise posterior kutbun merkezidir (Şekil 1.5A). Doğum evresinde lensin anterior kapsül kalınlığı posteriordan daha fazladır ve yaşam boyunca artmaya devam eder (Galloway, 2016; Bobrow, 2011).

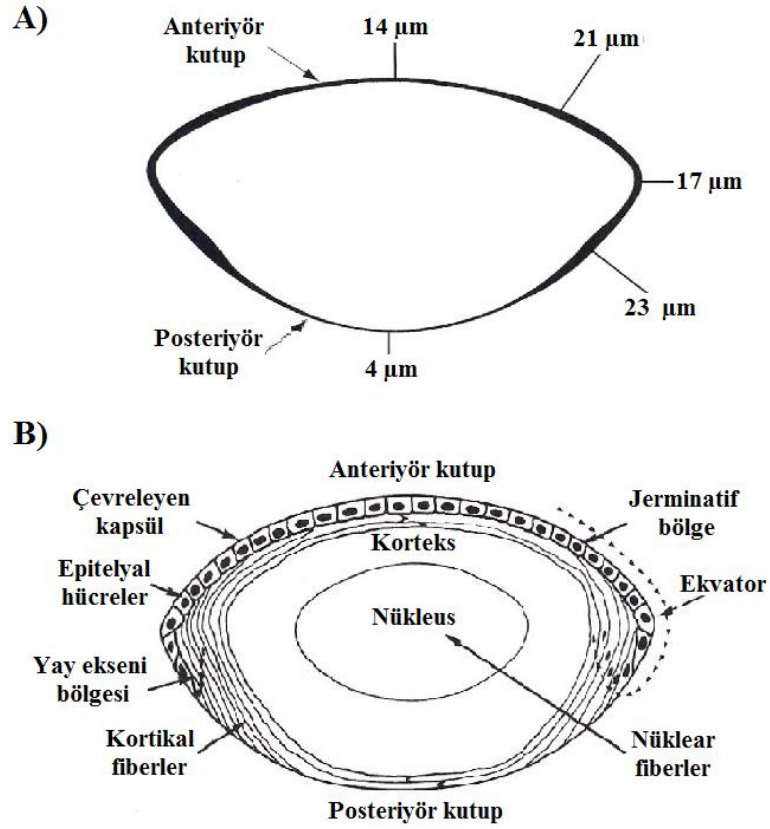
### **1.1.2.2 Zonuler Fiberler**

Lens, silyer cismin pars plana ve pars plikatasındaki pigmentless epitel bazal laminasından köken alan zonuler fiberlerle desteklenmektedir. Bu zonuler fiberler, lensin ekvatorial düzlemi boyunca sıralı biçimde anterior lens kapsülüne 1.5mm'den, posterior lens kapsülüne 1.25 mm üzerinden bağlanır (Şekil 1.4). Yaşlanmayla birlikte, ekvatorial zonuler fiberler gerilerek anterior ve posterior tabakları üçgensel şekilde ayırır. Fiberlerin 5-30 µm kalınlığındadır ve 8-10 nm çapında 12-14 nm uzunluğunda fibrillerden oluşmaktadır (Carlo Cavalotti, 2008; Bobrow, 2011)



### 1.1.2.3 Lens Epiteli

Anteriyor lens kapsülünün hemen arkasında tek tabakalı epitel hücreleri bulunur. Bu hücreler metabolik olarak aktiftir ve DNA, RNA, protein, lipid sentezi gibi tüm normal hücresel aktiviteleri yerine getirir (Şekil 1.5B). Ayrıca diğer lens hücrelerinin enerji ihtiyaçlarını karşılamak üzere Adenozin tri fosfat (ATP) üretirler. Lensin germinatif bölgesi (germinative zone) olarak bilinen anteriyor taraftaki epitelyal hücreler yüksek mitotik (replikatif ya da S-fazı) aktiviteye sahiptir. Yeni oluşan yeni hücreler ekvatora doğru göç ederek fiberlere farklılaşırlar. Bu süreç, epitel hücrelerinin lensin yay eksenini (bow region) boyunca gerçekleşen göçlerinde fiberlere olan terminal farklılaşmalarıyla karakterizedir. Epitel hücreleri fiberlere dönüşmek için önemli ölçüde uzar ve hücresel proteinleri arttırırlar. Aynı zamanda, nucleus, mitokondri ve ribozom gibi organellerini kaybeder. Bu dönüşüm lensin ışık geçirgenliğinde kırılma ya da absorpsiyona neden olmaması yönüyle optiksel bir avantajdır. Ancak organel kayıpları enerji ihtiyaçlarını glikolize bağlı olarak karşılamalarına neden olur (Carlo Cavalotti, 2008; Bobrow, 2011).



**Şekil 1.5:** A) Yetişkin insan lens kapsülünün farklı noktalarındaki kalınlık, B) Memeli lens yapısının kesitsel görüntüsü. Oklar, epitelden kortekse olan hücre göçünün yönünü göstermektedir (Bobrow, 2011).

#### 1.1.2.4 Nükleus ve Korteks

Lenste hücre kaybı olmadığı için yeni fiberler oluştuğunda kapsül içindeki doluluk ve kompaktlık oranı yaşla birlikte artar. En eski tabakalar merkezde bulunur ve bunlar embriyonik ve fetal nükleusu oluşturmaktadır. En dış tabakalar ise yakın dönemde oluşmuştur ve lensin korteksini meydana getirir (Cavalotti, 2008).

Lens sütürleri, apikal hücre uzantılarının (anteriyör sütürler) ve bazal hücre uzantılarının (posteriyör sütürler) iç içe geçen düzenlenmesiyle oluşur. Lens nükleusu içinde konumlu Y-sütürlerine ek olarak çoklu optik bölgeler ışık mikroskopunda görülebilir. Ayırt edilebilir bu bölgeler, bireyin yaşamı boyunca farklı optiksel yoğunluklarda epitel hücrelerin yatay katlarının oluşmasıyla karakterizedir. Korteks ve nükleus arasında morfolojik bir fark olmayıp bu bölgeler

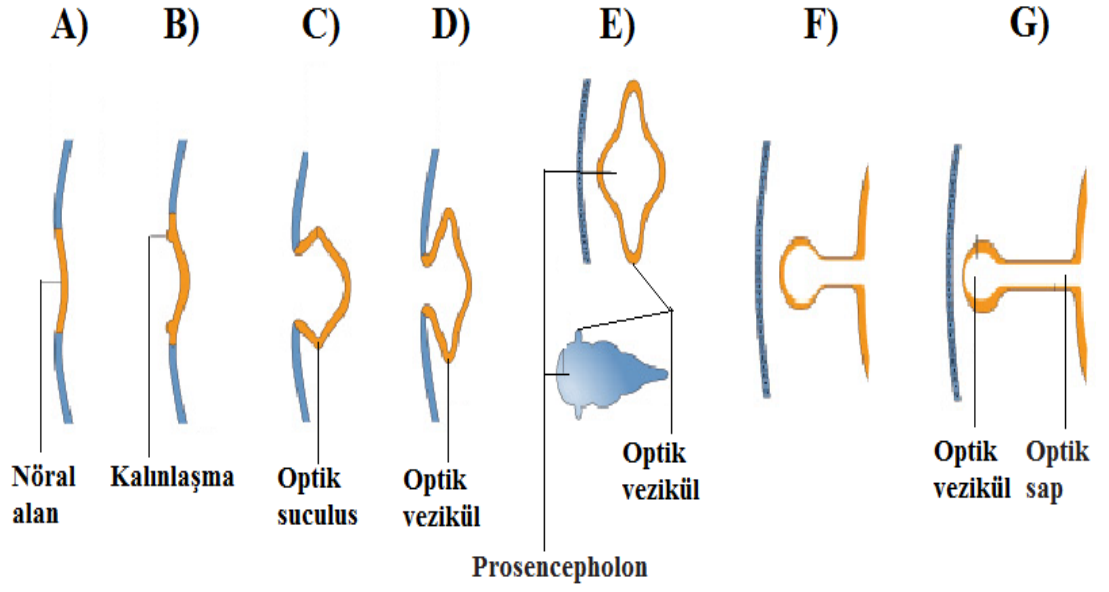
arasında geçirgenlik kademelidir. Bazı kaynaklarda nükleus, epinükleus ve korteks arasında farklılıklar olduğu ifade edilse de bunlar operasyonel prosedürlerde materyalin davranış ve görüntüsündeki potansiyel farklılıklarından kaynaklanmaktadır (Cavalotti, 2008; Bobrow, 2011).

## **1.2. Gözün Gelişmesi**

### **1.2.1 İnsanlarda Gözün Gelişmesi**

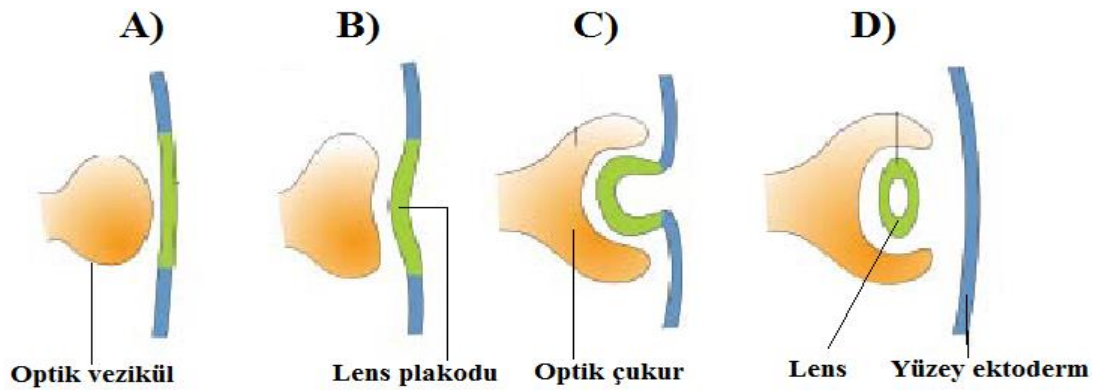
Göz küresinin gelişmesi embriyojik somit'lerin 8 çiftine sahip ve boyutu yaklaşık 2 mm olduğu 22.gün civarında başlamaktadır. Göz küresi ve ilişki birimlerin köken aldığı başlangıç yapıları 4 ana grupta incelenmektedir. Bunlar: prosencephalon'dan gelişen optik vezikül, yüzey ektodermine çevreleyen ve özelleşmiş birimi oluşturan lens plakodu (placode), optik vezikülü kaplayan mezenşim doku ve maksiler prosesin visseral mezodermidir (Crick, 2003; Khurana, 2007).

Optik vezikülü ve sapı (STALK) oluşturacak nöral alan (Şekil 1.6A) prosencephalon'u geliştirir. İlk önce her iki yan bölgede kalınlaşmış bir linear nokta (Şekil 1.6B) belirir ve içeri doğru genişleyerek optic sulcus'u (Şekil 1.6C) oluşturur. Bu süreçte nöral alan prosencephalic veziküle dönüşür. Optik sulcus derinleştikçe, sulcus'u kaplayan prosencephalon duvarları optik vezikülü oluşturmak üzere çıkış yapar (Şekil 1.6D,E). Optik vezikülün proksimal kısmı kısıtlanır ve optik sapı oluşturmak üzere uzar (Şekil 1.6F,G) (Crick, 2003) (Khurana, 2007).



**Şekil 1.6:** Optik vezikül ve optik sapın formasyonu (Khurana, 2007).

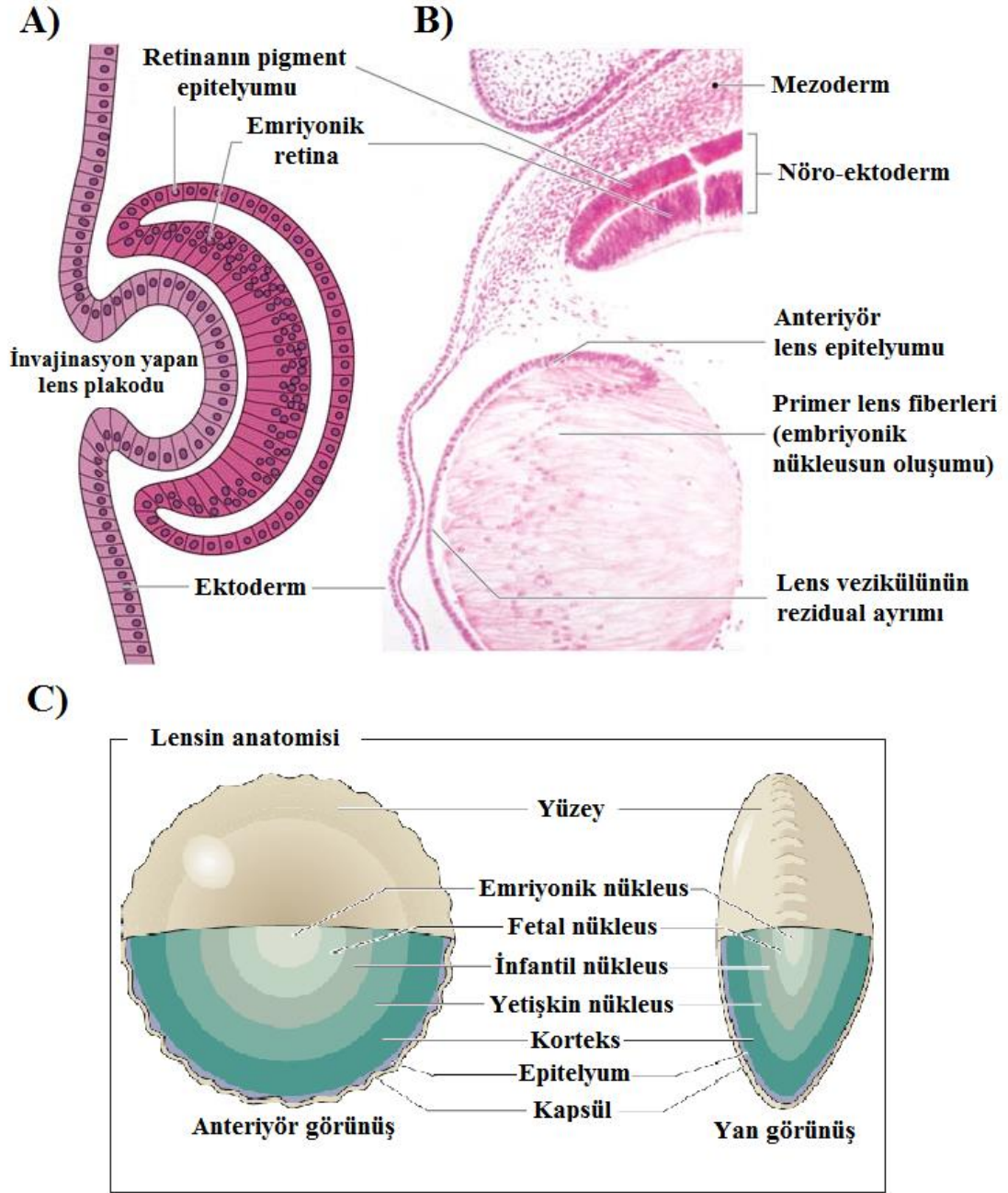
Lens vezikülünün oluşumu için optik vezikül lateral olarak büyür ve yüzey ektodermi ile temas kurar. Optik vezikül karşısında bulunan yüzey ektodermi lens plakodunu (Şekil 1.7A) oluşturmak amacıyla kalınlaşarak içe doğru çöker ve lens vezikülüne dönüşür (Şekil 1.7B,C). Gebeliğin 33. gününde yüzey ektoderminden ayrılır (Şekil 1.7D) (Crick, 2003; Khurana, 2007).



**Şekil 1.7:** Lens vezikülünün ve lens çukurunun formasyonu (Khurana, 2007).

### 1.2.2 İnsanlardaki Lens Gelişmesinde Morfogenez, Farklılaşma ve Büyüme

Lens, sinir hücresi ya da kan damarı içermeyen tamamen epitelyal yapıdan meydana gelmektedir. İntraoküler pozisyonuna fetal gelişimin ilk haftasında yerleşir. Bu süreç, nöroektodermden oluşan primitif optik vezikülün içine yüzey ektoderminin invaginasyonu şeklinde yaşanır. Ektodermal bir yapı olan lens gebelik süresince merkezi geometrik lens fiberlerine, epitelyal hücrelerin anterior katmanına ve asellüler hiyalin kapsüllerine dönüşür (Şekil 1.8A,B). Epitelyal yapıların normal gelişim yönü santrifügaldir. Tamamen gelişmiş epitelyal hücreler yüzeye göç eder ve oradan ayrılır. Ancak lens zıt yönde gelişir. En genç hücreler lensin yüzeyinde, en yaşlılar merkezindedir. Primer lens fiberlerinin büyümesi embriyonik nükleusu oluşturur. Ekvatorda epitelyal hücreler lens fiber hücrelerine dönüşür (Şekil 1.8). Bu yeni ikincil fiberler, primer fiberleri lensin merkezine yönlendirir. Embriyonik nükleusu kaplayan fetal bir nükleusun formasyonu doğumda tamamlanır. Ekvatordaki fiber formasyonu yaşam boyunca devam eder. Bireyin yaşamındaki ilk ve ikinci on yıllık evrede infantil nükleusu, üçüncü on yıllık evrede ise yetişkin nükleusu oluşturur. Lens kapsülle tam olarak kaplandığı için yaşam boyunca hiç hücre kaybına uğramaz ve dolgunluğu sürekli artar (Şekil 1.8C). Lens geliştikçe oluşan çeşitli yoğunluk bölgeleri birbirlerinden ayırt edilebilir (Crick, 2003) (Gerhard, 2000).



**Şekil 1.8:** A) Fetal gelişimin ilk ayı: Ektoderm invajinasyon yapar ve daha sonrasında optik çukur olarak adlandırılan yapıya dönüşür. B) Lens vezikülü tamamen invajine olur. Primer lens fiberleri büyür ve embriyonik nükleusu oluşturmaya başlar. C) Lensin yaşam evrelerine bağlı anterior ve yan açıdan anatomik görüntüleri (Gerhard, 2000).

### 1. 3 Lensin Fizyolojisi

Ekvatordaki epitel hücreleri yaşam boyumca bölünür, lens fiberlerine dönüşür ve böylelikle sürekli büyüme gözlenir. Lens hücreleri en yüksek metabolik etkililiğe epitelde ve dış kortekste sahiptir. Bu yüzeysel hücreler lense elektrolit, amino asit ve karbonhidrat gibi bileşenlerin aktif taşınımı için oksijen ve glikozu kullanır. Lenste damar bulunmadığı için saydamlığın devam ettirilmesinde bazı özelleşmeler gerçekleşmiştir. Merkezde bulunan yaşlanmış hücreler yüzeydeki hücrelerle ve lensin dışsal çevresiyle etkileşim halindedir. Bu bağlantı hücreden hücreye küçük moleküllerin transportunu mümkün kılan düşük dirençli gap kavşakları aracılığıyla sağlanmaktadır. Lens fiber hücreleri de membranlarında temel intrinsik proteinden (major intrinsic protein, MIP, *aquaporin 0* olarak bilinir) üretilen çok sayıda su kanalına sahiptir. MIP, su kanalı olarak iş görmesinin yanı sıra, hücre-hücre adezyonuna katkı sağladığı öngörülmektedir (Cavalotti, 2008; Bobrow, 2011).

#### 1.3.1 Lenste Su ve Katyon Dengesinin Korunması

Lens fizyolojisinde saydamlığın korunması için su ve elektrolit balans mekanizması oldukça önemlidir. Saydamlık önemli ölçüde lensin yapısal ve makromoleküler bileşenlerine bağlı olduğu için hücrel hidrasyonun bozulması doğrudan opasifikasyona yol açabilir. Nükleer katarakta su ve elektrolit dengesinin bozulması söz konusu değilken, kortikal kataraktlarda su içeriği önemli ölçüde artmaktadır (Khurana, 2007).

Sağlıklı insan lensi yaklaşık olarak %66 su, %33 protein içerir ve bu oran yaşlanmayla çok az değişir. Lens korteksi nükleustan daha fazla hidratlanmıştır. Lens hacminin yaklaşık %5'i fiberler arasında ekstrasellüler boşluklarda bulunan sudur. Lens içersinde sodyum ve potasyum konsantrasyonları sırasıyla 20 milimolar (mM) ve 120 mM'da tutulur. Aköz ve vitröz seviyeleri ise oldukça farklı olup sodyum için 150 mM, potasyum için 5 mM'dır (Bobrow, 2011).

### 1.3.2 Lens Epiteli: Aktif Transport Bölgesi

Lens, kendisini çevreleyen aköz and vitröz bölgelere göre daha dehidre formdadır ve potasyum ( $K^+$ ) iyonları ile amino asitlerin daha yüksek konsantrasyonlarına sahiptir. Ancak buna zıt şekilde lens, su, sodyum ( $Na^+$ ) ve klor ( $Cl^-$ ) iyonları açısından çevresine göre daha düşük konsantrasyondadır. Lensin içi ve dışı arasındaki katyon balansı, lens hücre membranları geçirgenlik özelliklerinin ve lens epiteli ile her bir lens fiberi hücre membranında bulunan sodyum pompalarının aktivitesinin sonucudur. Sodyum pompalarının fonksiyonu, sodyum iyonlarını dışarı gönderirken, potasyum iyonlarını içeri alması şeklindedir. Bu mekanizma ATP harcanmasına bağlıdır ve  $Na^+,K^+$ -ATPaz enzimi aracılığıyla düzenlenir. Denge durumu spesifik ATPaz inhibitörü olan ouabain ile kolaylıkla bozulur.  $Na^+,K^+$ -ATPaz'ın inhibisyonu katyon balansının kaybına ve lenste su seviyesinin yükselmesine yol açar. Kortikal kataraktın gelişmesinde,  $Na^+,K^+$ -ATPaz'ın etkinliğinin bozulup bozulmadığı net değildir. Ancak katyonlara yönelik pasif membran geçirgenliğinin yaşlanma ve katarakt gelişmesiyle ilişkili olabileceği öngörülmektedir (Bobrow, 2011; Khurana, 2007).

### 1.3.3 Pompa-Sızıntı Teorisi

Aktif transport ve membran geçirgenliğinin kombinasyonu, lensin pompa-sızıntı sistemi (pump-leak system) olarak ifade edilir. Bu teoriye göre potasyum ve amino asit gibi çeşitli diğer moleküller lens anterioruna epitel aracılığıyla aktif biçimde taşınır. Daha sonra lensin arkasına doğru olan mesafede ise aktif transport olmaksızın konsantrasyon gradiyentine bağlı şekilde difüzyon gerçekleşir. Bunlara zıt şekilde, sodyum lensin arkasına doğru konsantrasyon gradiyenti ile akar ve sonrasında epitel aracılı aktif taşınımında potasyumla değiştirilir. Teoriyi destekleyecek şekilde, her bir iyon için anteroposteriyer bir gradiyent saptanmıştır. Buna göre: potasyum lens anterioründe yüksek konsantrasyonda; sodyum ise lens posteriyöründe yüksek konsantrasyondadır. Refrijerasyon (dondurma) gibi koşullar enerji-bağımlı enzim pompalarını inaktive ederek bu gradiyentlerin bozulduğu görülmüştür.  $Na^+,K^+$ -



ATPaz aktivitesinin büyük bölümünün lens epitelinde ve yüzeysel (yüzeysel) kortikal fiber hücrelerinde olduğu belirlenmiştir. Bu aktif transport mekanizmalarının kapsül ve ona bağlı epitel lensten çıkarıldığında kaybolduğu, kollejenaz enzimiyle sadece kapsülün enzimatik dejenerasyonu yapıldığında ise devam ettiği gözlenmiştir. Bu bulgular epitelin aktif transportun temel (birincil, primary) alan olduğu hipotezini desteklemektedir. Böylesi asimetrik düzenlenmeler sonucunda lenste sodyum ve potasyum gradiyentleri oluşmaktadır. Sonuç olarak, potasyum konsantrasyonu lensin ön kısmında yüksek arka kısmında düşük, sodyum konsantrasyonu lensin ön kısmında düşük arka kısmında yüksektir. Lens boyunca difüzyonun büyük çoğunluğu hücreden hücreye düşük-dirençli gap bağlantılarıyla gerçekleşmektedir (Cavalotti, 2008; Bobrow, 2011).

Lens hücreleri arasında iyon gradiyentlerini oluşturan zar taşıma işlemleri lense dış çevresinde ekstrasellüler akımlar meydana getirir. Sodyum tercihsel olarak lense kutuplardan girerken, potasyum tercihsel olarak ekvatorundan çıkar. Lens hücre membranları boyunca elektrolitlerin eşit olmayan dağılımı, lensin içi ve dışı arasında elektriksel bir potansiyel fark oluşturur. Lensin içi elektronegatifdir ve yaklaşık -70 millivolt (mV) olarak ölçülür. Ayrıca lensin kendi içersinde bile anterior ve posterior yüzeyler arasında -23 mV'luk potansiyel fark vardır. -70 mV'luk normal potansiyel fark pompa aktivitesi ya da membran geçirgenliğiyle değişebilmektedir. Kalsiyum dengesi de lens için oldukça önemlidir. Lens dışı ortamda kalsiyum seviyesi 1mM'a yakın değerlerde olmasına rağmen, Lens epitel hücrelerinde yaklaşık olarak 100 nanomolar (nM)'dır. Bu büyük transmembran kalsiyum gradiyenti kalsiyum pompasıyla ( $Ca^{+2}$ -ATPaz) sağlanır. Lens hücre membranları da göreceli olarak kalsiyuma geçirgen değildir. Lens fiber hücrelerinde serbest kalsiyum seviyeleri daha yüksektir ve ortalama 10 mikromolar ( $\mu$ M) civarındadır. Kalsiyum homeostazisinin bozulması lens metabolizmasını önemli ölçüde bozar. Artmış kalsiyum seviyeleri, bozulmuş glikoz metabolizması, yüksek molekül ağırlıklı protein agregatları ve yıkılmayıcı proteazların aktivasyonu gibi birçok zararlı değişikliğe yol açar (Bobrow, 2011; Khurana, 2007).

Lens beslenmesinde membran transportu ve geçirgenliği de önemli hususlar arasında yer alır. Amino asit transportu, lens epitelinde sodyum pompasıyla üretilen

gradiyente bağılı bir mekanizmayla gerçekleşir. Glikoz, lense kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla girer. Lens metabolizmasının atık ürünleri ise basit difüzyonla atılır. Askorbik asit, myo-inositol ve kolin gibi çeşitli bileşenlerin lenste özelleşmiş transport mekanizmaları bulunmaktadır (Cavalotti, 2008; Bobrow, 2011).

#### **1.4 Katarakt**

Katarakt lensteki kesafet olarak tanımlanmaktadır. En yaygın nedeni yaşlanma olmakla birlikte travma, toksik sebepler, sistemik rahatsızlıklar (diyabet), sigara kullanımı ve kalıtsal faktörlerden de kaynaklanabilmektedir (Galloway, 2016). Yaşa bağılı katarakt görme kaybının en genel nedenleri arasındadır. Katarakt görülme sıklığına ilişkin yapılan çalışmalarda 65-74 yaş aralığında %50 oranında, 75 yaş ve üzerinde ise %70'ten fazla sıklıkta olduğu belirlenmiştir (Riordan, 2007).

Katarakt patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak kataraktlı lensler ışık demetlerini dağıtan ve saydamlığı azaltan protein agregatları ile karakterizedir. Başka protein değişimleri de sarı ya da kahverengi renk bozulmasıyla sonuçlanmaktadır. Bunlara ek olarak, lens lifleri arasında veziküller ya da epitelyal hücrelerin göçü ve aberant büyümeleri gözlenebilmektedir. Katarakt formasyonuna katkı sağlayan faktörler arasında oksidatif hasar (serbest radikal reaksiyonları), ultraviyole ışık hasarı ve yetersiz beslenme bulunmaktadır. Günümüzde katarakt formasyonunda meydana gelen kimyasal değişimleri geciktiren ya da geri döndüren medikal bir tedavi seçeneği yoktur. Fakat, diyetel karetenoidlerin (lutein) koruyucu etkilerine ilişkin bazı bulgular elde edilmiştir. Diğer taraftan multivitamin prosedürlerinin koruyucu etkisine ilişkin çelişkili sonuçlar mevcuttur (Khurana, 2007).

Matür bir katarakta lens proteinlerinin tamamı opak forma ulaşmışken, immatür formda bir miktar saydam protein bulunmaktadır. Hipermatür katarakta, kortikal proteinler sıvılaşır ve kapsülden sızarak gerisinde küçülmüş ve buruşmuş bir lens bırakır. Kapsül içersinde lens nükleusu serbest biçimde yüzen bu hipermatür katarakt yapısı morgagnian katarakt olarak tanımlanır. Birçok katarakt, ciddi görüş

kaybına neden olacak kadar yoğunlaşmadığı sürece tespiti mümkün değildir. Lens opaklığı arttıkça oküler fundusun görselleştirmesi daha da zorlaşır ve nihayetinde tamamen kaybedilir. Bu safhada, katarakt genellikle olgunlaşmış ve pupil muhtemelen beyaz görünümündedir (Riordan, 2007; Galloway, 2016).

Kataraktın görmeyi ne kadar etkilediği eğer başka bir göz hastalığı mevcut değilse Snellen eşeli ile değerlendirilmektedir. Genel anlamda, görsel netliğin kaybı doğrudan kataraktın yoğunluğuyla orantılı olmaktadır. Ancak bazı bireyler klinik olarak ciddi kataraktlı olmalarına rağmen görme keskinlikleri azalmadığı için normal aktivitelerine engel oluşturmadığı halde diğerlerinde lens opasifikasyonuna oranla daha ciddi bir görsel netlik kaybı yaşanabilmektedir. Bu durumun temel sebebi bölgesel olarak opaklaşan lenste görüntünün değişen oranlardaki bozulmasıdır. Katarakt Yönetimi hastanın görme keskinliği ve hastanın fonksiyonel ve görsel ihtiyaçlarını, çevresini ve diğer risk faktörlerini göz önüne alınarak yapılmalıdır (Gerhard, 2000).

#### **1.4.1 Katarakt Etiyolojisi**

Lensteki kompleks yapılanmaya rağmen, saydamlığının yaşam boyunca korunması birçok faktördeki olumsuz etkinin giderilmesini gerektirmektedir. Lens liflerinin opaklaşmasına neden olarak pek çok neden gösterilmekle birlikte bunlardan ilki ve en önemlisi yaşlanmadır (Galloway, 2016).

##### **1.4.1.1 Yaşlanma**

Kataraktların büyük çoğunluğu yaşlanmaya bağlı gelişmektedir ve lens liflerindeki bazı biyokimyasal değişimler günümüzde aydınlatılmıştır. Bazı ailelerde yaşa bağlı kataraktta duyarlılığın arttığı bilinmekle birlikte yaşa bağlı lens opasifikasyondaki artış geneldir. Opasite sıklıkla lensin periferal bölümüyle sınırlıdır ve birçok hasta problemi fark etmez. Bu yüzden katarakt ifadesi belirli ölçüde görsel kayba neden olan opasiteler için kullanılan bir terime dönüşür. İleri yaşlı hastalardaki bu tür göz

problemlerinin kaynağı yaşam evresi olduğu için, opasifikasyon ilerlemesi operasyonu gerektireceği noktaya kadar müdahalede bulunulmaz (Galloway, 2016).

#### **1.4.1.2 Diyabet**

Katarakt ve diyabet yaşlılıkta sıklıkla birlikte görülebilen rahatsızlıklar arasındadır. Benzer şekilde çocukluk dönemi diyabet hastalarında da katarakt oranında bir fazlalık söz konusudur. Yapılan araştırmalarda diyabet hastalarının lens opasitesi geliştirme oranlarında istatistiksel olarak fark gözlenmiştir. Genç diyabetiklerde gözlenen bir özel bir katarakt tipinde, lens birkaç ay içinde opaklaşmaktadır. Bu durum nadir gözlenmekle birlikte, diyabet kontrol zorluğu yaşayan insüline bağlı hastalarda meydana gelmektedir. Böylesi vakaların erken safhalarında katarakt formasyonun geri dönüştürülebileceği öngörülmekte olup, az sayıda hasta olması nedeniyle yeterli veri bulunmamaktadır (Galloway, 2016).

#### **1.4.1.3 Diğer Hastalıklar**

Katarakt gözde ya da vücudun başka bir bölgesindeki rahatsızlığa bağlı olarak gelişebilmektedir. Gözdeki birçok terminal olay kataraktla ilişkilendirilmektedir. İlerlemiş kontrol edilemeyen glokom, kronik iridosiklit ve intraoküler tümörler sıklıkla opak lenslerle ilişkilendirilmektedir. Bazı göz hastalıklarına da katarakt eşlik etmektedir. Örneğin: kalıtsal retinal dejenerasyon ve retinitis pigmentosa hastaları bazen lens posteriyor bölgesinde özel bir opasite tipi geliştirirler (arka subkapsüler katarakt). Böylesi bir kataraktın operasyonla alınması en azından bir süreliğine görme oranını önemli ölçüde iyileştirir. Lens gelişimi yüzey ektodermine invajinasyon aracılığıyla gerçekleştiği için bazı deri hastalıklarının kataraktla ilişkilendirilmesi şaşırtıcı değildir. Bu yüzden astım ve egzema hastalarının 50'li yaşlarının sonlarında göz operasyonuna gitmeleri olasıdır. Paratiroid salgı bezlerinin fonksiyon anormalliği kataraktın nadir sebepleri arasındadır. Diğer taraftan down sendromunda sıklıkla görülmektedir (Galloway, 2016).

#### 1.4.1.4 Travma

Göz üzerine doğrudan bir darbe alınması lensin opaklaşmasına neden olabilmektedir. Katarakt gelişmesi hemen olabilceği gibi birkaç yıl sonrasına kadar uzanabilmektedir. Tek taraflı bir kataraktın ortaya çıkması, önceden meydana gelmiş bir darbenin sonucu olduğunu düşündürebilir ancak neden ve etken arasındaki bağlantının kurulması zor olabilir. Gözde, perforasyon oluşturan bir yaralanma katarakt formasyonu için önemli bir risk oluşturur. Örneğin lens kapsülüne ulaşan bir perforasyon lens liflerinin anterior bölüme dağılmalarına neden olur. Böylesi bir yaralanma sonrasında bireyin yaşına göre farklı olaylar gelişir. Lens kapsülü yırtılan bir çocuksa, anterior bölümde güçlü bir inflamatuvar yanıt oluşur ve tedavisiz süreçte yaklaşık bir ayda lens içeriği kademeli olarak erir. Sonuçta lens kapsülü ve lekesiz bir pupil ortaya çıkar. Ancak gözdeki refraktif etkinlik gücü azaldığı için bu hastalar net görüntü alamaz ve ciddi optiksel sonuçlar yapay intraoküler lens kullanımını gerektirir. Benzer bir lens hasarı yetişkin bireyde olduğunda ise aynı inflamatuvar yanıt oluşur fakat daha fazla gözlenen fibrozis sebebiyle pupilde beyaz plak kalıntısı meydana gelir (Galloway, 2016).

Görünür ışık dalga boyu katarakta sebep olmakla birlikte, beyaz ırktan olan bireylerin uzun süre tropik iklimlerde buldukları bazı vakalarda artmış katarakt oranları gözlenmiştir. Diğer taraftan, yanlış bilindiği üzere ultraviyole ışığında katarakta neden olmaması olasıdır. Çünkü daha kısa dalga boylu ışık demetleri göz küresinden penetre olamamaktadır. Bu kısa dalga boyları görünür spektrumun mavi tarafının ötesindedir ve dramatik bir yüzeysel kornea yanığı oluşturabilirler (fotokeratit). Bu yanık genellikle 48 saat içinde iyileşir kızılötesi ışık demetlerine uzun süreli maruziyette katarakt oluşturur. Bu durum cam ve çelik işçilerinde sıklıkla gözlenir ancak gözlük kullanımıyla önemli ölçüde korunma sağlanır. Atom bombasının kullanımı sonrasında gözlendiği üzere X-ray ve gama ışın demetleri de katarakta neden olmuştur. Ayrıca günümüzde radyasyona bağlı katarakt, lösemi için radyasyon terapisi uygulandığında gözlenmektedir (Galloway, 2016).

#### **1.4.1.5 Toksisite**

Toksisite kaynaklı katarakt oldukça azdır ve sistemik steroidler bu bağlamda ciddi şekilde araştırılmıştır. Yüksek dozlardaki Klorpromazasin'nin ve pilokarpin içeren belirli miyotiklerin lens opasitesini arttırdığı gösterilmiştir. Bugüne kadar elde edilen bilgilerin büyük kısmı hayvan deneylerine dayalıdır. Yeni ilaç türlerinin katarakta neden olma potansiyeli ilk olarak 1930'larda piyasaya sürülen zayıflama kremi dinitrophenolas ile olmuştur. Bu dönemde ilaç piyasadan toplatılmadan önce, bir çok kişide lens opasitesine neden olmuştur (Galloway, 2016).

#### **1.4.1.6 Konjenital Faktörler**

Oftalmik incelemelerde gözlenen konjenital katarakt vakalarının birçoğu kalıtsal özelliktedir. Bu vakalarda bazen sendromik tanımlamalara uyan, dominant bir aile öyküsü ve ilişkili başka olası defektler bulunabilir. Sonradan kazanılmış katarakt, gebeliğin ilk 3 aylık dönemindeki maternal rubella enfeksiyonundan kaynaklanabilir. Sağırılık, konjenital kalp lezyonları ve kataraktın birlikte gözlenmesi olasıdır. Oftalmik operasyon öncesinde konjenital kataraktın iyi bir şekilde incelenerek karar verilmesi önemlidir ve de pediatrik değerlendirmede düşük dereceli kataraktlar da kapsamlı araştırılmalıdır. Ayrıca katarakt gelişimi doğumda az olup, ilerleyen yıllarda giderek artabilmekte ya da belirli bir döneme kadar durağan kalabilmektedir (Galloway, 2016).

#### **1.4.2 Katarakt Sınıflandırması**





Katarakt, ortaya çıkma yaşına, morfolojisine, opasifikasyon derecesine ve matüritesine göre sınıflandırılabilir (Tablo 1). Yaşa bağlı değerlendirmede konjenital, juvenil ve senil diye sınıflandırılırken. Morfolojiye bağlı değerlendirmede, lens liflerinin tutulumuna göre (lensin anatomiksel yapısını ilgilendiren noktalarda) ya da lens liflerinin tutulumundan bağımsız gruplara ayrılarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, lens liflerinin tutulumuna göre kataraktlar sütürel ve

sütürel olmayan tipler olarak iki grupta toplanmaktadır. Opasifikasyon derecesine bağlı değerlendirmede nükleer, kortikal ve posteriyor subkapsüler grupları vardır. Katarakt matüritesine bağlı değerlendirmede ise sınırlı opasifikasyonun gözlendiği immatür tip, total opasifikasyonun gözlendiği matür tip, kliniksel anlamda korteks lizisi nedeniyle kapsül buruşmasının gözlendiği hipermatür tip ve sıvı kortekste katılaşmış nükleusun alt tarafa düştüğü morgagnian tip katarakt grupları vardır (Tsai, 2011).


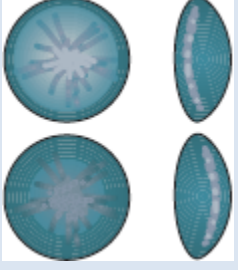
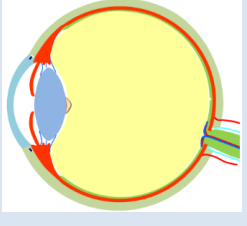

#### **1.4.2.1 Çocukluk Çağı Kataraktı**

Çocukluk çağı kataraktı, doğuştan olan ya da hemen sonrasında oluşan konjenital (infantil) katarakt ve özel bir nedene bağlı sonradan oluşan katarakt olarak iki grupta incelenmektedir. Her iki çeşit unilateral ya da bilateral gözlenebilir. Katarakt vakaları, 3'te 1 oranında kalıtsal, 3'te 1 oranında metabolik, sistemik ya da sendromik bir hastalığa eşlik eden ve 3'te 1 oranında da belirlenemeyen nedenlerle gelişmektedir. Sonradan oluşan vakaların bir çoğu travma, iritis, oküler enfeksiyon, diyabet ve uyuşturuculara bağlıdır. Konjenital lens opasiteleri yaygındır ve genellikle görsel olarak belirsizdir. Işık transmisyona engel olacak ölçüde yoğun olmayan ya da görüş aksisinin dışında kalan bir bölgesel opasifikasyon ilerleme takibinin haricinde herhangi bir müdahale gerektirmez. Ancak merkezi konjenital kataraktlarda ameliyat kaçınılmazdır. Görüş kaybına neden olan konjenital kataraktın teşhisi mümkün olduğunca erken evrede yapılmalıdır. Büyük ve opaklık derecesi yüksek, beyaz kataraktlar lökokori gibi görülür ve ebeveynler tarafından tespit edilebilir. Fakat opaklığı yüksek birçok kataraktın bu şekilde tespiti zordur. Böylesi opak, merkezi ve 2 mm'den büyük çapta unilateral infantil kataraktlar, çocuğun ilk 2 aylık döneminde tedavi edilmezse kalıcı ambliyopiye neden olur. Bu yüzden en hızlı şekilde operasyon gerektirir. Bu durumda bile operasyon sonrası anizometriye bağlı ambliyopiden kaçınmak için dikkatli olunmalıdır (Şekil 1.9) (Riordan, 2007; Wright, 2008).

**Tablo 1.1:** Katarakt tipleri, nedenleri ve özellikleri (Gerhard, 2000; Tsai, 2011)

| Katarakt Tipi   | Nedeni                      | Özellikleri   |
|---|-----------------------------|---|
| <b>Sütürel</b>  |                             |   |
|    | Konjenital                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Progresif değil.</li> </ul>  |
|   | Travmaya bağlı              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anterior ve posteriorde genellikle çiçek biçimli (lens fiber seperasyonu ve akışkan girişi)</li> </ul>                           |
|   | Depolanma bozukluğuna bağlı | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fabri hastalığı vemannozidozis'te genellikle posterior taraftan başlar.</li> </ul>   |
|   | Birikmeye bağlı             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bakır, altın, gümüş, demir, klorpromazin birikmesiyle genellikle anterior taraftan başlar.</li> </ul>                            |
| <b>Nükleer</b>  |                             |   |
|  | Yaşa bağlı                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Göze gelen ışığı dağıtır ve kahverengi kromoforlar oluşturur.</li> </ul>   |
|   | Konjenital                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Embriyonik nükleusla (cataracta centralis pulverulenta) sınırlıdır ve ilerleme göstermez.</li> </ul>                             |
| <b>Lamellar</b>   |                             |   |
|  | Konjenital / İnfantil       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Belirli bir lamella (tabaka) ya da aralığa lokalizedir. Rubella, diyabet, Galaktosemi, hipokalsemi ya da kalıtsaldır.</li> </ul> |
| <b>Koroner</b>  |                             |   |
|  | Sporadik                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Genellikle kalıtsal özellik gösteren ve kortekste tepe oluşturan yuvarlak opasitelerdir.</li> </ul>                              |



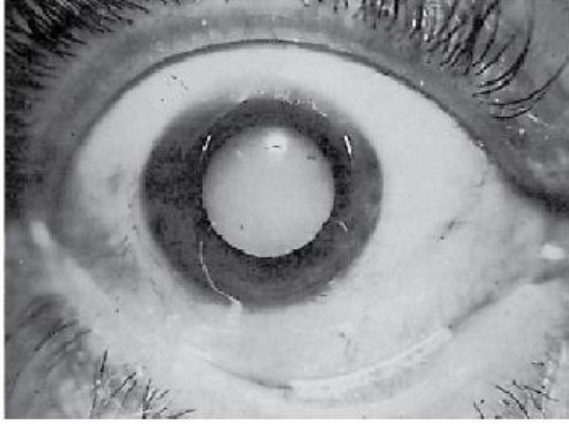
|   |                              |  |
|---|------------------------------|--|
| <b>Kortikal</b>   |                              |  |
|    | Yaşa bağlı                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Yüzeysel kortekste jant teli gibi opasiteler mevcuttur.</li> <li>• Lens lifleri boyunca belirli olmayan hızda yayılırlar.</li> </ul>  |
| <b>Subkapsüler</b>  |                              |  |
|    | Yaşa bağlı / Yaşlılık öncesi | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Posteriyor (daha sık gözlenir ve görsel açıdan önemlidir) ya da anterior kapsülün hemen altındaki granüler materyaldir.</li> <li>• Diyabet, kortikosteroid, radyasyon ve iritise bağlı gelişebilir.</li> </ul>  |
| <b>Polar</b>  |                              |  |
|  | Konjenital                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anterior tarafta; iyileşmeyen pupiller membran, anterior lentikonus, peters anomaliyle gözlenebilir.</li> <li>• Posteriyor tarafta; iyileşmeyen hiperplastik primal vitroz, Mittendorf benekleri ve posteriyor lentikonus anomaliyle gözlenebilir.</li> </ul> |
| <b>Dağınık</b>  |                              |  |
|  | Yaşa bağlı                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Yılbaşı ağacı kataraktları yüksek dereceli yansıtma gücünde kristalin opasiteleridir.</li> </ul>  |
|   | Konjenital                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fokal mavi benek opasiteleri yaygındır ve görsel olarak önemli değildir.</li> <li>• Ayrıca Lowe sendromu taşıyıcılarında da mevcuttur.</li> </ul>   |

### 1.4.2.2 Yaşlanmaya Bağlı Katarakt

Orta yaşlı dönemden sonra lensteki birtakım olaylar nükleer sklerozisle sonuçlanmaya başlar. En erken semptomlar arasında gözlüksüz yakın görüşün iyileşmesi gösterilebilir. Bu durum, refraksiyonda miyopik yönelim oluşturan merkezi lensin odaklanma gücündeki artıştan meydana gelir. Diğer semptomlar arasında azalan renk ayırt etme gücü ve monoküler diplopiya gösterilebilir. Birçok nükleer katarakt bilateraldir ancak asimetrik olabilir.

Kortikal kataraktlar lens korteksindeki opasitelerdir. Lens fiberlerinin hidrasyonundaki değişimler ekvatorial bölge çevresindeki radyal dağılımda çatlaklar meydana getirir. Bilateral olma eğilimi yüksektir ancak sıklıkla asimetrik gözlenirler. Görsel fonksiyon, opasitelerin görsel eksene yakınlığına göre değişen oranlarda etkilenmektedir. Posteriyör subkapsüler kataraktlar, merkezi posteriyör kapsüle yakın kortekste konumlandırılır. Görsel eksenle olan etkileşimleri gereği erken gelişme safhalarında görsel semptomlara oluştururlar. Genel bulguları arasında parlak ışıklandırma koşullarında azalan görme kabiliyeti ve parıltılı gözdür. Aynı şekilde lens opaklığı, travmadan, kortikosteroid kullanımından (topkal ya da sistemik), inflamasyondan ya da iyonize edici radyasyona maruziyetten kaynaklanabilir. Ameliyatın gerekli olduğu durumlarda, lens ekstraksiyonu vakaların %99'undan fazlasında görsel netliği belirgin ölçüde iyileştirir. Geriye kalan %1'lük kısımda ise mevcut bir retinal hasarın ya da operasyon sonrasında görsel iyileşmeyi engelleyecek glokom, retina dekolmanı, intraoküler hemoraj ya da enfeksiyon gibi komplikasyonların olumsuz etkileri gözlenir. İntraoküler lenslerin kullanımı, katarakt operasyonu sonrası kullanılabilen gözlük veya aphakic kontakt lenslere göre çok daha pratiktir (Şekil 1.9, Şekil 1.10) (Gerhard, 2000; Khurana, 2007; Riordan, 2007).

A)



B)



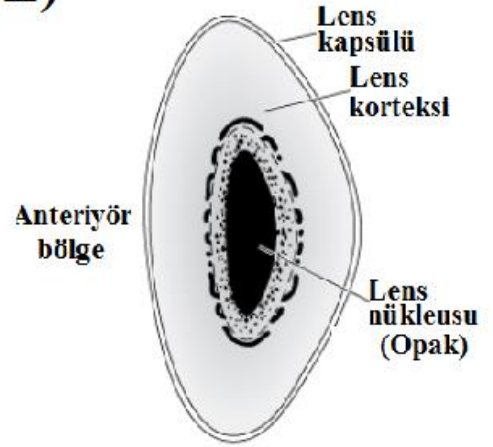
C)



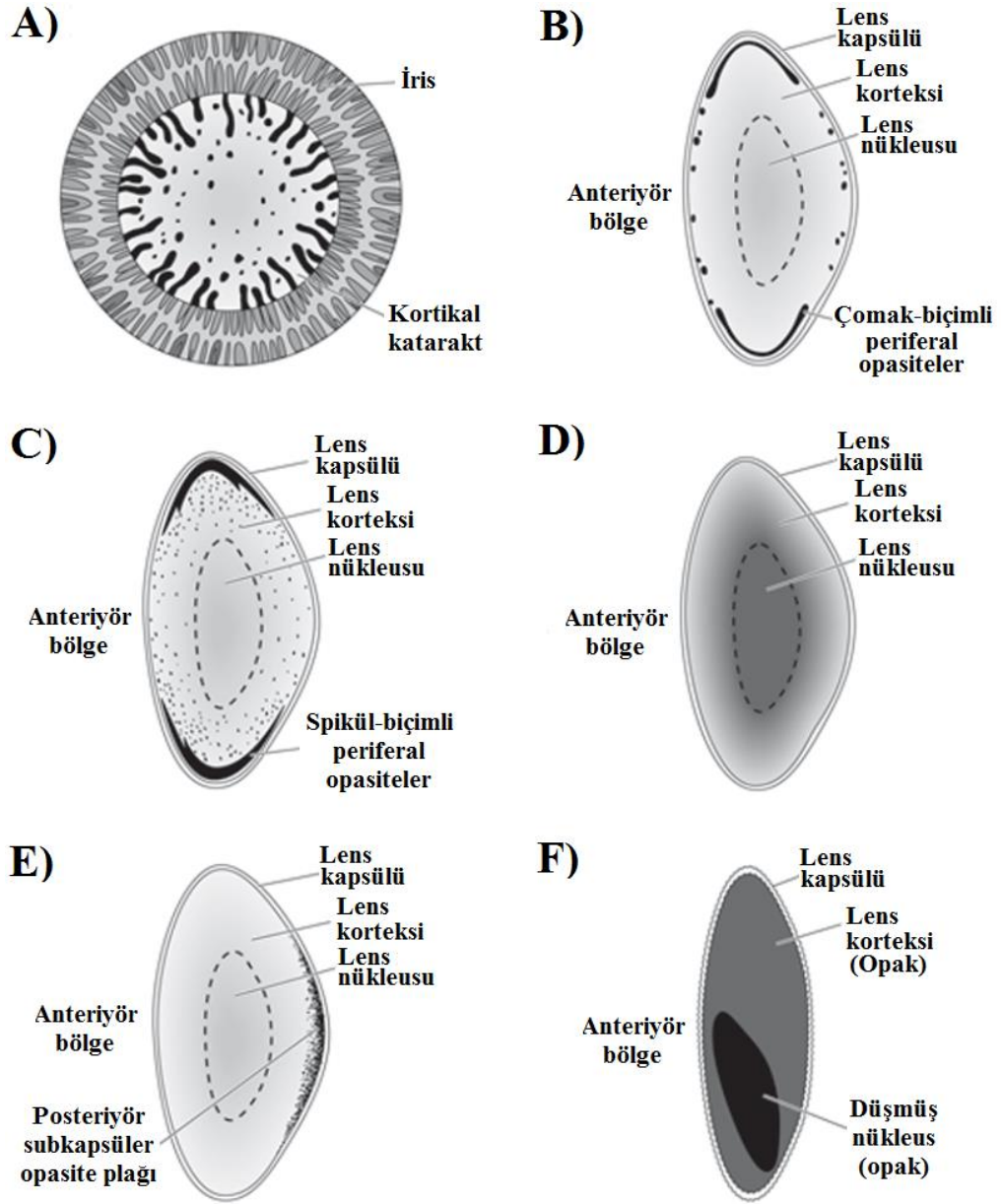
D)



E)



**Şekil 1.9:** Yaşa bağlı ve konjenital kataraktlar. A) Dilate göz bebeğinden görülen yaşa bağlı matür katarakt. B) Sağlıklı bireyin algıladığı görüntü. C) Orta dereceli ilerlemiş yaşa bağlı kataraktı olan bireyin algıladığı görüntü (Opasite merkezi olarak artmaktadır). D) Konjenital katarakt. E) Zonüler tip konjenital katarakt. Lensin bir bölgesinde gözlenir ve korteks göreceli olarak temizdir (Paul Riordan, 2007).



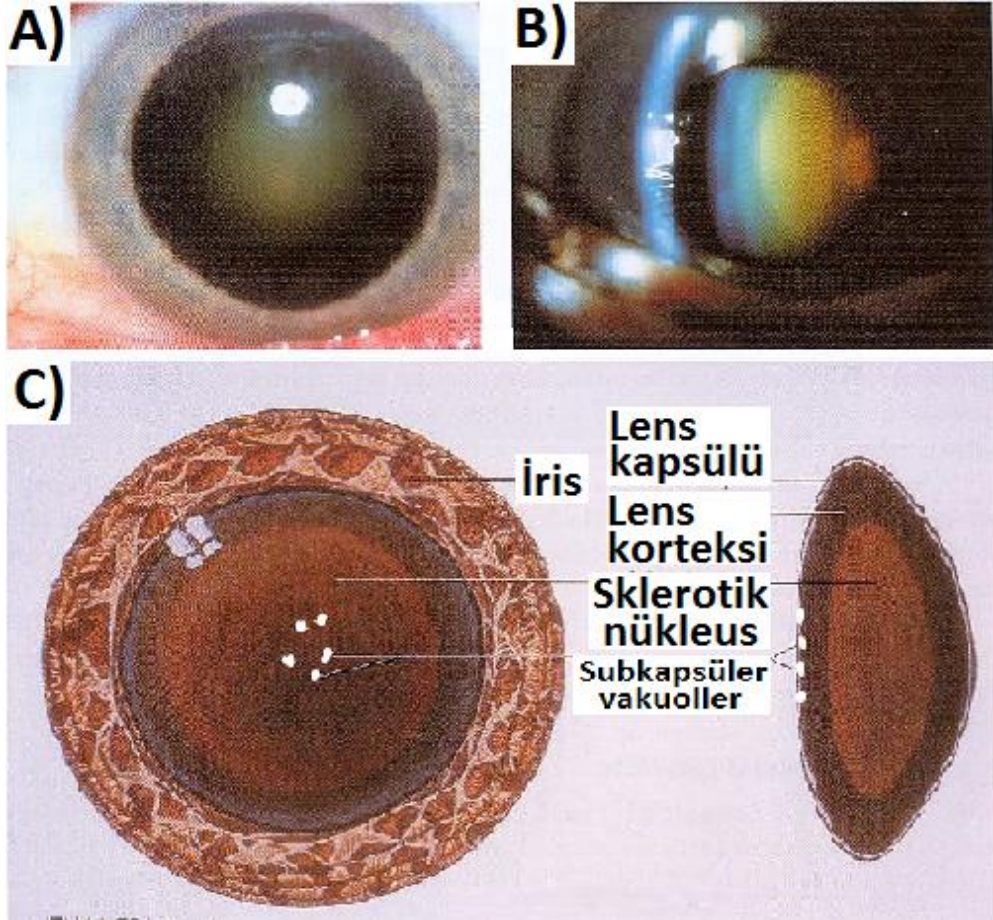
**Şekil 1.10:** Yaşa bağlı katarakt. A-B) Koroner tipli kortikal katarakt (önden ve kesitsel görüntüleri): yavaş gelişen merkezi lensleri temiz çomak-biçimli periferel opasiteler. C) Kama (Cuneiform) tipli kortikal katarakt: yavaş gelişen periferel spiküller ve temiz merkezi lens. D) Nükleer sklerotik katarakt: yavaş gelişen genellikle nükleusu etkileyen dağınık opasite. E) Posteriyör subkapsüler katarakt: hızlı şekilde gelişebilen posteriyör kapsül üzerinde granüler opasite plağı. F) Morgagnian tipi (hipermatür lens): tüm lensin opaklaştığı ve lens nükleusunun alt tarafa doğru düştüğü katarakt (Paul Riordan, 2007).

#### 1.4.2.2.1 Nükleer Katarakt

Yetişkin lenslerinde orta yaşlardan sonra belirli ölçüde nükleer sklerozis ve sararma gözlenmesi normaldir. Nükleer katarakt, ışık dağılımında aşırı artışa, sararmaya ve de merkezi opasiteye neden olur (Şekil 1.11). Bu durum genellikle görme fonksiyonunu az etkiler. Oftalmolog, slit-lamp biyomikroskopunu kullanarak ve dilate gözbebeğinde kırmızı refleyi (red reflex) inceleyerek opasifikasyonu ve renk değişimi derecesini değerlendirir (Tsai, 2011).

Nükleer kataraktlar yavaş gelişme eğilimlidir. Genellikle bilateral gözlenmesine rağmen, asimetric olabilirler. Tipik olarak yakından ziyade uzak mesafeli görüşü bozar. Erken safhalarında lens nükleusunun artan sertleşmesi sıklıkla lens refraktif indeksinde artışa neden olur ve bu yüzden refraksiyonda miyopik değişim (myopic shift) gözlenir (lenticular myopia). Hipermetrop bireylerde, miyopik yöndeki bu değişim presbiyopik (presbyopic) bireylerin gözlüksüz görebilmesini sağlar. Bazı hallerde sklerotik nükleus (ya da diğer lens opasiteleri) ve lens korteksi arasındaki ani refraktif indeks değişimi monoküler diplopiye neden olabilir. Artan lens sararması ya da kahverengiliği özellikle görünür ışık spektrumunun mavi ucunda zayıflayan renk ayırma güçlülüğüne neden olur. Fotopik retinal fonksiyon ilerlemiş kataraktla azalabilir. Aşırı kötüleşmiş vakalarda, lens nükleusu brunesan nükleer katarakt olarak adlandırılan opak ve kahverengi bir renk alır (Gerhard, 2000).

Histopatolojik olarak nükleer katarakttaki nükleus ile sağlıklı yaşlanmış bireyin normal nükleusu arasındaki fark zor ayırt edilir. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde bazı nükleer kataraktların lamellar membran kıvrımlarında artış saptanmıştır. Bu membran modifikasyonlarının ya da protein agregasyonlarının hangi oranda nükleer katarakta ışık dağılımını arttıran katkı yaptığı henüz net değildir (Bobrow, 2011).



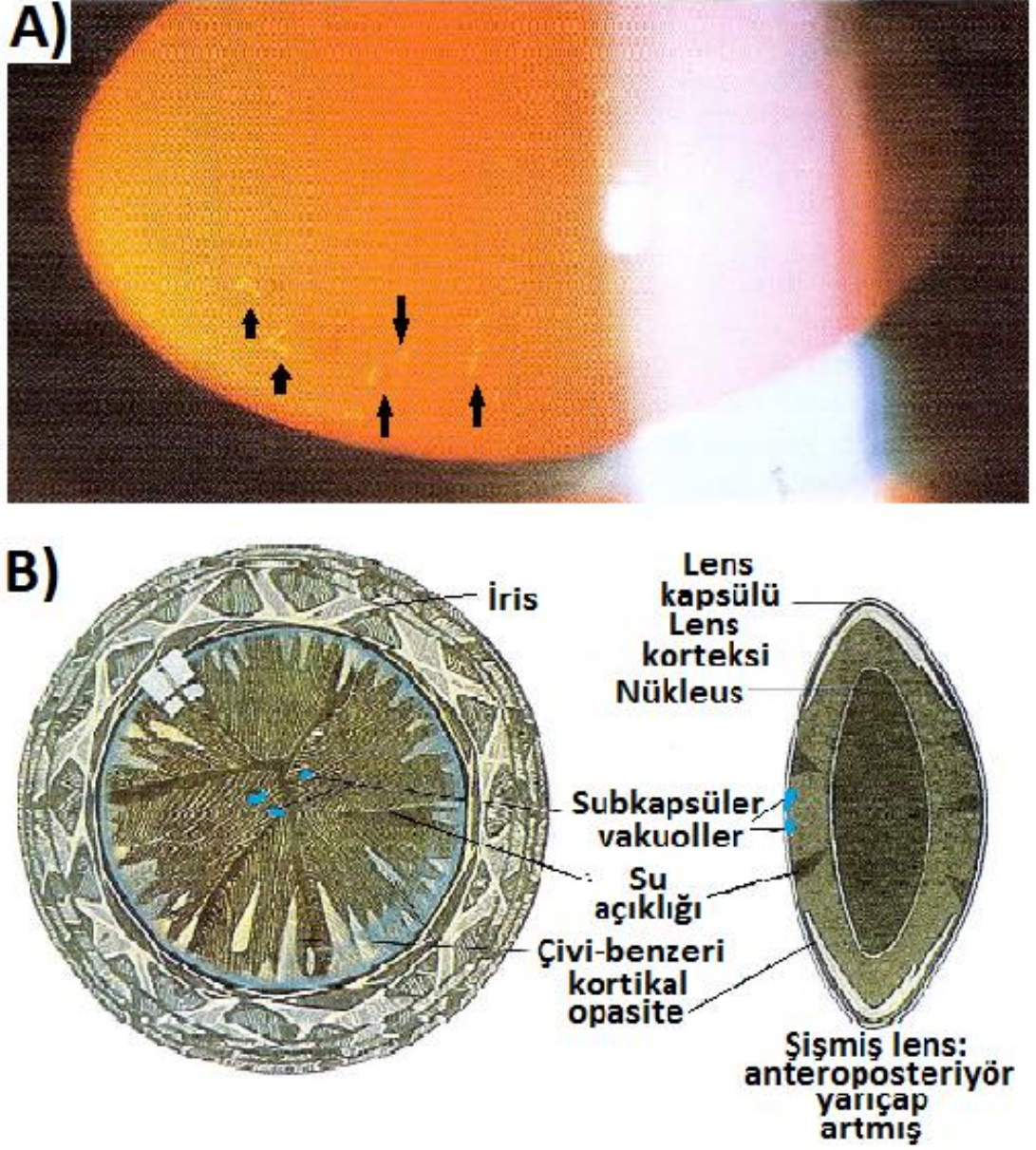
**Şekil 1.11:** A) Difüz illüminasyon ile görüntülenen nükleer katarakt, B) Slit-beam ile görüntülenen nükleer katarakt, C) Nükleer kataraktın şematik görünümü (Bobrow, 2011).

#### 1.4.2.2.2 Kortikal Katarakt

Nükleer kataraktların aksine kortikal kataraktlar matür lens liflerinin hücre yapısının lokal bozulmasıyla ilişkilidir. Membran bütünlüğü zarar gördüğü andan itibaren etkilenmiş hücrelerden esansiyel metabolitlerin kaybı başlar. Bu kayıp aşırı protein oksidasyonuna ve presipitasyonuna yol açar. Kortikal kataraktlar genellikle bilateraldir ancak sıklıkla asimetriktir. Görsel fonksiyona etkileri, görüş ekseninde opasifikasyon lokasyonuna bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Kortikal kataraktın genel semptomu araba farı gibi yoğun bir fokal ışık kaynağıyla karşılaşıldığında gözde parlaklık oluşmasıdır. Ayrıca monoküler diplopi de gözlenebilir. Katarakt progresyonu çeşitlilik gösterir (Kaiser, 2014).

Kortikal katarakt oluşumunun ilk bulguları anterior ve posterior kortekste slit-lamp biyomikroskopuyla gözlenebilen vakuol ve su boşluklarının varlığıdır (Şekil 1.12). Kortikal lamelle sıvıyla birbirinden uzaklaşabilir. Lens periferine yakın bölgede sivri uçları merkeze doğru yönelmiş kama biçimli opasiteler (sıklıkla jant teli ya da çivi formu opasiteler olarak tanımlanır) oluşur. Böylesi perifer opasiteler, posteriordan anterior sütürlere doğru uzanan lens liflerinde meydana geldiği için etkileri bu hücrelerin merkez bölgelerindedir. Kataraktın ilk safhalarında etkilenen lens lifleri hücrelerinin anterior ve posterior kutupları temiz kalır. Kortikal çıkıntılar slit-lamp biyomikroskopisiyle incelendiği zaman beyaz opasiteler, retroilimünasyon ile incelendiği zaman ise koyu gölgeler olarak gözlenir. Kama biçimli opasiteler etkilediği fiberler doğrultusunda ve yan bölgelerdeki fiberlere yayılarak opasite derecesi artabilir ve görme eksenine ulaşabilir. Kapsülden nükleusa varıncaya kadar tüm korteks beyaz ve opak olduğunda, kataraktın matüre olduğu söylenebilir (Şekil 1.12). Matür opasitelerde, lens su alarak şişer ve lensin bütün yüzeyini kaplayan kortikal katarakta dönüşür. Hipermatür katarakt, dejenere olmuş kortikal materyalin lens kapsülünden sızmasıyla meydana gelir ve sonrasında buruşmuş/katlanmış bir kapsül yapısı kalır. Morgagnian kataraktta ise korteksin daha da sıvılaşması sonrasında nükleus kapsül torbası içinde serbest hareket eder duruma gelir. Histopatolojik olarak kortikal kataraktlar bölgesel şişme ve lens fiber

hücrelerinin bozulmasıyla karakterizedir. Eozinofilik materyal küreleri lens fiberleri arasında açıklık benzeri boşluklarda gözlenir (Bobrow, 2011).



**Şekil 1.12:** A) Erken safhadaki kortikal katarakta vakuoller, B) Matür olamayan kortikal kataraktın şematik görünümü (Bobrow, 2011).



### 1.4.2.2.3 Posteriyor Subkapsüler Katarakt

Posteriyor subkapsüler katarakt (PSC), nükleer veya kortikal katarakt gözlenen bireylerden daha genç yaşta bireylerde oluşur. Posteriyor kortikal tabakada kesafet oluşur ve genellikle aksiyeldir (Şekil 1.13). Katarakt formasyonuna ilişkin ilk bulgu slit-lamp biyomikroskopisinde gözlenebilen posteriyor kortikal tabakalardaki ince yanardöner parlaklıktır. Daha ileri safhalarda, granular opasiteler ve posteriyor subkapsüler korteksin plak benzeri opasitesi gözlenir. Hasta genellikle parlak ışıklandırma koşullarında parıltılı ve zayıf görme yeteneğinden şikayet eder. Çünkü katarakt, göz bebeğini küçülten herhangi bir uyarı sonrası gelişen miyoziste pupiller açıklığı engelleyerek görme yeteneğini azaltır. Ayrıca bu hastalarda yakın mesafe netliği uzak mesafe netliğine göre daha fazla etkilenir. Bazı hastalar monoküler diplopi yaşayabilir. Kataraktın en iyi tespiti dilate edilmiş göz bebeği aralığından slit-lamp biyomikroskopisiyle sağlanır. Retroiluminasyon da kullanışlı bir tekniktir (Bobrow, 2011).

Bu katarakt tipi de yaşlanmaya bağlı ortaya çıkan temel bir çeşittir. Ancak travmaya, inflamasyona, iyonize edici radyasyona maruz kalmaya, alkolizme, sistemik, topikal ya da intraoküler kortikosteroid kullanımına bağlı gelişebilir. Histopatolojik olarak, lens epitelyal hücrelerinin lens ekvatorundan posteriyor kapsülün iç yüzeyi üzerindeki eksene posteriyor migrasyonu ile ilişkilidir. Epitelyal hücrelerin migrasyonu süresince ya da posteriyor eksene varmalarından önce aberrant büyümeleri gerçekleşir. Bu genişlemiş hücreler Wedl ya da bladder olarak adlandırılır (Wissinger, 2003; Bobrow, 2011).

### 1.4.3 Katarakt Epidemiyolojisi

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) raporuna göre katarakt dünya genelinde körlük ve görsel bozukluğun başlıca nedenidir. Aynı şekilde, görsel rahatsızlık ve yaşa bağlı katarakt yaşlı bireylerde artan mortalitenin bağımsız faktörleridir. Toplumlardaki yaş ortalamasının giderek yükselmesiyle lentiküler opasitelere bağlı görsel kayıp sıklığı her yıl artmaktadır. Katarakt Amerika'da yaşı

40 veya üzerinde olan yaklaşık 20.5 milyon kişiyi ya da bu aralıktaki her 6 kişiden 1'ini etkilemektedir. 2002 yılında yayınlanan WHO raporuna göre, dünya genelindeki tedavi edilebilir 37 milyon kör bireyin 17 milyonunu (%47.8) kataraktlar oluşturmuştur. Bu rakamın 2020'ye kadar 40 milyona ulaşacağı öngörülmektedir. 2004 yılındaki katarakt operasyon rakamları ise Amerika'da 1 milyon kişi de 8000, Çin'de 1 milyon kişi de 500, gelişen ülkelerde 1 milyon kişi de 50 gibi düşük değerlerde yapıldığı göstermektedir. Bu bağlamda WHO, toplumsal sağlık ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla 2000-2020 yılları arasında katarakt operasyon sayısının en az 3 katına çıkarılması gerektiğini belirtmiştir. Görme yeteneği açısından lentiküler opasitede tek tedavi seçeneği operasyon olduğu için operasyonel bileşenlerin temini hayati önem arz etmektedir. Aksi takdirde, kataraktın sosyoekonomik etkisi ve yol açtığı körlüğe bağlı problemler söz konusudur. Örneğin; gelişmekte olan ülkelerde görme yeteneğini kaybetmiş bireyin sağlıklı bir bireyden yardım almasıyla, toplumdaki 2 kişilik iş gücünün çıkması önemli bir problemdir. Diğer taraftan, katarakt operasyonunun ekonomik yönü de önemlidir. Amerika'da sağlık güvencesi aracılığıyla her yıl 3.4 milyar dolar harcamanın yapıldığı tahmin edilmektedir (Bobrow, 2011).

Lens opasiteleri için kullanılacak genel, standardize bir sınıflandırma sisteminin yokluğu nedeniyle katarakt prevalansının ve meydana gelme sıklığının değerlendirilmesi zordur. Konjenital, metabolik ya da travmatik orjinli kataraktlar gözlenmesine rağmen yaşa bağlı kataraktlar yaygınlıkları nedeniyle en büyük sosyoekonomik etkiye sahiptir. Yaşa bağlı lens opasitelerinin boyut, biçim, yoğunluk ve lokasyonu çeşitlilik göstermektedir ve birçok katarakt tanımlaması slit-lamp biyomikroskopisinde gözlenen lens morfoloji değişikliklerine ve görsel netlikteki ölçülebilir azalmaya bağlı yapılmaktadır. Ölçüm metodlarının subjektifliği ve hasta partisipasyonunun gerekliliği değerlendirmeleri taraflı hale getirir. Ayrıca birçok yaşa bağlı katarakt frekans tahmini genel popülasyondan ziyade seçilmiş gruplardan oluşmaktadır ve görsel kayba yol açan lens değişimleri eşlenik patolojiler sebebiyle gözlenebilmektedir (Riordan, 2007).

Yaşa bağlı göz hastalıkları çalışması (AgeRelated Eye Disease Study, AREDS) 1990 yılında gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre lens opasite

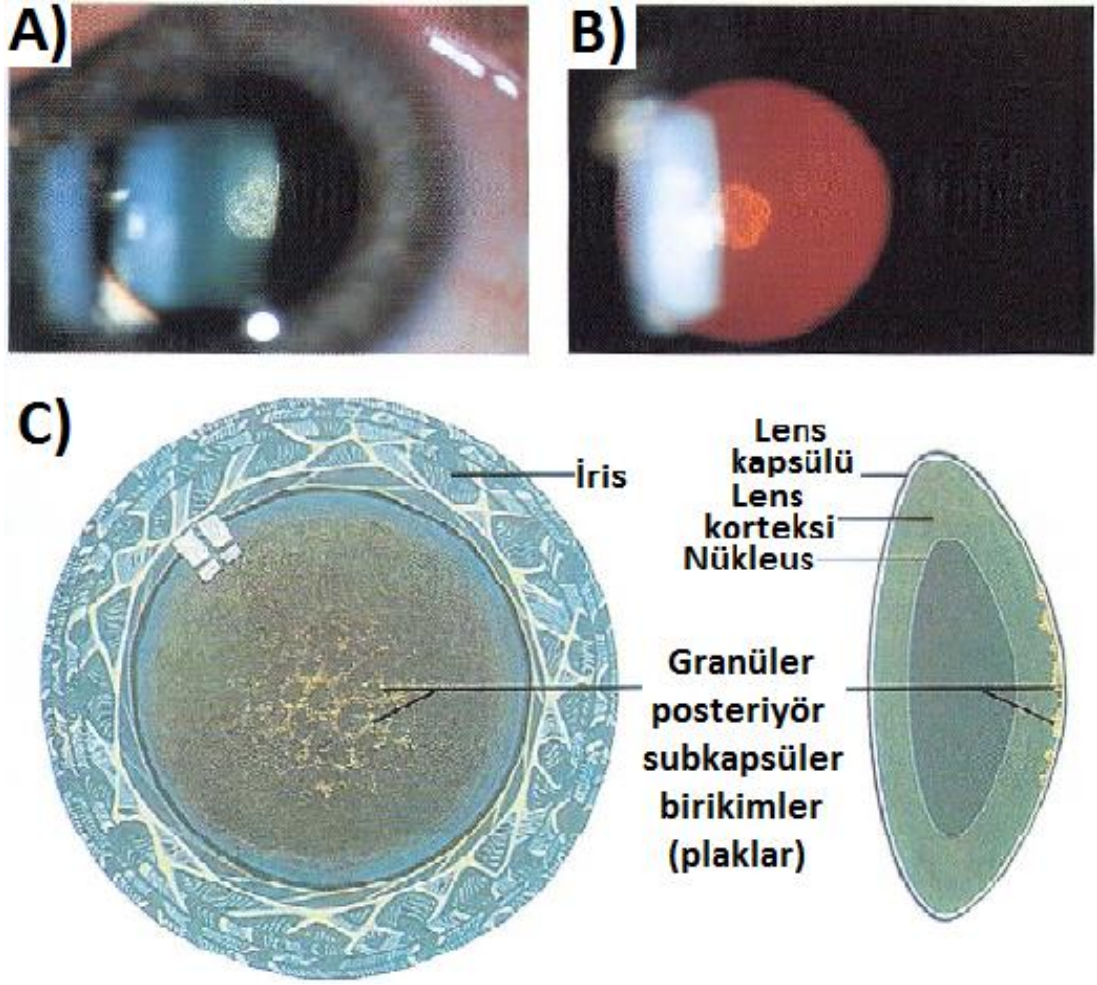
derecelendirmesinde yaşamın erken dönemlerinde meydana gelen değişikliklerin belirleyici olduğu gösterilmiştir. Katarakt frekans ve progresyon tahminlerinde kullanılmak üzere fotoğrafik katarakt sınıflandırması hazırlanmıştır. Orta dereceli nükleer opasiteli bireylerin yüksek oranda bayan, Kafkas ırkı dışında bir kökenden gelen, sigara kullanan ve büyük maküler drusene sahip kişilerden oluştuğu raporlanmıştır. Bunlara ek olarak, orta dereceli nükleer opasite, koyu renkli irise sahip olmayla, kilo alınmasıyla, güneş ışığına fazla maruz kalınmayla ve tiroid hormonu kullanımıyla ilişkilendirilmiştir. Diğer taraftan, eğitim seviyesi iyi kişiler arasında daha az gözlendiği belirlenmiştir (Author, 1999).

Verileri 1990'lı yıllarda yayınlanan Beaver Dam Göz Çalışması (Beaver Dam Eye Study) 1980'li yılların sonunda geniş bir popülasyonda yapılmıştır. Sonuçlara göre 74 yaşından büyük erkeklerin %38.8'inde, kadınların %45.9'unda görsel problem oluşturan katarakt vardır. Çalışmada katarakt şiddeti lens opasitelerinin fotoğrafik derecelendirilmesiyle belirlenmiştir ve düzeltilmiş en iyi görme keskinliği 20/32 Snellen olarak kabul edilmiştir. Ancak ciddi yaşa bağlı maküler dejenerasyonu olan hastalar kapsam dışı tutulmuştur. Beaver Dam Göz Çalışması'nın devamı olarak 1993-1995 yılları arasında nükleer, kortikal ve posteriyor subkapsüler kataraktlarının meydana gelme sıklığı tespiti için çalışma yapılmıştır. Sonuçlara göre nükleer katarakt %13.1, kortikal katarakt %8.2 ve posteriyor subkapsüler katarakt %3.4 olarak bulunmuştur. Yaş aralığı 43-54 olan bireyler ve 75 ya da üzerinde olan bireylerin karşılaştırmasında ise nükleer katarakt için sırasıyla %2.9 ve %40, kortikal katarakt için sırasıyla %1.9 ve %21.8, posteriyor subkapsüler katarakt için sırasıyla %1.4 ve %7.3 sıklık değerleri gözlenmiştir. Ayrıca yaşa bağlı olmaksızın kadınların erkeklere göre daha yüksek oranda nükleer katarakta sahip olduğu belirlenmiştir (Klein BE, 1998; Paul Riordan, 2007).

Baltimore Göz Araştırması (Baltimore Eye Survey), kataraktın 40 yaş ve üzerinde körlüğe neden olan en önemli neden olduğunu göstermiştir. Sonuçlara göre tedavi edilmeyen katarakt Afrika kökenli Amerikalıların %27'sinde, Kafkas kökenli Amerikalıların %13'ünde körlük nedenidir (Tielsch JM, 1991).

Uzun dönemli katarakt çalışması (Longitudinal Study of Cataract, LSC), lens opasiteleri için olası risk faktörlerinin değerlendirildiği ve katarakt gelişimine yönelik epidemiyolojik incelemelerin yapıldığı bir çalışmadır. Araştırma sonuçlarına göre, nükleer opasifikasyon artan yaşla, Kafkas kökenli olmayla, yetersiz eğitimle, gut hastalığı tedavisiyle, sigara kullanımıyla, aile öyküsüyle ve gözlük kullanımına erken başlanmayla ilişkilendirilmiştir. İncelemede, Lens Opasiteleri Sınıflandırma Sistemi III (Lens Opacities Classification System III LOCS III), değerlendirme metoduyla lentikular opasitelerin progresyonu ve yeni lens opasitelerinin oluşumu değerlendirilmiştir. Çalışma başlangıcında katılımcıların yaş ortalaması 65'tir ve yeni opasite gözlenme sıklığı 2 yıl sonunda %6, 5 yıl sonunda %8 olarak bulunmuştur. 5 yıllık gözlem sonrasında kortikal ve posteriyor subkapsüler opasite geliştirme için oranlar sırasıyla %7.7 ve %4.3 olmuştur. En yüksek progresyon, başlangıçta var olan posteriyor subkapsüler opasitelerde gözlenmiştir ve 5 yılın sonunda %55.1 değerini almıştır. Kortikal ve posteriyor subkapsüler opasite görülme sıklığı 65 yaş ve üzerinde 65 yaş altına göre daha yüksek olmasına rağmen tümünde progresyon hızları benzerdir (Chylack, 1993; Riordan, 2007).

Barbados Göz Çalışması (Barbados Eye Study) özellikle zenci popülasyondaki lens opasitelerinin yaygınlığı hakkında veri sağlamıştır. Çalışma sonuçlarına göre, en yaygın katarakt tipi kortikal opasitelerdir ve opasifikasyon kadınlarda daha fazla gözlenmektedir. 61 yaşından büyük 8363 bireyle başlanan çalışmada, 5 yıllık süre zarfında katarakt operasyonu geçirme oranı %7.4 olmuştur. Katarakt gelişimindeki olası risk faktörlerinin tutarlılığı sorgulansa da, çalışmalar kataraktların genel itibarıyla Afrika kökenli Amerikalılarda, nükleer kataraktın bayanlarda, sigara kullananlarda ve eğitim seviyesi düşük kişilerde daha yaygın olduğunu raporlamıştır. Cinsiyet fark etmeksizin sigara kullanımının nükleer lens opasitesi geliştirme riskini arttırdığı gözlenmiştir (Riordan, 2007; Bobrow, 2011).



**Şekil 1.13:** Slit-lamp biyomikroskopunda görüntülenen posteriyör subkapsüler katarakt, B) İndirekt illüminasyon ile görüntülenen posteriyör subkapsüler katarakt, C) Posteriyör subkapsüler kataraktın şematik görünümü (Bobrow, 2011).

### 1.5 Katarakt Genetiği ve SIRT1

Katarakt gelişimi birçok nedene bağlıdır ve genellikle lens mikroyapısının bozulmasıyla karakterizedir. Vakuol formasyonu lens boyunca yoğunluk farklılıklarına sebep olarak ışık dağılmasında etkili ani refraksiyon indeksi değişimleri meydana getirir. Aynı şekilde molekül ağırlığı 1000 A ya da daha fazla olan proteinlerin agregat oluşturması da ışık dağılması ve opasite için önemli bir

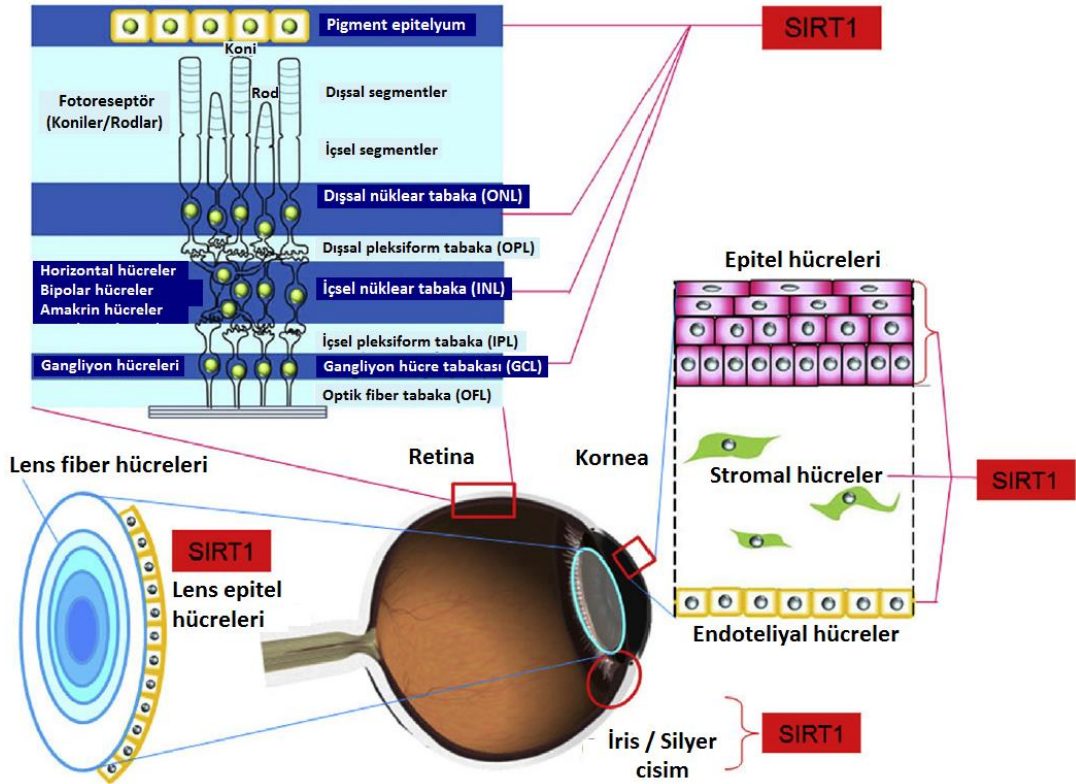
nedendir. Bu bağlamda en iyi bilinen örnek lens saydamlığının sağlanması ve devam ettirilmesinde kristalin proteinlerinin homojen fazlı paketlenme gerekliliğidir (Wissinger ve ark. , 2003). Konjenital katarakt açısından, kristalin ya da diğer lens proteinlerindeki mutasyonların agregasyona yol açabilecek yetkinlikte oldukları öngörülmektedir. Ancak yaşa bağlı kataraktta ise söz konusu genetik değişikliklerin ışık, hiperglisemi ya da oksidatif hasar gibi olumsuz çevresel koşullara duyarlılığı arttırarak katkı sağladıkları öngörülmektedir. Bu yüzden kalıtsal konjenital kataraktlar yüksek penetranslı mendeliyan genlerle belirlenirken, yaşa bağlı kataraktlar fenotipi etkileyen birçok gen ve çevresel faktörün etkisinde gelişir. M1 Ailesel ilişkilendirme, tek ve çift yumurta ikizleri çalışmalarından elde edilen sonuçlar yaşa bağlı katarakt riskinde genetik katkının önemini göstermiştir. Buna göre kalıtsal rolün kortikal ve nükleer kataraktlarda %50'ye ulaşabileceği tahmin edilmektedir (Bobrow, 2011).

*SIRT1* geni Sirtuin ailesinin yedi üyesi (SIRT1-7) vardır. Yedi memeli sirtuin proteini içerisinde en iyi karakterize edilen SIRT1'dir. SIRT1, 747 aminoasitlik, 9 eksondan oluşan, 6 splice varyantı olan (sadece 4'ünden protein sentezi) genidir. SIRT1 proteini hem nükleus hem de sitoplazmada lokalizedir. Kanser gelişimi, programlanmış hücre ölümü, gen ifadenmesinin düzenlenmesi, DNA onarımı ve yaşlanma mekanizmasında önemli rolü bulunmaktadır. SIRT1 strese cevaben enerji homeostazisini kontrol eder. Bunu başaramadığı durumlarda genomik kararsızlıktan kaçınmak için hücre yaşlanmayı teşvik eder. Yani sirtuinler hem epigenetik hem de epigenetik olmayan mekanizmaların regülasyonu aracılığıyla hücre homeostazinin sürdürülebilmesinde önemli role sahiptir. SIRT1'in yaşa bağlı çeşitli hastalıklarla ve oküler hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir. SIRT1'in oküler kök hücrelerin kendini yenileme ve yaşlanma sürecinde önemli rol oynayabildiği belirtilmiştir (Mimura ve ark., 2013).

Yaşlanma, sistematik olarak, sirtuinler ile uyarılan mitokondrial DNA kararsızlığı ile yakından ilişkilidir. Bu yaşlanma prosesi; (1) E2F1'in aracılık ettiği SIRT1 gen ifadesinin düzenlenmesi için bir ön koşul olan, ATM'nin E2F1 ile fosforillenmesine (Wang ve ark., 2008), (2) Homojen olmayan bir uç birleştirme DNA tamir proteini olan Ku70'in SIRT1 aracılı aktivasyonuna (Jarrett ve ark., 2008)

ve (3) SIRT1 proteini, p53 asetilasyonuna ve p53'e bağımlı apoptoz düzenlenmesine bağlıdır (Cheng ve ark., 2003; Pang ve ark., 2013). Kısaca SIRT1, DNA stabilitesini düzenler ve hücrenin hayatta kalmasını sağlar (Brunet ve ark., 2004; Cohen ve ark., 2004; Yuan ve ark., 2007; Chen ve ark., 2009).

SIRT1, oküler morfogenezde önemli bir role sahiptir (Cheng ve ark., 2003). Jaliffa ve arkadaşları, immünohistokimyasal ve western blot analizleriyle erişkin fare gözlerinde SIRT1'in lokalizasyonunu incelemişler ve SIRT1'in, kornea, mercek, iris, siliyer vücut ve retinayı içeren tüm normal oküler yapıların hücrelerinde hem nükleusta hem de sitoplazmasında yer aldığını belirlemişlerdir (Jaliffa ve ark., 2009) (Şekil 1.14).



**Şekil 1.14:** SIRT1'in fare gözündeki lokalizasyonu. SIRT1, kornea, mercek (epitelyal hücreler), iris, siliyer vücut ve retinayı içeren birçok oküler dokuda eksprese edilir. Korneada, SIRT1 kornea epitel hücrelerde, keratositlerde ve kornea endotel hücrelerinde bulunur. Retinada, SIRT1, retina pigment epiteliumunda (RPE), dışsal nükleer tabakada (outer nuclear layer, ONL), içsel nükleer tabaka (inner nuclear layer, INL) ve ganglion hücre tabakasında (ganglion cell layer, GCL) bulunur (Mimura ve ark., 2013).

SIRT1, retinal hasarda nöroprotektif bir role sahiptir. SIRT1, retinal hücreleri oksidatif strese bağlı retinal hasar (Peng ve ark., 2010, Peng ve ark., 2011), apoptotik retinal ölüm ve antiinflamasyon (Anekonda ve Adamus, 2008) gibi DNA hasarlarından korur (Shindler ve ark., 2007; Kubota ve ark., 2011). Diğer taraftan, SIRT1'in parçalanması birden fazla mekanizma yoluyla retinal hasara neden olur. İlk olarak Oct4 ve SIRT1 ekspresyonu yaşlı retinal pigment epitel hücrelerinde (RPEs) veya hafif yaralı sıçan retinalarında azalır (Peng ve ark., 2011). İkincisi, ışık maruziyeti retinal aktivatör protein-1'i uyarır ve farelerde retinal SIRT1 aktivitesini azaltır. Üçüncüsü, SIRT1 deaktivasyonundan ve NF-kB aktivasyonundan sorumlu olan adenosin monofosfat (AMP) aktive protein kinaz (AMPK) yolağının downregülasyonu şeker hastalığına bağlı retinal enflamasyon sebebiyle gelişir (Kubota ve ark., 2011; Zheng ve Lu, 2011). Oksidatif stres, işlevsel olmayan enerji homeostazının bir alt ürünüdür (Wu ve ark., 2006). SIRT1 normal erişkin merkezi sinir sisteminde oksidatif stresin dengelenmesi için optimal normal beyin fonksiyonu için gerekli olan enerji homeostazı ve anti apoptotik mekanizmaları muhafaza eder (Wu ve ark., 2006). Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda SIRT1'in Wallerian dejenerasyonundan nöronların korunmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Tang ve Chua, 2008; Zhang ve ark., 2011).

### **1.5.1 Konjenital Kataraktlar**

Konjenital kataratta, opasitenin anatomiksel lokasyonuna ve morfolojisine bağlı olarak geliştirilmiş bazı sınıflandırma sistemleri mevcuttur. Merin ve Crawford (1971) morfolojilerine göre yaptıkları sınıflandırmada lensin anterior ya da posteriyoründe gelişen polar opasite, embriyonik lensi spesifik bölgelerde etkileyen zonüler katarakt, lens fiber hücreleri aracılığıyla fetal nükleusun sutural bölgelerini (Kumar ve Agarkar, 2015) etkileyen sütürel kataraktlar, lens korteksi ya da nükleusu üzerinde mavi renk benzeri lekeler oluşturan serulean (Cerulean) katarakt ve kapsül deformasyonuna bağlı lens protein rezorpsiyonuyla gelişen membranöz veya kapsüler katarakt sınıflarını oluşturmuştur (Hejtmancik ve Fielding, 2008). Kumar ve Agarkar (2015) konjenital kataraktları morfolojilerine göre merkezi, anterior,



posterior, mercansı (coralline), sutural, kama biçimli ve benekli lens opasiteleri olarak sınıflandırmıştır (Kumar ve Agarkar, 2015). Belirli bir gen lokusuna ait mutasyon farklı ailelerde veya aynı aile içerisinde oldukça farklı katarakt morfolojilerine ve dolayısıyla görme bozukluklarına neden olabilmektedir (Kumar ve ark., 2013). Bu yüzden kataraktla ilişkili primer mutasyonun etkisini modifiye edici ilave genlerin önemi ortaya çıkmaktadır. Diğer taraftan, benzer ya da identik klinik bulgular veren kataraktlar oldukça farklı genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanabilmektedir (Shiels ve Hejtmancik , 2013)

Konjenital kataraktlar, infantlarda gözlenen körlüğün yaklaşık 3'te 1'inden sorumludur ve dünya genelinde körlüğün önemli nedenleri arasındadır. Infantlardaki gözlenme sıklığı ortalama 100.000 çocukta 72'dir ve bu değer 12-136 aralığında değişmekte olup gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir (Wissinger ve ark. , 2003). Kalıtsal özellik gösterenlerin oranı ise % 8.3-25 aralığında tahmin edilmektedir. Diğer taraftan konjenital kataraktlar izole defektler ya da microphthalmia, aniridia gibi diğer anterior bölüm gelişimsel anomalileriyle ilişkili olarak meydana gelebilmektedir. Ayrıca lens opasiteleri kromozom abnormaliteleri, Lowe sendromu ve Nance Horan Sendromu gibi çok sistemli genetik rahatsızların bir parçası olarak gelişebilmektedir. Bazı vakalarda lens opasitesinin nedenini belirlemek zorlaşabilmektedir. Örneğin: PITX3 genindeki abnormalitelerden kaynaklanan anterior segment mezenkimal displaziye (anterior segment mesenchymal dysgenesis, ASMD) bağlı kataraktlar bazı aile üyelerinde gözlenebilirken, başka bireylerde ek bulgular verebilmektedir (Shiels ve Hejtmancik, 2013).

İzole konjenital kataraktlar, yüksek penetranslı Mendeliyan tipte ve sıklıkla otozomal dominant karakterde görülmektedir (Hatchwell, 2002). Bu yüzden letal etki göstermezler ve bağlantı analizi çalışmalarıyla genetik haritalanmaları yapılabilir. Günümüzde 40'tan fazla gen ve lokasyon listelenmiştir (Tablo 1.2) (Medsing ve Nischal, 2015). Bu adayların birçoğu gelişimsel anomalili hastalarda sekanslanan ve transkripsiyonel aktivatörleri kodlayan genlerdeki mutasyonlardır (Wissinger ve ark., 2003). Mutant genin belirlenebildiği aile çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre mutasyonların yarısı kristalin genlerinde, 4'te 1'i konneksin genlerinde, geriye kalan 4'te 1'i ise ısı şok transkripsiyon faktör 4 geni (heat shock transcription factor 4

gene, HSF4), aquaporin 0 (MIP) ve beaded filament yapısal proteini BFSP2 (CP49 ya da phakenin) genleri arasındadır (Kumar ve ark., 2013). Kristallin ve konneksin genleri lens saydamlığını belirlemektedir ve mutasyonları genellikle sendromik olmayan konjenital katarakt etyolojilerinde tanımlanmaktadır. MIP, BFSP2, HSF4, vimentin ve intirinsik lens membran proteinlerine ilişkin mutasyonlar ise transkripsiyon faktörlerinde raporlanmaktadır (Medsinge ve Nischal, 2015).

### 1.5.1.1 Kristallin Proteinleri

Kristallinler enzimatik ve yapısal olarak 2 ana sınıfta kategorize edilmektedir. Yapısal olarak tanımlananlar omurgalı lensinin saydamlığının ve refraktif indeksinin sağlanması/korunması görevlerindedir (Chograni ve ark., 2012). Lens merkezi hücreleri gelişme süreçlerinde çekirdeklerini kaybettikleri için kristallin proteinleri üretildikten sonra ömür boyu muhafaza edilir. Bu yüzden normal koşullar altında stabiliteleri oldukça yüksektir (Datiles ve ark., 2016). Kristallin protein yapısında 4 homolog motif, 1 bağlayıcı peptid, amino ve karboksil terminal uzantıları şeklinde 7 bölge bulunmaktadır. Memeli göz lenslerinde 3 ana kristallin tipi bulunmaktadır. Bunlar  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  olarak tanımlanmaktadır. B ve  $\gamma$  sınıfı süper bir aile olarak ta görülmektedir. Diğer taraftan  $\alpha$  ve  $\beta$  aileleri asidik ( $\alpha$ -A ve  $\beta$ -A) ve bazik ( $\alpha$ -B ve  $\beta$ -B) gruplara ayrılmaktadır. Lensteki toplam kristallin proteininin %40'ını  $\alpha$ -kristallin proteinleri (alfa), %35'ini  $\beta$ -kristallin proteinleri (beta) ve %25'ini  $\gamma$ -kristallin proteinleri (gama) oluşturmaktadır (Kumar ve ark., 2013). Protein kompozisyonu ve lens boyunca gözlenen dağılımı saydamlık açısından oldukça belirleyicidir. Genlerde bir mutasyon olduğunda abnormal protein yapısı sıkı paketlenmede problem çıkarmakla kalmaz ayrıca protein çözünürlüklerini değiştirerek opasiteler meydana getirir (Brady ve ark., 2001).

#### 1.5.1.1.1 $\alpha$ -Kristallin Proteinleri

$\alpha$ -Kristallin protein ailesi,  $\alpha$ A-kristallin ve  $\alpha$ B-kristallin üyelerinden oluşmaktadır.  $\alpha$ A-kristallin proteini 11q22.3-q23.1 bölgesinde,  $\alpha$ B-kristallin proteini 21q22.3

bölgesinde konumludur.  $\alpha$ A-kristallin proteini, şaperon benzeri aktiviteli küçük bir ısı şok proteinidir ve dinamik multimerik kompleksler oluşturur. Lensteki miktarları  $\alpha$ B-kristallin protein altüniteleriyle kıyaslandığında 3:1 oranındadır ve ekspresyonları lenste sınırlıdır. Görevi proteinleri doğrudan biçimlendiren bir şaperon olmaktan ziyade, onları büyük çözünebilir agregatlar halinde tutmaktır. Ayrıca otokinaz aktiviteleri ve hücre içi yapılanmada görevleri vardır (Yi ve ark. , 2011).  $\alpha$ A-kristallin genindeki mutasyonlar, hem zincir delesyonu ile ilişkili otozomal resesif kalıtmı kataraktlarda hem de yanlış anlamlı mutasyonlarla (missense mutations) ilişkili otozomal dominant kalıtmı kataraktlarda tespit edilmiştir (Wissinger, 2003). Litt ve arkadaşları (1998) aile bireylerinin 3'te 1'inin kataraktan etkilendiği örnek grubunda yaptığı incelemede otozomal dominant kalıtmı  $\alpha$ A-kristallin geni 21q22.3 bölgesine lokalize mutasyon tespit etmiş ve bireylerde yanlış anlamlı mutasyonun katarakta neden olduğunu göstermiştir (Litt ve ark. , 1998).  $\alpha$ B-kristallin genine ait raporlanan ilk mutasyon desmin ilişkili miyopati ve belirli bireylerde katarakta neden olan geniş bir pedigrî üzerinedir. Vicart ve arkadaşları (1998) yanlış anlamlı mutasyonun  $\alpha$ B-kristallin şaperon aktivitesini önemli ölçüde azaltarak stres koşulları altında agregasyon ve presipitasyona neden olduğunu belirtmiştir (Vicart ve ark., 1998). Brady ve arkadaşları (2002) ise aynı bölge için farede gerçekleştirdikleri gen fonksiyonu durdurma çalışmasında kataratsız miyopati gözlemlemiştir (Brady ve ark., 2001).

#### 1.5.1.1.2 $\beta$ -Kristallin Proteinleri

$\beta$ -kristallinler lenste en bol bulunan suda çözünür proteindir ve molekülünde amino-karboksil uzantılara ya da kollara sahiptir. Yapılarında  $\beta$ -tabakalı protein katlanmasının dörtlü merkezi globüler çekirdek karakteristiktir (Reddy ve ark., 2004).  $\beta$ -kristallin protein ailesi, karboksil terminaldeki uzantıya bağlı çeşitlenen oldukça heterojen bir gruptur ve  $\beta$ A1,  $\beta$ A2,  $\beta$ B1,  $\beta$ B2 üyelerinden oluşmaktadır.  $\beta$ A1-kristallin proteini 17q11.2,  $\beta$ A2-kristallin proteini 2q34-q36,  $\beta$ B1-kristallin proteini 22q11.2-q12.1,  $\beta$ B3-kristallin proteini ise 22q11.23-q12.1 bölgesinde konumludur. Birbirleriyle dimer ya da heterodimerler formunda farklı boyutlu agregat

oluştururlar (Hejtmancik, 2008). Lensteki miktarları  $\alpha$ A-kristallinlere göre daha yüksektir ve ekspresyonları lensle sınırlı olmayıp birçok doku ve organda gözlenir.  $\beta$ B1 ve  $\beta$ B3 kristallinleri aynı mRNA'dan üretir.  $\beta$ B3 alternatif translasyon başlangıç bölgesiyle üretilir ve diğerine göre 17 amino asit daha uzundur. Bazik karakterli kristallin proteini üreten gen bölgesi ekzon 3 ve 4 delesyonları otozomal dominant kalıtmımlı sütünrel opasiteli zonuler katarakta neden olur. Asidik karakterli kristallin proteini üreten gen bölgesi amino terminali kodlayan bölgedeki mutasyonlar tip 2 serulean (cerulean) kataraktlara neden olur (Yi ve ark. , 2011).  $\alpha$ B-kristallin genindeki mutasyona bağlı katarakt ilk olarak desmin-ilişkili miyopatide gözlenmiştir. Burada  $\alpha$ B-kristallin şaperon aktivitesini düşürerek stres altında protein agregasyonuna ve presipitasyonuna yol açan bir yanlış anlamlı mutasyon söz konusudur (Wissinger, 2003). Aynı şekilde mutant  $\alpha$ B-kristallin proteininin kas hücrelerinde desmini stabilize edici görevindeki aksaklığın miyopatiye neden olduğu tahmin edilmektedir (Shiels, 2007).  $\beta$ -kristallin genlerindeki bazı mutasyonlar insanlardaki otozomal dominant kalıtılan kataraktlarla ilişkilendirilmiştir. Farklı etnikten 3 ailede yapılan analizde mutasyon, 22q11 bölgesindeki kristallinde gözlenmiştir. İlginç bir şekilde bir ailede serulean katarakt, bir ailede pulverulent nükleer opasifikasyon, bir ailede serulean katarakt ve belirgin sütünler fenotiplenmiştir. Aynı gene ait mutasyonların değişen fenotipleri diğer modifiye edici genlere ve çevresel faktörlere bağlanmıştır (Reddy ve ark., 2004).

#### 1.5.1.1.3 $\Upsilon$ -Kristallin Proteinleri

$\Upsilon$ -kristallin protein ailesi,  $\Upsilon$ A,  $\Upsilon$ B,  $\Upsilon$ C,  $\Upsilon$ D,  $\Upsilon$ E,  $\Upsilon$ F ve  $\Upsilon$ G olarak 6 üyeden oluşmaktadır.  $\Upsilon$ -kristallinler, bağlayıcı peptidleri ve terminal uzantıları olmayan yüksek oranda simetrik ve monomerik proteinlerin homojen bir grubudur. Gelişimin erken safhalarında farklı oranlarda regüle edilmektedirler.  $\Upsilon$ A,  $\Upsilon$ B,  $\Upsilon$ C,  $\Upsilon$ D genleri ve  $\Upsilon$ E,  $\Upsilon$ F ve  $\Upsilon$ G psödogenleri (pseudogenes) gen kümesi şeklinde genomik segmentte 2q33-q35 bölgesinde rasgele organize olmuştur. Yaşlanma ya da mutasyonlara bağlı katarakt formasyonu ile ilişkilendirilmektedirler (Yi ve ark., 2011).

YD kristalin genindeki R36S ve R58H mutasyonlarının, protein katlanmasında farklılık oluşturmaksızın yüzeyel karakteristikleri değiştirdiği belirlenmiştir. Mevcut mutasyonların etkisi protein çözünürlüğünün azalması, presipitasyon oluşması ve nihayetinde lenste kristaller oluşarak opaklığın ortaya çıkma mekanizmasıyla açıklanmıştır. Üçüncü bir mutasyon olarak R14C bulunmuştur ve etkisi normal protein katlanmasını değiştirmeksizin tiyol-aracılı agregayona duyarlılığın artması olarak yorumlanmıştır (Reddy ve ark., 2004; Hejtmancik, 2008).

#### **1.5.1.1.4 Beaded Filament Yapısal Proteini 2 (BFSP2)**

Beaded filament yapısal proteini 2 (BFSP2) geni, insan genomunda 3q22.1 bölgesinde konumlanmaktadır. Kodladığı protein lens hücrelerinin çerçevesini ve hücre iskeleti-sitoplazma etkileşimlerinde görev alır. Hücre iskeleti yapılarına ait spesifik tipler olduğu için kalıtsal katarakta uygun adaylar olarak öngörülmektedir. Omurgalı oküler lensleri %99'dan fazla oranda farklılaşmış fiber hücrelerinden oluşur (Yi ve ark., 2011). Bu farklılaşma prosedüründe BFSP2 geninden 2 lense özgü filament proteini (phakinin ve filensin) eksprese edilir. Her iki protein beaded filament olarak adlandırılan hücre iskeleti yapısal elementidir ve  $\alpha$ -kristalinlerle etkileşim halindedir. Gendeki mutasyonlar, çocukluk çağı ve progresif kataraktla ilişkilendirilmektedir. Otozomal dominant kataraktlı 2 ailede yapılan çalışmalar lens opasitelerini BFSP2 genindeki mutasyonlarla ilişkilendirmiştir. Aile üyelerinde çocukluk çağı ilerleyen kataraktı, lamellar katarakt ve konjenital nükleer kataraktlar gözlemiştir (Conley ve ark., 2000). Başka bir aile çalışmasında yeni bir mutasyona bağlı olarak aile birerlerinde doğuştan itibaren kortikal opasiteler gözlemlendiği belirtilmiştir (Reddy ve ark., 2004).

#### **1.5.1.3 Membran Proteinleri**

Lenste damar bulunmaz ve hücrelerin büyük çoğunluğu enerji ihtiyaçlarını karşılamak için glikolizi kullanır. Ancak lens merkezine gerekli besinlerin ve metabolik ürünlerin yüzeye transferinde pasif taşınım yeterli olmaz ve bu yüzden

özelleşmiş transport yapıları işlev görür. Bu bağlamda membran proteini belirli bir hücre ya da organelin membranıyla ilişkili veya tutunmuş formdadır (Reddy ve ark., 2004). Görevlerine göre yapılan sınıflandırmaya göre i) hücre stabilitesini sağlamak üzere hücre iskeletindeki mikrofilamentlere tutunan proteinler, ii) hücrelerin birbirlerini tanıması ve etkileşimini sağlayan hücre adezyon molekülleri, iii) hücre fonksiyonu için gerekli çeşitli bileşenleri üreten membran enzimleri, iv) hücrenin internal ve eksternal çevreleri arasında bağlantı görevindeki membran reseptör proteinleri, v) hücre iyon konsantrasyonunun devamlılığında önemli role sahip transport proteinleri şeklinde sınıflandırılmaktadır (Yi ve ark., 2011). Lenste bulunan belirli transport kanalları arasında majör intrinsik protein (major intrinsic proteins, MIP) kanalları, gap bağlantı kanalları, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pompaları ve glikoz taşıyıcıları vardır. Her bir grup katarakt gelişimi için aday olsa da günümüzde Majör intrinsik protein ve gap bağlantı kanallarına ait proteinler öne çıkmaktadır (Hejtmancik, 2008; Shiels ve ark., 2010).

#### **1.5.1.3.1 Aquaporin Proteinleri**

Aquaporin proteinleri hücre membranına gömülü haldedir ve su akışını kontrol etmektedir. Majör intrinsik proteinler (major intrinsic proteins, MIP) ailesinin üyesidir ve integral membran protein yapısı plazma zarında porlar oluşturur. MIP matür lens yapısında en sık bulunan bağlantı proteindir ve sadece kristalin lensinin ana hücre tipi olan terminal farklılaşmış fiber hücrelerinde eksprese edilir (Reddy ve ark., 2004). Aquaporin proteini, amino ve karboksil uçları membranın sitoplazmik tarafına bakacak şekilde 6 transmembran  $\alpha$  heliksinden meydana gelmektedir. İnsan genomunda 12q13 bölgesinde konumlandırılmıştır. Aquaporinler, su kanalı olarak kullanılmak üzere hücre membranında tetramerler oluşturur. Farklı aquaporinler por büyüklüğünü belirleyen peptid sekanslarında çeşitlilik gösterir. Por büyüklüğünün değişimi geçiş yapan maddeleri doğrudan etkiler. Lens fonksiyonu açısından ekspresyonu önemlidir. Aquaporin 0 geni homozigot inaktive edilmiş farede konjenital katarakt geliştiği gözlenmiştir (Yi ve ark., 2011).

Gen bölgesinde katarakta yol açan mutasyonlar tanımlanmıştır. Farklı 2 aile üzerinde yapılan bir araştırmada ilkinde orta ve periferel lamelleyle sınırlı bilateral progresif benekli lens opasiteli polimorfik katarakt fenotip T138R mutasyonu ile , ikincisinde progresif olmayan lamellar kataraktlı bir fenotip E134G mutasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Her iki mutasyonun su Aquaporin 0 kanalı kritik bölümlerinde amino asit değişimine neden olarak normal transport fonksiyonunu etkilediği ve bu durumun kalıtsal özellikli kataraktlarda gözlenen otozomal dominant kalıtımın dominant negatif mekanizmasıyla uyumlu olduğu öngörülmüştür (Hejtmancik, 2008).

#### **1.5.1.3.2 Lens İntrensik Membran Proteini 2 (LIM2)**

Lens intrinsik membran protein 2 geni, lens fiber hücrelerinin bağlantılarında organizasyonu sağlayan 19 kDa'luk özel bir proteini kodlar. İnsan genomunda 19q13.4 bölgesinde konumlandırılmıştır. Hücresel aracı protein olan kalmodulin için reseptör görevinde olması nedeniyle lens gelişmesi ve kataraktogenesiste belirleyici olduğu öngörülmektedir (Yi ve ark. , 2011). Gendeki bazı mutasyonlar doğrudan kataraktla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca farklı izoformları kodlayan alternatif kesim transkriptlerinin olduğu gözlenmiştir (Hejtmancik, 2008). Pras ve arkadaşlarının (2002) akraba evliliği yapmış bir Iraklı Yahudi ailede yaptıkları incelemede LIM2 geni 105'inci aminoasitinde gözlenen değişimin presenil katarakta neden olduğunu bulmuştur (Pras ve ark. , 2002).

#### **1.5.1.3.3 Gap Bağlantı Proteinleri**

Gap bağlantıları ilk defa, elektron mikroskopisiyle birbirleriyle temas halinde bulunan adherent hücrelerin plazma membranları üzerindeki özelleşmiş bölgesel yapılar olarak tanımlanmıştır. Bu yapıların hücreden hücreye olan kanalları oluşturduğu gösterilmiştir. Gap bağlantı oranı yüksek olan dokulardan yapılan izolasyonlardaki fraksiyonlar konneksin olarak tanımlanan proteinleri ortaya çıkarmıştır. Konneksinler molekül kütlelerine ve sekans benzerliklerine göre

sınıflandırılmaktadır. Nükleotid ve amino asit seviyesindeki benzerliklerine göre  $\alpha$  ve  $\beta$  olarak 2 kategoriye ayrılmaktadır. Örneğin; Connexin 43 (CX43)  $\alpha$ -1 gap bağlantı proteini, Connexin 32 (CX32)  $\beta$ -1 gap bağlantı proteini ve Connexin 26 (CX26)  $\beta$ -2 gap bağlantı proteindir. Bu sınıflandırmaya göre CX32 ve CX26 arasındaki homoloji her ikisi için CX43'ten daha fazladır. CX26 geni 13q11-q12, CX32 geni Xq13.1 ve CX43 geni 20q11 bölgesinde konumludur (Jun Yi ve ark., 2011). Lensteki gap bağlantılarını oluşturmada CX43, CX46 ve CX50'nin ekspresyonları temel rol oynamaktadır. CX46 ve CX50 mutasyonlarına sahip ailelerde gözlenen benzer nükleer pulverulent fenotipi, bu membran transport proteininin düzgün embriyolojiksel gelişimdeki önemini göstermiştir (M. Ashwin Reddy ve ark., 2004). Shiels ve arkadaşları (1998), ilk defa 1q22-23 kromozom bölgesine lokalize CX50 proteini konjenital nükleer pulverulent katarakt bir ailede gözlemiştir (Alan Shiels ve ark., 1998). CX50 gen bölgesinde başka yanlış anlamlı mutasyonlarda farklı ailelerde bulunmuştur (M. Ashwin Reddy ve ark., 2004).

#### **1.5.1.4 Transkripsiyon Faktörleri**

Embriyonik lens gelişme süreci birçok gen ve gen ürününün geçici ve uzamsal koordinasyonu ile yönetilmektedir. Bu aşırı derecede kompleks proste görev alan genler transkripsiyon faktörlerini ve difüze olabilen büyüme faktörlerini içermektedir. Bu genlerde meydana gelecek bir mutasyonun göz hipoplazi sendromlarına yol açması olasıdır (Jun Yi ve ark., 2011). Transkripsiyon faktör genlerinde gelişen mutasyonların anteriyör segment gelişme bozukluklarıyla ilişkisi gösterilmiştir ve bunlar arasında izole kataraktlar için ısı şok transkripsiyon faktör 4 (Heat shock transcription factor 4, HSF4) geni, musculo aponeurotic fibrosarcoma transkripsiyon faktör (MAF) geni, hipofiz homeobox 3 geni (pituitary homeobox gene 3, PITX3) ve paired homeobox 6 (PAX6) genleri tanımlanmıştır (M. Ashwin Reddy ve ark., 2004).



#### 1.5.1.4.1 Isı Şok Transkripsiyon Faktörü 4 (HSF4)

Isı şok transkripsiyon faktörleri, ısı ya da diğer stres koşulları altında büyük ve küçük ısı-şok yanıt genlerinin aktivasyonunda görev almaktadır.  $\alpha$ B-kristallin ve Hsp 27 gibi küçük ısı şok proteinleri ATP-bağımsız ve şaperon aktivitesine sahipken, büyük ısı şok proteinleri ATP-bağımlı, denatüre proteinleri tekrar katlama özellikli ve yeni sentezlenmiş proteinleri yanlış katlanmadan koruma görevindedir (M. Ashwin Reddy ve ark., 2004). İnsan genomunda 16q21 bölgesinde konumlanmaktadır. HSF4, tüm omurgalı ısı şok proteinlerinde gözlenen karboksil ucu hidrofobik tekrarına sahip değildir. Bu yüzden DNA bağlama aktivitesinin negatif regülatörü olarak çalıştığı öngörülmektedir. Farklı izoformları kodlayan 2 alternatif kesimli transkriptte ve transkripsiyonel ativiteye sahip olduğu tanımlanmıştır (Jun Yi ve ark., 2011). Bu ve arkadaşları (2002) lamellar kataraktlı 2 ailede yaptıkları çalışmada HSF4'ün DNA bağlanma domaininde yanlış anlamlı mutasyonlar belirlemiş ve gen bölgesinin lens gelişimindeki rolüne dikkat çekmiştir (Lei Bu ve ark., 2002).

#### 1.5.1.4.2 Musculo Aponeurotic Fibrosarcoma (MAF) Transkripsiyon Faktörü

Musculo aponeurotic fibrosarcoma (MAF), temel bir lösin bağlayıcı transkripsiyon faktörüdür ve homodimer ya da heterodimer olarak işlev görür. Bağlanma bölgesi ve partnerine bağlı olarak transkripsiyonel aktivatör veya respresör görevindedir. İlk defa sıçan embriyoları lens plakodu ve optik vezikül arasındaki temasta saptanmıştır (M. Ashwin Reddy ve ark., 2004). Ek olarak apoptozise duyarlılığı artmış T hücrelerinde ve kondrosit terminal farklılaşmasında belirlenmiştir. Farklı izoformları kodlayan 2 transkript varyantı bulunmuştur. İnsan genomunda 16q22-q23 bölgesinde konumlanmaktadır. MAF, kristallin ve PITX3 genlerinin promotor bölgelerinde bulunan yanıt elementlerine (MARE) bağlanır (Jun Yi ve ark., 2011). Jamieson ve arkadaşları (2002) pulverulent kataraktlı aile bireyleri üzerinde yaptıkları incelemede MAF geni 16q23 lokasyonunda otozomal dominant kalıtmıli konjenital formda mutasyon tespit etmiştir. Ayrıca aynı bireylerden 2'sinde mikrokornea ve iris koloboma gözlenmesi

göz anterior segment gelişiminde MAF geninin olası rolüne işaret etmiştir (Robyn V. Jamieson ve ark., 2002).

#### **1.5.1.4.3 Hipofiz Homeobox 3 (PITX3) Transkripsiyon Faktörü**

Hipofiz homeobox 3 geni (pituitary homeobox gene 3, PITX3), paired benzeri homeodomain (paired-like class of homeodomain) faktörleri sınıfının bir üyesidir ve ekspresyonu ilk defa gelişmekte olan fare lenslerinde gösterilmiştir. İnsan genomunda 10q24-25 bölgesinde konumlandırılır. Gen bölgesindeki mutasyonlar anterior segment mezenkimal disgenezis ve konjenital kataraktla ilişkilendirilmiştir (M. Ashwin Reddy ve ark., 2004). Semina ve arkadaşları (1998) tüm bireyleri kataraktlı bir ailede yaptıkları çalışmada PITX3 geninde otozomal dominant kalıtmı G41A transversiyonunu saptamıştır. Mutasyonun korunmuş gen bölgesinde geliştiğini ve doğrudan bu ailede gözlenen kataraktla ilişkili olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde aynı gen bölgesinde hem katarakt hem de anterior segment disgenezi ile ilişkili başka bir mutasyon daha bildirmiştir (Semina ve ark., 1998).

#### **1.5.1.4.4 Paired Box 6 (PAX6) Transkripsiyon Faktörü**

Paired box 6 (PAX6) geni, Drosophila'dan insana türler arasında korunmuş bir homeobox domaini içerir. Kodlanan protein DNA'ya bağlanır ve gen transkripsiyonunu düzenler. İnsan genomunda 11p13 bölgesinde konumlandırılır. Aynı ya da benzer izoformları kodlayan alternatif kesimli transkript varyantları saptanmıştır. Gelişmekte olan embriyonik sinir sistemlerinde ve göz yapısında gen ekspresyonunu gösterilmiştir (Jun Yi ve ark., 2011). Gende oluşan mutasyonların arinidi ve Peter anomalisi gibi oküler bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Cai ve arkadaşları (2010) bazı bireyleri arinidili ailede yaptıkları incelemede PAX6 gen ürününün bağlanmasını ve transkripsiyonel aktivasyonunu engelleyen mutasyon saptamıştır. Ayrıca bu mutasyonun etkilenmiş bireylerde konjenital katarakta katkı sağladığını belirtmişlerdir (Fucheng Cai ve ark., 2010).

### 1.5.2 Yaşa Bağlı Katarakt

Yaşa bağlı katarakt genellikle 40'lı yaşlardan sonra ortaya çıkar ve slit-lamp biyomikroskopisine göre nükleer, kortikal ve posteriyor subkapsüler olarak 3 kliniksel tip altında incelenir. Her biri tekli ya da kombine formda gözlenebilir ve lensin tamamında opasifikasyon oluşturabilir (Alan Shiels T. M., 2010). Yaşa bağlı kataraktın patogenezinde genetik faktörlerin epidemiyolojiksel katkısı giderek önem kazanmaktadır. 1991 yılında nükleer ve kortikal kataraktlardan oluşan örneklerde gerçekleştirilen Lens Opasitesi Vaka Kontrol çalışmasında (Lens Opacity Case Control Study) pozitif aile öyküsünün risk faktörü olduğu gösterilmiştir (Leske MC ve ark., 1991). Kortikal, nükleer ve posteriyor subkapsüler kataraktlarda yapılan yakın tarihli diğer bir araştırmada destekleyici sonuçlar elde edilmiştir. Aile bireylerinin incelendiği Framingham Aile Göz çalışmasında (Framingham Offspring Eye Study) kataraktlı kardeşi olan kişilerin riskinin 3 kat arttığını belirlenmiştir (J. Fielding Hejtmancik and Marc Kantorow, 2004). Beaver Dam Göz çalışmasında ise nükleer sklerotik kataraktlar kardeş korelasyonları ve segregasyon analizleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçta, mendeliyan kalıtım özelliğindeki bir genin kortikal kataraktlarda %58, cinsiyetlere göre bayanlarda %45, erkeklerde %75 oranında belirleyici olabileceği saptanmıştır (İbrahim M. Heiba ve ark., 1995). Kataraktlı kardeş ve ikizler üzerinde yapılan genetik epidemiyolojiksel incelemeler genetik risk faktörlerinin nükleer katarakt kalıtımı için % 14-48, kortikal katarakt kalıtımı için % 24-75 olduğunu göstermiştir (Alan Shiels T. M., 2010). İkizler üzerinde yapılan bir çalışmada yaşa bağlı kortikal kataraktın gelişiminde kalıtsal faktörlerin %53-58 oranında, nükleer kataraktın gelişiminde %48 oranında risk oluşturduğu belirlenmiştir (Hammond ve ark., 2001).

Fenotipik açıdan yaşa bağlı katarakt mendeliyal formlara göre daha az çeşitlidir ancak genetik kompleksliği henüz çözülmemiştir. Kalıtsal bazı kataraktların geç yaşta ortaya çıkması ya da yaşam boyunca artan opasiteyle gözlenmesi mümkündür. Bu bağlamda BFSP2 , SLC16A12 , TMEM114 , MAF, aquaporin-0 (MIP),  $\gamma$ C-crystallin, and the CAAR genlerindeki mutasyonlar hem konjenital hem de yetişkinlik dönemi kataraktlarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu genlerdeki mutasyon,

protein yapısını bozar veya fonksiyonunu önemli ölçüde inhibe ederse yüksek penetranslı mendeliyan kalıtmı konjenital katarakt oluştuğu, daha az zarar veren veya fonksiyonu telafi edilebilir ölçüde bozan mutasyonlar ise yaşa bağlı ya da progresif katarakta neden olduğu gözlenmiştir (Hejtmancik ve Kantorow, 2004). Bu veriler sayesinde mendeliyan katarakt formlarını oluşturan genlerin yaşa bağlı katarakta genetik belirleyiciler olabileceği öngörölmüş ve ilişkili 8 gen daha belirlenmiştir. Bunlar EPHA2 (1p), GJA8 (1q), GALT (9p), SLC16A12 (10q), HSF4 (16q), GALK1 (17q), FTL (19q), ve CRYAA (21q) genleridir. Diğer taraftan konjenital katarakta hiç ilişkilendirilmemiş gen adayları yaşa bağlı katarakta ortaya çıkmıştır. Bunlar arasında; antioksidan metabolizmasında (GSTM1, 1p; GSTT1, 22q), ksenobiyotik detoksifikasyonunda (NAT2, 8p), DNA onarımında (ERCC2, 19q), folat metabolizmasında (MTHFR, 1p), laktoz metabolizmasında (LCT, 2q), RNA demetilasyonunda (FTO, 16q), lipid/kolestrol transportunda (APOE4, 19q) ve kinezin/mikrotüböl motor transportunda (KLC1, 14q) görev alan genler bulunmaktadır (Shiels, 2010). İlginç bir şekilde miyotonik distrofi hastalarda yetişkinlik dönemi kataraktı ile ilişkilendirilen üçlü CTG tekrarları artışı genel popölasyonda ilişkili bulunmamıştır (Winchester ve ark., 1999).

### **1.5.2.1 Bağlantı (Linkage) Analizi Çalışmaları**

Yaşa bağlı katarakta bağlantı analizi çalışmalarının temel zorluğu, incelemelerde çok sayıda geni içeren birçok kromozom bölgesinin gösterilmesi ve bunların etki derecelerindeki çeşitlilik (Shiels, 2007). Doğru genlerinin tanımlanması azalmış penetransları, multifaktöriyel orjinleri ve etkilerinin ortaya çıkışındaki gecikme nedeniyle konjenital katarakt genlerine göre daha zor olmaktadır (Shiels, 2013). Literatürde genom ölçekli tek çalışmada Iyengar ve arkadaşları (2004) Kafkas ırkındaki yaşa bağlı kortikal kataraktlar için majör ve minör yatkınlık genlerinin tespiti amaçlamıştır. Araştırmada Beaver Dam göz çalışması veri bankasından 102 aile ve 224 kardeşi içeren örnekte modelsiz bağlantı analizi kullanılarak genom ölçekli bağlantı analizi gerçekteşirmiştir (Iyengar ve ark., 2004). İlk aşama sonuçlarında 1p35 bölgesinde marker D1S1622 ve 6q12 bölgesinde marker D6S1053

için bağlantı gözlenmiştir. Bunlara ek olarak 1q31, 2p24, 2q11, 4q28 ve 15q13 bölgeleri içinde bağlantı gözlemiştir. İstatiksel olarak en önemli lokasyonlar 6p12-q12, 1p, 1q31 ve 2q33 kromozom bölgelerinde bulunmuştur. 6p12-6q12 bölge aralığı sentromeride kapsamaktadır ve pozisyonel olarak kataraktla ilişkilendirilebilecek 260'tan fazla gen içermektedir. İlginç bir şekilde bu lokus tip 2 diyabetle ilişkili diyabetik retinopatiye yatkınlık lokusuna yakındır ve tip 2 diyabet yaşa bağlı kortikal kataraktın bilinen bir risk faktörüdür. Diğer lokus ise EPHA2 genine yakın konumdaki 1p aralığı yaklaşık olarak 400 pozisyonel aday gene sahiptir ve muhtemelen Volkman kataraktı, posteriyor polar katarakt ve total katarakt için gen bölgeleri barındırmaktadır. 1q31 ve 2q33 bölgeleri ise sırasıyla konneksin 50 ve  $\gamma$ -kristalin gen kümelerine yakındır. Nitekim bu genler güçlü bir şekilde otozomal dominant konjenital kataraktlarla ilişkilidir ve yaşa bağlı katarakta da katkı sağlamaları olasıdır (Iyengar ve ark. , 2004; Shiels ve Hejtmancik, 2007).

### 1.5.2.2 İlişki (Association) Analizi Çalışmaları

Galaktozemik kataraktlar, mutasyon ve katarakt derecesi arasındaki ilişkiyi iyi açıklayan örneklerdir. Bu mutasyonların geni önemli ölçüde etkileyenleri yaşamın erken döneminde gözlenen kataraktlara neden olurken, daha hafif etkili mutasyonlar yaşa bağlı katarakt gelişmesinde katkı sağlamaktadır. Galaktokinaz (GALK1), galaktoz-1-fosfat üridil transferaz ve üridin difosfat 1-4 epimeraz enzimlerinden herhangi birinin eksikliği, lenste Galaktitol (dulcitol) birikimi ve devamında ozmotik şişmeye yol açarak otozomal resesif kalıtmı kataraktlara neden olur (Shiels, 2007). Galaktokinazın 'Osaka' varyantı (A198V) Japon yetişkinlerdeki bilateral katarakt artışıyla ilişkilendirilmiştir. Tüm Japon popülasyonunda 'Osaka' varyant oranı %4.1 iken, kataraktlı Japon bireylerde bu oran %7.1'dir. Aynı varyant, kore ve çin popülasyonlarında daha düşük değerlere sahiptir ve Kuzey İtalya'daki beyaz ırklarda gözlenmemektedir (Maraini ve ark. , 2003). Benzer şekilde, GALK1'in ve galaktoz-1-fosfat üridil transferaz'ın heterozigot eksikliği yaşa bağlı kataraktın artmış riskiyle ilişkilendirilmiştir. GALK1 mutasyon sonuçları hiperglisemiyanın yaşa bağlı katarakt üzerinde bilinen etkileriyle uyumludur. Bu etki muhtemelen, çoklu hidroksil

grupları içeren polyol birikimden kaynaklanan oksidatif bileşen ya da ozmotik hasara bağlıdır (Shiels, 2013).

Yaşa bağlı katarakta önemli bulgular elde edilen ikinci bir aday gen parametrik olmayan bağlantı analiziyle 1.kromozomda tanımlanmıştır. Bu kromozom bölgesi, kalıtsal çocukluk çağı kataraktlarıyla ilişkili Eph-receptor type-A2 (EPHA2) genini kodlamaktadır. Gen ürünü ephrin hücre sinyal yolağında görevlidir. Aynı zamanda bu EPHA2 gen bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmleri (Single-nucleotide polymorphism, SNP) yaşa bağlı kataraktla da ilişkilendirilmiştir (Shiels, 2008; He, 2013). GALK1 ve EPHA2 genlerine ek olarak, başka genlerde yaşa bağlı kataraktla ilişkilendirilmiştir. Bunlardan GSTM1 ve GSTT1 lokusları tutarsız sonuçlar vermiştir. Gençlik dönemi kortikal ve nükleer kataraktlarında ilişkili gözlenen monokarboksilat taşıyıcısı SLC16A12 geni yaşa bağlı kataraktla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca DNA tamir genlerinden WRN , XPD ve XRCC1, HSF4 ve kinezin hafif zincir 1 geni ilişkili bulunmuştur (Shiels, 2013).

### 1.5.3 Katarakt Epigenetiği

Epigenetik mekanizmalar gen ekspresyonunu ve fonksiyonunu DNA baz sekansını değiştirmeksizin etkilemektedir. Geri dönüştürülmesi, kalıtsal özellik göstermesi ve çevresel koşullarla belirlenmesi muhtemeldir. Bu mekanizmalar arasında DNA metilasyonu, post-translasyonel histon modifikasyonları, kromatin yeniden modellenmesi ve kodlanmayan RNA'ların kullanımı bulunmaktadır. Günümüzde kardiyovasküler, nörodejeneratif ve metabolik birçok hastalığın patogenezinde epigenetik mekanizmalar saptanmıştır (He, 2013). Kataraktın epigenetik değerlendirmesi açısından yaşa bağlı kataraktın gelişmesinde  $\alpha$ A-kristalin gen lokusunun epigenetik düzenlemedeki rolünü incelemek amacıyla insan lens epitelyal hücrelerinde DNA metilasyon profillemesi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre katarakt gelişme evresinde  $\alpha$ A-kristalin transkript ve protein seviyelerinin azaldığı ve genin promotor bölgesindeki CpG adasının hiper metile olduğu gözlenmiştir (Liu ve ark. , 2013). Gelecekte  $\alpha$ A-kristalin genini hedef alan bi DNA metilasyon terapisinin opasifikasyon derecesini değiştirerek tedavide kullanılması

öngörülmektedir (Li ve ark. , 2016). Diğer bir çalışmada Chien ve arkadaşları (2013) yaşa bağlı katarakt hastalarının lens senesensinde lens opasitesi, yaş ve miR-34a ekspresyon korelasyonunu değerlendirmiştir. Elde edilen sonuçlara göre nükleer, kortikal ve posteriyor subkapsüler kataraktlarda lens opasite derecesi ve yüksek miR-34a seviyesi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Chien ve ark. , 2013). Gao ve arkadaşları (2015) katarakt gelişmesinde nükleer akyuvar 2 ilişkili faktör 2 (Nrf2) / kelch-benzeri ECH-ilişkili protein 1 aracılı antioksidan sistemin etkisini incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre yaşa bağlı olarak protein miktarının ve Nrf2 gen ekspresyon seviyesinin azaldığı, Nrf2 regülatörü olan Keap1 ekspresyonunun ise arttığı saptanmıştır. Bu sonuçlara göre kataraktlı lenslerde yapılan gene özgü DNA metilasyon çalışmasında benzer şekilde yaşa bağlı olarak Keap1 promotorunda demetile DNA oranında artış gözlenmiştir. Sonuçta, Keap1 gen ürününün Nrf2'nin proteozomal degradasyonuna yol açtığı ve antioksidan sistemi bozarak katarakta yol açtığı belirlenmiştir (Gao ve ark. , 2015).

**Tablo 1.2:** Haritalanmış sendromik olmayan mendeliyan katarakt genleri (A Shiels, 2013) (B. Wissinger, 2003).

| Kromozom Bölgesi | Gen Adı | Kalıtım Tipi | Katarakt Fenotipi                                    | İlişkili Fenotip   |
|------------------|---------|--------------|--|--|
| 1p36             | CCV     | AD           | Progresif lamellar                                   |  |
| 1p36.1           | EPHA2   | AD           | Posteriyor polar, posteriyor subkapsüler katarakt    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Yaşa bağlı kataraktla ilişkilidir.</li> <li>• CTPP1 genini de içermesi olasıdır.</li> </ul> |
| 1p32             | FOXE3   | AD           | Anteriyor polar?                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anteriyor segment oküler disgenezi</li> </ul>   |
| 1q21.1           | GJA8    | AD           | Nükleer, zonular pulverulent, posteriyor subkapsüler | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mikrokornea</li> <li>• Hafif miyopi</li> </ul>  |

|              |                  |    |   | katarakt |  |
|--------------|------------------|----|---|----------|--|
| 1q25-q31     |                  | AD | Nükleer   |          | • nistagmus  |
| 2p24-pter    |                  | AD | mercansı form   |          |  |
| 2p12         | CCNP             | AD | Nükleer   |          |  |
| 2q33-q35     | CRYGC            | AD | Çeşitli zonular<br>pulverulent  |          |  |
| 2q33-q35     | CRYGD            | AD | Nükleer,<br>benekli, Nükleer<br>mercansı form,<br>lamellar,<br>serulan, |          | • Aşırı miyopi   |
| 3p21.3-p22.3 | FYCO1<br>(CATC2) | AR | ?   |          |  |
| 3q22.3-q25.2 | ADCCC            | AD | Konjenital<br>koroner   |          |  |
| 3q21-q22     | BFSP2            | AD | Nükleer, sütural,<br>yıldızlı, lamellar                                 |          | • Bazılarında<br>miyopi  |
| 3q25-qter    | CRYGS            | AD | Kortikal<br>progresif,<br>lamellar, sutural                             |          |  |
| 6p24         | GCNT2            | AR | ?   |          | • Yetişkin “i”<br>kan grubu  |
| 7q34         | AGK              | AR | ?   |          | • Bazıları<br>Senger<br>sendromlu  |
| 8q13.3       | EYA1             | AD | Nükleer - tipli   |          | • Merkezi<br>korneal<br>opasite,<br>Peters’<br>anomalisi,<br>branchio-oto-<br>renal<br>sendromlu |
| 9q13-q22     | CAAR             | AR | Yetişkinlik   |          |  |



|               |              |     |  |   |
|---------------|--------------|-----|--|---|
|               |              |     | dönemi kortikal<br>pulverulent,<br>progresif<br>Nükleer ve<br>posterior<br>subkapsüler<br>katarakt |   |
| 9q22.33       | TDRD7        | AR  | ?  |   |
| 10p13         | VIM          | AD  | Pulverulent  |   |
| 10q23.31      | SLC16A1<br>2 | AD  | Gençli dönemi<br>kortikal ve<br>Nükleer  | • Yaşa bağlı<br>kataraktla da<br>ilişkilidir.                     |
| 10q25         | PITX3        | AD  | Posterior polar  | • ASMD  |
| 11p13         | PAX6         | AD? | Lamellar<br>anteriyor<br>kapsüler,<br>posterior<br>subkapsüler<br>katarakt                         | • Korneal<br>distrofi, birçok<br>hastanın<br>aniridi'si<br>vardır |
| 11q22.1-q23.2 | CRYAB        | AD  | 'Belirgin',<br>posterior polar,<br>lamellar,<br>Nükleer  | • Miyopati  |
| 12q13         | AQP0         | AD  | Lamellar<br>Sutural,<br>polimorfik,<br>Nükleer, benekli  |   |
| 12q24         | CCA5         | AD  | Serulan  |   |
| 13q11- q12    | GJA3         | AD  | Çeşitli zonüler<br>pulverulent,<br>Nükleer,<br>kortikal ve<br>benekli                              |   |
| 14q22-q23     | CTPP5        | AD  | Posterior polar  |   |

|             |               |    |   |   |
|-------------|---------------|----|---|---|
| 14q24.3     | VSX2          | AR | ?   | • Mikroftalmi,<br>iris kolobom,<br>yerdeğiştirmiş<br>lens |
| 15q21-q22   | CCSSO         | AD | Merkezi<br>sakküler sütural   |   |
| 16p13,2     | TMEM11<br>4   | AD | ?   |   |
| 16q22.12    | HSF4          | AD | Lamellar,<br>Nükleer, sütural,<br>kortikal<br>uzantılar   |   |
| 16q22-q23   | MAF           | AD | Kortikal<br>pulverulent,<br>sütural,<br>progresif<br>posteriyor<br>subkapsüler<br>katarakt,<br>posteriyor polar | • Peters'<br>anomalisi,<br>mikrokornea,<br>iris kolobom   |
| 17p13-p12   | CTAA2         | AD | Anteriyor polar   |   |
| 17q11.2-q12 | CRYBA3/<br>A1 | AD | Nükleer zonular,<br>sütural, kortikal,<br>lamellar  |   |
| 17q24       | GALK1         | AR | Yaş bağı<br>katarakt  | • Yaş bağı<br>katarakt<br>(Asyalı<br>kişilerde)           |
| 17q24       | CCA1          | AD | Serulan   |   |
| 19q13       | CATCN1        | AR | Nükleer   |   |
| 19q13.4     | FTL           | AD | Nükleer,<br>kortikal  | • Hiper<br>ferritinemi -<br>katarakt<br>sendromu          |
| 19q13.4     | LIM2          | AR | Pulverulent<br>kortikal, sutural,   | • Presenil bir<br>ailede.                                 |

|               |  |    |   | Nükleer,<br>lamellar |                                     |
|---------------|--|----|---|----------------------|-------------------------------------|
| 20p11.23      | BFSP1  | AR | Nükleer zonular   |                      |                                     |
| 20p12-q12     | CHMP4B                                       | AD | Posterior polar,<br>posterior<br>subkapsüler<br>katarakt  |                      |                                     |
| 21q22.3       | CRYAA  | AR | ?   |                      |                                     |
| 22q11.2       | CRYBB1                                       | AD | Merkezi sütural<br>pulverulent                            |                      |                                     |
|               |  | AD | Nükleer kortikal  |                      | • Mikrokornea                       |
|               |  |    | Serulan, zonular<br>pulverulent,                          |                      |                                     |
|               | CRYBB2                                       | AD | sütural,<br>progresif,<br>Nükleer                         |                      |                                     |
|               |  | AD | Merkezi zonular<br>pulverulent                            |                      |                                     |
|               | CRYBB3                                       | AR | Nükleer kortikal  |                      |                                     |
|               | CRYBA4                                       | AD | Konjenital<br>lamellar                                    |                      | • Mikroftalmi                       |
| Xp22          | CXN<br>(NHS?)                                | XL | Fan-biçimli<br>Nükleer                                    |                      | • Kardiak<br>anomalileri            |
| Xq24          | X-bağımlı<br>konjenital                      | XL | Sütural bileşenli<br>nükleer lamellar<br>ve beyaz benekli |                      | • Dental ve<br>damak<br>anomalileri |
| 1p34-p36      | CTPP   | AD | Posterior polar   |                      |                                     |
| 10q23.3-q24.2 | SPG9<br>(Kataraktlı<br>spastik<br>parapleji) |    | Bilateral zonular<br>kataraktlar                          |                      |                                     |

|           |                 |    |  |
|-----------|-----------------|----|--|
| 15q21–q22 | CCPSO           | AD | Sütural opasiteli<br>merkezi<br>kese-benzeri   |
| 16q22     | CAM<br>(Marner) | AD | Değişken<br>(progresif<br>merkezi ve<br>zonüler Nükleer,<br>anteriyor polar<br>ya da yıldızlı) |
| 20p12–q12 | CPP3            | AD | progresif,<br>disk- biçimli<br>posterior<br>subkapsüler<br>opasite                             |

- Anterior segment mezenkimal disgenezi (ASMD),
- otozomal dominant (OD),
- otozomal resesif (OR),
- X-bağımlı (XL).

### 1.6 Çalışmanın Amacı

SIRT1 kanser gelişimi, programlanmış hücre ölümü, gen ifadenmesinin düzenlenmesi, DNA onarımı ve yaşlanma mekanizmasında önemli rolü bulunmaktadır. SIRT1 strese cevaben enerji homeostazisini kontrol eder. Bunun başarılamadığı durumlarda genomik kararsızlıktan kaçınmak için hücreler yaşlanmayı teşvik eder. Bu durum gösterir ki, SIRT1 hem epigenetik hem de epigenetik olmayan mekanizmaların regülasyonu aracılığıyla hücreler homeostazinin sürdürülebilmesinde önemli role sahiptir. SIRT1'in yaşa bağlı çeşitli hastalıklarla ve oküler hastalıklarla ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Mimura ve ark., 2013). Sirtuinler yaşlanma karşıtı moleküllerdir ve bazı yaşa bağlı göz hastalıklarının engellenmesinde önemli roller vardır. SIRT1'in oküler kök hücrelerin kendini yenileme ve yaşlanma sürecinde önemli rol oynayabildiği belirtilmiştir. Yaşlanma ile ilişkili göz hastalıklarını, özellikle kataraktı önleme amaçlı terapötik stratejilerin geliştirilmesi

için çekici bir adaydır. Hem yaşlanmayla hem de gözle ilgili hastalıklarla ilişkisi ve de SIRT1 proteinlerinin gözün çeşitli dokularında özellikle lens epitelinde yaygın olarak bulunması SIRT1'i üzerinde çalışma yapmamız için uygun bir aday olarak belirlememizi sağladı.

Bu tez çalışmasının amacı, SIRT1 geninin ekspresyon seviyelerindeki değişimleri kataraktlı hastalar ve sağlıklı bireyler üzerinde incelemek ve elde edilen verileri literatür ışığında değerlendirmektir. Hasta grubunda ileri yaş katarakt hastalarının anterior kapsül ve periferik kan örnekleri, kontrol grubunda ise HLE B3 insan lens epitel hücre hattı ve sağlıklı bireylerin periferik kan örnekleri kullanıldı.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamıza dahil edilen çalışma ve kontrol gruplarının tüm inceleme ve değerlendirmeleri Afyon Kocatepe Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 04.11.2016 tarih ve 2016/3-48 numaralı onayıyla; Afyon Kocatepe Tıbbi Genetik ve Göz Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından yapıldı.

Afyon Kocatepe Üniversitesi Göz Hastalıkları polikliniğine Eylül 2016 - Ocak 2018 tarihleri arasında başvuran anamnez ve fizik muayenesi ile katarakt tanısı konulan hastalar çalışmaya dahil edildi. (Ek 1; Bilgilendirilmiş onam formu).

Olgu seçimlerimizde;

- Yaşa bağlı katarakt tanısı almış olmak,
- Katarakt nedeniyle az görüyor olmak,
- 40 yaş ve üzerinde olmak,
- 90 yaşından küçük olmak kriterleri arandı.

Çalışmada dışlama kriterlerimiz ise:

- Daha önce intraokuler cerrahi geçiren hastalar
- Oküler inflamasyonu olan hastalar
- Oküler travma geçiren hastalar
- Sistemik veya topikal steroid kullanan hastalar
- Konjenital katarakt toksik katarakt yapma potansiyeli olan ilaç kullanımı (fenotiazinler, kolinerjikler, kanser ilaçları, fotosensitif ilaçlar, diüretikler, trankilizanlar, gut mediatörleri)
- Göz üzerine radyoterapi alan hastalar
- Diyabet hastası olan bireyler dahil edilmedi.

Çalışma kapsamında yaşa bağlı katarakt tanısı almış ve cerrahi yaklaşım ile tedavi edilmiş 100 olgudan; fakoemülsifikasyon işlemi sırasında herhangi bir ek müdahale gerekmeden ve/veya herhangi bir ek medikal ajan uygulanmadan rutin katarakt ameliyatı sırasında çıkartılıp atılan ön kapsül materyali besi ortamı içine alındı. Aynı olgulardan rutin tetkikleri sırasında 2 cc periferik kan örneği de alındı.

Çalışma grubuna 100 kontrol bireyi, vaka grubu ile benzer demografik özelliklerde ve katarakt şikayeti ve dışlama kriterleri bulunmayan gönüllülerden iki adet EDTA'lı tüpe 2 cc periferik kan alınarak oluşturuldu..

## 2.1. Kullanılan Cihazlar

- Karbondioksitli etüv (Binder)
- Laminar flow (Metis)
- PCR cihazı (SenQuest)
- Inverted mikroskop (Leica)
- RotorGene Real Time PCR cihazı (Qiagen)
- Homojenizatör (Sonics)
- Nanodrop (Thermo Scientific)
- Kuru ısıtıcı blok (Stuart)
- Soğutmalı santrifüj (Thermo Scientific)
- Spin vorteks (Biosan)
- Vorteks (Biosan)
- Mikropipetler; 10µl, 100µl, 1000µl (Thermo)
- Derin dondurucu -20°C (Arçelik)
- Derin dondurucu -80°C (Thermo Scientific)
- +4°C soğutucu (Arçelik)
- Vakum cihazı (Integra)
- RotorGene (Qiagen)

## 2.2. Kullanılan Kimyasallar

- Besiyeri EMEM (Multicell)
- Fetal Bovine Serum (Thermo)
- Penisilin/Streptomisin antibiyotik (Thermo)
- L-Glutamin (Thermo)
- Tripsin-EDTA (Thermo)
- Primerler (*GAPDH*, *SIRT1*) (Qiagen)
- Tripure Isolation Reagent (Roche)
- SyberGreen master mix (Qiagen)
- cDNA Sentez Kiti (Qiagen)

## 2.3. Yöntemler

### 2.3.1. Hücre Kültürü ve Primer Kültür

Bu çalışmadaki, HLE B3 insan normal göz lens epitel hücre hatlarımız, ATCC'den temin edilmiştir. B3 hücreleri, %10 FBS içeren EMEM besiyerinde %95 nem ve %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C ayarlı etüv içerisinde kültüre edildi.

Anterior kanpsül örneklerinden elde edilen RNA miktarını arttırmak amaçlı primer kültür yapıldı. Primer kültür için, cerrahi operasyon ile alınan anterior kanpsül örnekleri 12 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına yerleştirildikten sonra 30 dk tutunması bekletildikten sonra örneklerin üzerine %10 FBS içeren EMEM besiyeri ilave edildi ve %95 nem ve %5 CO<sub>2</sub>'li ortamda 37°C ayarlı etüv içerisinde kültüre edildi.



### 2.3.2. RNA İzolasyonu

Katarakt anterior kapsül ve periferal kan örneklerinden RNA eldesi Roche Tripure Reagent (Sigma, Almanya; Kat. No: 11667157001) kullanılarak üretici firmanın önerdiği ve aşağıdaki açıklanan protokol doğrultusunda gerçekleştirildi.

#### 1. Dokunun hazırlanması aşaması

1. Anterior kalsül örnekleri buz üzerinde 1.5 ml'lik polipropilen santrifüj tüplerine aktarıldı.
2. Doku örneklerinin üzerine 1 ml TriPure Isolation Reagent ilave edildi ve homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Homojenizasyon sonrasında " Faz ayrımı aşaması"ndan devam edildi.

#### 2. Kan örneklerinin hazırlanması

- A. Steril 15'lik falkon tüplere kan örneğinin hacmine eşit miktarda Ficoll konduktan sonra üzerine EDTA'lı tüplerdeki perferik kan örnekleri ilave edildi.
- B. Ficoll ve kan örnekleri (1:1) +4<sup>0</sup>C'de 3500 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında orta kısımda şeffaf görünen ve beyaz kan hücrelerinin bulunduğu fazın tamamı steril 1.5 mL'lik ependorf tüplere dikkatlice aktarıldı ve üzerine 1 ml TriPure Reagent ilave edildi ve vorteks yapıldı, sonrasında " Faz ayrımı aşaması"ndan devam edildi.

#### C. Hücre kültürü örneklerinin hazırlanması

1. HLE Be hücrelerinin besiyeri uzaklaştırıldı.
2. Hücrelerinin üzerine 1 ml TriPure Isolation Reagent ilave edildikten sonra pipet yardımıyla homojenize edildikten sonra steril 1.5 ml'lik ependorf tüplere aktarıldı, sonrasında " Faz ayrımı aşaması"ndan devam edildi.

#### D. Faz ayrımı aşaması

1. Nükleoprotein kompleksinin ayırımından emin olmak için tüpler oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi.
2. Örnekler üzerine her bir 1 ml TriPure Isolation Reagent için 200 µl kloroform eklendikten sonra tüpler 15 saniye kuvvetlice vorteks yapıldı.
3. Tüpler oda ısısında 10 dakika inkübe edildi ve faz ayrımı için +4°C'de 12,000Xg'de 15 dakika santrifüj edildi.
4. Santrifüjden sonra üç ayrı faza ayrılan solüsyondan RNA örneği içeren üstteki renksiz sıvı faz 1.5ml'lik RNase free steril tüplere aktarıldı.

#### *E. RNA izolasyonu*

1. Örnekler üzerine her bir 1 ml TriPure Isolation Reagent için 500 µl izopropanol eklendi.
2. Tüplerin sıkıca kapatılıp ve ters çevrilerek birkaç defa iyice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi.
3. Tüpler +4°C'de 12,000Xg'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı.
4. Örnekler üzerine 1 ml %75'lik etanol eklendi ve tüpler +4°C'de 7,500Xg'de 5 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra RNA peleti vakum aleti kullanılarak kurutuldu.
6. RNA peleti 50 µl DEPC-treated H<sub>2</sub>O ile 60°C'de 15 dakika inkübe edilerek çözüldü.
7. Elde edilen RNA'ların miktarları ve saflığı NanoDrop ND-1000 Spektrofotometre" cihazında ölçülerek RT-PCR'da kullanılana kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

#### **2.3.3 cDNA Sentezi**

Elde edilen 1 mg total RNA'lar, RT<sup>2</sup> HT First Strand cDNA sentez kiti (Qiagen, Almanya; Kat. No: 330411) ile kullanılarak cDNA'ya çevrildi. Reaksiyon sonucu

cDNA örnekleri üzerine 91µl steril H<sub>2</sub>O-PCR grade (Qiagen, Almanya Kat No:1039498) eklendi ve Real-Time PCR'da kullanılmaya kadar -20°C'lik derin dondurucuda saklandı.

### 2.3.4 Genlerin İfade Edilmesinin Real-Time PCR ile Ölçümü

*SIRT1* geninin mRNA miktarları, Real-Time PCR yöntemi ile RotorGeneQ cihazı kullanılarak yapıldı. Amplifikasyonlar 25 µL toplam tepkime hacmi içerisinde ; cDNA, bölgeye özgü primerler (Tablo 2.1) ve RT<sup>2</sup> SYBR Green Mastermix karışımı (Qiagen, Almanya; Kat. No:330500) ve steril H<sub>2</sub>O-PCR grade kullanılarak gerçekleştirildi (Tablo 2.2). *SIRT1* geninin ifadenmesini normalize etmek için *GAPDH* mRNA düzeyi referans olarak alındı.

**Tablo 2.1.** Hedef genlere ait RefSeq ve RT<sup>2</sup> qPCR primer assay katalog numaraları

| Gen Adı      | RefSeq(mRNA) | RT <sup>2</sup> qPCR primer assay Kat. No. | Band Uzunluğu | Referans Pozisyonu* |
|--------------|--------------|--|---------------|---------------------|
| <i>SIRT1</i> | NM_001142498 | PPH02188A                                  | 111           | 1568                |
| <i>GAPDH</i> | NM_031512.2  | PPR06480B                                  | 77            | 820                 |

\* RefSeq sekansındaki ampikon pozisyonu.

**Tablo 2.2.** *SIRT1* ve *GAPDH* Real-Time PCR tepkime karışımı:

|   | Hacim   |
|---|---------|
| RT <sup>2</sup> SYBR Green Mastermix          | 12,5 µl |
| cDNA  | 5 µl    |
| RT <sup>2</sup> qPCR Primer Assay (10µM stok) | 1 µl    |
| H <sub>2</sub> O                              | 6,5 µl  |
| Total Hacim                                   | 25 µl   |

Real-Time PCR karışımları hazırlandıktan sonra 0.2 ml'lık çok PCR tüplerine dağıtıldı ve üzerine cDNA' lar eklendi ve cihaza yerleştirildikten sonra Tablo 2.3'de belirtilen amplifikasyon programı kullanılarak PCR tepkimesi gerçekleştirildi. *SIRT1* ve *GAPDH* genleri için aynı program kullanıldı.

Reaksiyon sonucunda, *SIRT1* ve *GAPDH* genlerin mRNA düzeylerini gösteren Crossing point (Cp) değerleri belirlendi. *SIRT1* geninin ifade düzeyi *GAPDH* ifade düzeyine göre normalize edildi.

**Tablo 2.3.** *SIRT1* ve *GAPDH* genlerinin ifade düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan Real Time PCR tepkime programı.

| Döngü           | Zaman     | Sıcaklık        |
|-----------------|-----------|-----------------|
| 1               | 10 dakika | 95 <sup>0</sup> |
| 40              | 15 saniye | 95 <sup>0</sup> |
|                 | 1 dakika  | 60 <sup>0</sup> |
| + Melting Curve |           |                 |

Göreceli gen ifadesi sonuçları REST programı kullanılarak "Pfaffl" matematiksel yöntemi ile hesaplandı. Pfaffl eşitliği aşağıda belirtilmiştir (Şekil 2.1).

$$R = \frac{E(\text{hedef})^{\Delta Ct(\text{kontrol-örnek})}}{E(\text{referans})^{\Delta Ct(\text{kontrol-örnek})}}$$

**Şekil 2.1:** Referans değere göre hedef değeri hesaplayan Pfaffl eşitliği

Eşitlikte belirtilen Ct, tepkime sırasında oluşan floresan sinyalin eşik değeri geçtiği andaki döngü sayısını ifade etmektedir. Ct değeri tepkimenin başında mevcut olan mRNA (cDNA) miktarı ile ters orantılıdır.  $\Delta Ct$  değeri ise kontrol ile örneklerin Ct değerleri arasındaki farkı göstermektedir. Eşitlikte belirtilen E, PCR etkinliğini, elde edilen R ise ifade oranını göstermektedir. İfade oranı (R) istatistiksel karşılaştırmada kullanıldı.

#### 2.4. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

*SIRT1* ve *GAPDH* mRNA ifade düzeylerindeki farklılıklar “REST (2009 V2.0.13)” istatistik programı ile karşılaştırıldı. 0,05’den küçük olan p değerleri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

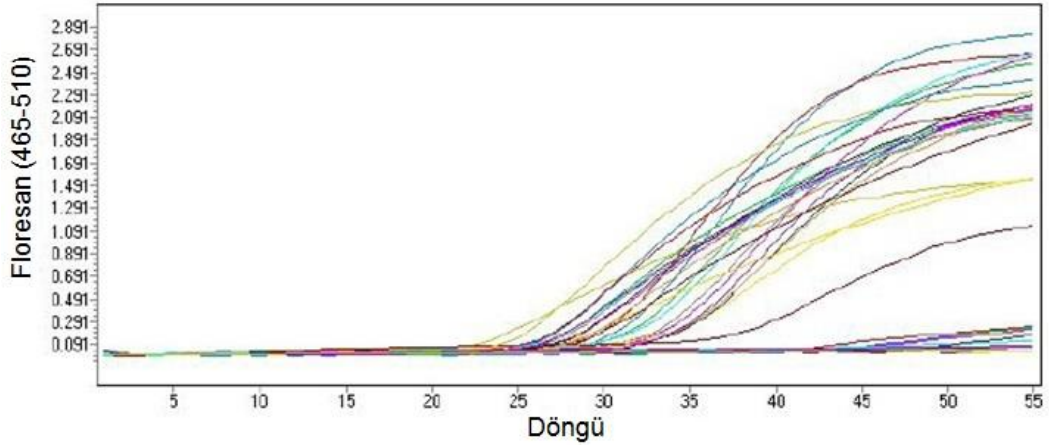
### 3. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilmiş toplam 100 hastadan 55 tanesi (% 55) erkek ve geriye kalan 45 hasta (% 45) ise kadındır, yaş ortalaması ise  $69,45 \pm 9,65$  olarak gözlenmiştir.

#### 3.1 Gen İfade Düzeylerinin Kantitatif Değerlendirilmesi

*SIRT1* genlerinin ifade düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi için RotorGeneQ cihazı kullanıldı. Katarakt anterior kapsül, preriferik kan örnekleri ve HLE B3 hücrelerinden elde edilen cDNA'larda *SIRT1* geninin normalizasyonu için seçilen *GAPDH* (Gliseraldehit-3 fosfat dehidrogenaz) (housekeeping) genine özgü primerler ve SYBR Green floresan boya kullanılarak çalışıldı.

*SIRT1* ve *GAPDH* genlerinin mRNA düzeyinde ifadesini kantitatif olarak gösteren Real-Time PCR tepkimesine ait amplifikasyon eğrisi Şekil 3.1'de gösterildi.



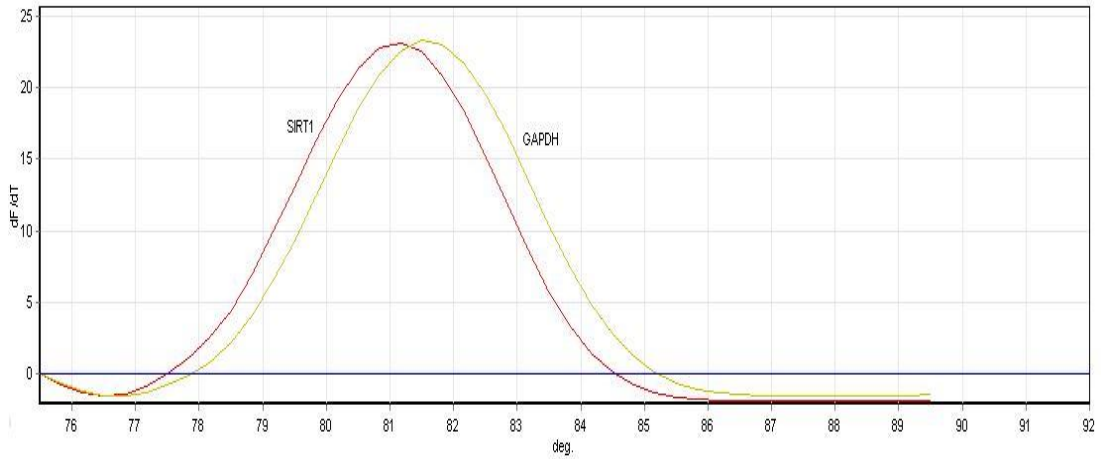
**Şekil 3.1:** *SIRT1* ve *GAPDH* genlerinin mRNA düzeyinde ifadesini kantitatif olarak gösteren amplifikasyon eğrileri. *SIRT1* ve *GAPDH* geninin Real Time PCR tepkimesine ait Cp değerleri yatay ekseninde yer almaktadır. Dikey ekseninde floresan sinyal izlenmektedir.

Göreceli gen ifadesi sonuçları REST programı kullanılarak "Pfaffl" matematiksel yöntemi ile hesaplandı. Pfaffl eşitliği aşağıda belirtilmiştir.

$$R = \frac{E(\text{hedef})^{\Delta Ct(\text{kontrol-örnek})}}{E(\text{referans})^{\Delta Ct(\text{kontrol-örnek})}}$$

Ct, tepkime sırasında oluşan floresan sinyalin eşik değeri geçtiği andaki döngü sayısını ifade eder ve Ct değeri tepkimenin başında mevcut olan mRNA (cDNA) miktarı ile ters orantılıdır.  $\Delta Ct$  değeri ise kontrol ile örneklerin Ct değerleri arasındaki farkı göstermektedir. Eşitlikte belirtilen E, PCR etkinliğini, elde edilen R ise ifade oranını göstermektedir.

*SIRT1* ve *GAPDH* genlerinin mRNA ifade düzeyinin belirlenmesinde elde edilen floresans ışımının hedef bölgenin amplifikasyonu sonucunda gerçekleştiğini gösteren erime eğrisi (melting curve) Şekil 3.2’de gösterilmektedir.

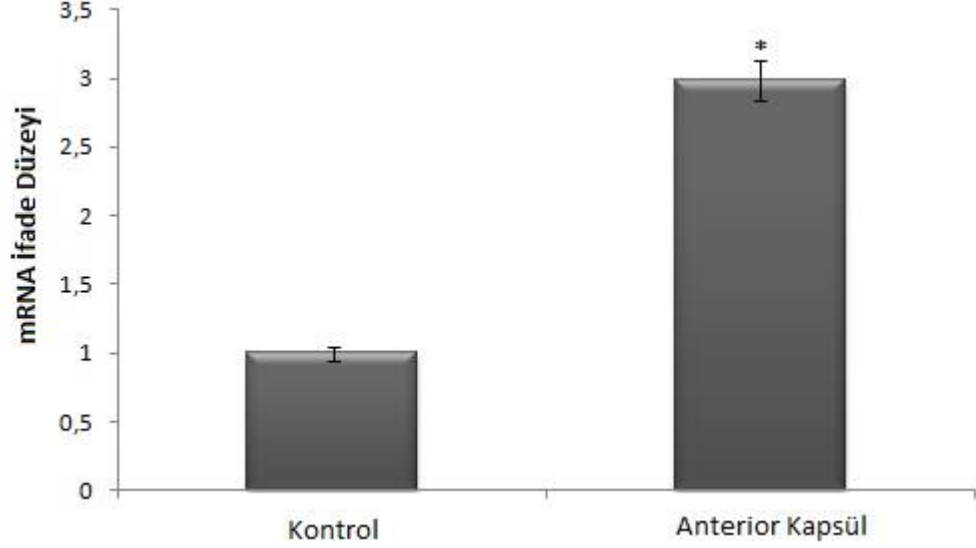


**Şekil 3.2:** *SIRT1* ve *GAPDH* genlerine ait erime eğrileri. *SIRT1* ve *GAPDH* geninin Melting Curve analizine ait sıcaklık dereceleri yatay ekseninde yer almaktadır. Dikey ekseninde floresan sinyal izlenmektedir.

### 3.1.1 Katarakt Anterior Kapsül Örneklerinde Kantitatif *SIRT1* Genlerinin İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi

Katarakt anterior kapsül örneklerinde histon deasetilaz geni Sirtuin 1 proteinini kodlayan *SIRT1* geninin mRNA düzeyindeki değişimler Şekil 3.3’te gösterildi. İleri yaş katarakt hastalarına ait 100 anterior kapsül örneğinden yeterli miktarda mRNA elde edilebilen 75 anterior kapsül örneğinde *SIRT1* geninin mRNA düzeyi, normal

lens epitel hücreleri (HLE B3 hücre hattı) ile karşılaştırıldığında 2,99 katlık bir artış belirlendi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).

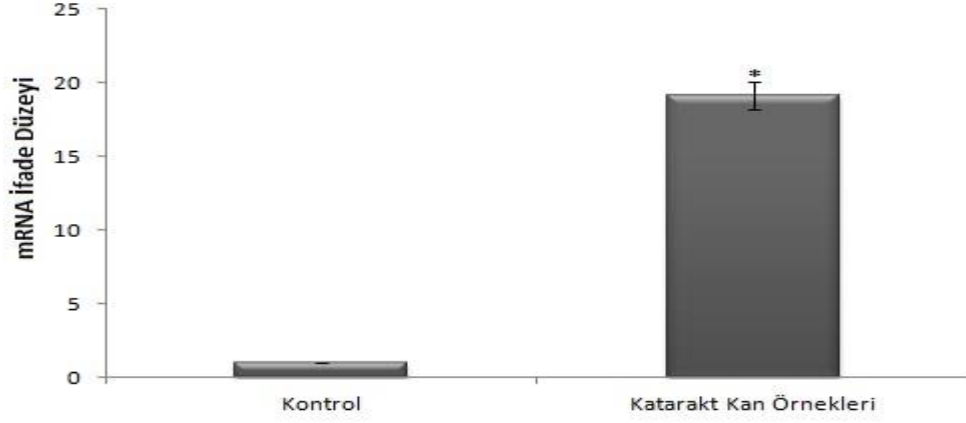


**Şekil 3.3:** İleri yaş katarakt hastalarına ait anterior kapsül örneklerinde *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, \*;  $p<0,05$ .

### 3.1.2 Katarakt Periferik Kan Örneklerinde Kantitatif *SIRT1* Genlerinin İfade Düzeyinin Değerlendirilmesi

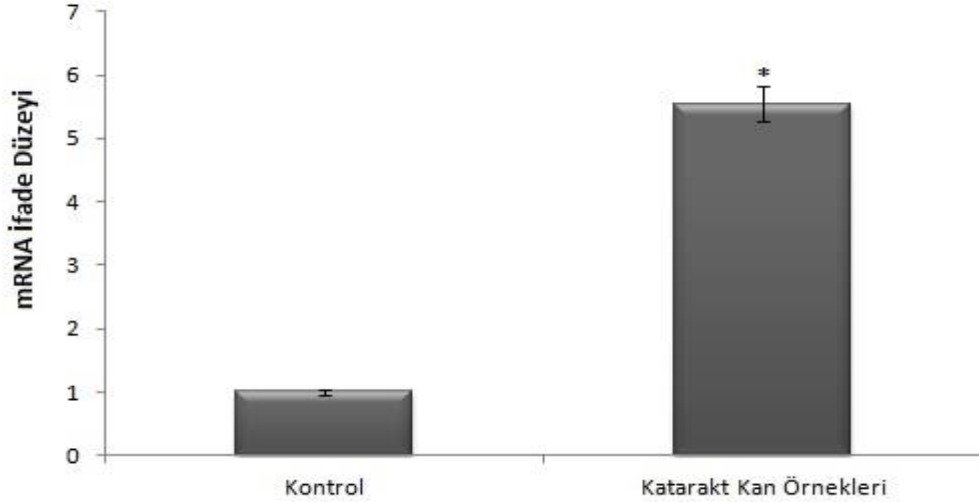
Katarakt hastalarına ait periferik kan örneklerinin histon deasetilaz geni Sirtuin 1 proteinini kodlayan *SIRT1* geninin mRNA düzeyindeki değişimler Şekil 3.4'te gösterildi. İleri yaş katarakt hastalarına ait 100 periferik kan örneğinden yeterli miktarda mRNA elde edilebilen 80 periferik kan örneğinde *SIRT1* geninin mRNA düzeyi, normal lens epitel hücreleri (HLE B3 hücre hattı) ile karşılaştırıldığında 19,16 katlık bir artış belirlendi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ).





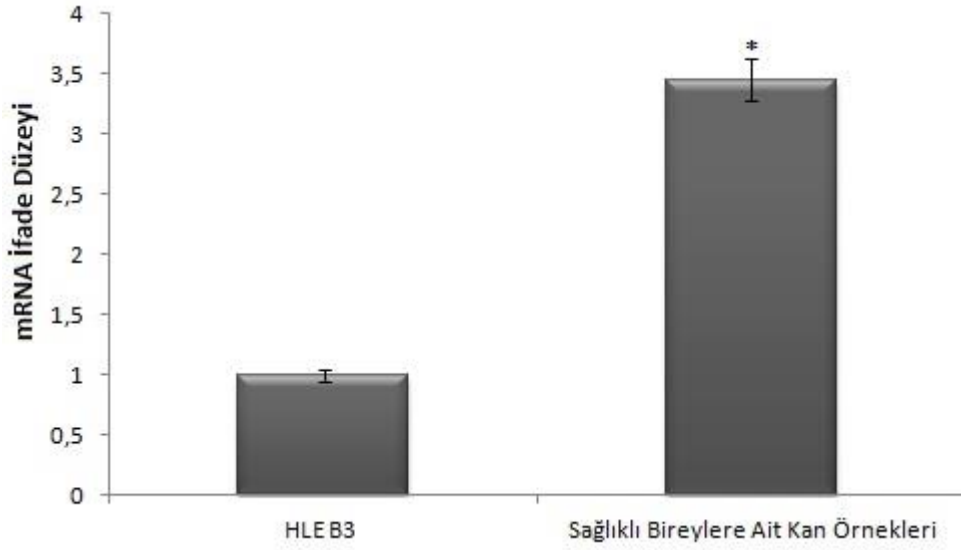
**Şekil 3.4:** İleri yaş katarakt hastalarına ait periferik kan örneklerinde *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ .

İleri yaş katarakt hastalarına 80 periferik kan örneğinde *SIRT1* geninin mRNA düzeyi, sağlıklı bireylere ait kan örnekleri ile karşılaştırıldığında 5,54 katlık bir artış belirlendi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ) (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5:** İleri yaş katarakt hastalarına ait periferik kan örnekleri, sağlıklı bireylere ait kan örnekleri ile karşılaştırıldığında *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ .

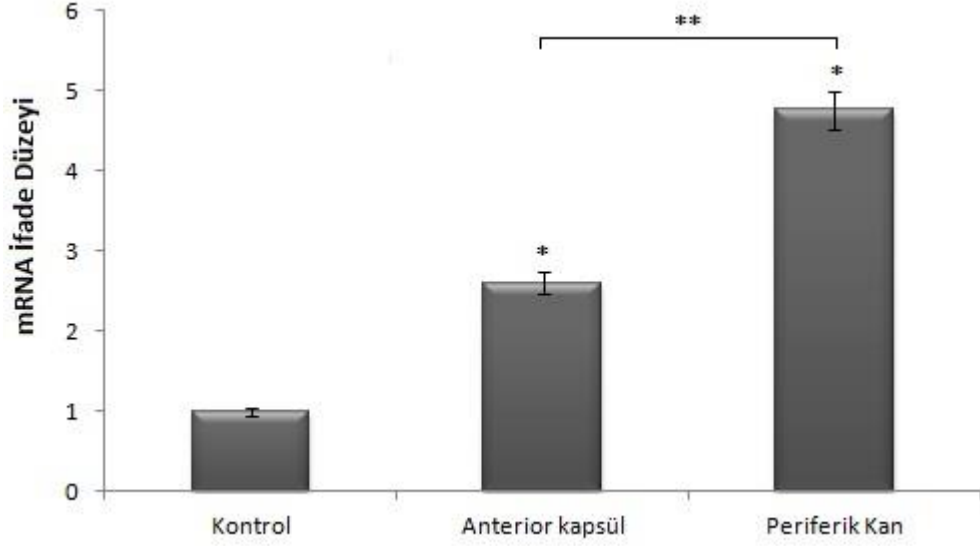
Katarakt hastalarına ait kan örnekleri, sağlıklı bireylere ait kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında 5,54 kat artış gözlemlenirken; lens epitel hücreleri HLE B3 hücreleri ile karşılaştırıldığında 19,16 katlık bir artış gözlemlendi. Bu farklılığın nedenini anlamak için sağlıklı bireylere ait kan örneklerindeki *SIRT1* geninin mRNA düzeyi, normal lens epitel hücreleri (HLE B3 hücre hattı) ile karşılaştırıldığında 2,99 katlık bir artış belirlendi ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ) (Şekil 3.6).



**Şekil 3.6:** Sağlıklı bireylere ait periferik kan örnekleri, insan lens epitel hücresi HLE B3 hücreleri ile karşılaştırıldığında *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi,\*;  $p<0,05$ .

Rastgele seçtiğimiz bir katarakt hastasının anterior kapsül örneği ve periferik kan örneği insan lens epitel hücresi ile karşılaştırıldığında anterior kapsül örneğinde *SIRT1* mRNA düzeyindeki 2,60 katlık bir artış gözlemlenirken aynı hastaya ait periferik kan örneğindeki artış 16,68 kattır ( $p<0.05$ ). Periferik kan örneği, sağlıklı bireye ait kan örneği ile karşılaştırıldığında ise 4,76 katlık bir artış gözlemlendi. Bu durum göstermektedir ki, hem anterior kapsül hem de periferik kan örneklerinde *SIRT1* geninin ifadenme düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmektedir. Bununla birlikte anterior kapsüle nazaran periferik kan

örneklerinde *SIRT1* geninin ifadenme düzeyi anlamlı bir şekilde daha yüksektir ( $p<0.05$ ) (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7:** Kataraktlı bireye ait anterior kapsül ve periferik kan örneklerinde *SIRT1* mRNA düzeyindeki değişimler. Hedef genlerin ifade düzeyleri *GAPDH* mRNA ifade düzeyi temel alınarak normalize edildi, \* ve \*\* ;  $p<0,05$ .

## 4. TARTIŞMA

Endüstrileşmeyle birlikte ortalama insan ömründe önemli bir artış görülmektedir. Ortalama yaşam süresinin artmasına paralel olarak yaşlanma problemi karşımıza çıkmaktadır (Zheng ve Lu, 2011). Yaşlanma, zamanla doku ve organ işlevlerinin aşamalı olarak kaybedilmesidir. Bununla birlikte yaş ile ilişkili hastalıkların patolojisi halen tam olarak açıklanabilmiş değildir. Bazı durumlarda örneğin glakom, katarakt, diyabetik pankreas ve osteoartritte olduğu gibi proliferasyon özelliği olan hücrelerin kaybı bu hastalıkların patolojisinden sorumlu iken bazı durumlarda ise örneğin, arteroskleroz, diyabetik yağlanma ve kanserde inflamasyon yaş ilişkili hastalarının patogenezinde rol oynamaktadır (Childs ve ark., 2015).

Yaşlanma ile birlikte en sık görülen problemlerden biri katarakt nedeniyle görme kaybıdır. Katarakt progresif olarak lensin saydamlığını yitirmesidir. Etiyolojisinde birçok neden sayılmakla birlikte, katarakt gelişim mekanizması tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Bu nedenle, günümüzde cerrahi tedavi tek seçenek olarak ortaya çıkmaktadır (Karel F, 2010). Yaşlılar arasında yaşa bağlı katarakt tedavi edilebilir görme kaybının başlıca nedenidir. Yaşa bağlı kataraktın fizyolojik durumu, çevresel komponentleri ve genetik farklılıkları hastalığın multifaktöryel bir hastalık olduğunu göstermektedir (Zheng C, 2014; Lachke SA, 2011).

Genetik faktörlerin yanı sıra hücre homeostazisinin devam ettirilmesinde epigenetik mekanizmalarda önemli katkı sağlamaktadır. Özellikle gen ifadenmesinin düzenlenmesinde DNA metilasyonu ve histon asetilasyonu önemli role sahiptir. Bu sayede çok çeşitli hücresel fonksiyonların kontrolü sağlanmış olur. Histon deasetilaz (HDAC)'lar, histonların ve p53 gibi histon olmayan proteinlerin deasetilasyonunu sağlayan enzimlerdir. Sirtuinler, sınıf III HDAC'lardır ve nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup>)'i kofaktör olarak kullanarak histonların asetil-lizin rezidülerinin deasetilasyonunu kataliz ederler. Deasetilaz aktivitesine ek olarak, sirtuinler ADP-ribozil transferaz aktivitesine de sahiptir. Bunlar, strese cevaben enerji homeostazisini kontrol ederler, fakat homeostazi başarısız olduğu

durumlarda genomik kararsızlıktan kaçınmak için hücrel yaşlanmayı teşvik ederler (Rodriguez ve Fraga, 2010). Bu durum gösterir ki, sirtuinler hem epigenetik hem de epigenetik olmayan mekanizmaların regülasyonu aracılığıyla hücrel homeostazinin sürdürülebilmesinde önemli role sahiptir.

Sirtuinlerin, önemli yaşlanma karşıtı moleküllerdir ve bazı yaşa bağlı göz hastalıklarının engellenmesinde önemli bir role sahiptir (Mimura ve ark., 2013). Oküler yaşlanma süreci çeşitli faktörlerden etkilenebilir. Bunlar içerisinde yaşlanmanın kendisi, ultraviyole radyasyon, oksidatif stres, sistemik hastalıklar (diyabet, hipertansiyon ve metabolik sendrom gibi) ve yaşam tarzı gibi faktörler yer almaktadır. Yaşlanma sürecinde, çok çeşitli etyolojik ve çevresel faktörlerin etkileşimi, pinguekula, konjunktivoçalazis, katarakt, siferoid dejenerasyonu, yaşa bağlı maküler dejenerasyon ve glukom gibi çeşitli yaşa bağlı göz hastalıklarına neden olmakta veya bu hastalıkların şiddetini arttırmaktadır (Mimura ve ark., 2013).

Sirtuin ailesinin yedi üyesi (SIRT1-7) bulunmaktadır ve farklı subselüler lokalizasyonlara sahiptir (Mimura ve ark., 2013). Sirtuinler üzerine araştırmalar Klar ve arkadaşlarının *Saccharomyces cerevisiae*'da ilk sirtuin genini (SIR2 geni) keşfetmesiyle başlamıştır. Bu yedi memeli sirtuin proteini içerisinde en iyi karakterize edilen SIRT1'dir. SIRT1 proteini hem nükleus hem de sitoplazmada lokalizedir. SIRT1'in kanser gelişimi, programlanmış hücre ölümü, gen ifadenmesinin düzenlenmesi, DNA onarımı ve yaşlanma mekanizmasında önemli rolü bulunmaktadır. SIRT1'in katarakt, retinal dejenerasyon, optik nevrit ve üveit gibi oküler hastalıklarla ilişki olduğu gösterilmiştir (Mimura ve ark., 2013). Gözdeki SIRT1'in en önemli rolü retina ve optik sinirin dejenerasyona karşı korunması olabilir. Peng ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada sıçanlarda ve insanda, kendi kendine yenileme kapasitesiyle ilişkili olarak yaşlanma ile birlikte SIRT1'in ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir (Peng ve ark., 2010). Bu veriler SIRT1'in oküler kök hücrelerin kendini yenileme ve yaşlanma sürecinde rol oynayabileceğini göstermektedir. Ayrıca, kalori kısıtlamasına gidildiğinde SIRT1'in yaşlanma karşıtı etkisi ve nörodejeneratif hatalıklara karşı korunmada etkin rol oynadığı gösterilmiştir.

Bu tez çalışmamızda, katarakt hastalarından cerrahi operasyon ile alınan anterior kapsül ve bu hastalara ait periferik kan örneklerinde *SIRT1* geninin mRNA düzeylerindeki değişimlerini inceledik. Çalışmamızda ileri yaş katarakt hastaları dahil edilmiş olup daha önce intraokuler cerrahi geçiren, oküler inflamasyonu olan, oküler travma geçiren, sistemik veya topikal steroid kullanan, konjenital ve toksik katarakt yapma potansiyeli olan ilaç kullanan (fenotiazinler, kolinerjikler, kanser ilaçları, fotosensitif ilaçlar, diüretikler, trankilizanlar, gut mediatörleri), göz üzerine radyoterapi alan ve diyabeti olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. İleri yaş katarakt hastalarına ait anterior kapsül örnekleri, sağlıklı insan lens epitel hücresi HLE B3 hücreleri ile karşılaştırıldığında *SIRT1* geninin ekspresyonunda hemen hemen bütün örneklerde anlamlı bir şekilde artma belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Benzer şekilde, kataraktlı hastalara ait periferik kan örnekleri hem HLE B3 hem de sağlıklı bireylere ait kan örnekleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Jaliffia ve arkadaşlarının çalışmasında, *SIRT1* proteini erişkin fare lensi epitel ve lif hücre çekirdeklerinde lokalize olduğu tespit edilmesine karşın lens kapsülünde tespit edilememiştir (Jaliffa ve ark., 2009). İnsan gözünde, senil kataraktlı hastaların lens epitelinde (Zheng ve Lu, 2011; Lin ve ark., 2011) ve retinada (Maloney ve ark., 2012) *SIRT1* geninin ekspresyonu tespit edilmiştir. Normal insan kornea epiteli için Alves ve arkadaşları 10 kornea örneği kullanarak *SIRT1*'in %50'sinde negatif ekspresyonunu, %30'unda zayıf ekspresyonu ve %20'sinin belirgin derecede immüno-reaktif olduğunu belirlemiştir (Alves ve ark., 2012). Çalışmamızla uyumlu olarak, Zheng ve Lu çalışmasında anterior lens kapsüllerini kullanmıştır. Bu çalışmada 49 yaşından genç kataraksız kapsül örnekleri, 50 yaşından büyük kataraksız kapsül örnekleri ile karşılaştırıldığında yaşlanma ile birlikte anterior kapsül örneklerinde *SIRT1* geninin mRNA düzeyinde anlamlı bir azalma belirlenmiştir. 50 yaş üstü kataraktlı anterior kapsül örnekleri aynı yaş grubu kataraksız anterior kapsül örnekleri ile karşılaştırıldığında ise anlamlı düzeyde *SIRT1* geninin ifadenme düzeyinde artma olduğu belirlenmiştir (Zheng ve Lu, 2011). *SIRT1* geninin 9 ekzonu ve 6 alternatif splicing varyantı bulunmaktadır. Bu varyantların sadece dördü proteine dönüşmektedir. Çalışmamızda kullandığımız *SIRT1* primerlerimiz bu varyantlardaki ortak bölgelere özgü olarak dizayn edildi.

Yapılan çalışmalarda ayrıca *SIRT1*'in senil katarakta karşı koruyucu bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Lin ve arkadaşları lens opaklığındaki *SIRT1* ekspresyonunun  $\geq 51$  yaşında olanlarda 51 yaşın altındaki hastalardan düşük olduğunu ve yaşla negatif ilişkili olduğunu bildirmiştir (Lin ve ark., 2011). Doğanay ve arkadaşlarının çalışmasında resveratrolün sıçanlarda sodyum selenitle uyarılmış oksidatif stres ve deneysel katarakt oluşumunu önleyebileceği ifade edilmiştir (Doganay ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar sonucunda, *SIRT1*'in oksidatif strese bağlı retinal hasarın yol açtığı hastalıklara karşı koruma sağlayabileceğini, resveratrol ile yaşlanma karşıtı tedavinin retinal hasar için alternatif bir tedavi olabileceğini öngörülmektedir. Buna karşın, Zheng ve arkadaşları lens epitelinde *SIRT1* ifadesinin yaşla birlikte azaldığını ancak 50 yaşından büyük kataraktlı hastalarla, kataraksız 50 yaşından büyük kişiler karşılaştırıldığında bir artış olduğunu bildirmiştir (Zheng ve Lu, 2011). Benzer şekilde bizde çalışmamızda ileri yaş katarakt hastalarında *SIRT1* geninin ifadenme düzeyinde anlamlı bir artış olduğunu belirledik. Diğer taraftan, senil katarakta *SIRT1*, p53'ün azalmasına ve dolayısıyla apoptozdan kaçmasına neden olur. Bu lensteki *SIRT1*'in senil katarakt oluşumuna karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir (Zheng ve Lu, 2011).

Sonuç olarak *SIRT1*, önemli bir histon deasetilazdır ve hücrel homeostazinin sürdürülmesinde çok çeşitli ve önemli rolleri bulunmaktadır. Yaşlanma ile ilişkili göz hastalıklarını, özellikle kataraktı, önleme amaçlı terapötik stratejilerin geliştirilmesi için çekici bir adaydır. Bununla birlikte, *SIRT1* aktivatörlerine yönelik bazı klinik çalışmalar, kardiyovasküler hastalık, kanser, diyabet ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli hastalıklar için zaten başlatılmıştır. Gelecekteki klinik araştırmalar, göz yaşlanmasında *SIRT1*'in rolünün tam olarak tanımlanmasına odaklanmalıdır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda, SIRT1 geni ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin kataraktlı hastalar ve sağlıklı bireyler üzerindeki etkisinin incelemesini amaçladık. Çalışmamız, SIRT1 geni ile katarakt arasındaki ilişkiyi Türk toplumunda ilk defa incelemesi yönüyle önemlidir.

SIRT1 geni ifade düzeyinin kantitatif değerlendirilmesi için hasta ve kontrol örneklerinde Real-Time PCR uygulaması yapıldı.

Çalışmamızda kontrol bireyleriyle kıyaslandığında ileri yaş katarakt hastalarında *SIRT1* geninin ifadenme düzeyinde anlamlı bir artış olduğu belirlendi.

İleri yaş katarakt hastalarına ait anterior kapsül örneklerindeki SIRT1 geni mRNA düzeyi, normal lens epitel hücreleri (HLE B3 hücre hattı) ile karşılaştırıldığında 2,99 katlık bir artış belirlendi. İleri yaş katarakt hastalarına ait periferik kan örneklerindeki SIRT1 geni mRNA düzeyi, normal lens epitel hücreleri (HLE B3 hücre hattı) ile karşılaştırıldığında 19,16 katlık bir artış belirlendi. İleri yaş katarakt hastalarına periferik kan örneklerindeki SIRT1 geni mRNA düzeyi, sağlıklı bireylere ait kan örnekleri ile karşılaştırıldığında 5,54 katlık bir artış belirlendi.

Çalışmamız sonucunda SIRT1 gen ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin kataraktlı hastalar üzerinde önemli olduğunu belirledik. Ancak gen ekspresyonunun katarakt gelişmesine etkisini tam olarak değerlendirebilmek için SIRT1 geninin histon deasetilaz etkinliği ve hücrel homeostazisin devamlılığına ilişkin rollerinin aydınlatılmasının önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.



## ÖZET

Yaşa bağı katarakt tüm dünyadaki körlük ve görme kaybının en önemli nedenidir. Son yıllarda katarakt gelişiminde epigenetik modifikasyonlar ilgi odağı haline gelmiştir. Epigenetik modifikasyonlardan özellikle histon deasetilazların aşırı ifadelenmesi oküler hastalıkların da içerisinde yer aldığı kanser, diyabet gibi çok çeşitli hastalıkların gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Sirtuin ailesinin bir üyesi olan SIRT1 (sınıf II histon deasetilaz) en iyi karakterize edilmiş histon deasetilazlardan biridir ve yaş-ilişkili hastalıklarda önemli role sahiptir. Bununla birlikte, SIRT1'in ileri yaşa bağı katarakt ile ilişkisi henüz tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. Bu nedenle çalışmamızda ileri yaşa bağı katarakt hastalarında SIRT1 geninin ifadelenme düzeyini belirlemeyi amaçladık. İleri yaş katarakt hastasına ait anterior kapsül ve periferik kan örneklerinden edilen RNA'lar, kontrol olarak sağlıklı bireylere ait kan örnekleri ve insan lens epitel hücre hattı HLE B3 hücrelerinden elde edilen RNA örnekleri kullanılarak SIRT1 genin ifadelenme düzeyi real-time PCR ile değerlendirdik. Çalışmamızın sonuçlarına göre hem kan örnekleri hem de anterior kapsül örneklerinde *SIRT1* geninin ifadelenme düzeyinin sağlıklı periferik kan örneklerine ve HLE B3 hücrelerine nazaran önemli ölçüde arttığı belirlendi ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak görülmektedir ki, ileri yaş katarakt gelişiminde SIRT1 geninin ifadelenme düzeyi önemli rol oynamaktadır ve ileri yaş katarakt için bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ayrıca, ileri yaş katarakt hastalığının tedavisinde SIRT1 inhibitörleri kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** İnsan Sağlığı, Göz, Katarakt, Gen Ekspresyonu, Sirtuin, SIRT1

## ABSTRACT

Age-related cataract is the most important cause of blindness and loss of vision all over the world. Epigenetic modifications have become the focus of interest for cataract development in recent years. Epigenetic modifications, especially over expression of histone deacetylases, play an important role in the development of a wide variety of diseases, including cancer, diabetes as well as ocular diseases. SIRT1 (class II histone deacetylase), a member of the sirtuin family, is one of the best characterized histone deacetylases and has an important role in age-related diseases. However, the association of SIRT1 with age-related cataracts has not yet been fully elucidated. Therefore, we aimed to determine the expression level of SIRT1 gene in age-related cataract patients. Expression levels of SIRT1 gene were evaluated by real-time PCR in patients and healthy controls. RNA samples were collected from the anterior capsule and peripheral blood samples of age-related cataract patients while human lens epithelial cell line HLE B3 cells and peripheral blood samples of healthy subjects were used as controls. According to our study results, it was determined that the expression level of SIRT1 gene in blood and anterior capsule samples increased significantly compared to control ( $p < 0.05$ ). As a result, the expression level of the SIRT1 gene plays an important role in the development of age related cataract and it can be used as a biomarker. Thus, SIRT1 inhibitors can be used in the treatment of age-related cataract disease.

**Keywords:** Human Health, Eye, Cataract, Gene Expression, Sirtuin, SIRT1

## KAYNAKLAR

- A Shiels, J. H. (2013). Genetics of human cataract. *Clin Genet.* , 84 (2), 120-127.
- Aiguo Wu, Z. Y.-P. (2006). Oxidative stress modulates Sir2a in rat hippocampus and cerebral cortex. *European Journal of Neuroscience* , 23, 2573–2580.
- Alan Shiels, D. M. (1998). A Missense Mutation in the Human Connexin50 Gene (GJA8) Underlies Autosomal Dominant “Zonular Pulverulent” Cataract, on Chromosome 1q. *Am. J. Hum. Genet.* , 62, 526-532.
- Alan Shiels, F. H. (2007). Genetic Origins of Cataract. *ARCH OPHTHALMOLOGY* , 125, 165-173.
- Alan Shiels, T. M. (2010). Cat-Map: putting cataract on the map. *Molecular Vision* , 16, 2007-2015.
- Alan Shiels, T. M. (2008). The EPHA2 gene is associated with cataracts linked to chromosome 1p. *Molecular Vision* , 14, 2042-2055.
- Ali BAYRAM, M. İ. (2013). Sirtuin Genleri ve İşlevleri. *Firat Med J* , 18 (3), 136-140.
- Anagha Medsinge, K. K. (2015). Pediatric cataract: challenges and future directions. *Clinical Ophthalmology* , 9, 77-90.
- Anne Brunet, L. B.-L. (2004). Stress-Dependent Regulation of FOXO Transcription Factors by the SIRT1 Deacetylase. *Science* , 303, 2011-2015.
- Author, N.-P. (1999). The Age-Related Eye Disease Study (AREDS): Design Implications AREDS Report No. 1. *Control Clin Trials* , 20 (6), 573-600.
- B. Wissinger, S. K. (2003). *Genetics in Ophthalmology*. Basel: Karger.
- Bennett G Childs, M. D. (2015). Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nature Medicine* , 21 (12), 1424-1435.
- Bobrow, J. (2011). *Lens and Cataract*. San Francisco: American Academy of Ophthalmology.

Bor Luen Tang, C. E. (2008). SIRT1 and neuronal diseases. *Molecular Aspects of Medicine* , 29, 187-200.

Carlo Cavalotti, L. C. (2008). *Age Related Changes of the Human Eye*. Rome: Humana Press.

Carolina Jaliffa, I. A. (2009). Sirt1 Involvement in rd10 Mouse Retinal Degeneration. *IOVS* , 50 (8), 3562-3572.

Catherine L. Winchester, R. K. (1999). Characterization of the expression of DMPK and SIX5 in the human eye and implications for pathogenesis in myotonic dystrophy. *Human Molecular Genetics* , 8 (3), 481-492.

Chi-Hsien Peng 1, 3. Y.-L.-L.-M.-C.-C.-Y.-C.-H.-H.-J. (2010). SirT1—A Sensor for Monitoring Self-Renewal and Aging Process in Retinal Stem Cells . *Sensors* , 10, 6172-6194.

Chi-Hsien Peng, J.-Y. C.-Y.-C.-H.-L.-L.-K.-h.-J.-H. (2011). Delivery of Oct4 and SirT1 with cationic polyurethanes-short branch PEI to aged retinal pigment epithelium. *Biomaterials* , 32, 9077-9088.

Christopher J. Hammond, D. D. (2001). The Heritability of Age-Related Cortical Cataract: The Twin Eye Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* , 42 (3), 601-605.

Crick, R. P. (2003). *A Textbook of Clinical Ophthalmology*. New Jersey: World Scientific.

Danian Chen, M. P. (2009). Division and apoptosis in the E2f-deficient retina. *Nature* , 462 (7275), 925.

Elena V. Semina, R. E.-H.-H. (1998, Haziran). A novel homeobox gene PITX3 is mutated in families with autosomal-dominant cataracts and ASMD. *Nature Genetics* , 167-170.

Eran Pras, E. L.-N.-C. (2002). A Missense Mutation in the LIM2 Gene Is Associated with Autosomal Recessive Presenile Cataract in an Inbred Iraqi Jewish Family. *Am. J. Hum. Genet.* , 70, 1363-1367.

Feng Zhang, S. W. (2011). Protective effects and mechanisms of sirtuins in the nervous system. *Prog Neurobiol.* , 95 (3), 373–395.

Fucheng Cai, J. Z. (2010). A novel PAX6 mutation in a large Chinese family with aniridia and congenital cataract. *Molecular Vision* , 16, 1141-1145.

- Galloway, N. R. (2016). *Common Eye Diseases and their Management*. Nottingham: Springer.
- Gerhard, L. (2000). *Ophthalmology A Short Textbook*. Stuttgart: Thieme.
- Giovanni Maraini, J. F. (2003). Galactokinase gene mutations and age-related cataract. Lack of association in an Italian population. *Molecular Vision* , 9, 397-400.
- Haim Y. Cohen, C. M. (2004). Calorie Restriction Promotes Mammalian Cell Survival by Inducing the SIRT1 Deacetylase. *Science* , 305, 390-392.
- Hatchwell, E. (2002). *Genetics for Ophthalmologists*. London: Remedica.
- Hejtmancik, J. F. (2008). Congenital Cataracts and their Molecular Genetics. *Semin Cell Dev Biol.* , 19 (2), 134-149.
- Hwei-Ling Cheng, R. M. (2003). Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice. *PNAS* , 100 (19), 10794–10799.
- Ibrahim M. Heiba, R. C. (1995). Evidence for a Major Gene for Cortical Cataract. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* , 36 (1), 227-235.
- J. Fielding Hejtmancik, M. K. (2004). Molecular genetics of age-related cataract. *Exp Eye Res.* , 79 (1), 3-9.
- James P. Brady, D. L. (2001).  $\alpha$ B-Crystallin in Lens Development and Muscle Integrity: A Gene Knockout Approach. *IOVS* , 42 (12), 2924-2934.
- James Tsai, A. D. (2011). *Oxford American Handbook of Ophthalmology*. New York: Oxford University Press.
- Jian Yuan, K. M.-D. (2007). A c-Myc–SIRT1 feedback loop regulates cell growth and transformation. *J. Cell Biol. Vol.* , 185 (2), 203-211.
- Jun Yi, J. Y.-K.-T.-R. (2011). Epidemiology and molecular genetics of congenital cataracts. *Int J Ophthalmol* , 4 (4), 422-432.
- Kenneth S. Shindler, E. V. (2007). SIRT1 Activation Confers Neuroprotection in Experimental Optic Neuritis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* , 48 (8), 3602–3609.
- K-H Chien, S.-J. C.-H.-M.-C.-M.-T.-J.-H.-H. (2013). Correlation between microRNA-34a levels and lens opacity severity in age-related cataracts. *Eye* , 27, 883-888.
- Khurana, A. K. (2007). *Comprehensive Ophthalmology*. Rohtak: New Age Int.

- Klein BE, K. R. (1998). Incidence of age-related cataract: thr Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol.* , 116 (2), 219-25.
- Kumar ve ark., M. T. (2013). Molecular and structural analysis of genetic variations in congenital cataract. *Molecular Vision* , 19:2436-2450.
- Lei Bu, Y. J. (2002). Mutant DNA-binding domain of HSF4 is associated with autosomal dominant lamellar and Marner cataract. *Nature Genetics* , 31, 276-278.
- Leo T. Chylack, J. K. (1993). The Lens Opacities Classification System III. *Ophthalmology* , 111, 831-836.
- Leske MC, C. L. (1991). The Lens Opacities Case Control Study. Risk factors for cataract. *Arch Ophthalmol* , 109 (2), 244-251.
- Luiz Filipe de A. Alves, B. F. (Cornea). Expression of SIRT1 in Ocular Surface Squamous Neoplasia. 2012 (31), 817–819.
- M. Ashwin Reddy, P. J. (2004). Molecular Genetic Basis of Inherited Cataract and Associated Phenotypes. *Survey of Ophthalmology* , 49 (3), 300-315.
- Manèl Chograni, M. C. (2012). Investigation of Four Genes Responsible for Autosomal Recessive Congenital Cataract and Highly Expressed in the Brain in Four Unrelated Tunisian Families. *Open Journal of Ophthalmology* , 2, 64-70.
- Manuel B. Datiles III, R. R. (2016). Longitudinal Study of Age Related Cataract Using Dynamic Light Scattering: Loss of  $\alpha$ -crystallin Leads to Nuclear Cataract Development. *Ophthalmology* , 123 (2), 248-254.
- Melissa M. Liu, C.-C. C. (2013). Epigenetics in Ocular Diseases. *Current Genomics* , 14, 166-172.
- Michael Litt, P. K. (1998). Autosomal dominant congenital cataract associated with a missense mutation in the human alpha crystallin gene CRYAA. *Human Molecular Genetics* , 7 (3), 471-474.
- Patrick Vicart, A. C.-C.-M. (1998). A missense mutation in the aB-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. *Nature Genetics* , 20, 92-95.
- Paul Riordan, J. W. (2007). *Vaughan&Asbury's General Ophthalmology*. New York: McGrawHill.
- Peter Kaiser, N. F. (2014). *Illustrated Manual of Ophthalmology*. New York: Elsevier.
- Praveen Kumar KV, S. A. (2015). Infantile cataract: where are we now? *Sci J Med & Vis Res Foun.* , 33, 126-131.

- Robyn V. Jamieson, R. P. (2002). Domain disruption and mutation of the bZIP transcription factor, MAF, associated with cataract, ocular anterior segment dysgenesis and coloboma. *Human Molecular Genetics* , 11 (1), 33-42.
- Rui-Hong Wang, K. S.-S.-M.-X. (2008). Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice. *Cancer Cell.* , 14 (4), 312–323.
- Selim Doganay, M. B. (2006). The Effect of Resveratrol in Experimental Cataract Model Formed by Sodium Selenite. *Current Eye Research* , 31, 147–153.
- Shawn C.Maloney, E. A.-A. (2012). Expression of SIRT1 and DBC1 in Developing and Adult Retinas. *Stem Cells International* , 1-7.
- Shikun He, X. L. (2013). Review: Epigenetic mechanisms in ocular disease. *Molecular Vision* , 19, 665-674.
- Shunsuke Kubota, Y. O. (2011). Roles of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetes-Induced Retinal Inflammation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* , 52 (12), 9142-9148.
- Stuart G. Jarrett, H. L. (2008). Mitochondrial DNA damage and its potential role in retinal degeneration. *Progress in Retinal and Eye Research* , 27, 596-607.
- Sudha K. Iyengar, B. E. (2004). Identification of a major locus for age-related cortical cataract on chromosome 6p12-q12 in the Beaver Dam Eye Study. *PNAS* , 101 (40), 14485-14490.
- Tatsuya Mimura a, \*. Y. (tarikh yok). The role of SIRT1 in ocular aging.
- Tatsuya Mimura, Y. K. (2013). The role of SIRT1 in ocular aging. *Experimental Eye Research* , 1-10.
- Thimmappa S Anekonda, G. A. (2008). Resveratrol prevents antibody-induced apoptotic death of retinal cells through upregulation of Sirt1 and Ku70. *BMC Research Notes* , 1, 122.
- Tianyu Zheng, Y. L. (2011). Changes in SIRT1 Expression and Its Downstream Pathways in Age-Related Cataract in Humans. *Current Eye Research* , 36 (5), 449–455.
- Tielsch JM, K. J. (1991). A population-based evaluation of glaucoma screening: the Baltimore Eye Survey. *Am J Epidemiol* , 134 (10), 1991.
- Tzu-Jung Lin, C.-H. P.-H.-H.-C.-W.-Y.-H.-J. (2011). Severity of lens opacity, age, and correlation of the level of silent information regulator T1 expression in age-related cataract. *Cataract Refract Surg* , 37, 1270-1274.

Wei-jun Panga, Y. Y.-s. (2013). Sirt1 attenuates camptothecin-induced apoptosis through caspase-3 pathway in porcine preadipocytes . *Experimental Cell Research* , 319, 670-683.

Wendy Li, J. L. (2016). Epigenetics and Common Ophthalmic Diseases. *Yale Journal of Biology and Medicine* , 89, 597-600.

Wright, K. (2008). *Pediatric Ophthalmology for Primary Care*. IL: American Academy of Pediatrics.

Yunxia Gao, Y. Y. (2015). Human age-related cataracts: Epigenetic suppression of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2-mediated antioxidant system. *Molecular Medicine Reports* , 11, 1442-1447.

Yvette P. Conley, D. E. (2000). A Juvenile-Onset, Progressive Cataract Locus on Chromosome 3q21-q22 Is Associated with a Missense Mutation in the Beaded Filament Structural Protein-2. *Am. J. Hum. Genet.* , 66, 1426-1431.



## ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

### ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı: Nihat Buğra Ağaoğlu**

**Öğrenim Durumu: Üniversite**

| Derece | Bölüm/Program             | Üniversite | Yıl  |
|--------|---------------------------|------------|------|
| 75/100 | Tıp Fakültesi (İngilizce) | Marmara    | 2009 |

**Danışman: Doç. Dr. Handan YILDIZ**

**Yabancı Dili: İngilizce**

**YÖKDİL : 85**

### **Bildiri ve Poster Sunumları:**

#### ➤ **Uluslararası:**

**Mehmet A. Agirbasli, Nihat Bugra Agaoglu**

Hypertension, Lipids and Prevention

Comparison of Anthropometric Indices in Predicting Metabolic Syndrome Components in Children

*Journal of the American College of Cardiology, Volume 55, A58.E554  
(doi:10.1016/S0735-1097(10)60555-4)*

**M. Agirbasli, G.M. Haas, A.O. Baykan, N.B. Agaoglu, E. Liepold and P. Schwandt**

Comparison of lipoprotein levels in Turkish versus German Children

*Atherosclerosis Supplements, Volume 9, Issue 1, May 2008, Page 90, PO22-297*

**Agaoglu NB, Baykan O, Orak N, Arikan S, Aksoy C, Yilmaz M.**

Dietary, physical activity and anthropometric variables in low to middle socioeconomic status children and adolescents from Istanbul, Turkey

*Atherosclerosis Supplements, Volume 9, Issue 1, May 2008, Page 254*

**Makaleler:**

➤ **Uluslararası :**

**Agirbasli M, Agaoglu NB, Ergonul O, Yagmur I, Aydogar H, Oneri T, Ozturk O.**

Comparison of anthropometric indices in predicting metabolic syndrome components in children.

*Metab Syndr Relat Disord. 2011 Dec;9(6):453-9. Epub 2011 Aug 10.*

**Mehmet Agirbasli, Nihat Bugra Agaoglu, Nilay Orak, Hatice Caglioz, Tuba Ocek, Turgut Karabağ, Oytun A. Baykan**

Sex Hormones, Insulin Resistance and High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Children

*Hormone Research in Paediatrics Volume 73, Pages 166-174 (DOI: 10.1159/000284357)*

**Mehmet A. Agirbasli, Nihat B. Agaoglu, Nilay Orak, Hatice Caglioz, Tuba Ocek, Oytun A. Baykan**

Hypertension, Lipids and Prevention

The Effects of Sex Hormones on Lipid Levels in Children and Adolescents

*Journal of the American College of Cardiology, Volume 53 Pages 198-230 (doi:10.1016/j.jacc.2009.01.016)*

**M. Agirbasli, N.B. Agaoglu, N. Orak, H. Caglioz, T. Ocek, N. Poci, A. Salaj, S. Maya**

Sex hormones and metabolic syndrome in children and adolescents  
*Metabolism, Volume 58, Issue 9, Pages 1256-1262*

**S. Borici, N.B. Agaoglu, O.A. Baykan, M. Agirbasli**

Blood pressure and anthropometric measurements in Albanian versus Turkish children and adolescents

*Acta Cardiologica, Volume 64, Issue 6, Pages 747-754, (DOI: 10.2143/AC.64.6.2044738)*

**M. Deniz, H.H. Şahin, S. Tekin, M. Yeşiller, B. Ağaoğlu, Ş. Çetinel, B.Ç. Yeğen**

Nicotine withdrawal alleviates acetic acid-induced gastric injury in rats

*Environmental Toxicology and Pharmacology, Volume 27, Issue 2, Pages 200-205*