



T.C  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİABETİK RETİNOPATİ HASTALARINDA SERUM VE VİTREUSTA S100B,  
NÖRON SPESİFİK ENOLAZ (NSE) VE MALONDİALDEHİT (MDA)  
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr.Vusala ASADOVA

UZMANLIK TEZİ

Bursa - 2016



T.C  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİABETİK RETİNOPATİ HASTALARINDA SERUM VE VİTREUSUNDA S100B,  
NÖRON SPESİFİK ENOLAZ (NSE) VE MALONDİALDEHİT (MDA)  
SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr.Vusala ASADOVA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Doç. Dr. Özgür YALÇINBAYIR

Bursa - 2016

## İÇİNDEKİLER

Özet.....	ii
İngilizce Özet .....	iii
Giriş.....	1
Genel Bilgiler.....	3
S100B.....	3
NSE.....	7
MDA.....	10
Gereç veYöntem.....	12
Bulgular.....	16
Tartışma ve Sonuç.....	25
Kaynaklar.....	33
Teşekkür.....	42
Özgeçmiş.....	43

## ÖZET

**Amaç:** Proliferatif diyabetik retinopati (PDR) olgularında vitreus ve serum S100B, nöron spesifik enolaz (NSE) ve malondialdehit (MDA) konsantrasyonlarının ölçülmesi, sonuçların ameliyat öncesi ve sonrası tespit edilen anatomik ve klinik özelliklerle ilişkisinin araştırılması.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışma grubuna Eylül 2014 - Ekim 2015 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda PDR tanısı ile pars plana vitrektomi (PPV) yapılan olgular dahil edilmiştir. Kontrol grubu ise diyabeti olmayan vitreoretinal yüzey hastalıklı olgulardan oluşturulmuştur. Çalışmaya dahil edilen tüm olgulardan preop serum örnekleri alınmış ve PPV esnasında vitreus örneği alınmıştır. Alınan vitreus ve serum örneklerinde NSE, S100B ve MDA seviyeleri ölçülerek gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır.

**Bulgular:** Çalışma grubu PDR'li 76 olgunun 76 gözünden oluşmakta idi. Kontrol grubu ise 20 olgunun 20 gözünden oluşmakta idi. Çalışma ve kontrol grubu arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakta idi ( $p < 0,05$ ). Sonuçlar incelendiğinde çalışma grubu ve kontrol grubu arasında vitreus NSE, S100B ve MDA seviyeleri açısından anlamlı fark tespit edilmiştir (sırasıyla ( $p < 0,0001$ ) ( $p < 0,05$ ) ( $p < 0,001$ )). Serum örneklerindeki değerler incelendiğinde; çalışma grubu ve kontrol grubu arasında sadece serum NSE seviyeleri açısından anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Özellikle NSE'nin nörodejenerasyon varlığını gösteren klinik ve anatomik parametreler ile yakın ilgisi tespit edilmiştir.

**Tartışma:** Çalışmamızda saptanan vitreus S100B, NSE, MDA ve serum NSE değerleri PDR olgularında anlamlı derecede artmaktadır. Bu veriler nöronal hasar varlığını gösterse de yaygınlığını göstermekten uzaktır.

**Anahtar kelimeler:** Diyabetik retinopati, S100B, NSE, MDA

## SUMMARY

**Purpose:** To measure the vitreous and serum levels of S100B, neuron-specific enolase (NSE) and malondialdehyde (MDA) in proliferative diabetic retinopathy (PDR) cases and to investigate the relationship between preoperative and postoperative results with the anatomical and clinical features.

**Materials and Methods:** The study group was formed of cases who had pars plana vitrectomy (PPV) surgery for PDR in Uludag University School of Medicine Department of Ophthalmology between September 2014 and October 2015. The control group was formed of non-diabetic patients who underwent PPV surgery for vitreoretinal surface diseases. Samples of serum were withdrawn from all the participants preoperatively while vitreous samples were taken during the PPV. Vitreous and serum levels of NSE, S100B and MDA were measured and comparisons were performed between the groups.

**Results:** The study group consisted of 76 eyes of 76 cases with PDR. The control group consisted of 20 eyes of 20 cases. There was no statistically significant difference between the study and the control group in terms of demographic data ( $p < 0.05$ ). The concentrations of vitreous NSE, S100B and MDA were significantly higher than the control group ( $(p < 0.0001)$  ( $p < 0.05$ ) ( $p < 0.001$ ) respectively). Considering the values of serum samples; statistically significant difference was positive only for serum NSE levels ( $p < 0.05$ ). There was close association between NSE levels and the clinical and anatomical parameters that depicted neurodegeneration.

### **Conclusion:**

Our results clearly show that vitreous levels of S100B, NSE and MDA and serum concentrations of NSE increase significantly in patients with PDR. Although, these parameters are correlated with the existence of neuronal damage, they are still far from revealing the extent of neuronal damage.

**Keywords:** Diabetic retinopathy, S100B, NSE, MDA

## GİRİŞ

Diabetik retinopati, gelişmekte olan toplumlarda özellikle 20-64 yaş arasındaki bireylerde görme kaybının önde gelen nedenleri arasında yer almaktadır (1). 2025 yılında, dünyada yaklaşık 300 milyon insanın diabetes mellitustan etkileneceği tahmin edilmektedir. Bu nüfusun yaklaşık %10'unda diabetik retinopatiye bağlı görme kaybı gelişeceği öngörülmektedir (2).

Diabetik retinopatiye görme kaybı farklı mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır. Erken evrelerde, vasküler permeabilitenin anormal artışı ile meydana gelen diabetik maküla ödemi en önemli etken iken; ilerleyen safhalarda, özellikle proliferatif diabetik retinopati (PDR) olgularda, iskemi, neovaskülarizasyon, vitreus hemorajisi, neovasküler glokom ve traksiyonel retina dekolmanı gelişimi körlüğe yol açan başlıca nedenlerdir (3-8).

Günümüzde uygun olgularda, görme kaybını engellemek için cerrahi yaklaşımlardan faydalanmak mümkündür. Özellikle pars plana vitrektomi (PPV) cerrahisi proliferatif diabetik PDR olgularında gelişen vitreus hemorajisi (VH), traksiyonel retina dekolmanı (TRD), yoğun premaküler hemoraji, ve hayalet hücre glokomu gibi endikasyonlarda etkin olarak kullanılmaktadır. Yine de diabetik olgularda PPV sonrasında, hangi hastada görsel prognozun kötü olacağını öngörmemizi sağlayabilecek objektif kriterler yeterince tanımlanamamıştır.

Retina, nöronal bir doku olması nedeniyle merkezi sinir sistemi (MSS) ile benzer mekanizmalar ve histopatolojik değişikliklere tabidir. Diabetin mikrovasküler komplikasyonları retina içerisinde nörodejeneratif değişikliklere ve metabolik strese yol açabilir. PPV sonrasında, retinadaki çekintilerin giderilmesi ve epiretinal membranların soyulması ile beklenen anatomi tekrar kazanılsa dahi, görmede arzulanan düzelme elde edilmeyebilir. Bu durumunun esas sorumlusu olarak diabete sekonder nörodejenerasyon görülse de, hasta bazında preop dönemde, oluşmuş nöronal hasarın boyutunun anlamak henüz mümkün olmamaktadır.

Son yıllarda nöronal hasar belirteci olabilecek farklı moleküller üzerinde çalışılmaktadır. Kültüre edilmiş nöronların sitotoksik ajanlara maruz kalmaları halinde,

nöronlardan nöron spesifik enolaz (NSE) salınımının olduğu, in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Araştırmalar sonucunda artmış NSE düzeyleri, nöron hücre hasarının miktarını belirlemede iyi bir belirteç olarak kabul edilmiştir (9). Bu mantık çerçevesinde uygun ortamdan alınmış numunelerdeki NSE ölçümünün, PDR olgularındaki gb. iskemik retinası olan bireylerde, nöronal hücrelerin genel hasarı hakkında fikir verebileceği düşünülebilir.

Yine nöronal hasar belirteci olarak kullanılacak bir diğer protein S100B'dir. MSS hücreleri yanında, retinal glial hücre olan Müller hücreleri ve retinal nöronal hücreler gb. retinanın çeşitli hücrelerinde tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalar S100B ölçümünün, merkezi sinir sisteminde makroskopik değişiklikler gelişmeden önce moleküler düzeydeki hasarını gösterebileceğine işaret etmektedir. Hatta serum ve beyin omurilik sıvısındaki (BOS) S100B konsantrasyonunun, nörodejeneratif hastalıklarda ve beyin hasarının akut fazında, fonksiyonel sonucun tahmin edilmesinde dahi kullanılacak bir biomarker olduğu vurgulanmıştır (10–17).

Nöronal hasar gelişiminde rol oynayabilecek bir diğer faktörün de oksidatif stress olduğu bilinmektedir (18). Oksidatif stress, glisemik kontrol sağlandıktan sonra bile yüksek seviyesini koruyabilen ve metabolik bellek görevi görebilen bir süreçtir (19). Bu metabolik bellek, normogliseminin restorasyonu ile dahi elimine edilemeyen, hasarlı moleküller ve reaktif oksijen türlerinin birikimini ifade eden bir özellik göstermektedir (20). Malondialdehit (MDA) özellikle biyokimyasal olarak kolay tayin edilebilen bir parametre olması dolayısıyla, lipid peroksidasyon düzeyini tespit etmekte tercih edilmektedir (21,22). Göz içi sıvılarda ve serumda MDA seviyesinin ölçümü ile retinanın uğradığı oksidatif stressin tespiti yapılabilir; bu yolla retinanın mevcut metabolik sağlığı hakkında bilgi elde edilebilir.

Bu prospektif çalışmada, PDR dolayısıyla PPV yapılan hastaların vitreus ve serum örneklerindeki S100B, NSE ve MDA konsantrasyonları ile ameliyat sonrasındaki anatomik ve fonksiyonel başarı arasındaki ilişkinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, PPV yapılması planlanan PDR'li olgulardan alınan vitreus ve serum örneklerindeki S100B, NSE ve MDA seviyeleri ile non-diabetik olgulardan alınan örnekler karşılaştırılmış ve postop dönemdeki klinik gidişat ile sonuçların ilişkisi değerlendirilmiştir.

## GENEL BİLGİLER

S100B:

S100 proteinleri, dimer yapıda asidik proteinlerdir ve kalsiyum bağlayıcı proteinlerin bir alt grubunu oluşturur. İlk olarak 1965 yılında sığır beyninden izole edilen S100 proteini; %100 amonyum sülfatta ve nötral pH'da çözündüğü için 'S100' olarak isimlendirilmiştir (23,24). S100 ailesi birbirinden farklı iki molekül olan S100 A ve S100 B'den oluşmaktadır. S100A veya S100B, alt birim konfigürasyonuna bağlı çeşitli alt tiplere sahiptir. Şu ana kadar S100A1, S100A2, S100A4, S100A16, S100B, S100G, S100P, S100Z vb. bu aileye mensup 24 üye tanımlanmıştır.

S100 ailesinin bir üyesi olan S100B, son yıllarda tıbbın pek çok branşında ilgi odağı haline gelmiş bir proteindir. 21kDA moleküler ağırlıklı ve 2 beta üniteden oluşan homodimer bir protein olan S100B'nin, özellikle sinir gelişimi ve onarımı yanında nörodejenerasyonunda da etkileri olduğu bilinmektedir. İki saatlik bir yarılanma ömrüne sahip olan S100B, hem serum hem de beyin-omurilik sıvısında ölçülebilmektedir (25). Serum S100B, böbrekler tarafından metabolize edilir ve idrarla atılır. Serumdaki seviyesi saatlerce sabit kalabilmektedir; hemolizden etkilenmemesi ve hemen santrifüjlenip dondurulmasının gerekmemesi nedeniyle ölçümü kolaydır. BOS'taki S100B konsantrasyonu serumdan 40 kat daha fazladır. BOS'daki S100 B konsantrasyonu da hemolizden etkilenmez ve stabil seyreder (26).

Fizyolojik şartlarda sağlıklı bireylerin kanında oldukça düşük düzeylerde S100B saptanırken, yaşlanma ile özellikle BOS'taki seviyesinin arttığı görülmektedir (27). Günümüzde pek çok patolojik durumda S100B'nin prognostik belirteç olarak kullanılabileceği görülmektedir; bu nedenle S100B üzerindeki araştırmalar her geçen gün artmaktadır.

S100B'nin çeşitli intrasellüler ve ekstrasellüler patofizyolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir. İnasellüler olarak hücre çoğalmasında ve diferensiasyonunda,



protein fosforilasyonunda, transkripsiyonda, kalsiyum homeostazisinde ve enzim aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynadığı ortaya konulmuştur (28). S100B'nin hücreler arası etkileşimde de rolü mevcuttur. Glial hücreler ve glial hücrelerle nöronlar arasındaki etkileşimi düzenler, sitokin benzeri aktiviteler gösterir ve sekretuar bir protein olarak davranır. Bu etkileri, ileri glikasyon son ürün reseptörleri (RAGE) aracılığı ile indüklenir. Genel anlamda astrositlerden S100B salınımı, oksijen ve glikoz azalması gb. metabolik stres faktörleri ile ortaya çıkar ve glutamat ile baskılanır (29,30). S100B'nin ekstrasellüler etkileri ise konsantrasyonuna bağlıdır. Nanomolar konsantrasyonlarda nöron büyümesini uyararak S100 proteini; nöron sağ kalımını artırır ve oksidatif strese karşı koruyucu rol oynar. Mikromolar konsantrasyonlarda ise yukarıda bahsettiğimiz trofik etkilerin aksine toksik özelliklerini gösterir. Mikromolar konsantrasyonlar özellikle enflamasyonu uyarır ve apoptozu indükleyerek nöron hasarına sebep olabilir (30,31). Bu etkileri interleükin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) veya tümör nekroze edici faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gibi pro-enflamatuvar sitokinler ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gibi enflamatuvar stres kaynaklı enzimlerin indüklemesi vasıtasıyla oluşur.

Yapılan çalışmalar, S100B'nin sinir sistemine (SS) spesifitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Nöronal dokular içerisinde en yoğun olarak serebral astrositlerde sentezlendiği gösterilmiştir (32,33). Ayrıca merkezi SS (MSS)'nin diğer hücrelerinde; oligodendrositlerde (34,35), ependim hücrelerinde (35), mikroglia hücrelerinde (36,37) ve kolinerjik nöronlarda da (38) eksprese edildiği bilinmektedir. Periferik SS'nde ise Schwann hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir (39). Literatürde, SS dışında kondrositler (40), adipositler (40,41), pituitar follüklostellat hücreler (42), melanositler (43), kardiyomyositler (44), Langerhans hücreleri (45), myoblastlar (46), iskelet kası myofibrilleri (47) ve olfaktor epitelyum (48) gibi birbirinden farklı dokularda da S100B'nin sekrete edildiği bildirilmektedir. S100B'nin hücrenin hem çekirdeğinde, hem de sitoplazmasında bulunduğu bilinmektedir (31,49,50,).

S100 proteinlerinin göz dokularının metabolizmasında da rol oynadığı gösterilmiştir. S100A1 özellikle fotoreseptör dış segmentlerine sınırlı bir dağılım gösterirken, S100B'nin göz içindeki dağılımının oldukça yaygın olduğu bilinmektedir. Daha önceleri Müller hücreleri, S100B sentezinde önemli bir ekstraserebral kaynak olarak kabul edilmekte idi ve göz içerisindeki tek kaynağın Müller hücreleri olduğu düşünülmekte idi (51, 52). Halbuki son yıllarda ortaya çıkan veriler, S100B'nin Müller

hücreleri yanında retina dış limitan membranı, dış nükleer tabakası, dış pleksiform tabakası, iç nükleer tabakası, ganglion hücre tabakası ve iç limitan membran gb. diğer katmanlarında da bulunabileceğini göstermektedir (17).

Günümüzde, S100B oldukça geniş bir klinik kullanım alanına sahiptir. Özellikle, MSS hasarında, doku boyutunda belirgin değişiklikler gelişmeden önce, S100B'nin kısa sürede yükselmesi; S100B ölçümlerini değerli kılmaktadır. Son yıllarda, serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) ölçülen S100B değeri, beyin hasarının akut fazında ve nörodejeneratif hastalıklarda fonksiyonel sonucun öngörülmesinde bir biyomarker olarak kullanılabilir hale gelmiştir (10-16). Pek çok çalışma, S100B'nin kan beyin bariyeri (KBB) ve MSS hasarının güvenilir bir göstergesi olduğunu göstermektedir (53,54). Akut iskemik inme başlangıcını takip eden 24 saat içerisinde ölçülen serum S100B seviyesinin, beyin hasarı ile kuvvetli ilişkisi olduğu bilinmektedir (10-12,35). Yine, subaraknoid kanamadan sonra BOS'taki S100B konsantrasyonunun beyin hasarının genişliği ile korele olduğu belgelenmiş ve klinik prognoz açısından anlamlı olduğu gösterilmiştir. S100B akut iskemik inme semptomlarının başlangıcından 2-4 gün sonra yükselir ve 24 saat içerisinde tepe değerine ulaşır (14,55). Travmatik serebral hasarda S100B'nin maksimuma ulaşma süresi akut inmeye göre daha uzundur. Hipoksik durumlar da travmaya benzer sonuçlar vermiştir (56).

Günümüzde serum S100B seviyeleri hafif kafa travması olan olgular içerisinde, daha ileri nöroradyolojik inceleme gerektirmeyen hastaların seçilmesi için dahi kullanılmaktadır. Çok sayıda çalışma ile bilgisayarlı tomografi verileri ve serum S100B değerleri kıyaslanmıştır. Bu çalışmalar, belli seviyenin (0.12 ng/mL) altında serum S100 seviyesi olan hastalarda belirgin nöroradyolojik değişiklik gelişimi ve ciddi klinik sekel gelişimi açısından riskin daha düşük olduğunu göstermektedir (57). Genel bilgi olarak, eritrositlerde S100B bulunmaz, ancak NSE bulunur. Bu nedenle, kardiyopulmoner bypass sırasında oluşan hemoliz, S100B'yi etkilemez ancak NSE düzeyinde artışa yol açar (58). NSE ile birlikte olsun veya olmasın, serumdaki ve BOS'taki S100B yükselmesinin kardiyak arrest sonrasında hastaların nörolojik prognozlarını tahmin etmek için kullanılabilirliği bildirilmektedir (59, 60). Geçtiğimiz yıllarda İde ve arkadaşlarının çalışmasında, karbon monoksit zehirlenmesini takip eden erken dönemde BOS'ta yüksek seviyede S100B tespiti halinde; kalıcı bitkisel hayat gelişme ihtimalinin artacağı yayınlanmıştır (61). Yine bazı çalışmalar, serum S100B'nin epilepsi nöbeti öncesinde yükseldiğini göstermektedir; bu verinin kan

beyin bariyerinin nöbet gelişiminin erken evresinde bozulduğuna işaret ettiği düşünülmektedir (62). Sen ve arkadaşları serum ve BOS S100B değerlerinin, MSS hasarının gösterilmesinde ve ilerleyen tahribatın takibi açısından, önemli tanısal değeri olduğunu vurgulamıştır. Hatta S100B'nin bu konudaki değerini sistemik enflamasyonu göstermede C-reaktif protein (CRP)'nin oynadığı rol ile kıyaslamıştır (16).

Serum ve BOS' tan ölçülen S100B konsantrasyonları diğer bazı hastalıklarda da tanısal ve prognostik belirteç olarak kullanılabilir. Jung ve ark. BOS S100B seviyesinin viral ile bakteriel menenjit ayırmada umut verici olduğunu bildirmiştir (63). 1980'lerden beri multipl skleroz hastalarının kan ve BOS örneklerinde S100B'nin yüksek olduğu bilinmektedir. Günümüzde, bu olgularda S100B; immünsüpresif tedavi gerekliliğinin takibi için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır (64,65). Yine, serum S100B seviyeleri nöromyelitis optica relapsını gösteren bir biomarker olarak kullanılabilir (66).

Diğer yandan, Falcone ve ark.'ları duygu durum bozukluğu ve şizofrenisi olan hastalarda serum S100B seviyesinin intihar eğilimini gösteren ek bir veri olduğunu belirtmektedir (67). Ayrıca, Alzheimer hastalarında ve Down sendromu olan olguların serum ve BOS numunelerinde S100B yükselmektedir (68). Parkinson hastalığı (69), majör depresyon (69), kronik epilepsi (70), Jakob- Creutzfeldt hastalığı (69), akut ensefalomyelit (69) ve multipl myelom (69) varlığında S100B'nin arttığı görülmektedir. Yapılan çalışmalar, S100B'nin öğrenme ve hafızada rol oynayabileceğini göstermektedir (71). Fetal hayattaki sinir sisteminin gelişimini izlemede S100B'nin değerli katkıları olabileceği öngörülmekte ve pediatrik yoğun bakımlarda kullanımı önerilmektedir (72, 73).

Ayrıca, S100B p53 proteini ile etkileşerek bu proteinin tümör baskılayıcı etkinliğini azaltmaktadır (74). Malign melanom evrelemesi, prognoz tahmini, tedavi değerlendirilmesi ve nükslerin yakalanmasında S100B takibi oldukça faydalıdır (75). Astrositoma, glioblastoma gibi intrakranial tümörlerde de S100B artmaktadır (69,76). Benzer şekilde, schwannoma, melanoma ve nöroblastoması olan olgularda S100B salınımının arttığı bildirilmektedir (77).

Uzun bir süre S100B'nin sinir sisteminde glial hasarı gösteren bir protein olduğu düşünülmüştür. Halbuki yukarıda özetlenen veriler ve göz hastalıkları ile S100B'nin ilişkisinin bulunması, S100B'nin düşünülen daha geniş bir kapsamı olan bir biomarker olduğunu kanıtlamaktadır. S100B'nin göz hastalıkları ile olan

ilişkisi 2012'de grubumuz tarafından da gösterilmiştir. Bu çalışmada, yırtıklı retina dekolmanı olan olguların subretinal sıvısında S100B'nin yüksek miktarlarda bulunduğunu ilk defa gösterilmiştir. Subretinal S100B'nin retina dekolman süresi ile anlamlı ilişkisi bulunmuş ve S100B seviyesinin nöronal retina hasarını gösterdiği düşünülmüştür (28).

#### NSE:

İlk olarak 1965 yılında Moore ve McGregor tarafından tanımlanan bu protein, nöronlara özgü olduğu düşünülerek nöron spesifik protein olarak isimlendirilmiştir (77,78). İlerleyen yıllarda, enolaz etkinliğinin gösterilmesi üzerine nöron spesifik enolaz (NSE) olarak literatüre girmiştir (79,80).

NSE günümüzde, glikolitik bir enzim olan enolazın (EC 4.2.11) hücreye spesifik izoenzimi olarak bilinmektedir. Enolaz, 2- fosfogliseratı, fosfoenol pirüvata çeviren glikolitik bir enzimdir. Bu enzim dimer şeklinde olup;  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  olmak üzere üç farklı alt üniteden oluşmaktadır. NSE'nin merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin nöronal hücreleri yanında nöroendokrin hücrelerde de bulunabildiği bilinmektedir. Dimerik  $\alpha\alpha$  formu glial hücrelerde mevcut iken,  $\gamma$  formu özellikle nöroektodermal doku ve nöronlarda lokalize olmaktadır.  $\alpha\alpha$  formu, glial hücreler için spesifik olduğundan nonnöronal enolaz (NNE) şeklinde de isimlendirilmiştir (81-83). Günümüzde, NSE terimi  $\alpha\gamma$  ve  $\gamma\gamma$  formlarını kastetmektedir (9).

NSE, her tür nöronun belirteci olma özelliği yanında, nöroendokrin ve paranöronal hücreleri de gösteren bir belirteç olarak kullanılabilir. NSE, nöronal farklılaşmanın geç evresinde ortaya çıktığı için; nöronal maturasyona işaret eden bir indeks olarak da görev yapmaktadır. İnsan NSE proteini, bulunduğu bölgeye göre değişiklik göstermekle birlikte tüm beyinin çözünebilir proteinleri içerisinde %0,4-2,2'ni oluşturmaktadır. Bazı nöronlarda NSE tüm çözünebilir proteinlerin %3-4'ne tekabül eder ki bu NSE' nin nöronal ve nöroendokrin hücreler için bir klinik belirteç olarak kullanımına olanak tanır. Bu miktardaki enzim, katalitik fonksiyon için gerekli olan miktarın çok daha üstünde görünmektedir.

İmmün boyama teknikleri ile NSE; granül hücreleri, Purkinje hücreleri, projeksiyon nöronları, duysal ve otonomik nöronlar dahil tüm nöronlarda gösterilmiştir. NSE pek çok normal hücrede de varlığı gösterilen bir proteindir. Pinealositler, pituitar glandüler hücreler ve peptid-salgılayıcı hücreler, tiroid parafoliküler hücreleri, adrenal medulla kromafin hücreleri, Langerhans adacık

hücreleri, akciğerin nöroendokrin hücreleri ve eritrositler buna örnek olarak verilebilir. Bu hücrelerde NSE'nin artmış ekspresyonu ve serumda artmış NSE seviyeleri, bu dokulardaki malign dönüşüme işaret ediyor olabilir. NSE'nin vücut sıvılarındaki yarı ömrü yaklaşık 24 saattir. NSE'nin nöronlardaki ve nöroendokrin hücrelerdeki özgün mevcudiyeti sayesinde, NSE'nin serum, BOS veya idrarda ölçülen seviyesindeki değişimler ile, bu dokulardaki değişen metabolik aktivite veya bozulan doku döngüsü tanımlanabilir. Yine histokimyasal olarak NSE'nin biopsi materyallerinde tespiti ayırıcı tanıda faydalı olabilmektedir.

Deneysel çalışmalar, travma ve iskemik beyin hasarını takiben BOS'ta önemli miktarda NSE artışı olduğunu göstermektedir (9). Yine inme, kafa travması, multipl skleroz, Alzheimer hastalığı ve epileptik nöbet gibi MSS'i ilgilendiren majör durumlarda BOS NSE düzeyleri ciddi şekilde yükselmektedir (84). Pek çok çalışma S100B'de olduğu gb. NSE'nin de özellikle iskemik serebrovasküler hastalıklarda, iskemik hasarı kantitatif olarak gösteren bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (13,85-89). Hatta klinik olarak nörolojik belirti ve semptom gelişmeyen olgularda, serebral hasar oluşmadan mikroemboli ve kompleman aktivasyonu sonucu geçici NSE yükselmeleri olabildiği bildirilmektedir.

NSE'nin bilişsel fonksiyonların değerlendirilmesindeki rolü üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Kardiyopulmoner bypass sonrası hastanın kognitif fonksiyonlarını değerlendirmek için hastalara yapılan nörofizyolojik testlerle, serum NSE değerleri arasında yakın ilişki olduğu ortaya konmuştur (90-94). Komadaki hastaların günlük nöronal progreslerini takip etmek için günlük NSE ölçümleri yapılabilmektedir. PROPAC çalışmasında 231 hastanın %60'ında kardiyopulmoner resüsitasyon sonrası birinci-üçüncü günlerde serum NSE düzeyi > 33 µg/L olup bunların hepsinde prognozun kötü olduğu saptanmıştır (95).

NSE'nin bir diğer kullanım alanı yukarıda bahsedildiği üzere tümör markeri olarak kullanılabilme potansiyelidir. Özellikle küçük hücreli akciğer kanseri, nöroblastom, retinoblastom, tiroit medüller kanseri, pankreas adacık hücreli kanseri, karsinoid tümör, feokromasitom, malign melanom ve seminomda klinik olarak önem arz eder (96,97). NSE küçük hücreli bronşiyal karsinomun takibinde en güvenilir biomarker'dır. Organla sınırlanmış olguların %14'ünde ve metastaz yapan renal karsinomların %46'sında NSE konsantrasyonları tümörün evresi ile bağıntılı olacak şekilde yükselme gösterir (97,98).

NSE, nöroendokrin doku ve nöronların dışında trombosit ve eritrositlerde de

bulunur. Hemoliz ile açığa çıkabilir. Bu sebeple ölçüm yapılacak hastaların kan örneklerinde hemolizden kaçınılmalıdır. Ayrıca hiperlipemi ve hiperbilirubinemi ile NSE düzeyleri etkilenebilir. Nörospesifitesi nedeniyle enolazın  $\gamma$  izoformu özellikle ilgi alanındadır.  $\alpha$  izoformu eritrositlerde bol olduğundan hemolizin plazmada NSE düzeyini belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir (99,100,101). Proton pompa inhibitörleri, hemolitik anemi, karaciğer yetmezliği ve son dönem böbrek yetmezliğinde NSE seviyesi suni olarak artış gösterebilir.

Günümüzde özellikle nöronal hasar ve yarattığı etki ile ilgili yapılan çalışmalarda NSE ve S100 izoformlarının birlikte ölçüldüğü görülmektedir. Serum ve BOS'da NSE ve S-100 proteinlerinin birlikte ölçümü özellikle hasara uğrayan dokuların daha çok glial mi nöronal mi olduğunun belirlenmesinde faydalı olabilir. Ayrıca, hastalıkların ayırıcı tanısında ve hastalık saptanmasında önemli yeri vardır. Yine, ilgili dokudaki hasarın büyüklüğü ve uygulanacak tedavi stratejisinin belirlenmesinde ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde değerli bilgiler vermesi bu kombinasyonun tercih sebeplerindedir (102).

NSE, diabetik olgularda da değerli bilgiler sunabilmektedir. Bilindiği üzere, erken diabetik retinopati nörodejeneratif komponenti olan nörovasküler bir hastalıktır (103,104). Bu nedenle, NSE'nin retinopatide sinir defektlerini gösteren bir biomarker olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (105). DR'de gelişen hiperglisemiye bağlı intramural perisit kaybı ve bazal membran kaybı damar duvarlarının stabilizasyonunu bozmakta ve damar geçirgenliğinin artmasına sebep olmaktadır. Kan retina bariyerinin bozulması ekstrasellüler sıvı toplanması ile ödeme ve nöronal hücre kaybına yol açar (106).

Retinopati gelişimi esnasında iskemi veya hipoksiye bağlı oksidatif stresle ilişkili retinal değişiklikler oluşabilir. İskemi ve hipoksi durumlarında gerekli enerjinin karşılanması ve nöronal hayatiyetin korunması için oksidasyon yoluyla NSE gb. pek çok glikolitik enzim indüklenir. Strese kronik maruziyete sekonder sinir hasarını takiben NSE kana salınır (107, 108).

Özellikle erken evrelerde nörodejenerasyon, nörorejenerasyonu takip eder. Bu esnada etkilenen nöronlarda enolaz sentez hızı ve kana NSE karışması değişime açıktır. Bu nedenle NSE'nin; diabete bağlı nöroretinal hasarı ve sinir kaybını gösterip göstermediğinin incelenmesi yoluyla NSE'nin bu konudaki biomarker olabilme potansiyeli değerlendirilmek istenmiştir. NSE ve retinopati arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar oldukça azdır (109,110).

MDA:

Vücutta oksidatif ve antioksidatif sistemler arasında hassas bir denge bulunmaktadır (111). Normal hücresel metabolizma sürekli serbest radikal üretir; bu serbest oksijen radikalleri sahip oldukları paylaşılmamış elektronlarından dolayı kimyasal olarak oldukça reaktif moleküllerdir. Serbest oksijen radikalleri üretimi ve antioksidatif savunma mekanizması arasındaki denge bozulduğunda, serbest oksijen radikallerinde artış meydana gelir. Vücut oluşan serbest radikallerin % 95'ni metabolizma için kullanırken, % 5'ini de reaktif oksijen ürünlerine dönüştürür. Reaktif oksijen ürünleri çift yönlü çalışabilir; redoks işlemlerinde mesajcı olarak da çalışabilir, normal hücre sinyalleşmesini de zedeleyebilir. Oluşan fizyolojik serbest oksijen radikalleri esasen antioksidatif savunma mekanizmaları ile nötralize edilir (112). Ancak diabetik retinopati gb. patolojik durumlarda reaktif oksijen ürünleri yapımı ve detoksifikasyonu arasındaki denge bozulur (113).

Reaktif oksijen ürünleri organizmanın normal homeostazis sürecinde meydana geldiği gibi çeşitli dış etkenler ile de oluşabilir. Dış etkenler arasında, enfeksiyonlar, enflamasyon, ateroskleroz, karsinogenez, diyabet, oksijen toksisitesi, post-iskemik reperfüzyon hasarı ve radyasyon sayılabilir. Öte yandan Parkinson (114), Alzheimer (115), Duchenne kas distrofisi (116) gb. nörolojik hastalıklar, katarakt (117), psöriazis (118), romatoid artrit (119), osteoporoz (120) gb. durumlarda da oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. Travmatik beyin hasarı olan olguların serumlarında kontrol olgularına göre belirgin MDA yüksekliği olduğu yayınlanmıştır (121, 122). Yine ciddi travmatik beyin hasarı olan olgularda MDA seviyeleri ile mortalite arasında belirgin ilişki saptanmıştır (123).

Serbest oksijen radikallerinin artışı hücre membranındaki poliansatüre yağ asidlerinin yıkılmasına (lipit peroksidasyonuna) veya protein, karbonhidrat ve nükleik asitleri de oksidasyona uğratarak oksidatif strese neden olur. Lipit peroksidasyonu membran yapısında değişikliklere, membran fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Göz içerisinde bu mekanizmalar; diabetik retinopati, katarakt, glokom gibi durumların patofizyolojisinde rol oynamaktadır. Lipid peroksidasyonu sağlıklı dokularda oldukça düşük düzeylerde seyrederek (124). Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun son ürünüdür (125). MDA yalnızca lipit peroksidasyonu ile oluşan ve lipit oksidasyonu değişikliklerine bağlı konsantrasyonunda değişiklikler gösteren bir moleküldür (125,126). Serumda MDA düzeyinin ölçümü, in vivo olarak serbest

oksijen radikallerinin aracılık ettiği doku hasarının ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (124,127).

MDA seviyesi proliferatif diabetik retinopatisi (PDR) olan olgularda hem non-proliferatif diabetik retinopatisi olan olgulara hem de sağlıklı olgulara göre belirgin şekilde artmaktadır (128,129). Bu bulgu lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin diabetik retinopati progresyonuna işaret etmedeki rolünü göstermektedir. Diabette dolaşımda mevcut olan yüksek glukoz, oksidatif stresin artışı ile ilişkilidir. Poliansature yağ asitlerinden zengin olan retina, yüksek glukoz oksidasyonu ve oksijen alımı dolayısıyla da diabetteki artmış oksidatif stresin hedefi haline gelmektedir (130). Artmış oksidatif stress, diabetin mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarının gelişiminden sorumlu olarak gösterilmektedir. Hücre kaybı, hemodinamik ve yapısal değişiklikler ve bazal membran kalınlaşması gb. mikrovasküler anomaliler oksidatif stress ile ilişkilendirilmektedir (131-136).

Oksidatif stresin DR patogenezindeki önemi göz önüne alındığında; epidemiyolojik olarak oksidatif stresi gösteren güvenilir ve ulaşılabilir belirteçler, DR şiddetini ve prognozunu gösterebilecek değerli ölçütler olarak değerlendirilir.

Günümüze değin DR'de oksidatif stersin etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar, in vitro çalışmalar veya hayvan deneyleri olmuştur. Bazı kesitsel çalışmalarda DR'de insan serum ve vitreusunda yüksek seviyede lipid peroksid (LPO) ve malondialdehit tespit edilmiştir (5,129).

Özellikle serum LPO seviyesi ile vitreus LPO seviyesi arasında anlamlı ilişki gözlenmiştir. LPO seviyesi ile vazoendotelyal büyüme faktörü (VEGF) arasında korelasyon izlenmiş ve LPO'nun DR şiddetini gösteren bir ölçüt olabileceği öne sürülmüştür (5).



## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu prospektif çalışmaya Eylül 2014-Ekim 2015 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda muayene edilip, PPV cerrahisi yapılan, 76 hastanın (47 erkek, 29 kadın) 76 gözü çalışmaya dahil edilmiştir.

Bu çalışmaya 18-80 yaş aralığındaki olgular dahil edilmiştir. Çalışma grubu PDR tanısı ile PPV yapılan 56 hastanın 56 gözünden oluşmakta idi. Çalışma grubundaki olgular tip 1 veya tip 2 diabetes mellitusa (DM) sekonder komplikasyonlar dolayısıyla PPV uygulanan olgulardan oluşmakta idi. Cerrahi müdahale gerektiren bu komplikasyonlar içerisinde; 3 aydan uzun süredir mevcut olan ve gerilemeyen vitreus hemorajisi, görmeyi azaltan arka hyaloid traksiyonu ve/veya kalınlaşması ve traksiyonel retina dekolmanı (TRD) bulunmakta idi. Kontrol grubu ise DM tanısı olmayan 20 olgunun 20 gözünden oluşmakta idi. Kontrol grubuna en iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EİDGK) ETDRS eşelinde < 0,5 altında olan tam kat makula deliği ve epiretinal membran gb. vitreoretinal yüzey bozukluğu tanısı alan olgular dahil edilmiştir.

Bu çalışmaya daha önce komplikasyonsuz katarakt cerrahisi dışında göz içi cerrahisi geçiren olgular ve retina dekolmanı tanısıyla çökertme cerrahisi yapılan olan olgular alınmamıştır. Yine, yaşa bağlı makula dejenerasyonu, retinal arter veya ven tıkanıklığı gb. diğer retinal hastalıkları dolayısıyla tanı alan olgular çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmada ölçümü yapılan S100B, NSE ve MDA parametrelerini etkileyebilen sistemik hastalıklara sahip olgular çalışmadan dışlanmıştır. Özellikle merkezi sinir sistemi (MSS) hasarı geçirmiş olgular, Alzheimer hastalığı, Down sendromu, şizofreni, schwannoma, melanom ve nöroblastom gb. S100B yüksekliğine sebep olabilecek durumları olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Serum NSE seviyesini etkileyen hemolitik anemi gb. hemolize sebep olabilecek durumları olan olgular çalışma dışında bırakılmıştır. Koroner arter hastalığı, periferik vasküler hastalıklar gibi diabetes mellitusun makrovasküler komplikasyonlarına sahip olan hastalar, antioksidan vitamin ve mineral takviyesi alanlar, lipid düşürücü ilaçlar kullananlar olgularda MDA seviyelerinde değişiklikler yaşanabileceği için çalışma dışında tutulmuşlardır.

Bu çalışma Helsinki beyannamesinin ilkelerine uygun şekilde ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 17 şubat 2015 tarihli ve 2015-4/7 sayılı onayı ile yürütülmüştür. Tüm hastalara, çalışmanın amacı ve yöntemi ile ilgili olarak detaylı açıklamalarda bulunulmuş, hastalardan gerekli yazılı ve sözlü onamlar alınmıştır.

Çalışmaya katılan tüm olgulara PPV cerrahisi öncesinde kapsamlı göz muayenesi yapılmıştır. EİDGK ölçümünü takiben, biyomikroskopik ön segment muayenesi ve dilatasyonlu fundus muayenesi yapılmıştır. EİDGK; Diyabetik Retinopati Erken Tedavi Çalışma grubu (ETDRS) eşeli kullanılarak ölçülmüş, görme asgari açı çözünürlüğünün logaritması (logMAR) olarak kaydedilmiştir. Preop muayenede olguların tanısı, lens durumu, vitreus hemorajisi olup olmadığı, TRD mevcudiyeti, eşlik eden yırtıklı retina dekolmanı varlığı, TRD'nin makulayı etkileyip etkilemediği, makulayı etkilemeyen makula dışı TRD olup olmadığı ve optik sinirden başlayıp vitreusa uzanan fibrovasküler proliferasyonu (FVP) mevcudiyeti ve şiddeti kaydedilmiştir. PPV gerektiren cerrahi endikasyonun, geçmeyen vitreus hemorajisi, arka hyaloid traksiyonu ve/veya kalınlaşması ve traksiyonel retina dekolmanı (TRD) başlıklarından hangisi ile uyumlu olduğu kaydedilmiştir. Optik sinir başı ile bağlantılı fibrovasküler proliferasyonun şiddeti, perop cerrah (ÖY) tarafından, subjektif olarak 0-4 arasında sınıflandırılmıştır. Fibrovasküler proliferasyonu olmayan olgular 0 olarak kaydedilirken, vitreusa uzanan ve komşu retinada ayrılmaya yol açan ağır fibrovasküler proliferasyon 4 olarak not edilmiştir.

Bu çalışmada olguların preop 2-3 haftalık periyottaki ortalama kan glukoz konsantrasyonunu yansıtan preop serum fruktozamin seviyeleri de ölçülmüştür. Fruktozamin ölçümlerinin, serum ve vitreustan ölçülen S100B, NSE ve MDA seviyeleri ile ilişkisi incelenmiştir. Çalışmanın bir diğer amacını serum ve vitreustan ölçülen S100B, NSE ve MDA seviyeleri ile postop görme seviyeleri ve klinik durumun karşılaştırılması teşkil etmekte idi. Bu yolla serum ve vitreus S100B, NSE ve MDA seviyelerinin klinik durum ile ilişkisinin araştırılması hedeflenmekte ve postop durumu öngörme yetkinliğinin olup olmadığının incelenmesi hedeflenmektedir.

Çalışmamızda rutin olarak tüm olguların ameliyat sonrası 1. hafta, 1. ay, 3. ay ve 6. aydaki muayene verileri incelenmiştir. Çalışmada takip dışına çıkan olgular bulunması nedeniyle preop veriler ile postop 6. aydaki veriler karşılaştırılarak

sunulmuştur. Ayrıca yukarıda anılan preop serum fruktozamin seviyesi ile serum ve vitreusstan ölçülen S100B, NSE ve MDA seviyelerinin perop cerrahi özellikleri ile olan ilişkisi de incelenmiştir. İncelenen perop parametreler arasında cerrahi esnasında fakoemülsifikasyon gerekip gerekmediği, diabetik membranektomi yapılıp yapılmadığı, perop internal limitan membran (ILM) soyulup soyulmadığı yer almakta idi. Yine, ameliyat sırasında komplikasyon gelişip gelişmediği, cerrahi sonunda intraoküler silikon konulup konulmadığı, postop 6. ayda retinanın yatışık olup olmadığı araştırılmıştır.

Bu çalışmada izlenen yöntem gereği, tüm olgulardan ameliyata girmeden önce damar yolu açılırken serum örnekleri alınmıştır. Bu işlem esnasında yaklaşık 5 ml kan örneği alınmıştır. Örnekler içinde EDTA bulunan numune şişelerine konulup, hemolizden etkilenmesini önlemek için derhal 1200 x g'de santrifüjlenmiştir. Vitreus örnekleri ise PPV başlangıcında, 23 gauge pars plana trokarların takılmasını takiben alınmıştır. Vitreus numunelerinin dengeli tuz çözeltisi (BSS) ile karışmasını engellemek amacıyla, örnek alınması işlemi infüzyon hattı açılmadan gerçekleştirilmiştir. Durumu gereğince katarakt ile kombine PPV yapılması gereken olgularda, vitreus örneği fakoemülsifikasyon öncesinde alınmıştır. Vitreus aspirasyonu için vitrektomi probunun aspirasyon hattına bağlanan 3 cm<sup>3</sup> lük şırınga ile kullanılmıştır. Aspirasyon ile örnek toplanması işlemi, kuru vitrektomi esnasında elle vakum yapılması şeklinde uygulanmıştır. Tüm prosedürler aynı vitreoretinal cerrah (ÖY) tarafından gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemi takiben ayrılan serum ve cerrahi esnasında alınan vitreus örnekleri öncelikle + 4 ° C'lik buzdolabında depolanmış, mümkün olan en kısa zamanda -80° C derin dondurucuya taşınmış ve analize kadar bu ortamda saklanmıştır.

Bu çalışmada, serum ve vitreus örneklerindeki S100 B, NSE ve MDA ölçümleri UÜTF Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda çalışılmıştır. Serum fruktozamin analizi ise UÜTF Biyokimya laboratuvarında yapılmıştır. Önceden dondurulan örneklerin analizi için ilgili numuneler oda sıcaklığında çözdürülmüş ve gerektiğinde tekrar santrifüj işleminden geçirilmiştir. S100B, NSE ve MDA ölçümü tüm olguların vitreus ve serumunda yapılırken, fruktozamin doğal olarak sadece serum örneklerinde çalışılmıştır. Ön çalışmalardan elde edilen veriler ışığında, S100 B ölçümleri serum ve vitreus örnekleri dilüe edilmeden yapılmıştır. İşlemden önce 100 µl serum veya vitreus örneği kullanılarak protein S100B miktarı S100 proteinin β -alt-

birimi için spesifik olan enzim immunoassay test kiti (DIA METRA S.r.l.- Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO, İtalya) kullanılarak saptanmıştır. Bu aşamada S100B proteinin  $\beta$  alt biriminin hem  $\beta\beta$ , hem de  $\alpha\beta$  izoformlarının konsantrasyonları ölçülmüştür. Serum ve vitreus NSE düzeyleri ise, dilüsyon kullanılmadan ticari ELISA kiti aracılığı ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Protein NSE miktarı, NSE proteinin  $\gamma\gamma$  izoformu için özel olan enzim immunoassay test kiti (DIA METRA S.r.l.- Via Pozzuolo 14, 06038 SPELLO, İtalya) kullanılarak saptanmıştır. Nörospesifitesi nedeniyle enolazın  $\gamma\gamma$  izoformu özellikle çalışılmıştır. Serum ve vitreus MDA düzeyleri, tiyobartitürik asit yöntemine uygun olarak ölçülmüştür. Bunun için 200  $\mu$ l örnekler, % 10'luk eşit miktarda trikloroasetik asit eklenmiş ve dakikada 10.000 dönüş hızı ile 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantın 200  $\mu$ l'si alınarak üzerine eşit miktarda tiyobarbitürik asit eklenmiş ve 100 °C'de 60 dk. bekletilmiştir. Ardından soğutulan örnekler 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Bu işlemde standart olarak 1.1.3.3 tetrametoksi-propan çözeltisi kullanılmıştır. Serumdaki fruktozamin düzeyleri ise 548 nm fotometri ile formazan metodu kullanılarak ölçülmüştür.

Çalışmada elde edilen değerler ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiş olup, sonuçların anlamlılığı one-way ANOVA ve two-way ANOVA varyans analizi sonrası Tukey-Kramer çoklu karşılaştırma testi ve Student's t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Spearman ve Pearson korelasyon katsayısı testleri sonuçları karşılaştırmak için kullanılmıştır. Bu çalışmada  $p < 0.05$  değeri anlamlı farklılık olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

Bu prospektif çalışmaya Uludağ Üniversitesi Göz Hastalıkları Kliniğinde vitreoretinal cerrahi yapılan 76 hasta dahil edilmiştir. Çalışma grubu, PDR nedeniyle PPV yapılan 56 olgudan oluşmakta idi. Olguların 23'ü (%42) kadın, 33'ü (%58) erkek olup ortalama yaşları  $56,7 \pm 1,2$  yıl idi. Kontrol grubu ise ortalama yaşları  $67,2 \pm 3,5$  yıl olan 6'sı (%30) kadın, 14'ü (%70) erkek, toplam 20 olgudan oluşmakta idi. Kontrol grubunda tam kat makuler delik ve epiretinal membran gb vitreoretinal yüzey bozuklukları nedeniyle PPV yapılan olgular bulunmakta idi. Gruplar arasında yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamakta idi ( $p < 0,05$ ).

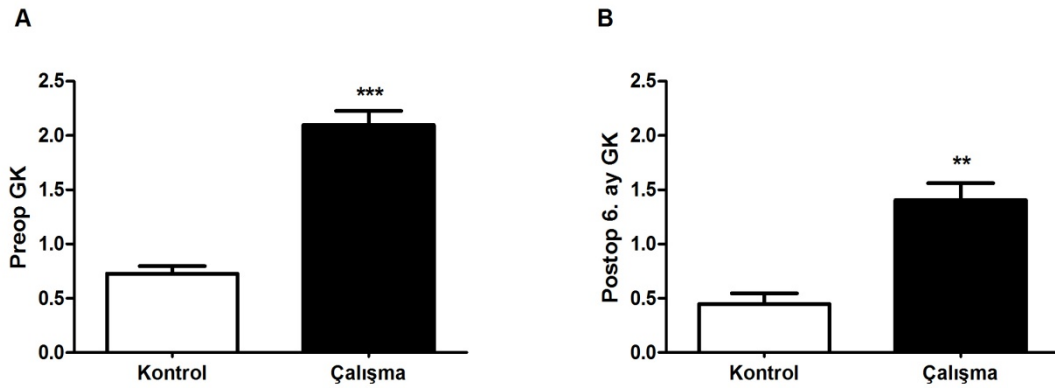
Çalışma grubuna alınan 56 olgu değerlendirildiğinde olguların 43'ünün (%76,8) preop fakik, 12'sinin (%21,4) psödo fakik, 1 hastanın (%1,8) da afakik olduğu görülmüştür. Fakik hastaların 21'ine (%48,8) perop fakoemülsifikasyon yapılmıştır. Beş olguya (%8,9) perop kanama gelişimini engellemek için PPV'den 1-10 gün öncesinde bevacizumab enjeksiyonu yapılmıştır. Kontrol grubundaki olguların ise 15'i (%75) preop fakik, 5'i (%25) psödo fakik idi. Fakik hastaların 13'üne (%86,6) perop fakoemülsifikasyon yapılmıştır.

Perop çalışma olgularının 36'sında (%64,2) vitreus hemorajisi olduğu, 32 hastada (%57,1) traksiyonel retina dekolmanı (TRD) olduğu tespit edilmiştir. TRD olan olguların 26'sında (%81,2), yani tüm çalışma grubunun %46,4'de, arka polü içine alan TRD mevcut idi. Çalışma grubunda yer alan ve arka polü içine alan TRD olgularının 3'ünde (%11,5), TRD'na eşlik eden tam kat makuler hole görülmekte idi. Çalışma grubundaki 5 olguda (%8,9) TRD ile kombine yırtıklı retina dekolmanı mevcut idi; bu oran TRD olan olguların % 15,6'sına denk gelmekte idi. Çalışma grubundaki 40 (%71,4) olguda, optik sinir başı ile bağlantılı fibrovasküler proliferasyon bulunmakta idi. Tüm çalışma olguları bu açıdan değerlendirildiğinde, çalışma grubunda ortalama fibrovasküler proliferasyon ağırlığının  $1,429 \pm 0,155$  birim olduğu görülmektedir.

Çalışma grubundaki olgularda perop yapılan cerrahi manüplasyonlar incelendiğinde, 40 (%71,4) olguda membranektomi yapıldığı, membranektomiye rağmen retinası yeterli gevşemeye uğramayan 19 (%33,9) olguda ayrıca internal limitan membran (ILM) soyulduğu görülmektedir. Çalışma grubundaki olguların

24'ünde (%42,8) postop retina dekolmanı gelişmesini engellemek için cerrahi sonlandırılmadan önce tamponad kullanılmıştır. Bu olguların 23'üne (%41,07) silikon verilmiş, 2'sine (%3,57) %14 C3F8 gazı verilmiştir. Çalışma grubunda perop 8 (%14,2) hastada komplikasyon gelişmiştir. Bu komplikasyonlardan 3'ü (%37,5) iatrojenik retinal yırtık gelişimi, 2'si (%25) fakik hastalarda kristalin lense temas, 3'ü ise fakoemülsifikasyon esnasında arka kapsül rüptürü şeklinde olmuştur. Bu oranının tüm komplikasyonlar içerisindeki payının %37,5; fakoemülsifikasyon yapılanlar içerisindeki oranın %14,2 olduğu görülmektedir. Kontrol grubunda perop komplikasyon gelişmemiştir.

Tüm sonuçlar incelendiğinde çalışma grubunda ortalama preop GK  $2,096 \pm 0,129$  logMAR iken kontrol grubunda ortalama preop GK  $0,7263 \pm 0,07$  logMAR idi. Bu 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmakta idi ( $P < 0,0001$ ). Ortalama takip süresi çalışma grubunda  $7,66 \pm 0,456$  ay olup kontrol grubunda ise  $7,06 \pm 0,789$  ay idi. Postop 6.aydaki GK çalışma grubunda  $1,402 \pm 0,159$  logMAR iken kontrol grubunda  $0,4462 \pm 0,098$  logMAR idi. Her 2 grup arasında postop 6.ay görme GK açısından anlamlı fark mevcut idi ( $p < 0,01$ ).

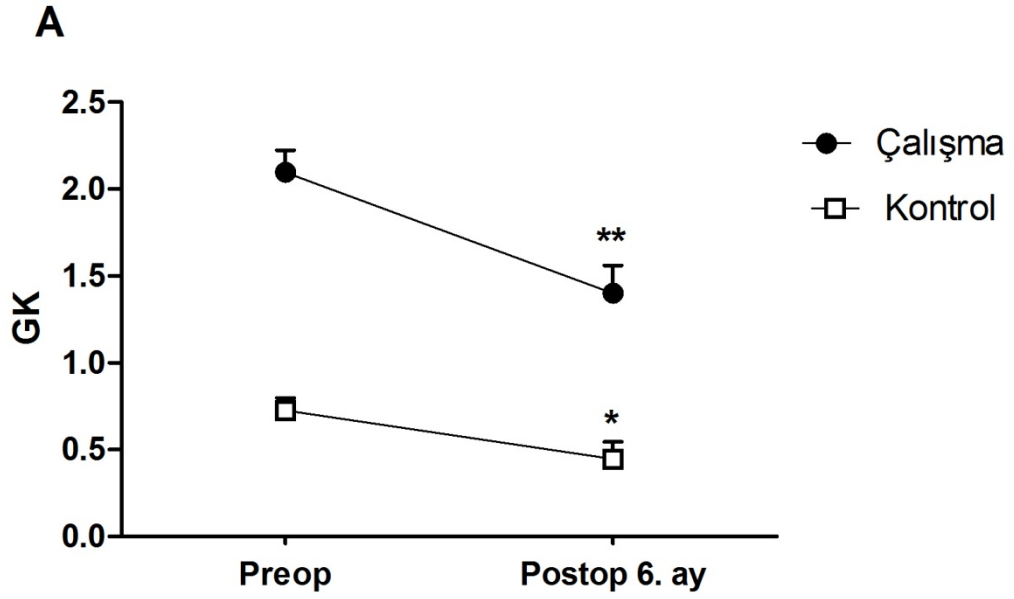


Şekil-1: Çalışma grubunda ve kontrol grubundaki preop GK'lerinin ve postop 6. aydaki GK'lerinin durumu. Çalışma grubu ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın değeri çalışma grubu üzerinde \*\*  $p < 0,01$  ve \*\*\*  $p < 0,001$  değeri olarak sunulmaktadır.

Çalışma grubu olgularından 56 hastadan 55'inde (% 98,21) post op 6. ayda retina yatışık idi; 1 hastada (%1,79) post op 6. ayda tüm müdahalelere rağmen persistan retina dekolmanı olduğu izlendi.

Görme keskinliklerindeki değişim incelendiğinde; bekleneceği üzere çalışma grubunda preop GK ile postop 6.ay GK arasında istatistiksel olarak anlamlı

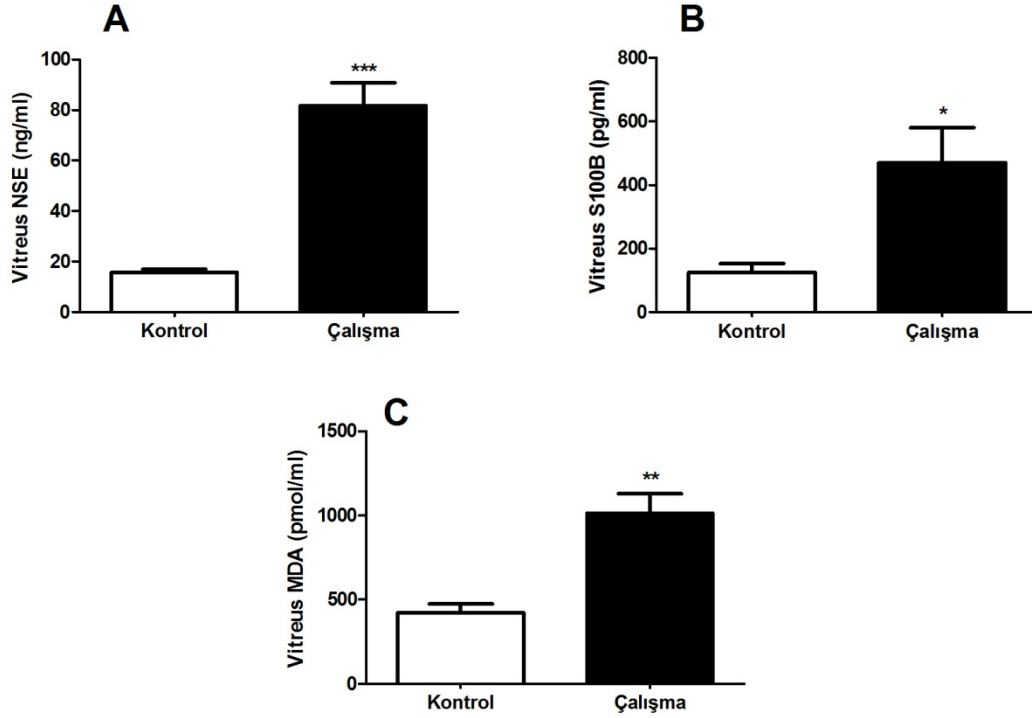
fark saptandı ( $p < 0,01$ ). İstatistiksel değerlendirmede kontrol grubunda preop GK ile postop 6.ay GK arasında anlamlı fark mevcut idi ( $p < 0,05$ ). Ancak NSE, S100B ve MDA sonuçlarında yükseklik veya düşüklük tespit edilen hastaların GK'leri incelendiğinde; bu parametreler ile preop veya 6. ay GK'leri arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.



Şekil-2: Çalışma grubunda ve kontrol grubunda preop ve postop 6. ay GK'lerinin durumu. Çalışma grubu ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farkın değeri \*  $p < 0,05$  ve \*\*  $p < 0,01$  değeri olarak sunulmaktadır.

Çalışmamızda, çalışma grubu ve kontrol grubu olgularından alınan serum ve vitreus örneklerinde NSE, S100B VE MDA konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Elde edilen değerler aşağıda sunulmaktadır (Tablo 1).

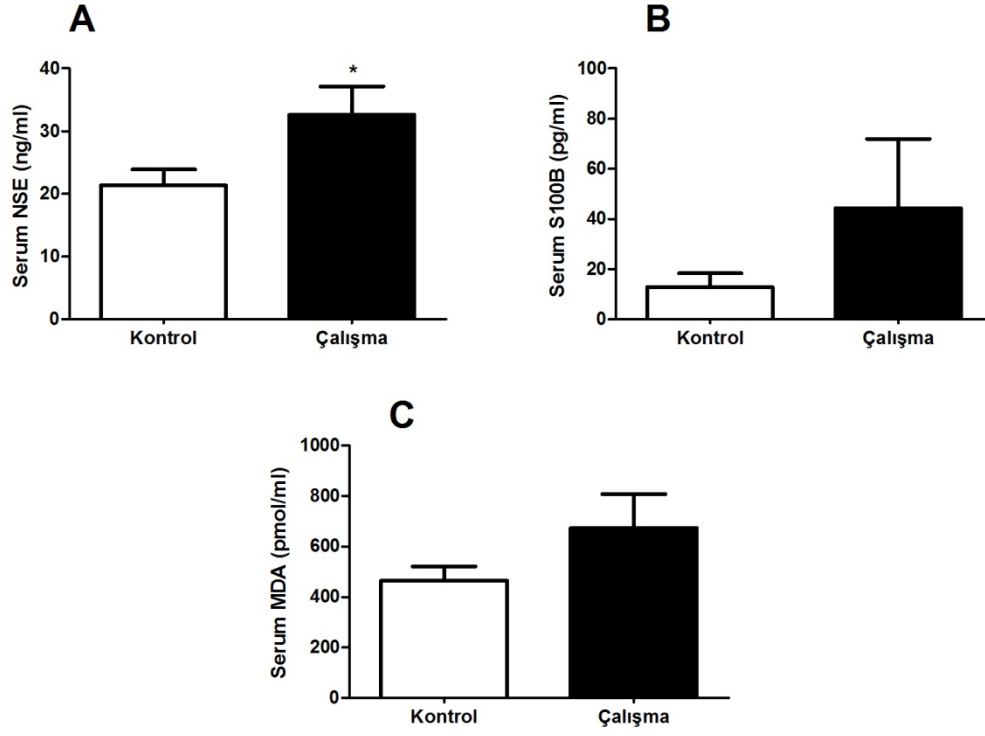
Sonuçlar incelendiğinde çalışma grubu olgularının vitreuslarında ortalama NSE değeri  $81,7 \pm 9,0$  ng/ml iken kontrol grubunda ortalama vitreus NSE değeri  $15,6 \pm 1,3$  ng/ml idi ( $p < 0,0001$ ). Çalışma grubu olgularının vitreuslarında ortalama S100B değeri  $470,3 \pm 110,3$  pg/ml iken kontrol grubunda vitreus S100B değeri  $124,2 \pm 29,0$  pg/ml olarak saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Yine çalışma grubunda ortalama vitreus MDA değeri  $1013 \pm 116,3$  pmol/ml iken kontrol grubunda ortalama vitreus MDA değeri  $420,7 \pm 54,7$  pmol/ml olarak ölçülmüştür. İki grup arasında vitreus MDA seviyeleri açısından anlamlı fark tespit edilmiştir ( $p < 0,001$ ).



Şekil-3: Çalışma grubu ve kontrol grubu olgularının vitreus örneklerinden elde edilen NSE, S100B ve MDA sonuçlarının grafik olarak sunumu. Kontrol grubu ile çalışma grubu arasındaki istatistiksel fark \* p <0,05 ; \*\* p <0,01 ve \*\*\* p <0,0001 değeri olarak verilmiştir.

Serum örneklerindeki değerler incelendiğinde; çalışma grubu olgularının serumlarında ortalama NSE değeri  $32,5 \pm 4,5$  ng/ml iken kontrol grubunda ortalama serum NSE değeri  $21,3 \pm 2,5$  ng/ml idi. İstatistiksel olarak çalışma grubu serum NSE konsantrasyonunun kontrol grubundan daha yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır ( $p < 0,05$ ). Çalışma grubu olgularının serumlarında ortalama S100B değeri  $44,41 \pm 27,51$  pg/ml iken kontrol grubunda serum S100B değeri  $12,86 \pm 5,52$  pg/ml olarak saptanmıştır. Çalışma grubu serum S100B konsantrasyonunun kontrol grubundan daha yüksek düzeyde olduğu saptansa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Yine çalışma grubunda ortalama serum MDA değeri  $673,6 \pm 133,9$  pmol/ml iken kontrol grubunda ortalama serum MDA değeri  $464,9 \pm 56,6$  pmol/ml olarak ölçülmüştür. İki grup arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir ( $p > 0,05$ ).





Şekil-4: Çalışma grubu ve kontrol grubu olgularının serum örneklerinden elde edilen NSE, S100B ve MDA sonuçlarının grafik olarak sunumu. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık \*  $p < 0,05$  ile belirtilmiştir.

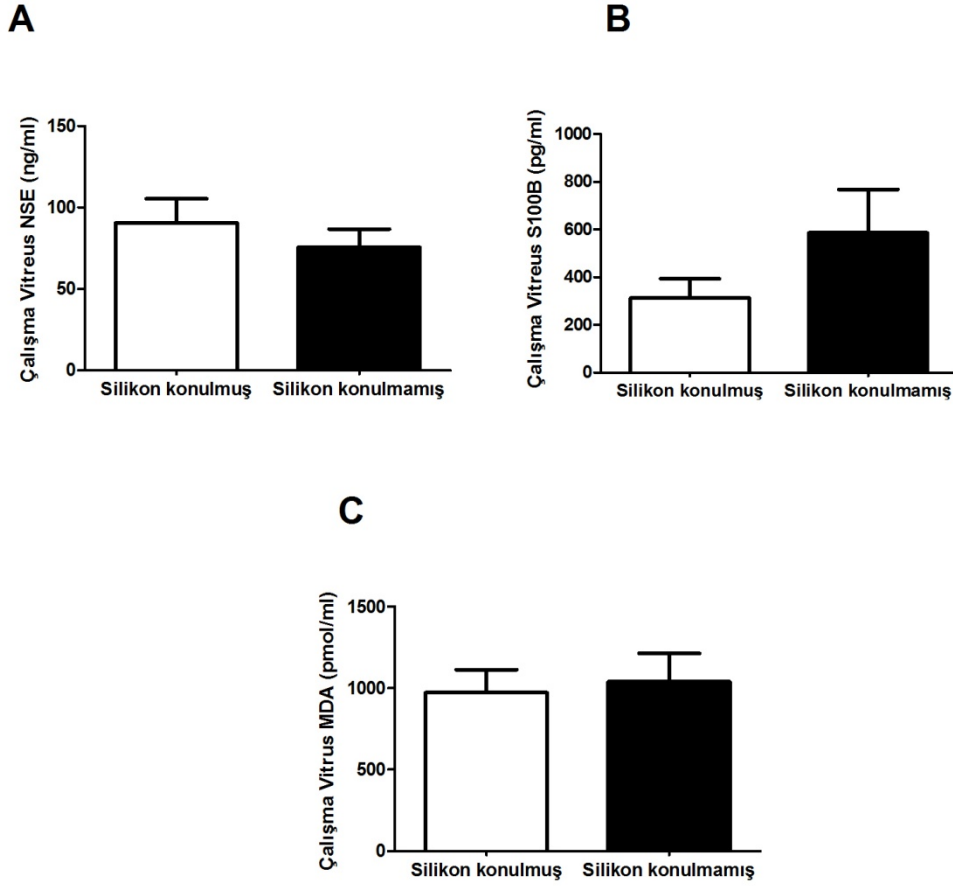
Tablo-1: Çalışma grubu ve kontrol grubunda çalışılan parametrelerin ortalamaları ve standart hataları sunulmaktadır.

Parametre	Çalışma Grubu (ortalama ± standart hata)	Kontrol Grubu (ortalama ± standart hata)	P
Vitreus NSE (ng/ml)	81,79 ± 9,005	15,60 ± 1,356	p<0.0001
Serum NSE (ng/ml)	32,58 ± 4,56	21,34 ± 2,56	p<0,05
Vitreus S100B (pg/ml)	470,3 ± 110,3	124,2 ± 29,05	p< 0,05
Serum S100B (pg/ml)	44,41 ± 27,51	12,86 ± 5,52	p>0,05
Vitreus MDA (pmol/ml)	1013 ± 116,3	420,7 ± 54,74	p< 0,001
Serum MDA (pmol/ml)	673,6 ± 133,9	464,9 ± 56,69	p>0,05

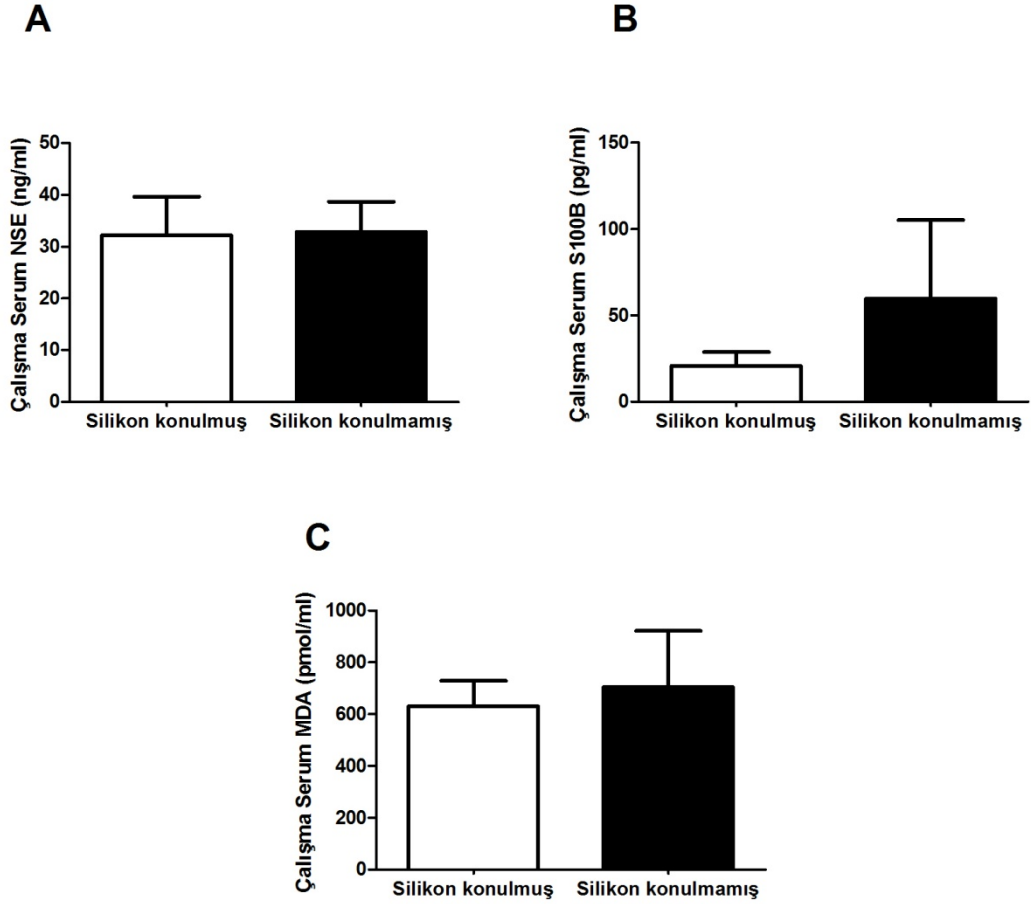
Yukarıda adı geçen vitreus ve serum parametrelerinin hastanın diabet kontrolü ile ilişkisi olup olmadığı da incelenmiştir. Bu amaçla son 15 günlük kan şekeri seviyesini ortalama olarak gösteren serum fruktozamin ölçümü yapılmış ve yukarıda adı geçen parametreler ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Buna göre çalışma grubu olgularının serum fruktozamin konsantrasyon değerleri ortalama  $458,5 \pm 15,29$  mmol/L olarak saptanırken, kontrol grubu olgularının serum fruktozamin konsantrasyon değerleri ise ortalama  $432,2 \pm 23,78$  mmol/L olarak saptanmıştır. Çalışma grubu ile kontrol grubu arasında serum fruktozamin değerleri arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadığı gibi ( $p>0,05$ ) fruktozamin konsantrasyonunun serum NSE, S100B ve MDA konsantrasyonları ile arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çalışmamızda serum ve vitreus örneklerinde ölçülen NSE, S100B ve MDA değerleri ile hastaların klinik özellikleri arasında ilişki olup olmadığı da

değerlendirilmiştir. Çalışma grubunda perop silikon konulmuş olgular ile silikon konulmamış olguların serum ve vitreus NSE, S100B ve MDA seviyeleri gruplar içerisinde karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).



Şekil-5: Çalışma grubu olgularının vitreus örneklerinden elde edilen NSE, S100B ve MDA sonuçlarının grup içerisinde perop silikon tamponad yapılanlar ve yapılmayanlar arasında kıyaslanması grafik olarak sunulmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.



Şekil-6: Çalışma grubu olgularının serum örneklerinden elde edilen NSE, S100B ve MDA sonuçlarının grup içerisinde perop silikon tamponad yapılanlar ve yapılmayanlar arasında kıyaslanması grafik olarak sunulmuştur. İstatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Diğer klinik özelliklerle parametrelerin ilişkisi incelendiğinde; çalışma grubunda perop vitreus hemorajisi saptananlarda vitreustan ölçülen NSE değerinin anlamlı olarak yüksek bulunduğu görülmektedir ( $p= 0.0098$ ), ( $r = 0,3453$ ). Perop fibrovasküler proliferasyon saptanan olgularda vitreus NSE ölçümü anlamlı olarak artmıştır ( $p=0,0329$ ), ( $r = 0,2882$ ) ve fibrovasküler proliferasyon ağırlığı ile vitreus NSE ölçümü arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır ( $p=0.0177$ ), ( $r = 0,3189$ ). Vitreus NSE düzeyinin ayrıca preop bevacizumab enjeksiyonu yapılanlarda ( $p=0.0177$ ), ( $r = 0,3187$ ) ve perop komplikasyon gelişen olgularda yüksek olduğu görülmektedir ( $p=0.0036$ ), ( $r = 0,3865$ ). Ayrıca, vitreus NSE değeri yüksek olan olgularda vitreus S100B düzeyi de paralel olarak yüksek bulunmuştur ( $p=0.0087$ ), ( $r = 0,3503$ ).

Klinik parametrelerle S100B arasındaki ilişkinin NSE kadar kapsamlı olmadığı görülmektedir. Sadece perop fakoemülsifikasyon yapılan olgularda vitreus S100B ölçümü anlamlı olarak yükselmektedir ( $p=0.0002$ ) ( $r = 0,4882$ ). Ayrıca yukarıda da belirtildiği üzere vitreus NSE değeri yüksek olan olgularda, vitreus S100B değerinin de yüksek olduğu bulunmuştur ( $p=0.0087$ ), ( $r = 0,3503$ ). Bu çalışmada MDA değerinin perop klinik bulgularla ilişkisi tespit edilememiştir. Bazı preop bulgularla MDA ölçümlerinin anlamlı ilişkisi olduğu görülmektedir. Bu bağlamda preop intravitreal bevacizumab yapılanlarda serumdaki ölçülen MDA değerinin yüksek olduğu görülmektedir ( $p=0.0346$ ) ( $r = 0,2829$ ). Yine preop görme keskinliği yüksek olanlarda vitreustaki MDA seviyesinin de yüksek olduğu görülmektedir ( $p=0.0180$ ) ( $r = 0,3151$ ).

Kontrol grubunda NSE, S100B ve MDA seviyelerinin preop veya perop parametreler ile herhangi bir ilişkisi tespit edilmemiştir. Bununla birlikte kontrol grubunda serum NSE seviyesi yüksek olan olgularda serum S100B ölçümlerinin de yüksek olduğu izlenmektedir ( $p=0.0324$ ) ( $r = 0,5199$ ).

Çalışma grubunda perop silikon konulmuş olgular kendi içerisinde incelendiğinde, bu olgulardan preop FVP'i mevcut olan olgulara perop silikon konulması ihtimalinin anlamlı olarak arttığı görülmektedir ( $p<0.0001$ ) ( $r = 0,5280$ ). Yine FVP şiddeti arttıkça silikon konulma ihtimali artmaktadır ( $p<0.0001$ ) ( $r = 0,7059$ ). Genel anlamda TRD olanlarda ( $p<0.0001$ ) ( $r = 0,7230$ ), özellikle makulada TRD olanlarda ( $p< 0.0001$ ) ( $r = 0,6784$ ) ve ekstramakuler TRD olan olgularda silikon konulma ihtimali artmakta iken ( $p<0.0001$ ) ( $r = 0,7199$ ), VH'i olanlarda ( $p=0,0321$ ) ( $r = -0,2868$ ) daha az silikon konulduğu görülmektedir. Yine TRD'na eşlik eden RRD olan olgularda ( $p=0,0044$ ) ( $r = 0,3751$ ) ve perop membranektomi olan olgularda ( $p=0,0054$ ) ( $r = 0,3673$ ) perop silikon konulma ihtimali anlamlı olarak artmıştır. Çalışma grubunda perop silikon konulmuş hastalarda postop 6.ay GK arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,0004$ ) ( $r = 0,5139$ ). Preop intravitreal bevacizumab yapılmasının perop silikon konulması ile ilişkisi bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Diyabetik retinopati (DR), dünya çapında yaygınlığı giderek artan bir halk sağlığı sorunudur. Hastalık görme bozukluğunun en yaygın üçüncü nedeni olup, çalışan yaş grubu bireylerde belirgin özerklik ve hareket kısıtlamasına yol açarak toplumda ciddi ekonomik kayba neden olmaktadır (137,138,139).

DR önceleri vasküler bir hastalık olarak tanınmakta iken, günümüzde nörovasküler bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. DR, göz hekimlerinin kolayca tanıyabildiği ve görmeyi ciddi şekilde etkileyebilecek karakteristik değişikliklere 5 temel süreç ile yol açar:

- 1- Retinal kapiller mikroanevrizma oluşumu
- 2- Vasküler geçirgenliğin artması
- 3- Vasküler oklüzyon gelişimi
- 4- Yeni damar oluşumu ve buna fibröz doku gelişiminin eşlik etmesi
- 5- Fibrovasküler doku ve vitreusun kontraksiyonu

Son zamanlarda elde edilen veriler yukarıda sayılan süreçlerden önce, diabetin retina içerisinde nörodejeneratif değişikliklere yol açtığını göstermektedir (140,141). Nörodejenerasyonun, diabete bağlı mikrovasküler değişiklikleri indükleyen ve yukarıda anılan süreçlerin gelişmesine yol açan tetikleyici faktör olduğu savunulmaktadır. Sonraki dönemde ilerleyen klinik tablo, kendisini eksuda, kanama ve neovaskülarizasyon gb. aşık lezyonlarla göstermektedir.

DR hastalarında nörodejenerasyonun glial aktivasyon ve retinal nöronal apoptoz ile başladığı düşünülmektedir. Normalde, retinal hemodinami özellikle iç retinadaki nöronlar ve glial hücrelerin aktivasyonu ile regüle olmaktadır. Ancak DR etkisi ile hem retinal glia hücrelerinde hem de retinal nöronlarda zamanla fonksiyonel bozukluklar oluşmaktadır (142). Retinal nöronlar ile damar sistemi arasında normalde mevcut olan yakın ilişki, nörodejenerasyona sekonder oluşan kan retina bariyer hasarı ve damar regresyonu gb. mikrovasküler değişiklikler ile bozulmaktadır. Mikrovasküler bozuklukları takiben metabolik disregülasyonun oluşturduğu oksidatif stresin de eklenmesi ile birlikte nörodejenerasyon derinleşmekte ve yukarıda

sıralanan süreçler hızlanmaktadır (142,143,144,145).

Nörodejenerasyona katkıda bulunan bir diğer faktörün oksijen metabolizmasındaki dengesizliğin yani oksidatif stresin olduğu bilinmektedir. Özellikle diabetli olgularda aşırı reaktif oksijen türevlerinin üretimi ve antioksidan üretimindeki yetersizlik ile birlikte nöronal dokularda protein ve DNA hasarı gelişmektedir. Bu duruma enflamasyonun da eklenmesi halinde oluşan nöronal doku hasarı ve apoptozun nörodejenerasyonda önemli rol oynadığı bildirilmektedir (113,146).

Oksidatif stresin serbest radikalleri açığa çıkarıcı etkisi ve lipid peroksidasyonu yapması ile gözde diyabetik retinopati dışında katarakt ve glokom gb. hastalıklara da zemin hazırladığı bilinmektedir. Diabetik retinopatide artmış oksidatif stress ile hücre kaybı gelişmekte, oluşan hemodinamik ve yapısal değişikliklerle bazal membran kalınlaşması gerçekleşmektedir. Bu yolla gelişen mikrovasküler anomalilere ek olarak makrovasküler komplikasyonların açığa çıkması ile bilindik DR tablosu kendisini göstermektedir (131-136).

Ne yazık ki günümüz DR tedavi ve yönetim anlayışı ile, diabetik retinopati tedavisine ancak görmeyi tehdit eden değişikliklerin tespiti sonrasında başlanabilmektedir. Bu ilerlemiş safhada laser fotokoagulasyon, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu ve vitreoretinal cerrahi gb. yan etkileri iyi bilinen tedavi modaliteleri kullanılmaktadır. Bu tedavilere rağmen nöronal retinada telafisi mümkün olmayan doku içi tahribatı gelişebilmekte; retinal anatomi korunsa dahi histolojik bazda yaşanan kayıpla, görmede ciddi azalmalar oluşabilmektedir. Geline bu durum, nöronal retina içinde erken dönemde ortaya çıkan hasarın, dokusal düzeye ulaşmadan tanınmasındaki eksikliğe dayanmaktadır.

Bu noktadan hareketle; DR'yi esasen nörodejeneratif bir hastalık olarak kabul eden ve vasküler değişiklikleri de nörodejenerasyon ile ilişkilendiren yeni bir yaklaşımın benimsenmesi söz konusudur. Bu yaklaşımın DR sevk ve yönetiminde farklı bir ufuk açması beklenmektedir. Bu bağlamda, nörodejenerasyonu doku bazında iken tanımayı kolaylaştıran ve gerektiğinde önlem alınmasını hedefleyen arayışlar gündeme gelmektedir. Biz bu bakış açısı ile, diabetik olgulardaki retinal nöronal hasarı gösterebilecek bazı parametreleri incelemeyi hedefledik. Diğer tıp disiplinlerinde nöronal hasarı ve oksidatif stresi göstermede etkinliği bilinen bazı parametrelerin, vitreus ve serumda ölçülmesinin, hedefimize katkısı olup

olmayacağını incelemek istedik. Bu amaçla, diabete bağlı komplikasyonu bulunan olgulardan oluşan çalışma grubu ile non-diabetik vitreoretinal yüzey hastalıkları olan kontrol grubu olgularından alınan serum ve vitreus örneklerindeki NSE, S100B ve MDA konsantrasyonlarını karşılaştırdık.

Günümüze değin, bu parametrelerin klinik göstergelerle ilişkisi özellikle nörolojik hastalıklar kapsamında incelenmiştir. Elde edilen veriler serum ve BOS'tan çalışılan NSE ve S100B'nin pek çok nörolojik olayda durumu ortaya koyan ve prognozu öngörmeyi kolaylaştıran parametreler olduğunu göstermektedir.

Pek çok çalışma NSE'nin de özellikle iskemik serebrovasküler hastalıklarda, iskemik hasarı kantitatif olarak gösteren bir belirteç olarak kullanılabilceğini göstermektedir (13,85-89). Kardiyopulmoner bypass sonrası hastanın kognitif fonksiyonlarını değerlendirmek için hastalara yapılan nörofizyolojik testlerle, serum NSE değerleri arasında yakın ilişki olduğu ortaya konmuştur (90-94). Komadaki hastaların günlük nöronal progreslerini takip etmek için günlük NSE ölçümleri yapılabilmektedir. İnme, kafa travması, multipl skleroz, Alzheimer hastalığı ve epileptik nöbet gibi MSS'i ilgilendiren majör durumlarda BOS NSE düzeyleri ciddi şekilde yükselmektedir (84). Klinik olarak nörolojik belirti ve semptom gelişmeyen olgularda, serebral hasar oluşmadan mikroemboli ve kompleman aktivasyonu sonucu geçici NSE yükselmeleri olabildiği bildirilmektedir. DR'de NSE'nin sinir defektlerini gösteren bir biomarker olarak kullanılabilceği bildirilmiştir (105).

Serum ve beyin omurilik sıvısında (BOS) ölçülen S100B, günümüzde beyin hasarının akut fazında ve nörodejeneratif hastalıklarda fonksiyonel sonucun öngörülmesinde kullanılan bir biyomarker haline gelmiştir (10-16). Hafif kafa travması olan olgulardan daha ileri nöroradyolojik inceleme gerektirmeyen hastaların ayırt edilmesi, viral ile bakteriel menenjit ayrımında kullanımı, multipl sklerozda immünsüpresif tedavi gerekliliğinin takibi gb. pek çok nörolojik hastalıkta kullanımı S100B'yi kıymetli hale gelmiştir (57,63-65).

Reaktif oksijen ürünleri organizmanın normal homeostazis sürecinde meydana geldiği gibi çeşitli dış etkenler ile de oluşabilir. Malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonunun son ürünüdür (125). Serumda MDA düzeyinin ölçümü, in vivo olarak serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiği doku hasarının ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (124,127). Travmatik beyin hasarı olan olguların



serumlarında kontrol olgularına göre belirgin MDA yüksekliği olduğu yayınlanmıştır (121,122). Yine ciddi travmatik beyin hasarı olan olgularda MDA seviyeleri ile mortalite arasında belirgin ilişki saptanmıştır (123). MDA seviyesi proliferatif diabetik retinopatisi (PDR) olan olgularda hem non-proliferatif diabetik retinopatisi olan olgulara hem de sağlıklı olgulara göre belirgin şekilde artmaktadır (128,129).

Sonuçlarımız incelendiğinde çalışma grubu olgularının vitreuslarında ortalama NSE, S100B ve MDA değerlerinin, kontrol grubu olgularına ait ortalama vitreus NSE, S100B ve MDA değerlerine göre anlamlı olarak yükseldiği görülmektedir (sırasıyla  $p<0.0001$ ,  $p<0,05$  ve  $p<0,001$ ). Çalışmamızda retinal ortama yakınlığı nedeniyle vitreustan örnek alınması akla yatkın olsa da klinik pratiğe uyarlandığında rutin olgulardan vitreus örneğinin alınmasının zorluğu ortadadır. Bu nedenle çalışmamızda vitreus örneklerine paralel olarak serum örneklerinin de alınması planlanmıştır; bu yaklaşımla alınan vitreus ve serum örneklerindeki değerlerin birbiri ile ilişkisinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu maksatla çalışma grubu olgularının serumlarından ölçülen ortalama NSE, S100B ve MDA değerleri, kontrol grubu olgularına ait ortalama serum NSE, S100B ve MDA değerleri ile kıyaslanmıştır. Hasta ve hekim açısından kolaylık vaat eden bu yöntemle ilgili yapılan değerlendirmede; sadece çalışma grubu ortalama serum NSE konsantrasyonunun, kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Çalışma grubu ortalama serum S100B ve MDA konsantrasyonları, kontrol grubundan daha yüksek düzeyde ölçülse de bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Çalışma grubu vitreus örneklerinde NSE, S100B ve MDA'nın tümünde anlamlı yükseklik mevcut olmasına rağmen serumdan alınan örneklerde sadece NSE'nin yüksekliğinin anlamlı seviyeye ulaştığı görülmektedir.

Bu çalışmada sistemik faktörlerin vitreus ve serum NSE, S100B ve MDA değerlerine etkisinin değerlendirilmesi için son 15 günlük ortalama kan şekeri seviyesini gösteren serum fruktozamin seviyesi de ölçülmüştür. Sonuçlar çalışma grubu ile kontrol grubu arasında serum fruktozamin değerleri arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir ( $p>0,05$ ). Ayrıca serum fruktozamin seviyesi yüksek veya düşük olan olgularda, vitreus ve serum NSE, S100B ve MDA değerlerinde belirgin değişiklik izlenmemiştir. Bu durum yakın dönem preop kan şekeri düzeyi ile NSE, S100B ve MDA'nın ilişkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Gözle ilişkili sonuçlar incelendiğinde; PPV cerrahisinin hem çalışma grubunda hem de kontrol grubunda görmeyi belirgin şekilde düzelttiği görülmektedir. Preop GK ile postop 6.ay GK karşılaştırıldığında çalışma grubunda da kontrol grubunda da istatistiksel olarak anlamlı görme artışı olduğu saptanmaktadır ( $p < 0,05$ ). Ancak gruplar içerisinde analiz yapıldığında NSE, S100B ve MDA seviyelerinin düşük veya yüksek olması ile preop GK veya postop GK arasında beklendiğinin aksine anlamlı bağlantısı bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ).

Bu çalışmada serum ve vitreus örneklerinde ölçülen NSE, S100B ve MDA değerleri ile hastaların klinik özellikleri arasında ilişki olup olmadığı da değerlendirilmiştir. Çalışma grubunda perop silikon konulmuş olgular ile silikon konulmamış olguların serum ve vitreus NSE, S100B ve MDA seviyeleri gruplar içerisinde karşılaştırıldığında, istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Ancak perop vitreus hemorajisi olan olgularda ( $p = 0.0098$ ), ( $r = 0,3453$ ) ve fibrovasküler proliferasyonu olan bireylerde ( $p = 0,0329$ ), ( $r = 0,2882$ ) vitreustan ölçülen NSE değerinin anlamlı olarak yükseldiği görülmektedir. Ayrıca fibrovasküler proliferasyon ağırlığı ile vitreus NSE ölçümü arasında anlamlı korelasyon saptanmıştır ( $p = 0.0177$ ), ( $r = 0,3189$ ). Preop bevacizumab enjeksiyonu gerektirecek kadar komplike olan olgularda, vitreus NSE seviyesinin anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir ( $p = 0.0177$ ), ( $r = 0,3187$ ). Vitreus NSE ölçümünde belirgin fark olan olgularda perop komplikasyon gelişme olasılığının arttığı görülmektedir ( $p = 0.0036$ ), ( $r = 0,3865$ ). Vitreus NSE değeri yüksek olan olgularda vitreus S100B düzeyi de paralel olarak yüksek bulunmuştur ( $p = 0.0087$ ), ( $r = 0,3503$ ). Ancak NSE'nin anlamlı olarak yüksek olduğu az önce belirtilen klinik durumlarda S100B seviyeleri yüksek olsa da kontrol olgularına göre istatistiksel olarak farklılık arz etmemekte idi.

Preop intravitreal bevacizumab yapma ihtiyacı olan hastalardan alınan vitreus örneklerinde, oksidatif stresin göstergesi olan MDA'nın da yüksek olduğu saptanmıştır ( $p = 0.0346$ ) ( $r = 0,2829$ ). Yine vitreustaki MDA seviyesi ile preop GK arasında ters ilişki olduğu görülmüştür; özellikle preop görme keskinliği düşük olan olgularda MDA'nın yüksek olduğu saptanmıştır ( $p = 0.0180$ ) ( $r = - 0,3151$ ).

Bu sonuçlar PDR olgularında, tablo ağırlaştıkça nöronal hasarı ve oksidatif stresi belgeleyen parametrelerde yükselme olduğunu göstermektedir. Bu

parametrelerden özellikle NSE'nin tablonun ciddiyeti ile yakın ilişkisi olduğu izlenmektedir. Özellikle vitreus hemorajisi, fibrovasküler proliferasyon gb. diabetik komplikasyonları gelişen olgularda, preop bevacizumab gerektirecek ciddiyetteki hastalarda NSE'nin anlamlı şekilde yükseldiği görülmektedir. Bu sonuçlara göre, S100B seviyeleri NSE ile paralellik gösterse de NSE kadar tanımlayıcı olamamakta ve istatistiksel olarak anlamlılık arz etmemektedir. Oksidatif stresin göstergesi olan MDA'nın preop GK'i düşük olan olgularda yüksek olması, oksidatif stresin görme işlevini baskılayan bir yönü olduğu fikrine destek olmaktadır. Yine preop bevacizumab gerektirecek ciddiyetteki hastalarda MDA'nın anlamlı şekilde yükselmesi, bu kırılgan durumdaki hastalarda oksidatif stres yükünün oldukça fazla olduğuna işaret etmektedir.

Literatürde, PDR olgularında nörodejenerasyon ve oksidatif stresi gösteren vitreus ve serum parametrelerini inceleyen çalışmaların oldukça az sayıda bulunduğu görülmektedir. Bildiğimiz kadarıyla DR'de S100B'nin vitreus seviyesi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu konuyla ilgili en yakın çalışmada Abu El-Asrar ve ark. PPV esnasında diabetik olgulardan vitreus ve diabetik membran örnekleri olarak S100A4 ölçümleri yapmışlardır (147). Metastaz ilişkili protein olarak da bilinen S100A4'ün metastaz invazyonu, fibrosis ve anjiogenez ile ilgili görevleri olduğu bilinmektedir (148,149). Yapılan bu çalışmada S100A4 seviyesinin diabetik olguların vitreusunda ve membranlarında yırtıklı retina dekolmanlı kontrol olgularına göre belirgin şekilde yüksek olduğu görülmüştür.

Yine NSE ve diabetik retinopati arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar oldukça azdır (150,151). Bu konuda yapılmış en kapsamlı çalışmanın Li ve arkadaşlarının 2015 de yayınladıkları çalışma olduğu görülmektedir (152). Bu çalışmada diabetik retinopatide serum NSE seviyesinin arttığı gösterilmiş ve NSE'nin DR varlığını gösterebilecek bir gösterge olabileceği vurgulanmıştır. Sonuçlarımızın bu çalışma ile uyumlu olduğu görülmektedir. Her iki çalışmada da serum NSE seviyesi diabetik olmayan olgulara nazaran belirgin şekilde yüksek bulunmuştur. Buna ek olarak bizim çalışmamızda bazı klinik göstergelerle ilişkili olacak şekilde vitreus NSE seviyesinin de yükseldiği gösterilmiştir. Genel kural olarak, hiperglisemi ile ortaya çıkan perisit hasarının ve kan retina bariyeri bozulmasının retinada nöronal hücre apoptoza yol açtığı bilinmektedir. Bu nedenle , makula ödemi dahil diabetik retinopatisi olan

olgularda oluşan retina sinir defisiti ile ilişkili olacak şekilde enolaz sentezi ve salınımı olacağı düşünülebilir (152).

NSE'nin diğer göz hastalıkları ile ilişkisine baktığımızda; Dunker ve arkadaşları retina dekolmanı olan olgularda subretinal sıvıda NSE seviyesinin arttığını göstermişlerdir. NSE'nin RD şiddetini değerlendirmede indeks olarak kullanılabileceğini belirtmiş ve NSE'nin nöroproteksiyon cevabını gösterecek bir parametre olabileceğini vurgulamışlardır (153). Yine grubumuz daha önce yaptığı bir çalışmada yırtıklı retina dekolmanı olan olguların subretinal sıvısında S100B'nin yüksek miktarlarda bulunduğunu ilk defa gösterilmiştir. Subretinal S100B'nin retina dekolman süresi ile anlamlı ilişkisi bulunmuş ve S100B seviyesinin nöronal retina hasarını gösterdiği düşünülmüştür (28).

Bu çalışmada serum ve vitreus MDA seviyesi ile PDR'nin ilişkisi de değerlendirilmiştir. Konu ile ilgili literatür incelendiğinde, Brzović-Šarić ve arkadaşları 2015'de yayınladıkları makalelerinde tip 2 diabetik olguların vitreuslarında ve serumlarında yüksek miktarda MDA bulunduğunu göstermiştir (5). Yazarlar, serum MDA yüksekliğinin diğer dokulardan kaynaklandığı yorumunu yapmışlardır. Bu saptama bizim sonuçlarımız ile yani vitreus MDA yüksek olduğu halde serum MDA seviyesinin normal bulunması ile örtüşmektedir. Literatürdeki az sayıdaki yayında da bizim çalışmamızda olduğu gb. vitreus MDA seviyeleri yüksek bulunmuştur (154,155).

Bazı çalışmalarda S100B ve NSE'nin birlikte ölçüldüğü görülmektedir. Özellikle beyin hasarı olan olguların serum BOS örneklerinde S100B ve NSE seviyelerinin arttığı bilinmektedir (156). Çalışmalarda bu 2 parametrenin, düzeyleri birbirinden bağımsız olarak artsa da genellikle eş zamanlı olarak yükseldikleri görülmektedir. Genel anlamda NSE'nin nöronal hasarı, S100B'nin glial hasarı belgelediği düşünülmektedir. Nöronal bir doku olması olan retinada NSE artışının fotoreseptör ve nöronal hücrelerden kaynaklanacağı, S100B artışının da Müller hücresi gb. destek hücrelerinin hasarına sekonder olabileceği düşünülebilir.

Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma PDR olgularında vitreus ve serum S100B, NSE ve MDA sonuçlarını inceleyen ve bunları kontrol grubu ile karşılaştıran ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Öte yandan, çalışmamızın bazı handikapları bulunmaktadır; nispeten kısıtlı sayıda olgunun bu çalışmada yer alması ve kısıtlı

postoperatif takip süresi bunlar arasında sayılabilir. Çalışma grubundaki olguların kısıtlı sayıda olması alt grup analizinde bazı eksikliklere yol açmış olabilir. Yine non-proliferatif DR olgularındaki S100B, NSE ve MDA sonuçları ile PDR olgularındaki sonuçların da kıyaslanmamış olması bir handikap olarak sayılabilir.

Özetle bu çalışmada sonuçlarımız, nöronal retinada hasar gelişimi ile birlikte vitreusa hasarı ifade eden S100B, NSE ve MDA gb. parametrelerin salındığını göstermektedir. Ayrıca periferik serumdan ölçülen NSE'nin PDR olgularında diğer olgulara göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ne yazık ki, NSE dışındaki parametrelerin periferik serumdan ölçülmesi halinde anlamlı farklılık yakalanamaması S100B ve MDA'nın istenilen kapsamda kullanımını engellemektedir. Özellikle NSE'nin kötü prognoza sahip olabilecek hastalarda anlamlı olarak yükseldiğinin belgelenmesi bu çalışmanın en önemli sonuçlarından birisini oluşturmaktadır. Tüm bu sonuçlar diabetik retinopatinin nörodejeneratif bir hastalık olduğu fikrini desteklemektedir. S100B, NSE ve MDA'nın göz içi sıvılarında ve serumda ölçümünün DR yanında glokom gb. bazı diğer göz hastalıklarının tanı ve takibinde de yeri olabilir. Bu parametrelerin DR ve diğer göz hastalıklarındaki değerinin aydınlatılması için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Waltenberger J, Lange J, and Kranz A. Vascular Endothelial Growth Factor-A–Induced Chemotaxis of Monocytes Is Attenuated in Patients With Diabetes Mellitus A Potential Predictor for the Individual Capacity to Develop Collaterals. *Circulation*. 2000;102.2:185-190.
2. Meleth AD, Agrón E, Chan CC, et al. Serum inflammatory markers in diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2005; 46.11: 4295-4301
3. Mocan MC, Kadayifcilar S, Eldem B. Elevated intravitreal interleukin-6 levels in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Canadian Journal of Ophthalmology/Journal Canadien d'Ophtalmologie*. 2006;41.6: 747-752.
4. Maier R, Weger M, Haller-Schober EM, et al. Multiplex bead analysis of vitreous and serum concentrations of inflammatory and proangiogenic factors in diabetic patients. 2008.
5. Brzovic-Saric V, Landeka I, Saric B, et al. Levels of selected oxidative stress markers in the vitreous and serum of diabetic retinopathy patients. *Mol Vis*. 2015;21:649–64.
6. Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2004; 350.1: 48-58
7. Aylward GW. Progressive changes in diabetics and their management. *Eye*. 2005;19.10:1115-1118
8. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, et al. Retinopathy in diabetes. *Diabetes care*. 2004;27.1:84-87.
9. Johnsson P, Blomquist S, Lühns C. et al. Neuron-specific enolase increases in plasma during and immediately after extracorporeal circulation. *The Annals of thoracic surgery*. 2000;69.3:750-754.
10. Abraha H. D, Butterworth R. J, Bath P. M. et al. Serum S-100 protein, relationship to clinical outcome in acute stroke. *Annals of Clinical Biochemistry: An international journal of biochemistry in medicine*. 1997; 34.5: 546-550.
11. Fassbender K, Schmidt R, Schreiner. et al. Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke. *Journal of the neurological sciences*. 1997;148.1: 101-105.
12. Büttner T, Weyers S, Postert T. et al. S-100 protein: serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke*. 1997; 28.10:1961-1965.
13. Missler U, Wiesmann M, Friedrich C, and Kaps M. S-100 protein and neuron-specific enolase concentrations in blood as indicators of infarction volume and prognosis in acute ischemic stroke. *Stroke*. 1997; 28.10: 1956-1960.
14. Elting JW, de Jager AE, Teelken AW et al. Comparison of serum S-100 protein levels following stroke and traumatic brain injury. *J Neurol Sci* 2000;181:104–110.
15. Herrmann M, Vos P, Wunderlich MT, et al. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein. *Stroke* 2000;31:2670–2677.
16. Sen J, Belli A. S100B in neuropathologic states: the CRP of the brain? *J Neurosci Res* 2007;85:1373–1380.

17. Rambotti MG, Giambanco I, Spreca A, et al. S100B and S100A1 proteins in bovine retina: their calcium-dependent stimulation of a membrane-bound guanylate cyclase activity as investigated by ultracytochemistry. *Neuroscience* 1999;92:1089–1101.
18. Kim GH, Kim JE, Rhie SJ, Yoon S. The role of oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Exp Neurobiol.* 2015;24.4:325-340.
19. Zhang L, Chen B, Tang L. Metabolic memory: mechanisms and implications for diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2012;96.3:286-93.
20. Kowluru R A. Effect of reinstatement of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrate stress in diabetic rats. *Diabetes.* 2003;52.3:818-823.
21. Gonzalez F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP. Reactive Oxygen Species-Induced Oxidative Stress in the Development of Insulin Resistance and Hyperandrogenism in Polycystic Ovary Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 336.340.
22. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res* 1998; 39:1529-1542.
23. Ali MS, Harmer M, Vaughan R. Serum S100 protein as a marker of cerebral damage during cardiac surgery. *Br J Anaesth* 2000;85:287-98.
24. Marenholz I, Lovering RC, Heizmann CW. An update of the S100 nomenclature. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 2006;1763.11:1282-1283.
25. Raabe A, Grolms C, Keller M, et al. Correlation of computed tomography findings and serum brain damage markers following severe head injury. *Acta Neurochir,* 1998; 140:787-792.
26. Kanner AA, Marchi N, Fazio V, et al. Serum S100beta: a noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions. *Cancer* 2003;97:2806– 13.
27. Akhisaroglu M, Manev R, Akhisaroglu E, et al. Both aging and chronic fluoxetine increase S100B content in the mouse hippocampus. *Neuroreport.* 2003;14.11: 1471-1473.
28. Yalcinbayir O, Buyukuysal RL, Akova-Budak B. S100b Protein Levels in Subretinal Fluid in Rhegmatogenous Retinal Detachment. *Current eye research.* 2012; 37.11:1030-1035.
29. Gerlach R, Demel G, Konig HG, et al. Active secretion of S100B from astrocytes during metabolic stress. *Neuroscience.* 2006;141.4:1697-1701.
30. Tramontina F, Leite MC, Gonçalves D, et al. High glutamate decreases S100B secretion by a mechanism dependent on the glutamate transporter. *Neurochem Res,* 2006;31.6:815-820.
31. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, et al. S100B's double life: intracellular regulator and extracellular signal. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 2009;1793.6:1008-1022.
32. Van Eldik LJ, Zimmer DB. Secretion of S-100 from rat C6 glioma cells. *Brain research.*1987;436.2:367-370.
33. Gerlai R, Wojtowicz JM, Marks A, Roder J. Overexpression of a calcium-binding protein, S100 beta, in astrocytes alters synaptic plasticity and impairs spatial learning in transgenic mice. *Learning & Memory.* 1995;2.1: 26-39.
34. Hachem S, Aguirre A, Vives V, Marks A, Gallo V, Legraverend C. Spatial and temporal expression of S100B in cells of oligodendrocyte lineage. *Glia,* 2005;51.2:81-97.
35. Steiner J, Bernstein HG, Bielau H, et al. Evidence for a wide extra-astrocytic distribution of S100B in human brain. *BMC neuroscience.* 2007;8.1:1.

36. Vives V, Alonso G, Solal AC, et al. Visualization of S100B-positive neurons and glia in the central nervous system of EGFP transgenic mice. *Journal of Comparative Neurology*. 2003;457.4: 404-419.
37. Adami C, Sorci G, Blasi E, et al. S100B expression in and effects on microglia. *Glia*, 2001;33.2: 131-142.
38. Yang Q, Hamberger A, Khatibi N, et al. Presence of S-100 [beta] in cholinergic neurones of the rat hindbrain. *NeuroReport*. 1996; 7.18:3093-3100.
39. Gonzalez-Martinez T, Perez-Piñera P, Díaz-Esnal B, Vega J. A. S-100 proteins in the human peripheral nervous system. *Microscopy research and technique*. 2003;60.6:633-638.
40. Haimoto H, Hosoda S, Kato K. Differential distribution of immunoreactive S100-alpha and S100-beta proteins in normal nonnervous human tissues. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 1987;57.5:489-498.
41. Suzuki F, Kato K, Nakajima T. Regulation of Nervous System-Specific S-100 Protein and Enolase Levels in Adipose Tissue by Catecholamines. *Journal of neurochemistry*. 1984;42.1:130-134.
42. Ishikawa H, Nogami H, Shirasawa N. Novel clonal strains from adult rat anterior pituitary producing S-100 protein. *Nature*. 1983;303.5919:711-713.
43. Böni R, Burg G, Doguoglu A, et al. Immunohistochemical localization of the Ca<sup>2+</sup> binding S100 proteins in normal human skin and melanocytic lesions. *British Journal of Dermatology*. 1997;137.1:39-43.
44. Tsoporis JN, Marks A, Kahn HJ, et al. Inhibition of norepinephrine-induced cardiac hypertrophy in s100beta transgenic mice. *Journal of Clinical Investigation*. 1998;102.8:1609.
45. Takahashi K, Isobe T, Ohtsuki Y, et al. Immunohistochemical localization and distribution of S-100 proteins in the human lymphoreticular system. *The American journal of pathology*. 1984;116.3:497.
46. Sorci G, Bianchi R, Giambanco I, et al. Replicating myoblasts and fused myotubes express the calcium-regulated proteins S100A1 and S100B. *Cell Calcium*. 1999;25.2:93-106.
47. Arcuri C, Giambanco I, Bianchi R, Donato R. Annexin V, annexin VI, S100A1 and S100B in developing and adult avian skeletal muscles. *Neuroscience*. 2002;109.2:371-388.
48. Rambotti MG, Saccardi CARLA, Spreca ANONIO, et al. Immunocytochemical localization of S-100 beta beta protein in olfactory and supporting cells of lamb olfactory epithelium. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1989;37.12:1825-1833.
49. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2001;33.7:637-668.
50. Uchida TAKASHI, Endo TOYOSHI. Immunoelectron microscopic demonstration of S-100b protein-like in centriole, cilia, and basal body. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1988;36.6:693-696.
51. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* 1965;19:739-744.
52. Spreca A, Rambotti MG, Rende M et al. Immunocytochemical localization of S-100b protein in degenerating and regenerating rat sciatic nerves. *J Histochem Cytochem*. 1989;37:441-446.
53. Marchi N, Cavaglia M, Fazio V, et al. Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clin Chim Acta* 2004;342:1-12.



54. Raabe A, Kopetsch O, Woszczyk A, et al. Serum S-100B protein as a molecular marker in severe traumatic brain injury. *Restor Neurol Neurosci*. 2003;21:159–169.
55. Buttner T, Weyers S, Postert T, Sprengelmeyer R, Kuhn W. S-100 protein: Serum marker of focal brain damage after ischemic territorial MCA infarction. *Stroke* 1997;28:1961-5.
56. Beharier O, Kahn J, Shusterman E, Sheiner E. S100B—a potential biomarker for early detection of neonatal brain damage following asphyxia. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2012;25.9:1523-1528.
57. Poli-de-Figueiredo LF, Biberthaler P, Simao Filho C, et al. Measurement of S-100B for risk classification of victims sustaining minor head injury: first pilot study in Brazil. *Clinics*. 2006;61.1:41-46.
58. Gao F, Harris DN, Sapsed-Byrne S, Sharp S. Neuronespecific enolase and Sangtec 100 assays during cardiac surgery: Part III--Dose haemolysis affect their accuracy? *Perfusion* 1997;12:171-7.
59. Sanfilippo F, Volti GL, Ristagno G, et al. Clinical biomarkers in brain injury: a lesson from cardiac arrest. *Frontiers in Bioscience*. 2010;2:623-640.
60. Oda Y, Tsuruta R, Fujita M, et al. Prediction of the neurological outcome with intrathecal high mobility group box 1 and S100B in cardiac arrest victims: a pilot study. *Resuscitation*. 2012;83.8:1006-1012.
61. Ide T, Kamijo Y, Ide A et al. Elevated S100B level in cerebrospinal fluid could predict poor outcome of carbon monoxide poisoning. *Am J Emerg Med* 2012;30:222–225.
62. Marchi N, Angelov L, Masaryk T, et al. Seizure-Promoting Effect of Blood–Brain Barrier Disruption. *Epilepsia*. 2007;48.4:732-742.
63. Jung K, Goerdts C, Lange P et al. The use of S100B and Tau protein concentrations in the cerebrospinal fluid for the differential diagnosis of bacterial meningitis: a retrospective analysis. *Eur Neurol* 2011;66:128–132.
64. Michetti F, Massaro A, Murazio M. The nervous system-specific S-100 antigen in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients. *Neurosci Lett* 1979;11:171–175.
65. Bartosik-Psujek H, Psujek M, Jaworski J, et al. Total tau and S100b proteins in different types of multiple sclerosis and during immunosuppressive treatment with mitoxantrone. *Acta Neurol Scand* 2011;123:252–256.
66. Fujii C, Tokuda T, Ishigami N, et al. Usefulness of serum S100B as a marker for the acute phase of aquaporin-4 autoimmune syndrome. *Neurosci Lett* 2011;494:86–88.
67. Falcone T, Fazio V, Lee C et al. Serum S100B: a potential biomarker for suicidality in adolescents? *PLoS ONE* 2010;5:e11089.
68. Dassan P, Keir G, Brown MM. Criteria for a clinically informative serum biomarker in acute ischaemic stroke: a review of S100B. *Cerebrovasc Dis* 2009;27:295–302.
69. Nygaard O, Langbakk B, Romner B. Age and Sex-Related Changes of S-100 Protein Concentrations in Cerebrospinal Fluid and Serum in Patients with No Previous History of Neurological Disorder. *Clin Chem*, 1997;43:541-543.
70. Lu C, Li J, Sun W, et al. Elevated plasma S100B concentration is associated with mesial temporal lobe epilepsy in Han Chinese: a case–control study. *Neuroscience letters*. 2010;484.2:139-142.
71. Shaaban AM, Harmer M, Vaughan R. Serum S-100 protein as a marker of cerebral damage during cardiac surgery. *Br J Anaesth*, 2000; 85:287-298.
72. Michetti F, Gazzolo D. S100B testing in pregnancy. *Clin Chim Acta* 2003;335.1:1-7.

73. Meyer S, Gottschling S, Baghai A, et al. The role of S100B protein in neonatology, pediatric intensive care, and pediatrics. *Klin Padiatr* 2005;218.2:49-56.
74. Markowitz J, Mackerell AD Jr, Carrier F, et al. Design of inhibitors for S100B. *Curr Top Med Chem* 2005; 5.12:1093-108.
75. Harpio R, Einarsson R. S100 proteins as cancer biomarkers with focus on S100B in malignant melanoma. *Clin Biochem* 2004;37.7: 512-518.
76. Camby I, Nagy N, Lopes MB, et al. Supratentorial pilocytic astrocytomas, astrocytomas, anaplastic astrocytomas and glioblastomas are characterized by a differential expression of S100 proteins. *Brain pathology*. 1999;9.1:1-19.
77. Steiner J, Bogerts B, Schroeter ML, et al. S100B protein in neurodegenerative disorders. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:409–424.
78. Moore BW, McGregor D. Chromatographic and electrophoretic fractionation of soluble proteins of brain and liver. *Journal of Biological Chemistry*. 1965;240.4:1647-1653.
79. BOCK E, Dissing, J. Demonstration of Enolase Activity Connected to the Brain-Specific Protein 14-3-2. *Scandinavian Journal of Immunology*. 1975;4.2:31-36.
80. Marangos PJ, Zomzely-Neurath C, York C. Determination and characterization of neuron specific protein (NSP) associated enolase activity. *Biochemical and biophysical research communications*. 1976; 68.4:1309-1316.
81. Cicero TJ, Cowan WM, Moore BW. et al. The cellular localization of the two brain specific proteins, S-100 and 14-3-2. *Brain Res*,1970;18:25-34.
82. Donald S, Marangos PJ, Athanasios PZ, et al. Brain enolases as specific markers of neuronal and glial cells. *Science*,1978;199:313-314.
83. Murty MV, Viallard JL, Dastugue B. Rapid electrophoretic determination of NSE isoenzymes. *Clin Chem*,1986; 32:593-596.
84. Janice AR, Gaelwyn BDJ, Norman AL, et al. Enolase isoenzymes in the cerebrospinal fluid of patients with diseases of the nervous system. *J. Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1983,46:1031-1036.
85. Cunningham RT, Watt M, Winder J. Serum neuronespecific enolase as an indicator of stroke volume. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 298-303.
86. Cunningham RT, Young IS, Winder J. Serum neurone specific enolase (NSE) levels as an indicator of neuronal damage in patients with cerebral infarction. *Eur J Clin Invest* 1991; 21: 497-500.
87. Martens P, Raabe A, Johnsson P. Serum S-100 and neuron-specific enolase for prediction of regaining consciousness after global cerebral ischemia. *Stroke* 1998; 29: 2363-2366.
88. Stevens H, Jakobs C, de Jager AE, et al. Neurone-specific enolase and N-acetyl-aspartate as potential peripheral markers of ischemic stroke. *Eur J Clin Invest* 1999; 29. 1: 6-11.
89. Wunderlich MD, Ebert AD, Kratz T, et al Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical markers of brain damage. *Stroke*. 1999;30.6: 1190-1195.
- 90 . Rasmussen LS, Christiansen M, Hansen PB, Moller JT. Do blood levels of neuron-specific enolase and S-100 protein reflect cognitive dysfunction after coronary artery bypass? *Acta Anesthesiology Scand* 1999;43:495-500.
91. Isgro F, Schmdt CH, Pohl P, Saggau W. A predictive parameter in patients with brain related complications after cardiac surgery? *European J of Cardio-thoracic Surg* 1997;11.4:640-644.
92. Ramlavi B, Rudolph JL, Mieno S, et al. Serologic markers of brain injury and cognitive function after cardiopulmonary bypass *Ann Surg* 2006;244.4:593-601.

93. Rasmussen LS, Christiansen M, Eliassen K, et al. Biochemical markers for brain damage after cardiac surgery – time profile and correlation with cognitive dysfunction. *Acta Anesthesiol Scand* 2002;46:547-551.
94. Hermann M, Ebert AD, Galazky I, et al. Neurobehavioral outcome prediction after cardiac surgery, *Stroke* 2000;31:645-650.
95. Zandbergen EG, Hijdra A, Koelman JHTM, et al. For the PROPAC study group. Prediction of poor outcome within the first three days of postanoxic coma. *Neurology* 2006;66:62-8.
96. Duman C, Yılmaz S. Travmatik beyin hasarı belirteçleri, *Türk Klinik Biokimya Derg* 2008;6(1):33-41.
97. Lamerz R. NSE (neuron-specific enolase). *Clinical laboratory diagnostics*. Verlag Frankfurt: TH-Books, 1998;979-981.
98. Rasmussen T, Grankvist K, Ljungberg B. Serum gamma-enolase and prognosis of patients with renal cell carcinoma. *Cancer* 1993;177.1:49-54.
99. Anastasides KO, Mullins RE, Conn RB. Neuron specific enolase. Assesment byELISA in patients with small cell carcinoma of the lung. *Am J Clin Pathol*,1987;97:245-249.
100. Beaudoux JL, Philippe L, Laurent D, Gandjbakhch I. Influence of hemolysis on the measurement of S-100beta and NSE plasma concentrations during coronary artery bypass grafting. *Clin Chem*.2000;46:989-990.
101. Kato K, Asai R, Shmizu A. Immunoassay of three enolase isoenzymes in human serum and inblood cells. *Clin Chim Acta*,1983;127:353-363.
102. Takmaz İ. Ağır Kafa Travmalarında Serumda Protein S100B ve Nöron Spesifik Enolaz'ın Prognostik Değeri (Uzmanlık Tezi). Diyarbakır: Dicle Üniversitesi; 2011.
103. van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PH, et al. Early neurodegeneration in the retina of type 2 diabetic patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 2715–2719.
104. Jackson GR, Barber AJ. Visual dysfunction associated with diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Rep* 2010; 109: 380–384.
105. Li J, Yan M, Zhang Y, et al. Serum neuron-specific enolase is elevated as a novel indicator of diabetic retinopathy including macular oedema. *Diabet Med*. 2015 ;32.1:102-7.
106. Barber AJ. A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat* 2003; 27: 283–290.
107. Kaiser E, Kuzmits R, Pregant P, et al. Clinical biochemistry of neuron specific enolase. *Clin Chim Acta* 1989; 183:13–31.
108. Mielke R, Schroder R, Fink GR, et al. Regional cerebral glucose metabolism and postmortem pathology in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 1996; 91: 174–179.
109. Yee KM, Ross-Cisneros FN, Lee JG, et al. Neuron-specific enolase is elevated in asymptomatic carriers of Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 6389–6392.
110. Sandhu HS, Butt AN, Powrie J, Swaminathan R. Measurement of circulating neuron-specific enolase mRNA in diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci* 2008; 1137: 258–263.
111. Lohr JB. Oxygen radicals and neuropsychiatric illnesses. Some speculations. *Arch Gen Psychiatry* 1991; 48:1097-1104.
112. Cochrane CG. Cellular injury by oxidants. *Am J Med* 1991;91.3:23-30.
113. Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other

- Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med Cell Longev*. 2016.
114. Molina JA, Jiménez JFJ, Calle FP, et al. Serum lipid peroxides in patients with Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 1992;136:13740.
  115. Cecchi C, Fiorillo C, Sorbi S, et al. Oxidative stress and reduced antioxidant defenses in peripheral cells from familial Alzheimer's patients. *Free Radic Biol Med* 2002;33:1372-9.
  116. Haycock JW, MacNeil S, Jones P, et al. Oxidative damage to muscle protein in Duchenne muscular dystrophy. *Neuroreport*. 1996;8.1:357-361.
  117. Ferrari MT, Vendemiale G, Grattagliano I, et al. Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of myopic and senile cataract. *Br J Ophthalmol* 1996;80.9: 840-843.
  118. Yildirim M, Inaloz HS, Baysal V, Delibas N. The role of oxidants and antioxidants in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003;17:34-6.
  119. Çimen MY, Çimen OB, Kaçmaz M, et al. Oxidant/antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2000;19:275-7.
  120. Yalin S, Bagis S, Polat G, et al. Is there a role of freeoxygen radicals in primary male osteoporosis? *Clin Exp Rheumatol* 2005;23:689- 692.
  121. Hohl A, Gullo Jda S, Silva CC, et al. Plasma levels of oxidative stress biomarkers and hospital mortality in severe head injury: a multivariate analysis. *J Crit Care*. 2012;27.5:523.e11-523.e19.
  122. Cristofori L, Tavazzi B, Gambin R, et al. Early onset of lipid peroxidation after human traumatic brain injury: a fatal limitation for the free radical scavenger pharmacological therapy? *J Investig Med*. 2001;49.5:450–8.
  123. Lorente L, Martin MM, Abreu-Gonzalez P, et al. Association between serum malondialdehyde levels and mortality in patients with severe brain trauma injury. *J Neurotrauma*. 2015;32.1:1–6.
  124. Torun M, Yardım S, Gönenç A, Sargın H. Çeşitli kanser vakalarında serum MDA düzeyleri. *Biyokimya Dergisi* 1995; 20:1-7.
  125. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993;57.5:715-24.
  126. Draper HH, Hadley M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica* 1990;20.9:901-7.
  127. Draper H, McGirr LG, Hadley M. The metabolism of malondialdehyde. *Lipids* 1986; 21:305-307.
  128. Mancino R, DiPierro D, Varesi C, et al. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Molecular Vision*, vol. 2011;17:1298–1304.
  129. Pan HZ, Zhang H, Chang D, et al. The change of oxidative stress products in diabetes mellitus and diabetic retinopathy. *British Journal of Ophthalmology*, 2008;92.4:548-551.
  130. Anderson RE, Rapp LM, Wiegand RD. Lipid peroxidation and retinal degeneration. *Current eye research*. 1984;3.1:223-227.
  131. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54.6:1615-1625.
  132. Kowluru RA, Chan PS. Oxidative stress and diabetic retinopathy. *Journal of Diabetes Research*. 2007.
  133. Kowluru RA, Kowluru A, Veluthakal R, et al. TIAM1–RAC1 signalling axis-mediated activation of NADPH oxidase-2 initiates mitochondrial damage in the development of diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2014;57.5: 1047-1056.
  134. Kowluru RA, Santos JM, Mishra M. Epigenetic modifications and diabetic

retinopathy. *BioMed research international*. 2013.

135. Du XL, Edelstein D, Rossetti L, et al. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000;97.22:12222-12226.

136. Kowluru A, Kowluru RA. Phagocyte-like NADPH oxidase [Nox2] in cellular dysfunction in models of glucolipotoxicity and diabetes. *Biochemical pharmacology*. 2014;88.3:275-283.

137. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Meta-analysis for eye disease study Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2012; 35: 556–64.

138. JR A. *Epidemiology*. In: JG C-V, ed. *Epidemiology*. Singapore: Wold Scientific, 2011; 165–99.

139. West SK, Rubin GS, Broman AT, et al. How does visual impairment affect performance on tasks of everyday life? The SEE Project. *Salisbury Eye Evaluation. Arch Ophthalmol* 2002; 120: 774–80.

140. Barber AG. A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003; 27:283–290.

141. Asnaghi V, Gerhardinger C, Hoehn T, et al. A role of the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat. *Diabetes* 2003;52:506–511.

142. Metea MR, Newman EA. Signalling within the neurovascular unit in the mammalian retina. *Exp Physiol* 2007;92:635–640.

143. Kusari J, Zhou S, Padillo E, et al. Effect of memantine on neuroretinal function and retinal vascular changes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5152–5159.

144. Kusari J, Zhou SX, Padillo E, et al. Inhibition of vitreoretinal VEGF elevation and blood-retinal barrier breakdown in streptozotocin-induced diabetic rats by brimonidine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:1044–1051.

145. Feng Y, Wang Y, Stock O, et al. Vasoregression linked to neuronal damage in the rat with defect of polycystin-2. *PLoS One* 2009;6:7328.

146. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current Neuropharmacology*. 2009;7:65-74.

147. Abu El-Asrar AM, Nawaz MI, De Hertogh G, et al. S100A4 is upregulated in proliferative diabetic retinopathy and correlates with markers of angiogenesis and fibrogenesis. *Molecular Vision*. 2014; 20:1209-1224.

148. Schneider M, Hansen J, Sheikh SP. S100A4: a common mediator of epithelial-mesenchymal transition, fibrosis and regeneration in diseases? *J Mol Med* 2008; 86:507-22.

149. Helfman DM, Kim EJ, Lukanidin E, Grigorian M. The metastasis associated protein S100A4: role in tumour progression and metastasis. *Br J Cancer* 2005; 92:1955-8.

150. Yee KM, Ross-Cisneros FN, Lee JG, Da Rosa AB, Salomao SR, Berezovsky A et al. Neuron-specific enolase is elevated in asymptomatic carriers of Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:6389–6392.

151. Sandhu HS, Butt AN, Powrie J, Swaminathan R. Measurement of circulating neuron-specific enolase mRNA in diabetes mellitus. *Ann NY Acad Sci* 2008; 1137: 258–263.

152. Li J, Yan M, Zhang Y, et al. Serum neuron-specific enolase is elevated as a novel indicator of diabetic retinopathy including macular oedema. *Diabet.Med.*2015;32:102–107.
153. Dunker S, Sadun AA, Sebag J. Neuron specific enolase in retinal detachment. *CurrEyeRes.*2001;23:382-385.
154. Mandal LK, Choudhuri S, Dutta D, et al. Oxidative stress-associated neuroretinal dysfunction and nitrosative stress in diabetic retinopathy. *Can J Diabetes*2013;37:401-7.
155. Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, et al. Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *MolVis*2011;17:1298-304.
156. Moritz S, Warnat J, Bele S, et al. The prognostic value of NSE and S100B from serum and cerebrospinal fluid in patients with spontaneous subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgical anesthesiology.* 2010;22(1):21-31.



## TEŞEKKÜR

Öncelikle tezimi planlama ve yazma aşamasında bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, özgüvenimi arttırıp bana destek olan tez hocam Doç.Dr. Özgür Yalçınbayır'a teşekkür etmek isterim. Uzmanlık eğitimim boyunca değerli beceri ve deneyimleri ile mesleki gelişimimde bana önemli katkıları olan kıymetli hocalarım Prof.Dr. Ahmet Âli Yücel, Prof.Dr. Hikmet Özçetin, Prof.Dr. Öner Gelişken, Prof.Dr. Ahmet Tuncer Özmen, Prof.Dr. Bülent Yazıcı, Prof.Dr. Mehmet Baykara, Prof.Dr. Berkant Kaderli, Doç. Dr. Meral Yıldız'a, Doç. Dr. Berna Akova Budak'a ve Uzm. Dr. Sertaç Argun Kıvanç'a saygı ve minnetlerimi sunarım. Örnek ölçümlerini yapan ve bu tezi yapılabilir kılıp,her türlü desteği gösteren UÜTF Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'ndan sayın Prof.Dr. Rifat Levent Büyükuysal ve Doktora Öğrencisi Ecz. Zülfiye Gül'e sonsuz şükranlarımı sunmak isterim. Zülfiye Gül'e istatistik konusundaki değerli katkıları için ayrıca teşekkür etmek isterim.

Ayrıca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, çalışma alanıma neşe ve huzur katan klinik hemşire ve personeline en içten dileklerimi sunarım.

Bu vesile ile tüm hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürü borç bilirim.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1986 yılında Azerbaycan'da doğdum. 1992 yılında başladığım okul eğitimini 2003 yılında tamamladım. 2003 yılında başladığım Azerbaycan Tıp Üniversitesi'nden 2009 yılında mezun oldum. 2009-2010 yıllarında Zarifa Aliyeva adına Milli Oftalmoloji Merkezin'de intörnlük yaptım. Kasım 2011'de Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladım.