

Deneyisel Glokom Modelinde Memantin: Müller Hücre Aktivitesine Etkisinin İmmünohistokimyasal Değerlendirilmesi*

Memantine in an Experimental Glaucoma Model: Immunohistochemical Analysis of Its Effect on Activity of Müller Cells

Hande ETUŞ¹, Nurşen YÜKSEL², Seyhun SOLAKOĞLU³, Levent KARABAŞ⁴, Yusuf ÇAĞLAR²

Klinik Çalışma

Original Article

ÖZ

Amaç: Deneyisel glokom modelinde sistemik memantin verilmesinin Müller hücreleri üzerine etkisinin incelenmesi

Gereç ve Yöntem: 45 adet Wistar albino yetişkin erkek sıçan , glokom grubu (G, n=15), memantin verilen glokom grubu (M, n=15) ve kontrol grubu (K, n=15) şeklinde sınıflandırıldı. G ve M grubu sıçanların ön kamaralarına sodyum hyaluronat enjekte edilmesi yöntemiyle glokom oluşturuldu. M grubuna günlük tek doz 10 mg/kg memantin intraperitoneal yolla glokom indüksiyonunu takiben verilme-ye başlandı. İmmünohistokimyasal boyama ile glial fibriller asidik protein (GFAP) düzeylerindeki değişimler incelendi.

Bulgular: Glokom oluşturulan ancak memantin verilmeyen grupta GFAP oluşumu glokom indüksiyonunu takiben 1. haftada artış gösterdi ve bu artış çalışmanın 6. haftasına kadar sürdü. Bu grupta GFAP immünreaktivitesi Müller hücrelerinin uzunluğu boyunca bol miktarda görüldü. Ancak memantin verilen grupta GFAP oluşumu iç retina katlarıyla sınırlı bulundu.

Sonuç: Çalışmanın bulgularına göre, göz içi basınç artışına Müller hücreleri GFAP oluşumu ile yanıt vermektedir. Deneyisel glokom modelinde sistemik memantin uygulamasının Müller hücre aktivitesini ve GFAP oluşumunu sınırlayıcı etkisi olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Glokom, glial fibriller asidik protein, memantin, müller hücresi.

ABSTRACT

Purpose: To investigate the effect of systemic memantine administration on Müller cells in experimentally induced glaucoma.

Materials and Methods: Forty-five adult male Wistar rats were grouped as non-treated glaucomatose rats (G Group, n=15), memantine-treated glaucomatose rats (M Group, n=15), and control rats (C Group, n=15). Glaucoma was induced in the G and M groups by injecting sodium hyaluronate through the anterior chamber. The M group received a single daily dose of 10 mg/kg memantine i.p. starting with the glaucoma induction. The changes in glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression were studied by immunohistochemical staining in both groups.

Results: In the glaucoma induced and non-treated animals GFAP expression was increased in the first week following induction and remained increased until the sixth week of the study. Immunoreactivity of GFAP was abundant throughout the length of the Müller cells in this group. However, in memantine-treated glaucomatose rats GFAP expression was limited to the inner layers of the retina.

Conclusion: These results indicate that Müller cells react to elevated intraocular pressure by increased GFAP expression. Systemic memantine treatment in glaucoma seems to limit Müller cell reactivity and GFAP expression.

Key Words: Glaucoma, glial fibrillary acidic protein, memantine, Müller cell.

Glo-Kat 2009;4:157-161

Geliş Tarihi : 30/03/2009

Kabul Tarihi : 13/08/2009

Received : March 30, 2009

Accepted : August 13, 2009

* TOD 41. Ulusal Oftalmoloji Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuştur.
1- İzmit Seka Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Kocaeli, Uzm. Dr.
2- Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları A.D., Kocaeli, Prof. Dr.
3- İ. Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D., İstanbul, Doç. Dr.
4- Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları A.D., Kocaeli, Doç. Dr.

1- M.D., İzmit Seka State Hospital, Eye Clinic Kocaeli/TURKEY
ETUŞ H., drhandeetus@yahoo.com
2- M.D. Professor, Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology
Kocaeli/TURKEY
YÜKSEL N., nursencemre@e-kolay.net
ÇAĞLAR Y.,
3- M.D. Associate Professor, Istanbul University Faculty of Medicine, Department of
Histology and Embryology Istanbul/TURKEY
SOLAKOĞLU S.,
4- M.D. Associate Professor, Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Oph-
thalmology Kocaeli/TURKEY
KARABAS V.L., lkarabas@superonline.com

Correspondence: M.D., Hande ETUŞ
Dumlupınar Mahl. Öznur Sokak B Blok No: 13 Derince Kocaeli/TURKEY

GİRİŞ

Glokom karakteristik optik sinir başı ve ilişkili görme alanı değişiklikleri ile karakterize bir optik nöropati olarak tanımlanmıştır.¹ Glokomatöz retinada görülen karakteristik değişiklikler retinal katlarda, özellikle retina sinir lifi tabakasında incelme, retina ganglion hücrelerinin (RGH) sayısında anlamlı azalma şeklindedir ve günümüzde pek çok analiz yöntemi ile bu değişiklikler erken glokomatöz hasarda dahi gösterilebilmektedir.² Günümüzde bazı çalışmalarda RGH nin ölüm şekli nükleus kromatinindeki fragmantasyon ile karakterize apoptozis şeklinde rapor edilmiştir.³

Astrofitler ve mikroglialar tüm yaşam boyunca sinir sisteminin bütünlüğünü korumakla görevlidir ve normal retinada astrositlerin; RGH nin aksonlarının etrafını sarmak, Müller hücreleri (MH) gibi diğer glial hücrelerle bağlantı kurmak, potasyum tamponlamada ve nöronal sinyalizasyonda görev almak gibi işlevleri vardır.^{4,5} MH retinanın başlıca glia hücresidir ve retinal nöronların fonksiyonel ve yapısal desteğini sağlamaktadır.⁶ MH normal koşullarda anlamlı düzeyde glial fibriller asidik protein (GFAP) eksprese etmez ancak yaşa bağlı makula dejenerasyonu, retinal distrofi/dejenerasyonlar, diabetik retinopati ve glokom gibi pekçok retinal patolojide GFAP düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır.⁷ Böylece GFAP-immün boyanma pozitif MH'nin akut ve kronik nöroretinal patolojilerin güvenilir bir belirteci olduğu söylenebilir.⁸

MH'nin bir diğer görevi de nörotransmitterlerin ekstrasellüler düzeylerini düşük seviyede tutmak ve böylece sinaptik geçişi düzenlemektir.^{6,9} MH bu görevlerini, glutamat aspartat gibi sodyum bağımlı taşıyıcılara yüksek afinite göstererek yapar.⁷ Glutamat MH tarafından alınır ve sonrasında hızlıca glutamin sentaz tarafından glutamine dönüştürülür ve nöronlar tarafından alınmak üzere serbestlenir, nöronlar nörotransmisyon için glutamat oluşturmada glutamini kullanırlar.⁷ Glutamatın ekstrasellüler ortamdaki seviyelerindeki değişiklik sadece sinaptik geçişi uzatmaz nöronlardaki eksitotoksik hasara da sebep olur.^{10,11} Ganglion hücrelerinde fazlaca N-Metil D-Aspartat (NMDA) reseptörlerinin bulunması bu hücrelerin glutamat eksitotoksitesinden kolayca etkilenmesini sağlamaktadır.^{12,13} Sonuç olarak glutamatın ekstrasellüler ortamdaki etkinliğinin MH tarafından sıkı bir şekilde regüle edilmesi retinal nöronların sağlığı açısından son derece önemlidir. Glokom hastalarında ve hayvanlarda deneysel olarak oluşturulan glokom modellerinde vitreusta glutamat düzeylerinin artmış olarak bulunması, glokomatöz ganglion hücrelerindeki hasara glutamat eksitotoksitesinin sebep olabileceğini düşündürmektedir.^{14,15} Ayrıca oküler hipertansiyon oluşturulan sıçan gözlerinde GFAP de artış olduğu bildirilmiştir.⁸

Memantin (1-amino-3, 5-dimetiladamantan hidroklorid) nonkompetitif bir NMDA reseptör antagonisti olarak bugün eksitotoksitesinin önlenmesinde Alzheimer hastalığına bağlı demans, Parkinson hastalığı, AIDS e bağlı demans, nöropatik ağrı ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yüz güldürücü sonuçlar vermektedir.¹⁶ Bu deneysel çalışmanın amacı, sıçanda oluşturulan

deneysel glokom modelinde MH'nin glokom sürecindeki aktivitelerini, GFAP yanıtını ve glokom hastalığının tedavisinde bir nöroprotektan olarak umut vaat eden memantin sistematik kullanımının bu glial aktivite sürecine etkisini değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Helsinki Bildirgesinde deneysel araştırmalarda belirtilmiş olan esaslara uygun olarak yürütülmüştür.

Ağırlıkları 250-340 gram arasında değişen 45 adet Wistar albino yetişkin erkek sıçan çalışmaya dahil edildi. Denekler, glokom grubu (G, n=15), memantin grubu (M, n=15) ve kontrol grubu (K, n=15) şeklinde sınıflandırıldı. Denekler, standart kafeslerde 5'erli gruplar halinde, ad libidum standart yem ve su verilerek, ısı (21±2 °C) ve nem oranı kontrol edilen odalarda barındırıldı. Odanın aydınlatması floresan ışık ile sağlandı ve her 12 saatte bir (06:00-18:00) açıp kapama döngüsü gerçekleştirildi.

Cerrahi prosedür

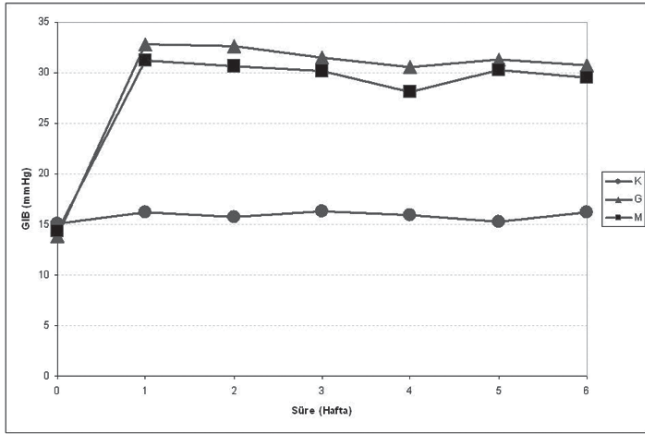
Sıçanlara ketamin hidroklorid (15 mg/kg), ksilazin hidroklorid (0.3 mg/kg) ve asepromazin (1,5 mg/kg) intraperitoneal yoldan enjekte edilerek genel anestezi uygulandı. Anestezi uygulamasını takiben, 30 adet sıçanın sağ göz ön kamaralarına 30 gauge iğne ile sodyum hyaluronat (23 mg/ml, Healon-5) enjekte edildi. Cerrahi mikroskop olarak Topcon OMS 75 kullanıldı. Enjeksiyon, korneoskleral limbustan ön kamaraya self-sealing giriş yapılarak, iğne ucunun iris ve lens ile teması engellenerek, iris damarlarında solma izlenene dek (0.03-0.05 ml) uygulandı.¹⁷ Bu yöntem kullanılarak kontrol grubu hariç ilk 3 hafta süresince haftada bir kez enjeksiyonlar tekrarlanıp G ve M gruplarında glokom indüksiyonu sağlandı. 3-6. haftalar arası yeterli GİB yüksekliği sağlandığından indüksiyon tekrarına gerek duyulmadı. M grubuna glokom indüksiyonu başlanmasıyla birlikte deney süresi boyunca 10 mg/kg/gün memantin intraperitoneal yoldan verildi.

Göz içi basıncı ölçümü

Her enjeksiyondan hemen önce ve sonra ve ayrıca deney süresi boyunca günlük olarak göz içi basınçları ölçüldü. Glokom indüksiyonu sonrası süreçteki GİB ölçümleri 3 mg/kg asepromazin ve 1 damla topikal % 0.4 oksibuprokain hidroklorür ile hafif anestezi uygulamasını takiben, Tono-Pen ile yapıldı. Enjeksiyonlar ve ölçümler hep aynı saatte (09:00-10:30) yapıldı.

Perfüzyon, Sakrifikasyon, Dokuların Hazırlanışı ve İmmünohistokimya

G, M ve K gruplarından 5'er denek 1., 3. ve 6. haftanın sonunda perfüzyon yöntemi ile tespit edilerek sakrifiye edildi. Kardiyak perfüzyon yöntemini takiben enükleasyon gerçekleştirildi ve gözler %10 nötral formalin içine koyuldu. Tespit edilen dokular kademeli olarak artan alkol derecelerinde dehidrate edilerek parafin içinde bloklandı. Deparafinizasyon işleminin ardından tris tampon çözeltisi (TBS) ile yıkanan dokular 37 °C'de 1 saat süreyle 1:100 oranında seyreltilmiş olan GFAP pri-



Grafik: Grafikte deney sürecinde kontrol (K), memantin (M) ve glaukom (G) gruplarındaki ortalama göziçi basıncı (GİB) değerlerinin seyri izleniyor. M ve G gruplarında GİB değerleri K grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek seyretmiştir ($p < 0.05$).

mer antikorunu (GA5, Mouse anti-Human Novocastra Cat No: NCL-GFAP-GA5) ile inkübe edildi. Zemin boyası için Mayer hematoksilen ile boyanan kesitler uygun kapatma ortamında lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

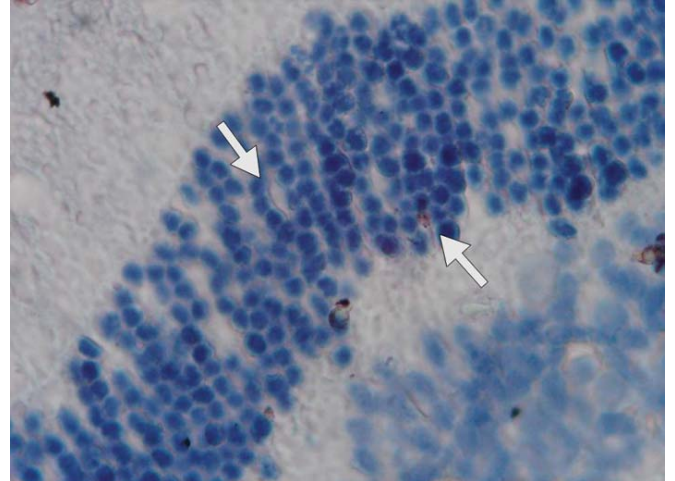
Gruplar arası anlamlı farklılık Kruskal-Wallis varyans analizi ve ardından da Bonferroni düzeltilmiş Wilcoxon testi ile değerlendirildi. İstatistiksel olarak anlamlılık, p değerinin 0.05'in altında olması ($p < 0.05$) şeklinde tanımlandı.

BULGULAR

Göze ait dokular; kornea, lens ve sklerayı da içine alacak şekilde deney boyunca normal görünümündeydi. Denekler arasında herhangi bir davranışsal farklılık gözlenmedi.

Göz içi basıncı

G ve M grubundaki GİB yüksekliği deney boyunca anlamlı düzeyde ($p < 0.01$) yüksek kaldı. K ve M grubu

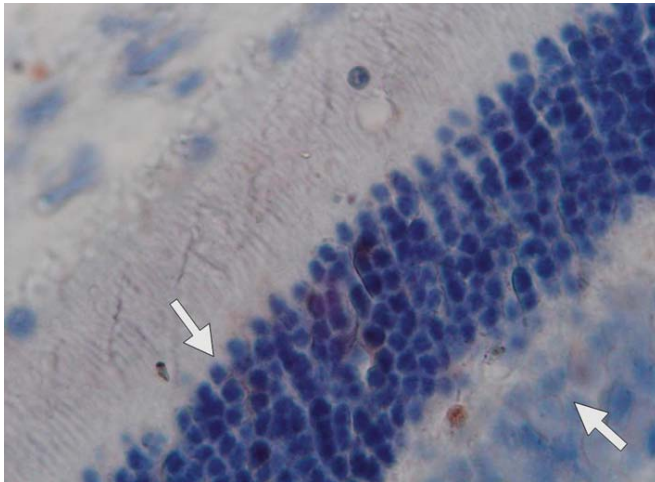


Resim 1: Glaukom grubunda glial fibriller asidik protein ekspresyonunun anlamlı derecede artmış olduğu ve bu artışın genellikle iç pleksiform tabakada yoğunlaştığı gözlenmektedir (oklar).

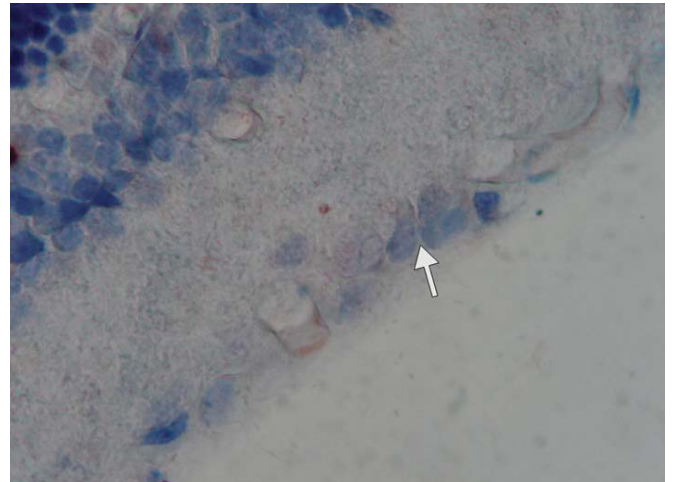
karşılaştırıldığında memantin GİB ni düşürmede etkisinin olmadığı görüldü ($p > 0.01$). Deney sürecindeki gruplara ait ortalama GİB değerleri Grafik 1'de gösterilmiştir.

GFAP İmmün Boyama

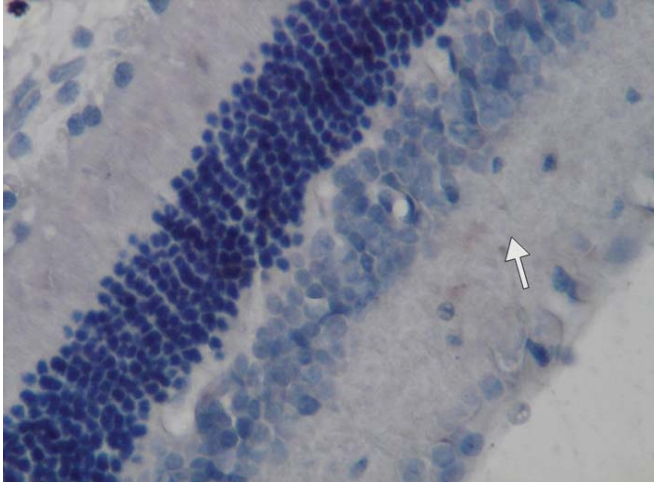
Glaukom indüksiyonu yapılmış olan grupta GFAP ekspresyonu anlamlı derecede artmış olduğu ve bu artışın genellikle iç pleksiform tabaka (İPT) da yoğunlaştığı gözlemlendi (Resim 1). MH ve proseslerinin ise iç nükleer tabaka (İNT), dış pleksiform tabaka (DPT) ve dış nükleer tabaka (DNT) çevresinde yoğunlaşmış olduğu dikkati çekti (Resim 2). G grubundaki immünreaktif reaksiyon 3. haftaya kadar artarak devam etti ve 6. haftaya kadar reaksiyonun sürdüğü gözlemlendi. G grubunda ayrıca bazı GFAP immünreaktif hücreler ve prosesler tüm retina katmanları boyunca gözlemlendi. Bu hücrelerin DNT nin dış segmentine ve hatta fotoreseptör tabakasına kadar uzandıkları görüldü. K grubuna ait deneklerde gözlenen eser miktardaki boyanmanın sinir lifi tabakası (SLT) ve ganglion hücre tabakasında sınırlı kalmış olduğu ve haftalar içerisinde artış göstermediği gözlemlendi (Resim 3). M grubunda ise boyanma 1. haftada İPT ya kadar görüldü



Resim 2: Glaukom grubunda Müller hücreleri ve proseslerinin ise iç nükleer tabaka, dış pleksiform tabaka ve dış nükleer tabaka çevresinde yoğunlaşmış olduğu gözlenmektedir (oklar).



Resim 3: Kontrol grubu deneklerde glial fibriller asidik protein immün boyanmanın pozitif olduğu Müller hücrelerinin genellikle ganglion hücre tabakası ve sinir lifi tabakası alanlarında boyanma gösterdiği izleniyor (ok).



Resim 4: 1. haftada memantin grubunda glial fibriller asidik protein immün boyanmanın iç pleksiform tabakaya kadar olduğu görülüyor (ok).

(Resim 4) ancak diğer haftalarda immünreaktif boyanmada anlamlı bir artış gözlenmedi. G ve M gruplarında 1. haftada MH yanıtının başladığı görüldü. M grubunda sabit kalan bu proliferasyonun, G grubunda artarak devam ettiği gözlemlendi.

TARTIŞMA

Bilindiği gibi astrositler, MH ve mikroglia hücreleri, retinadaki non-nöronal hücrelerin majör tipleri olup, bu hücrelerin aktivasyonunun omurgalılarda nöronal hasarlanma, dejenerasyon ve rejenerasyon süreçlerinde arttığı gösterilmiştir.¹⁸ Aynı zamanda bu hücrelerin altta yatan çeşitli hastalıklara bağlı olarak görmesini yitirmiş insan gözünde de aktive oldukları bildirilmiştir.¹⁹

MH nin çeşitli nöronal sinyalleri tanıma özelliği gösterdiği ve retina ekstrasellüler aralığındaki K⁺, H⁺ ve glutamat ve GABA gibi nörotransmitterlerin seviyelerini aktif olarak kontrol ettikleri gösterilmiştir.²⁰ Ayrıca mikrogliaların K⁺ iletkenliğine duyarlı olduğu ve agresif oksijen radikalleri üretimi ve glutamat salınması gibi glokomdaki olası patofizyolojik hücre ölümü zincirine etki edebilecek süreçlerde rol oynadığı da ileri sürülmektedir.²¹ Bu deneysel çalışmada sıçanlarda oluşturulan glokom modeli üzerinde retinal glia hücrelerinin glokom sürecindeki aktiviteleri incelenmiş ve bu aktivitenin immün cevap yönünde belirgin şekilde artmış olduğu izlenmiştir. Literatürdeki benzer bir çalışmada, glokomatöz süreçte glial hücrelerin GİB yükselmesi ile birlikte aktive oldukları ve bu hücrelerin reaktivitesinin de glokomatöz retina-daki nöronal dejenerasyon ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür.⁸ Aynı çalışmada, artmış glial hücrelerin nöronal dejenerasyon ürünlerinin temizlenmesi amacı ile aktive oldukları yorumu yapılmıştır. Mevcut çalışmanın bulguları da bu sonuçlar ile paralellik göstermektedir.⁸

Glokom hastalarında ve deneysel glokom modellerinde vitreusta glutamat düzeylerinin artmış olduğunu gösteren birçok çalışma, glokomdaki RGH hasarına glutamat eksitotoksitesinin sebep olabileceğini düşündürmektedir.^{14,15} Buna karşın glokom hastalarının ve deneysel glokom oluşturulmuş maymunların vitreuslarında

normal glutamat düzeyleri olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur.^{10,22} Ancak yine de patolojik koşullarda RGH üzerinde glutamatın eksitotoksik etkisinin olmadığını söylemek mümkün değildir.

MH nin, GİB yükselmelerine hızla tepki verdiği ve bu yanıtın deney süresi boyunca sürdüğü gösterilmiştir.⁷ Woldemussie ve ark. nin yapmış olduğu çalışmada MH deki GFAP oluşumu GİB artışından sonra en erken 4. günde bulunmuştur. Bu artış 60. güne kadar devam etmiştir.⁷ Bu çalışmanın bulguları da MH yanıtının glokom oluşturulan gruplarda 1. haftada görüldüğünü, memantin tedavisi uygulanmayan deney grubunda ise artarak 6. haftaya kadar devam ettiğini göstermektedir.

Glokomatöz hasar sürecinde retinal glia hücrelerinin reaktivitesini GFAP immün yanıtı üzerinden incelemiş olan bu çalışmanın sonuçları ile bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular paralellik göstermektedir. Bu sonuç MH' nin görevleri ve memantin NMDA reseptör antagonizması sonucu glutamat eksitotoksitesini baskılayıcı özelliği arasında bağlantı kurulması fikrini ortaya koymuştur. Şöyle ki; bilindiği gibi MH ekstrasellüler alanda nörotransmitterlerin oranlarını düzenlemektedir ve normal koşullarda eser miktarda GFAP oluşturmaktadır. Ancak glokomatöz hasarda ekstrasellüler alanda glutamat miktarının arttığı ve özellikle RGH'nin ölümüne sebep olan eksitotoksik hasarın meydana geldiği bilgisi literatürde mevcuttur.¹⁰

Bu çalışmada da tedavi verilmeyen G grubunda GFAP düzeylerindeki artış, MH'nin aktivitesinin arttığı ve patolojik koşulların meydana geldiğini düşündürmektedir. Ancak M grubunda aynı koşullarda glokom oluşmasına rağmen GFAP yanıtının G grubuna göre belirgin düzeyde düşük olması MH' nin G grubunda gözlenen patolojik koşullarla karşılaşmamış olabileceği düşüncesini ortaya koymaktadır. M grubunda memantin yarattığı reseptör antagonizmasına bağlı olarak düşük glutamat düzeyi, düşük eksitotoksikite ve sonuç olarak MH'den zayıf GFAP yanıtı gelişimi şeklinde yorumlanabilir. Woldemussie ve ark. çalışmasında GFAP immünreaktivitesinin sadece SLT ile sınırlı kalmadığı, MH boyunca da bol miktarda gözlemlendiği belirtilmiştir.⁷ Bizim bulgularımızda da, GFAP oluşumundaki artışın genellikle İPT da yoğun olduğu, MH ve proseslerinin ise İNT, DPT ve DNT çevresinde yoğunlaşmış olduğu gözlenmiştir.

Literatürde, memantin glokomatöz hasara uğramış RGH üzerindeki nöron koruyucu etkisinin yanısıra glial hücre yanıtı üzerindeki etkinliğini irdeleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle mevcut çalışma, memantin glokomatöz hasara sekonder gelişen glial hücre yanıtı üzerindeki etkisinin incelenmesi yönünden öncü bir çalışma niteliğini taşımaktadır. MH nöronal aktiviteyi düzenlemedeki etkinliğini glutamat gibi nörotransmitterlerin ekstrasellüler konsantrasyonlarını kontrol ederek gerçekleştirilmektedir.²⁰

Deneysel kronik oküler hipertansiyonda ganglion hücrelerinin ölümünü önlemede MK-801 veya memantin gibi NMDA kanal blokerlerinin koruyucu özellik göstermesi glokomatöz patolojik değişimlerin glutamat toksitesisi ile olan ilişkisini gösteren önemli başka bir bulgudur.^{7,23}

Bu çalışmanın bulgularında da memantin verilen glokomatöz deneklerdeki GFAP yanıtının retinanın iç tabakalarında sınırlı kalmış olması ve deney boyunca da ilerleme göstermemiş olması dikkat çekicidir. Normal koşullarda MH tarafından oluşturulmayan GFAP in patolojik durumlarda hücresel içeriğin taşınması ve onarım sürecinde kullanılmak üzere eksprese edildiği bilinmektedir.²⁴ Retinal homeostazisin sağlanmasından birinci derece sorumlu olduğu düşünülen MH, glokomatöz hasara GFAP salınımı ile yanıt verdiği gösterilmiştir.⁷ Bu çalışmada, memantin uygulanmış olan glokomatöz deneklerde GFAP reaksiyonunun tedavi verilmeyen grubuna göre daha düşük düzeyde kalmış olması dikkat çekicidir. Bu sonuç, memantin sağladığı antioksidant aktivitenin MH üzerinde koruyucu ve bu hücrelerin nöroprotektif etkinliğini artırıcı özellikte olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, tedavi uygulanmayan glokomatöz deneklerde GFAP immün boyanma haftalar boyunca iç retinal katlardan dış retinal katlara doğru, MH uzunluğu boyunca artış göstermiştir Woldemussie ve ark., glokom sonrası GFAP artışı ile tanımlanan MH proliferasyonunu sayısal değil fonksiyonel bir artış olarak tanımlamış, immünreaktivitenin içten DLM a doğru artış gösterdiğini rapor etmiştir.⁷ Ayrıca, deneysel maymun glokom modelinde MH lerinde anlamlı bir sayısal artış gözlenmediğini bildiren bir çalışma da mevcuttur.²⁵ Bu veriler doğrultusunda, bu çalışmadaki GFAP ekspresyonundaki artışın fonksiyonel olduğunu ve hücre sayısı artışına bağlı olmadığını düşünüyoruz.

Bu deneysel çalışmada glokom sürecinde sistemik olarak uygulanan memantinın reaktif glial aktivite üzerinde baskılayıcı etkisinin olduğu gözlenmiştir. Glutamat reseptör blokajı yolu ile antioksidant aktivite sağladığı bilinen memantinın glokom sürecinde MH üzerinde glutamat toksisitesini azaltarak etkili olduğu düşünülebilir.

AYNAKLAR/REFERENCES

1. Thomas J, Liesegang MD.: Concise review for primary-care physicians. Glaucoma: changing concepts and future directions. *Mayo Clin Proc.* 1996; 71:689-694.
2. ÖnoI M.: Glokomda retina sinir lifleri ve peripapiller bölge. *Ret-Vit.* 1995;3:334-337.
3. Turgut B, Demir T, Celiker Ü.: Oftalmolojide Apoptoz. *Fırat Tıp Derg.* 2006;11: 6-11.
4. Merrill JE.: The role of microglial cells and astrocytes in pathology: introduction. *Dev Neurosci.* 1994;16:113.
5. Lam TK, Chan WY, Kuang GB et al.: Differential expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the retinae and visual cortices of rats with experimental renal hypertension. *Neurosci Lett.* 1995; 198:165-168.
6. Newman E, Reichenbach A.: The Müller cell: a functional element of the retina. 1996; *Trends Neurosci.* 19:307-312.
7. Woldemussie E, Wijono M, Ruiz G.: Müller cell response to Laser-induced increase in intraocular pressure in rats. 2004; *Glia* 47:109-119.
8. Wang X, Tay SS, Ng YK.: An immunohistochemical study of neuronal and glial cell reactions in retinae of rats with experimental glaucoma. *Exp Brain Res.* 2000;132:476-484.
9. Napper G, Pianta M, Kalloniatis M.: Reduced glutamate uptake by retinal glial cells under ischemic/hypoxic conditions. *Vis Neurosci.* 1999;16:149-158.
10. Carter-Dawson L, Crawford ML, Harwerth RS, et al.: Vitreal glutamate concentration in monkeys with experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:2633-2637.
11. Munir M, Correale DM, Robinson MB.: Substrate-induced upregulation of Na-dependent glutamate transport activity. *Neurochem Int.* 2000;37:147-162.
12. Brandstatter JH, Hartveit E, Sassoe-Pognetto M, et al.: Expression of NMDA and high-affinity kainate receptor subunit mRNAs in the adult rat retina. *Eur J Neurosci.* 1994;6:1100-1112.
13. Hof PR, Lee PY, Yeung G, et al. Glutamate receptor subunit GluR2 and NMDAR1 immunoreactivity in the retina of macaque monkeys with experimental glaucoma does not identify vulnerable neurons. *Exp Neurol.* 1998;153:234-241.
14. Dreyer EB, Zurakowski D, Schumer RA, et al.: Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1996;114:299-305.
15. Dreyer E, Grosskreutz C.: Excitatory mechanisms in retinal ganglion cell death in primary open angle glaucoma (POAG). *Clin Neurosci.* 1997;4:270-273.
16. Lipton SA.: Paradigm shift inneuroprotection by NMDA receptor blockade Memantine and beyond *Nature Rev Drug Discov.* 2006;5:160-170.
17. Benozzi J, Nahum LP, Campanelli JL et al.: effect of hyaluronic acid on intraocular pressure in rats. *Invest Ophthalmology Vis Sci.* 2002;43:2196-2200.
18. Battisti WP, Wang J, Bozek K, et al.: Macrophages, microglia, and astrocytes are rapidly activated after crush injury of the goldfish optic nerve: a light and electron microscopic analysis. *J Comp Neurol.* 1995;354:306-320.
19. Thale AB, Gordes RS, Rochels R, et al.: Changes in extracellular matrix in the lamina cribosa of patients with secondary glaucoma. *Ophthalmologie.* 1996;93:586-591.
20. Newman E, Reichenbach A.: The Müller cell: a functional element of the retina. *Trends Neurosci.* 1996;19:307-312.
21. Osborne NN, Ugarte M, Chao M, et al.: Neuroprotection in relation to retinal ischemia and relevance to glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 1999;43:102-128.
22. Honkanen RA, Baruah S, Zimmerman MB, et al.: Vitreous amino acid concentrations in patients with glaucoma undergoing vitrectomy. *Arch Ophthalmol.* 2003;121:183-188.
23. Chaudhary P, Ahmed F, Sharma SC.: MK801-a neuroprotectant in rat hypertensive eyes. *Brain Res.* 1998;792:154-158.
24. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL.: Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty- one years (1969-2000). *Neurochem Res.* 2000;25:1439-1451.
25. Carter-Dawson L, Shen F, Harwerth R, et al.: Glutamine immunoreactivity in Müller cells of monkey eyes with experimental glaucoma. *Exp Eye Res.* 1998;66:537-545.