

# Deneyisel Glokom Modelleri

## Experimental Models of Glaucoma

Burçin KEPEZ YILDIZ<sup>1</sup>, Metin ÜNLÜ<sup>1</sup>, Zeynep AKTAŞ<sup>2</sup>

### ÖZ

Glokom ilerleyici ve geri dönüşümsüz görme fonksiyon kaybı ile seyreden bir hastalık grubudur. Glokomun patofizyolojisini anlamak, tedavi modaliteleri geliştirmek için deneysel modeller sıklıkla kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalarda glokomun spontan olarak geliştiği hayvanların yanı sıra, indüklenerek hastalık oluşturulan pek çok model kullanılmaktadır. Bu çalışmada deneysel glokom modelleri gözden geçirilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Glokom, deneysel glokom modelleri.

### ABSTRACT

Glaucoma is a group of disorders which lead to progressive and irreversible visual functional loss. Experimental models are frequently used in order to understand the pathophysiology of glaucoma and develop new treatment modalities. In experimental studies, various animal models with spontaneous or induced glaucoma are used. In this study, experimental glaucoma models have been reviewed.

**Key Words:** Glaucoma, experimental glaucoma models.

- 1- M.D. Asistant, Gazi University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Ankara/TURKEY  
KEPEZ YILDIZ B., burcinkepez@hotmail.com  
UNLU M., drunlumetin@hotmail.com
- 2- M.D., Gazi University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Ankara/TURKEY  
AKTAS Z., drzeynep2000@yahoo.com

**Geliş Tarihi - Received:** 14.12.2012  
**Kabul Tarihi - Accepted:** 17.12.2012  
**Glo-Kat 2012;7:201-208**

**Yazışma Adresi / Correspondence Adress:** M.D. Asistant,  
Burcin KEPEZ YILDIZ  
Mutlukent Mah. Melis Sitesi A2 Blok Daire: 24 Ümitköy-Ankara/TURKEY

**Phone:** +90 532 460 06 50  
**E-Mail:** burcinkepez@hotmail.com

## GİRİŞ

Glokom terimi yüksek göz içi basıncı'na (GİB) bağlı olarak retinal ganglion hücrelerinin ölümü ile seyreden ve ilerleyici görme kaybı ile karakterize bir grup hastalığı ifade etmektedir. Dünyada kataraktan sonra ikinci en sık körlük sebebidir.<sup>1</sup> Başlangıcı ve progresyonu gözün farklı yapıları ile beynin farklı bölümleri arasında çeşitli etkileşimler aracılığıyla olmaktadır ve bu sebeple oldukça karmaşık bir hastalık grubudur.<sup>2</sup> Çoğu hastalıkta olduğu gibi glokomun da patofizyolojisi ve tedavisi üzerine insan denekler üzerinde deneysel çalışmalar yapmak oldukça zordur ancak cansız insan materyalleri biyokimyasal analiz için kullanılabilir.<sup>2</sup> Bu sebeple araştırmacılar hastalığı tam olarak taklit ederek mekanizması hakkında fikir edinebildikleri ve yeni tedaviler geliştirebildikleri hayvan modellerine yönelmişlerdir.<sup>3</sup>

Deneyisel glokom oluşturmak için seçilecek hayvan modelinde dikkat edilmesi gereken birkaç nokta söz konusudur:

- 1) Modelin görsel sisteminin insan gözüne benzerliği,
- 2) Modelde ve insan gözünde oluşan patolojik değişiklikler için geçen zaman sürecinin benzerliği,
- 3) Modelin genetik manipülasyon yapılabilirliği,
- 4) Etkilenmiş hayvan modeli oluşturmak için gereken eğitim süreci,
- 5) Gözün boyutu,
- 6) Analiz yöntemlerinin mevcudiyeti ve zorlukları,
- 7) Hayvanların bulunabilirliği,
- 8) Maliyet.<sup>2</sup>

Bu amaçla geçmişten günümüze pek çok hayvan modeli oluşturulmuş, maymunlar<sup>4</sup>, kedi ve köpekler<sup>5</sup>, domuzlar<sup>6</sup>, ratlar<sup>7</sup> vb. hayvan türleri kullanılmıştır. Maymunlar insan gözüne benzer göz anatomileri nedeni ile bir dönem kullanılmış ancak etik ve ekonomik problemler kullanımlarını kısıtlamıştır. Domuzlar insanlara filogenetik yakınlıkları ve göz anatomilerinin insan gözüne olan benzerliği ile önemli bir modeldir.<sup>6</sup> Öyle ki, yakın zamanda domuzlarda genetik olarak retinitis pigmentosa hastalığı bile oluşturulmuştur.<sup>8</sup> Ayrıca klinik olarak sıkça kullanılan optik koherens tomografi, korneal topografi, multifokal elektroretinografi gibi cihazların domuzlara uygulanabilmesi de önemli bir avantajdır.<sup>6</sup> Kemirgen modeller ise bulunması ve çalışılması kolay modeller olarak sıkça tercih edilmektedir. Ayrıca glokom progresyonu insanlarda olduğu gibi kemirgenlerde de hayat döngülerinin uzun bir bölümünü gerektirmektedir.<sup>9</sup> Glokomun en önemli risk faktörü yüksek GİB olduğu için genellikle hayvan modellerinde cerrahi veya genetik manipülasyonlarla GİB artırılması amaçlanmaktadır.

Bunun yanında retinal ganglion hücre ölümünü hedef alan intravitreal aminoasid enjeksiyonları (Glutamamat, N-Metil -D-Aspartik Asit), retinal iskemi, optik sinir mekanik travmaları gibi modeller de tercih edilmektedir. Bu tip bazı modellerin gerçek glokom olarak kabul edilemeyeceği aşikar da olsa, glokoma spesifik değişikliklerle retina ganglion hücresi disfonksiyonunda izlenen değişikliklerin karşılaştırılmasına imkan vermeleri açısından önemlidir.<sup>2</sup> Bazı hayvanlarda ise spontan glokom gelişmekte ve bunlar indüksiyon gerektirmeksizin kullanılmaktadır.<sup>10</sup> Bu derlemede, günümüzde yaygın kullanılan deneysel glokom modellerinin tanımlanması, tüm olumlu ve olumsuz yönleri ile gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

## PRİMAT GLOKOM MODELLERİ

Maymun gözünün anatomik ve fonksiyonel olarak insan gözüne oldukça yakın olması, insanlarda GİB ölçümü için kullanılan cihazların maymunlarda da kullanılabilmesi, eğitilmiş maymunlarda görme alanı analizinin yapılabilir olması, maymun modellerini glokom için ideal bir model haline getirirse de, yüksek maliyeti ve iyi bir ekip çalışması gerektirmesi nedeni ile çok tercih edilmemektedir.<sup>2</sup> Deneysel oküler hipertansiyon primatlarda genellikle trabeküler ağın lazer fotokoagülasyonu ile indüklenmektedir. Genellikle birden fazla seans uygulanmakta ve 180-270 derece devamlı atımlar gerekmektedir. Erken dönemde inflamasyona sekonder GİB'nda düşüş izlenmekte zamanla önce başlangıç değerlerine dönmekte sonrasında ise daha yüksek değerler elde edilmektedir.<sup>11</sup> 25-60 mmHg arasında elde edilen bu yüksek değerler, 1 yıldan fazla sürebilmektedir.<sup>2</sup> Diğer kullanılan yöntemler intrakamaral partikül (10 mikrometre latex mikroküreleri),<sup>12</sup> jel (poliakrilamid),<sup>13</sup> enzim ( $\alpha$ -kemotripsin)<sup>14</sup> enjeksiyonu ve topikal steroidlerdir.<sup>15</sup> Ancak bu modellerin GİB yükseltici etkileri lazer fotokoagülasyona göre daha kısa sürmektedir.<sup>4</sup> Ayrıca lens subluksasyonu, perforasyon, korneal ödem, silier cisim atrofisi, retinal hemoraji, direkt retinal dejenerasyon gibi enjeksiyona sekonder komplikasyonlara sebep olabilmektedir.<sup>16</sup>

Otolog kırmızı kan hücreleri/hayalet hücrelerinin ön kamaraya enjeksiyonu ile 42 güne yakın süren GİB artışı elde edilmiştir. Ancak bu yöntemin dezavantajı ön kamaraya hücrelerle dolu olduğundan fundusun izlenememesidir.<sup>17</sup> GİB artışından bağımsız olarak, retina gangliyon hücre kaybı oluşturulması yoluyla glokom modeli oluşturmak da mümkündür. Bu amaçla kullanılan endotelin-1 osmotik pompası 6-12 ay süre boyunca retrobulber alanda bırakılarak iskemiye indüklemekte ve retina ganglion hücrelerinde ilerleyici kayba sebep olmaktadır. Bu model normotansif glokomu pek çok açıdan taklit etmektedir.<sup>18,19</sup>

Glokomatöz retina ganglion hücre ölümünde apoptozisin başlıca mekanizma olduğu ilk olarak maymun modelinde gösterilmiştir. Ayrıca multifokal ERG ile sadece ganglion hücrelerinin değil iç ve dış nükleer tabakaların da zarar gördüğünün gösterilmesi yine maymun modeli ile mümkün olmuştur.<sup>2</sup> Genetik olarak spontan glokom geliştiren modeller de mevcuttur. Örneğin 1993'te San Tiago bölgesinde yaşayan Macaca maymunlarının 9 ailesinde maternal kalıtımla geçtiği tespit edilen aile bireylerinin %40'ını etkileyen GİB yüksekliği tespit edilmiştir. Bu aile bireylerinde basınç yüksekliğinin yanı sıra elektrofizyolojik çalışmalarda görme alanında daralma ve retina ganglion hücrelerinde azalma olduğu da tespit edilmiştir.<sup>20</sup>

### DOMUZ GLOKOM MODELLERİ

Domuz gözü insan gözüne göre daha büyük olmasına ve aköz drenaj sisteminin insanlardan daha farklı olmasına rağmen retinası insan retinasına en çok benzeyen hayvan modelidir.<sup>21</sup> Garcia ve ark., 2002<sup>22</sup> ve 2005'te<sup>23</sup> yaptıkları çalışmalarda retina ganglion hücrelerinin insanlarda olduğu gibi, domuzlarda da hücre gövdelerinin boyutuna göre üç sınıfa ayrıldığı (küçük, orta boy, büyük) ve yine insan retinasında olduğu gibi glokomatöz hasara en çok büyük hücrelerin duyarlı olduğu gösterilmiştir. Üç episkleral venin koterizasyonu cerrahi sonrası üçüncü haftada 1.3 kat GİB artışına sebep olmakta ve bu etki yaklaşık 21 hafta sürmektedir.<sup>6</sup> Bu oluşturulan GİB artışı sürecinde domuzların trabeküler ağında da insanlara benzer şekilde Endotelyum Lökosit Adezyon Moleküllü-1 (ELAM-1)' in arttığı gösterilmiştir.<sup>2</sup> Ederra ve ark.,<sup>6</sup> oluşturdukları bu glokom modelinde özellikle mid perifer ve periferik retinada ganglion hücresi kaybı olduğunu göstermiş ve bu hücrelerin yokluğunun kalan hücrelerin boyutlarının arttırılması ile kompanse edilmeye çalışıldığını bildirmişlerdir.

### KEMİRGEN GLOKOM MODELLERİ

Son iki dekat boyunca kemirgen hayvan modelleri (rat, fare) glokomda yaygın kullanım alanı bulmuştur. Bu türlerin drenaj sistemlerinin insanlara olan benzerliği, ucuz olmaları, genetik manipulasyonlara açık olmaları tercih sebepleridir. Ancak belirgin dezavantajları, optik sinir başının arteriyel sisteminin insanlardan çok farklı olması ve yine belirgin bir lamina cribrosalarının bulunmamasıdır. Yine bu hayvanlarda GİB ölçmek oldukça zor olmakla beraber en klasik metod ön kamaraya mikroiğne yardımı ile girilip sıvı manometre ile ölçüm almaktır. Ancak bu metod invaziv olması, her girişte oluşan korneal hasarın iyileşme sürecinin ölçümleri etkilemesi ve genel anestezi gerektirmesi gibi sebeplerle sık kullanılmamaktadır.<sup>3</sup>

Ratların gözleri farelerden daha büyük olduğu için Tono-Pen gibi noninvazif metodlarla ölçüm mümkün olmaktadır ancak cihazın geniş ucu insan gözü için tasarlanmış olduğundan ölçümler pek güvenilir olmamaktadır (Resim 1). Son zamanlarda kullanıma giren Tono-Lab ise hem ratlarda hem farelerde kullanılabilir ve çok daha güvenilir sonuçlar sağlamaktadır.<sup>24</sup> Kemirgenlerde uygulanan pek çok glokom modeli mevcuttur ve bunlar oküler hipertansiyonun indüklediği modeller, oküler hipertansiyon oluşturulmadan retina ganglion hücre kaybına sebep olunan modeller ve genetik modeller olmak üzere üç ana başlık altında toplanabilir.<sup>3</sup>

### A- Oküler Hipertansiyon Oluşturulan Modeller

Yüksek GİB glokomatöz optik nöropatinin oluşumunda ve progresyonunda primer risk faktörü olarak kabul edildiğinden cerrahi olarak indüklenerek GİB'nda kronik artış sağlamak bu modellerin başlıca amacı olmuştur.<sup>25</sup> Ancak fare gözleri çok küçük olduğundan bu tür modellerde genellikle ratlar kullanılmıştır.

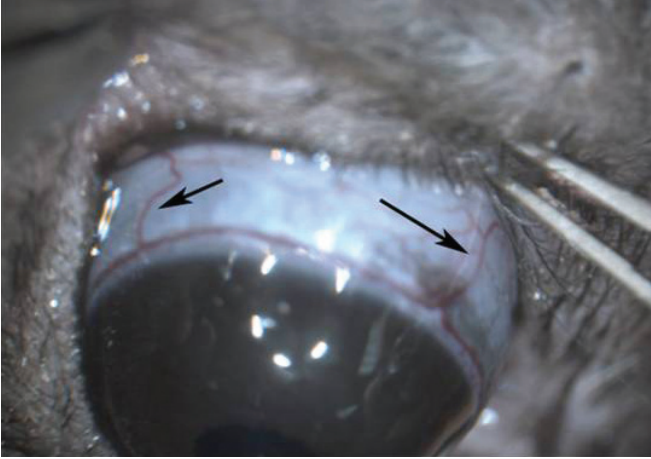
En sık kullanılan modeller episkleral/limbal venlerin koterizasyonu,<sup>26</sup> episkleral venlere hipertonic salin enjeksiyonu,<sup>27</sup> ön kamaraya indosiyanın yeşili veya Hint mürekkebi verilerek veya verilmeden yapılan trabeküler ağ fotokoagülasyonu ile GİB'ni yükselten maddelerin intrakamaral enjeksiyonunu içermektedir. Bu yöntemlerin temel dezavantajları GİB'nın oldukça yavaş artması ve kayda değer ganglion hücre hasarı gelişmeden tekrar normale dönmesi, dolayısıyla tekrarlayan uygulamalar gerektirmeleridir.

Bu yöntemlerden episkleral ven koterizasyonu koterize edilen ven sayısı ile korele GİB yüksekliği sağlamaktadır (Resim 2). Örneğin tek venin koterizasyonu belirgin GİB yüksekliği sağlamazken, iki veya üç venin koterizasyonu 20 mmHg civarında GİB'na, 4 venin koterizasyonu ise 60 mmHg'lık bir GİB'na sebep olmaktadır.<sup>3</sup> Farelerde de teknik zorluklara rağmen Ederra ve ark.,<sup>9</sup> aynı yöntem ile 4 hafta süren %100'lük GİB artışı sağlamayı başarmışlardır.



Resim 1: Rat gözünde Tonopen ile GİB ölçülmesi.





**Resim 2:** Rat gözünde episkleral venlerin (siyah oklar) görünümü.

Bu modelde ani GİB artışı aközün dışa akımının obstruksiyonu ile beraber oküler venöz konjesyonla da bağlantılıdır ve bu durum diğer deneysel oküler hipertansiyon modellerinde başlangıçta sadece superior kadranda incelmeye olurken, bu modelde gelişen yaygın retina sinir lifi kaybını açıklamaktadır.<sup>28</sup> Episkleral vene hipertonic salin solüsyonu enjeksiyonu aközün dışa akım yollarında sklerozise sebep olarak etki göstermektedir. Özel malzeme gerektirmemesi bir avantaj olarak görülürken teknik olarak uygulanma zorluğu farelerde kullanımını imkansız kılmaktadır. Etkinliği ise yaklaşık 7-10 gün içinde GİB artışı sağlamak şeklindedir ve bu yüksekliğin 200 gün sürdüğünü bildiren yayınlar mevcuttur.<sup>26</sup>

Trabeküler ağın lazer fotokoagülasyonun GİB'ni arttırdığı daha önce belirtildiği gibi ilk Rhesus maymunlarında gösterilmiştir.<sup>11</sup> Ancak son zamanlarda bu model yaygın olarak kemirgenlerde kullanılmaktadır. Bu amaçla ilk olarak Ueda ve ark.,<sup>29</sup> yaptıkları çalışmada ön kamaraya lazer uygulamasından bir hafta önce Hint mürekkebi enjeksiyonu yapmışlar ve biriken karbon moleküllerinin argon lazerle etkileşince skatrizan bir etki oluşturduğunu görmüşlerdir. Ancak aynı çalışmada GİB >25 mmHg düzeyine çıkarmak için en az 3 seans lazer uygulanması gerekmiştir. Grozdanic ve ark.,<sup>30</sup> ise ön kamaraya indosiyanın yeşili enjeksiyonu sonrası trabeküler ağa diod lazer uygulamış ve 30 gün süren 30 mmHg civarında GİB düzeyi elde etmişlerdir. Daha uzun süre GİB artışı elde etmek isteyen Aihara ve ark.,<sup>31</sup> ise bu tekniği modifiye ederek bir mikro-enjektör yardımı ile önce ön kamarayı düzleştirmiş ardından argon lazer uygulamış ve bu uygulama sonucunda tek seansta 4 hafta boyunca süren GİB'nda %30'luk bir artış sağlamışlardır.<sup>31</sup> Hana Levkovitch-Verbin ve ark.,<sup>32</sup> ise ratlar üzerinde oluşturdukları glokom modelinde; sadece trabeküler ağa lazer uyguladıkları grubu episkleral ven ve trabeküler ağa kombine şekilde farklı güç ve süre uyguladıkları iki grupta (0.4-Watt ve 0.7-sani-

ye/0.6 Watt ve 0.5 saniye) ve sadece episkleral ven ile limbal pleksusa lazer uyguladıkları bir başka grupta karşılaştırmış; kombine grupta hızlı, trabeküler ağa tek başına lazer uygulanan grupta ise uzun dönemde en etkin basınç artışı olduğunu saptamışlardır. Sadece episkleral venlere lazer uygulanan grupta ise etkin bir GİB artışı elde edilememiştir. Bu çalışmada, kombine lazer yapılan modellerin retina ganglion hücre ölümü mekanizmasını ve hüresel etkileşimlerini konu alan araştırmalarda; trabeküler ağa uygulanan lazer ile uzun dönemde GİB artışı sağlanan modelin ise nöroprotektif ilaçların etkinliğinin araştırılmasında daha uygun olabileceği sonucuna varılmıştır.

Trabeküler ağa lazer uygulamaları GİB'nda genellikle 2-6 hafta gibi geçici bir süre artış sağlasalar da, retina ganglion hücrelerinde kayıp ve optik sinir dejenerasyonu gibi sebep oldukları yapısal etkilerin GİB normale döndükten sonra bile devam ettiği gösterilmiştir.<sup>32</sup> Bu farklı GİB yükseltme modellerini karşılaştıran McKinnon ve ark.,<sup>33</sup> trabeküler ağa lazer yapılan gözlerde %100, ven koterizasyonu uygulanan gözlerde %49, hipertonic salin enjeksiyonu uygulanan gözlerde ise %42 oranında GİB'nda artış saptamışlardır. Lazer uygulanan gözlerin %83'ünde optik sinir hasarı mevcutken, salin enjeksiyonu yapılan gözlerin %36'sında, koterizasyon yapılan gözlerin ise sadece %20'sinde optik sinir hasarı olduğunu bildirmişlerdir.<sup>33</sup> Hyaluronik asidin ve 10 mikrometre latex mikrokürelerin hidrokisipropilmetilselüloz ile beraber veya tek başına haftalık intrakamaral enjeksiyonları, trabeküler ağdan drenajı engelleyerek GİB artışına sebep olmaktadır. Bu yöntem teknik olarak daha kolay olmasına karşılık haftalık uygulama gerektirmekte ayrıca korneal problemlere ve inflamasyona sebep olabilmektedir.<sup>34</sup> Diğer bir model ise sistemik S- antijen uygulanması ile oluşturulan üveitik glokomdur. S-antijen uygulanmasını takiben ilk 2-5 günde GİB önce azalmakta, takiben 20 gün süren %75 oranında bir artış izlenmektedir.<sup>35</sup>

## **B- Oküler Hipertansiyon Oluşturmadan Retina Ganglion Hücresi Kaybına Sebep Olan Modeller**

Bu modellerdeki patofizyoloji glokom ile birebir örtüşmesine de retina ganglion hücre dejenerasyonu bu modeller sayesinde aydınlatılmıştır. Bu amaçla kullanılan başlıca modeller optik sinirin mekanik travması, iskemi-reperfüzyon modelleri ve toksik ajanların intraoküler enjeksiyonudur.

**Optik sinirin mekanik olarak hasarlandırılması:** Bu modelde esas mekanizma, aksonal hasarın nöron gövdesine retrograd olarak iletilen dejeneratif bir cevaba sebep olmasıdır. Artmış glutamat düzeyi ve diğer eksitotoksinlerin varlığı, superior colliculustan kaynaklanan nörotrofinin yokluğu apoptozise sebep olarak ganglion hücrelerine spesifik bir dejenerasyon süreci başlatmaktadır.<sup>36</sup>

Teknik olarak topikal ve genel anestezi eşliğinde lateral kantotomi uygulanarak optik sinir künt diseksiyon ile açığa çıkarılmakta ve kan dolaşımı engellenmeden forceps veya elmas bıçak yardımı ile optik sinir hasarlandırılmaktadır.<sup>3</sup> GİB yüksek olmadığı için birebir glokomu taklit etmese de aksonal ganglion hücre hasarı ve beyinden retrograd olarak nöron gövdelerine gönderilen büyüme faktörlerinin artışı gibi bazı özellikleri glokomla benzerlik göstermektedir.<sup>37</sup> Ayrıca ilk hasarlanma sonrası zarar görmemiş bazı nöronlarda da zaman içerisinde sekonder dejenerasyon izlenmektedir. Bu durum glokom başlangıcında sinir lifi hasarı olan bir hastanın GİB zaman içerisinde düşse bile neden kötüleşmeye meyilli olduğunu açıklamaktadır. Uygulanan hasarın derecesine göre retina ganglion hücre sağkalımı değişen oranlarda bildirilmektedir. Levkovitch-Verbin ve ark.,<sup>38</sup> yayınladıkları çalışmada ikinci haftada sağkalım oranı %27 olarak açıklanırken, M. Berkelaar ve ark.,<sup>39</sup> dördüncü haftada %80 sağkalım oranı bildirmişlerdir.

**İskemi-Reperfüzyon modeli:** Retina ganglion hücrelerinin glokomda maruz kaldığı kronik hipoksik stresi taklit etmeyi amaçlamaktadır. İki yöntemle yapılabilir:

- 1) Ucu ön kamarada olan bir infüzyon şişesinin yüksekliği arttırılarak GİB arttırılabilir.
- 2) Optik sinirin yanında seyreden santral retinal arter ligasyonu yapılabilir.

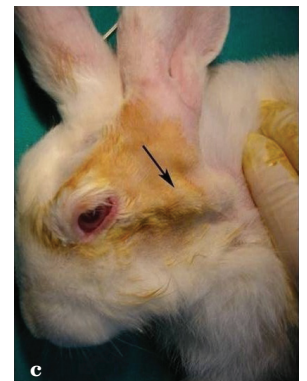
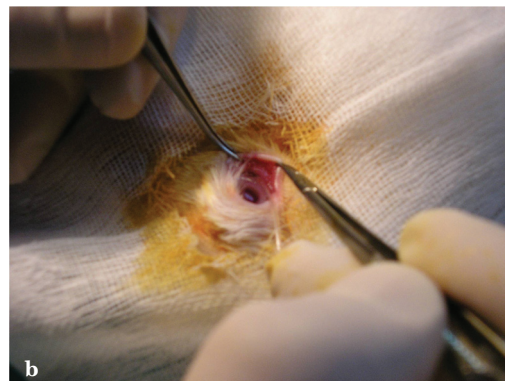
İlk metod ön kamaraya invazyon gerektirip ön segment yapılarına zarar verebilmekte, ikinci metod ise damarlarla beraber optik sinirin de bağlanması ve buna bağlı iskemiye spesifik olmayan değişiklikleri de beraberinde getirmektedir. Tüm bu riskleri elimine etmek için son zamanlarda subkonjunktival ve intravitreal endotelin-1 enjeksiyonu ya da uzun dönem salınım yapan pompalar uygulanmaya başlanmıştır<sup>18,19,40,41</sup> (Resim 3a-c). Yine diğer bir alternatif metod Mosinger ve ark.,<sup>42</sup> uyguladığı modeldir. İntravitreal rose bengal enjeksiyonu sonrası boyanın fokal lazerle uyarılması plateletleri aktive ederek retinal arterler-

de lokal trombozise ve iskemiye sebep olmakta, daha sonra trombolitik tedavi ile tromboz uzaklaştırılarak reperfüzyon sağlanmaktadır. Ancak bu yöntemde fototoksitenin sebep olduğu ganglion hücre kaybı da göz önünde bulundurulmalıdır. Tüm bu modellerde retina ganglion hücrelerinde enerji bağımlı fonksiyonlarda duraklama ve aksonlarda nörotübül dejenerasyonu izlenmektedir.<sup>43</sup> Apoptoziste görevli kaspaz düzeyleri ve intravitreal glutamat seviyelerinde de artış olduğu gösterilmiştir.<sup>44</sup> 30-120 dakikalık akut iskemi indüksiyonunun ardından gelen reperfüzyon sadece retina ganglion hücrelerinde değil retinanın tüm katmanlarında genel bir hasarlanmaya sebep olmaktadır.<sup>45</sup> Dolayısıyla iskemi-reperfüzyon modelinin glokom için kullanılabilirliği tartışmalı olmakla beraber nöroproteksiyon çalışmalarında sık kullanılmaktadır.<sup>3</sup>

**Eksitotoksik ajanların intraoküler enjeksiyonu:** Bu modelde iyonotropik glutamat reseptörlerinin aktivasyonu ve intraselüler kalsiyum seviyelerinde artış nedeniyle hücrelerel disfonksiyon ve ölüm gerçekleşmektedir.<sup>3</sup> Glutamat reseptörleri NMDA (N-methyl-D-aspartate) ve NMDA olmayan tip (Kainat reseptör/ $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit (AMPA) olarak ikiye ayrılırlar. Bu reseptörler hem kalsiyum hem sodyum iyonlarının hücre içine geçişine izin vermekte ve bu reseptörlerin glutamat ve analogları tarafından aşırı uyarımı iki evrede ilerleyen dejeneratif değişikliklere yol açmaktadır:

- 1) İleri derecede hücre ödemlenmesi,
- 2) Nekroz-hücre kaybı.

Başlangıçta sadece retina ganglion hücreleri ve iç nükleer tabaka etkilenirken enjeksiyon sonrası 2. ayda fotoreseptör tabakada da dejeneratif değişiklikler olabileceği gösterilmiştir.<sup>46</sup> Glutamatın intravitreal uygulanımı akut yüksek doz (20-200 nmol) şeklinde veya kronik 5 günde bir 2.5 nmol şeklinde yapılabilmektedir. Her iki uygulamanın da retina ganglion hücrelerinde toksisitesi gösterilmiştir.<sup>47,48</sup>



**Resim 3a-c:** Uzun salınım yapma özelliği gösteren pompa sistemi örneği (a), Pompa sisteminin tavşan gözünde alt forniks yolu ile implantasyon hazırlığı (b), Pompanın cilt altına ve tüpün subkonjunktival alana implante edildikten sonraki görünümü (siyah ok),(c).

Santral sinir sistemi ve oftalmolojik bozukluklardaki nöronal kaybın patofizyolojisinde artmış ekstraselüler glutamat seviyelerinin önemli yer tuttuğu bilinmektedir. Maymun gözlerinde yapılan bir çalışmada glokom oluşturulan gözlerde kontrol grubuna göre anlamlı derecede glutamat yüksekliği olduğu saptanmıştır.<sup>49</sup> Ayrıca NMDA-reseptör antagonisti olan memantinün üç ay boyunca kronik düşük doz glutamatla toksisite oluşturulan ganglion hücreleri üzerinde nöroprotektif etkisinin olduğu da gösterilmiştir.<sup>48</sup>

### C- Genetik Modeller

Bazı rat türlerinde primer ve sekonder glokomun spontan varlığı tespit edilmiştir. Örneğin DBA/2J türü farelerde sekonder açı kapanması glokomu geliştirmektedir. Bu farelerde Tyrpp 1 ve Gpumb olmak üzere iki gende mutasyon izlenmektedir. Bu mutasyonlar pigment dispersiyonu, iris transilluminasyonu, iris atrofisi, anterior sineşilere sebep olmaktadır. Yapılan patolojik incelemeler bu değişikliklerin doğum sonrası 4. ayda başladığı, 7. ayda açı kapanmasına sebep olduğu ve 8, 9. ayda GİB artışı ile sonuçlandığını göstermektedir.<sup>50</sup> Diğer bir DBA/2 alt türü DBA/2NNIA'da ise yine spontan GİB artışı olmakta ancak bu artış doğum sonrası 15. ayı bulmaktadır.<sup>51</sup>

Spontan glokom elde edilmesinde diğer bir yaklaşım genetiği ile oynanmış fare modelleridir. Örneğin miyosilin gen mutasyonları primer açık açılı glokomda %3-4 oranında izlenmektedir ve Tyr437 His mutasyonu olan bireylerde glokom daha erken yaşta ortaya çıkmaktadır. İnsanlardaki Tyr437 His mutasyonu, farelerdeki Tyr423 His mutasyonuna karşılık gelmektedir.<sup>52</sup> Bu mutasyonu taşıyan farelerde taşımayanlara oranla istatistiksel olarak anlamlı GİB yüksekliği tespit edilmiştir. (18.3±2.2 mmHg/14.9 ±0.9 mmHg).<sup>53</sup> Ayrıca Flourogold işaretleme yöntemi ile bu mutasyonu taşıyan farelerde yaklaşık %20 oranında retinal ganglion hücre kaybı da olduğu gösterilmiştir. Bu genin yanı sıra kollajen tip 1'in  $\alpha$  subunit mutasyonu da primer açık açılı glokom gelişimi ile sonuçlanmaktadır.

Kalsitonin reseptör benzeri reseptör gen ekspresyonu ise akut açı kapanması glokomu oluşturmaktadır. Genetik modellerde de normotansif glokom benzeri bir tablo oluşturulabilir. Glutamat taşıyıcıları olan GLAST, EAAC1'in eksikliği retina ganglion hücre ölümlü ve optik sinir hasarı ile seyretmektedir.

İnsanlarda olduğu gibi kemirgenlerde de bazı ön segment gelişim bozukluğu sendromlarına da glokom eşlik edebilmektedir. Ön segment disgenезisi ve glokomdan beraberce sorumlu tutulan genler: CYP1B1, FOXC1, FOXC2, PITX2, LMX1b, PAX 6'dır.<sup>2</sup> Spontan hastalık geliştiren farelerle GİB yüksekliği indüklenmiş veya genetiği oynanarak indüklenmiş fareler karşılaştırıldığında; diğer modellerle oluşturulan hastalık hafif- orta düzeyde bir hastalık şiddeti gös-

terirken, spontan hastalık geliştiren DBA/2J fareleri son evreye kadar ilerleyebilmektedirler. Öte yandan indüklenmiş ve genetiği değiştirilmiş fareler, uzun bir takip süresi gerektirdiklerinden maliyeti çok artırırlar. Ancak insan glokomuna birebir benzedikleri için patogenezi çalışmalarında ve ilaç çalışmalarında en değerli model DBA/2J fareleri ile oluşturulan modellerdir. Ancak bu modellerde lamina cribrosanın olmayışı bu modelin bazı çalışmalar için kullanımını kısıtlamaktadır.

### İN VİTRO SİSTEMLER

Bir fenomenin yaşayan organizmalarda gerçekleştiğini görmek için in vivo çalışmalar gerekse de, bu çalışmalar tanımlanamayan ve kontrol edilemeyen pek çok faktörden etkilenmektedirler. Kemirgenlerden izole edilen retina ganglion hücre kültürü veya retinal eksplant organ kültürü ise in vivo çalışmalara göre daha kontrollü çalışmalar yapmaya imkan vermektedir.

Retina ganglion hücre kültürü tek tip hücre üzerinde çalışma olanağı sunarken, retinal eksplant kültüründe tüm retina, retina pigment epitel tabakası ile birlikte veya ayrı olarak elde edilmektedir. İn vitro sistemler yaşayan göze göre oldukça basitleştirilmiş sistemler oldukları için in vitro yapılan çalışmalardan alınan sonuçların mutlaka in vivo çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.<sup>3</sup>

Kemirgenler yardımıyla oluşturulan deneysel modeller özetlenecek olursa, iskemi-reperfüzyon ve optik sinir yaralanmaları akut indüksiyon modellerini oluştururken 7 günden uzun bir süre GİB yüksekliği sağlayan episkleral ven koterizasyonu, hipertonic salin enjeksiyonu, trabeküler ağın lazer fotokoagülasyonu, S-antijen ile indüklenen üveitik glokom modeli, kronik indüksiyon modelleri olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo). Glutamat/gangliotoksik maddelerin enjeksiyonu ise hem akut hem kronik model olarak kabul edilebilir.<sup>54</sup>

### DİĞER MEMELİ MODELLERİ

Tavşanlar glokom filtrasyon cerrahisinde standart hayvan modelleridir ve genellikle yeni cihazların denenmesinde kullanılırlar. Tavşan gözünün kendine özgü anatomik yapısı nedeni ile trabeküler ağın lazer fotokoagülasyonu uygulanamamaktadır. Ancak tavşanlarda glukokortikoid uygulaması GİB'ni başarılı bir şekilde yükseltmektedir.<sup>2</sup> Ayrıca 1960'ların başında Kolker ve ark.,<sup>55</sup> bir grup albino Yeni Zelanda tavşanında konjenital glokom tespit etmişlerdir ve bu hayvanlarda izlenen kalın subkanaliküler dokular ve trabeküler ağda ekstraselüler matriks birikiminin, GİB artışında etkili olduğu düşünülmüştür.



**Tablo:** Kemirgenlerde deneysel glokom modelleri.<sup>3</sup>

	Fare (F) Rat (R)	GİB artışı	GİB artışının idame süresi	Enstrümantasyon gerekisini	Teknik Zorluk
Lazerle indüklenen oküler hipertansiyon modeli	F/R	5-40 mmHg	1 hafta/ seans	+++	++
Episkleral ven içine hipertonic salin enjeksiyonu	R	0-30 mmHg	≥ birkaç hafta	++	+++
Episkleral ven koterizasyonu (2-3 ven)	F/R	10-15 mmHg	≥ birkaç hafta	++	++
İntrakamaral enjeksiyon/ Trabeküler ağ obstruksiyonu	F/R	10-20 mmHg	≥ birkaç hafta	+	+
S antijen uygulanması	R	10-30 mmHg	1-3 hafta	+	+
Optik sinir hasarlandırılması	F/R	-	-	++	++
Eksitotoksik ajan enjeksiyonu	F/R	-	-	+	+
İskemi-reperfüzyon	F/R	>80 mmHg	30-120 dakika	++	++
Endotelin-1 pompası	R	-	-	++	++

Köpekler de spontan glokom izlenebilen hayvan modelleri arasındadır. Cocker cinsi köpeklerde daha erken yaşta Beagles ve Bassets cinsi köpeklerde ise 6-12. ayda glokom ortaya çıkmaktadır. Beagleslarda otozomal resesif geçiş kalıtım modeli gösterilmiştir. Başlangıçta gonyoskopi ile açı açık olarak izlenirken 2-3 yıl içinde açı kapanmaya başlamakta ve GİB 60-80 mmHg düzeyine kadar yükselebilmektedir.<sup>56</sup>

## MEMELİ OLMAYAN MODELLER

Zebra Balığı gözü genel yapı olarak insan gözüne benzese de iridokorneal açı yapısında belirgin farklılıklar göstermektedir. Ancak bu farklılıklara rağmen bazı genlerin glokomdaki fonksiyonunu araştırmak amacı ile diğer model organizmalara tamamlayıcı olarak geçmişte yaygın kullanım alanı bulmuştur.<sup>2</sup> Tavuklarda uzun süre ışık uyarımının açık açılı glokomu indüklediği, horozlarda ise genetik geçişli açı kapanması glokomu izlenebildiği bilinmektedir. Ancak bu modellerin göz yapısının insanlardan belirgin farklı olduğu unutulmamalıdır.

## SONUÇ

Deneysel glokom modelleri glokomun patofizyolojisinin anlaşılmasında ve tedavi modalitelerinin geliştirilmesinde araştırmacılara her zaman yol göstermiştir ve günümüzde halen yaygın kullanım alanı mevcuttur. Ancak insan glokomuna en çok benzerlik gösteren maymun modellerinde bile glokoma kıyasla hızlandırılmış bir süreç söz konusudur ve bu durum hastalığın doğal seyrinden farklılık göstermektedir. Dolayısıyla, gelecekte bu modeller kullanılarak elde edilen sonuçların insan çalışmaları ile desteklenmesi oftalmoloji literatürüne oldukça değerli katkılar sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR/REFERENCES

- Weinreb RN, Khaw PT. Primary open-angle glaucoma. Lancet 2004;363:1711-20.
- Tomarev SI. Animal models of glaucoma. Encyclopedia of the Eye, 1st Edition (Dartt. D. A., Beshrse. J. C. and Dana, R., Eds.). 2010 vol.1:106-11.
- Johnson T, Tomarev S. Rodent models of glaucoma, Brain Research Bulletin 2010;81: 349-58.
- Rasmussen CA, Kaufman PL. Primate glaucoma models, Journal of glaucoma 2005;14: 311-4.
- Brooks DE. Glaucoma in the dog and cat. Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice, 1990;20:775-97.
- Ederra JR, Garcia M, Hernandez M et al. The pig Eye as a novel model of Glaucoma, Experimental Eye Research 2005;81:561-9.
- Pang IH, Clark AF. Rodent Models for Glaucoma Retinopathy and Optic Neuropathy, Journal of Glaucoma 2007;16:483-505.
- Li ZY, Wong F, Chang JH et al. Rhodopsin transgenic pigs as a model for human retinitis pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis. Sci 1998;39:808-19.
- Ederra JR, Verkman AS. Mouse model of sustained elevation in intraocular pressure produced by episcleral vein occlusion. Experimental Eye Research 2006;82:879-84.
- Vecino E. Animal Models in the study of the Glaucoma: Past, Present and Future, Arch Soc Esp Oftalmol 2008;83:517-20.
- Wang RF, Schumer RA, Serle JB et al. A comparison of argon laser and diode laser photocoagulation of the trabecular meshwork to produce the glaucoma monkey model. J Glaucoma 1998;7:45-9.
- Weber AJ, Zelenak D. Experimental glaucoma in the primate induced by latex microspheres. J Neurosci Methods 2001;111:39-48.
- Kaufman PL, Lütjen-Drecoll E, Hubbard WC, et al. Obstruction of aqueous humor outflow by cross-linked polyacrylamide microgels in bovine, monkey and human eyes. Ophthalmology 1994;101:1672-9.
- Rauhut D, Rohen JW. Electron microscopic study of the trabecular meshwork in alpha-chymotrypsin glaucoma. Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol 1972;184:29-41.
- Fingert JH, Clark AF, Craig JE, et al. Evaluation of the myocilin (MYOC) glaucoma gene in monkey and human steroid-induced ocular hypertension. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001;42:145-52.

16. Weber A, Viswanathan S. The primate model of experimental glaucoma, mechanisms of the glaucomas. *Ophthalmology Research* 2008;551-77.
17. Quigley HA and Addicks EM. Chronic experimental glaucoma in primates. II. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. *Invest. Ophthalmol Vis. Sci* 1980;19:137-52.
18. Orgul S, Cioffi GA, Bacon DR, et al. An endothelin-1-induced model of chronic optic nerve ischemia in rhesus monkeys. *J Glaucoma* 1996;5:135-8.
19. Aktas Z, Gurelik G, Akyurek N, et al. Neuroprotective effect of topically applied brimonidine tartrate 0.2% in endothelin-1-induced optic nerve ischaemia model. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35:527-34.
20. Dawson WW, Brooks DE, Hope GM et al. Primary open angle glaucoma in the rhesus monkey. *Br J Ophthalmol* 1993;77:302-10.
21. Prince JH, Diesem CD, Eglitis I et al. The pig. In Thomas CC (Ed) *Anatomy and Histology of the Eye and the Orbit in Domestic Animals*. Springfield, Illinois 1960:210-30.
22. Garcia M, Forster V, Hicks D et al. Effects of Müller Glia on cell survival and neuritogenesis in adult porcine retina in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43: 3735-43.
23. Garcia M, Ederra JR, Hernandez-Barbachano H et al. Topography of pig retinal ganglion cells. *J Comp Neurol* 2005;486:361-72.
24. ME Pease JC, Hammond HA, Quigley. Manometric calibration and comparison of Tonolab and TonoPen tonometers in rats with experimental glaucoma and normal mice. *J Glaucoma* 2006,15;512-9.
25. Leske MC. The epidemiology of open angle glaucoma: a review. *American Journal of Epidemiology* 1983;118:166-91.
26. Mittag TW, Danias J, Pohorenc G et al. Retinal damage after 3 to 4 months of elevated intraocular pressure in a rat glaucoma model, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3451-59.
27. Morrison JC, Moore CG, Deppmeier LM et al. A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage, *Exp Eye Research* 1997;64:85-96.
28. Morrison JC, Johnson E, Cepurna WO. Rat models for glaucoma research, *Prog. Brain Res* 2008;173:285-301.
29. Ueda J, Sawaguchi S, Hanyu T et al. Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of India ink. *Jpn. J. Ophthalmol* 1998;42:337-44.
30. Grozdanic SD, Betts DM, Sakaguchi DS et al. Laser-induced mouse model of chronic ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4337-46.
31. Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN. Experimental Mouse ocular hypertension: establishment of the model. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 2003;44:4314-20.
32. Levkovich-Verbin H, Quigley HA, Martin KR. Translimbal laser photocoagulation to the trabecular meshwork as a model of glaucoma in rats, *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 2002;43:402-10.
33. MC Kinnon SJ, Pease ME, WoldeMussie E et al. Comparison of three models of rat glaucoma caused by chronic intraocular pressure elevation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:787.
34. Urcola JH, Hernandez M, Vecino E. Three experimental glaucoma models in rats: Comparison of the effects of intraocular pressure elevation on retinal ganglion cell size and death, *Experimental Eye Research* 2006;83:429-37.
35. Mermoud A, Baerveldt G, Mickler DS, et al. Animal model for uveitic glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994;32:553-60.
36. Nickells RW. Apoptosis of retinal ganglion cells in glaucoma: an update of the molecular pathways involved in cell death. *Survey of Ophthalmology* 1999;43:151-61.
37. Vrabcic JP, Levin LA. The neurobiology of cell death in glaucoma. *Eye* 2007;21:11-4.
38. Levkovich-Verbin H, Harris- Cerruti C, Groner Y et al. RGC death in mice after optic nerve crush injury: oxidative stress and neuroprotection, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:4169-74.
39. Berkelaar M, Clarke DB, Wang YC et al. Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci* 2008;28:1166-79.
40. Masuzawa K, Jesmin S, Maeda S et al. A model of retinal ischemia-reperfusion injury in rats by subconjunctival injection of endothelin-1. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2006;231: 1085-9.
41. Oku H, Sugiyama T, Kojima S et al. Experimental optic cup enlargement caused by endothelin-1-induced chronic optic nerve head ischemia. *Survey of Ophthalmology* 1999;44:74-84.
42. Mosinger JL, Olney JW. Photo-thrombosis induced ischemic neuronal degeneration in the rat retina. *Exp Neurol* 1989;105:110-3.
43. Adachi M, Takahashi K, Nishikawa M et al. High intraocular pressure-induced ischemia and reperfusion injury in the optic nerve and retina in rats. *Graefes Archives in Clinical and Experimental Ophthalmology*, 1996;23:445-51.
44. Lagreze WA, Otto T, Feuerstein T.J. Memantine is neuroprotective in a rat model of pressure-induced retinal ischemia. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 1998;39:1063-6.
45. Buchi ER. Cell death in rat retina after pressure-induced ischemia -reperfusion insult: electron microscopic study. Outer nuclear layer. *Jpn. J. Ophthalmol* 1992;36:62-8.
46. Sisk DR, Kuwabara T, Histologic changes in the inner retina of albino rats following intravitreal injection of monosodium L-glutamate. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1985;223:250-8.
47. Li Y, Schlamp CL, Poulsen GL et al. p53 regulates apoptotic retinal ganglion cell death induced by N-methyl -d-aspartate. *Mol Vis* 2002;8:341-50.
48. Vorwerk CK, Lipton SA, Zurakowski D et al. Chronic low-dose glutamate is toxic to retinal ganglion cells. Toxicity blocked by memantine. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 1996;37:1618-24.
49. Dreyer E, 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.
50. Pang .JH, Cantu-Crouch D, Savinova OV et al. Age-dependent changes in ocular morphology of a spontaneous ocular hypertensive mouse strain. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 1999;40:671.
51. Bayer AU, Neuhardt T, May AC et al. Retinal morphology and ERG response in the DBA/2N<sup>nia</sup> mouse model of angle closure glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis. Sci* 2001;42:1258-65.
52. Malyukova I, Lee HS, Fariss RN et al. Mutated mouse and human myocilins have similar properties and do not block general secretory pathway. *Invest Ophthalmol Vis.Sci* 2006;47:206-12.
53. Zhou Y, Grinchuk O, Tomarev SI. Transgenic mice expressing the Tyr437His mutant of human myocilin protein develop glaucoma, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1932-9.
54. Goldblum D, Mittag T. Prospects of relevant glaucoma models with retinal ganglion cell damage in the rodent eye, *Vision Research* 2002;42:471-8.
55. Kolker AE, Moses RA, Constant MA et al. The development of glaucoma in rabbits. *Invest Ophthalmol* 1963;2:316-21.
56. Vecino E, Animal Models in the study of the glaucoma: Past, present, future. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2008;83:517-20.