

Glokomda Yeni Tedavi Yaklaşımları: Gelecekte Ne Var?

New Therapeutic Approaches in Glaucoma: What's in the Future?

M. Sinan SARICAOĞLU¹

ÖZ

Glokom, multifaktöryel, progresif ve nörodejeneratif bir hastalık grubu olup, tedavi edilmediğinde görme kaybı ile sonuçlanır. Göz içi basınç (GİB) yüksekliği halen kontrol edilebilir tek majör risk faktörü olmakla birlikte, GİB kontrolüne rağmen ilerleme gösteren ya da GİB normal seviyede olmasına rağmen optik sinir hasarı gelişen olgular söz konusudur. Bu durumda yüksek GİB'ndan bağımsız başka mekanizmalar devreye girmektedir. Glokomda ganglion hücre hasarının kontrol altına alınması ve ilerlemenin durdurulması bu mekanizmalara ait fizyopatolojinin iyi anlaşılması ile mümkündür. Sonuçta etkin tedavi yöntemleri ancak bu şekilde geliştirilebilir.

Makalede glokomun fizyopatolojisine ışık tutan hasar mekanizmaları, bunlara ait güncel tedavi yaklaşımları ve gelecekte neler yapılabilir sorusunu aydınlatmaya yarayacak çalışma ve fikirler etrafıca irdelenecektir.

Anahtar Kelimeler: Glokom, göz içi basıncı, apoptozis, oksidatif stres, nöron koruma, genetik, gen tedavisi.

ABSTRACT

Glaucoma, as a multifactorial, progressive and neurodegenerative group of diseases, ends up visual loss without appropriate treatment. There are cases with optic nerve damage and progression even in the presence of the normal intraocular pressure (IOP). In that case another mechanisms play role. It is possible to stop progression and control ganglion cell loss through understanding these mechanisms. Then effective treatment strategies might be developed.

In this article, damage mechanisms shedding light on glaucoma physiopathology, related current treatment methods and the ideas and studies answering the question of what could be done in the future will be discussed.

Key Words: Glaucoma, intraocular pressure, apoptosis, oxidative stres, neuroprotection, genetics, gene therapy.

Kısaltmalar

PAAG; Primer Açık Açılı Glokom, NTG; Normal Tansiyonlu Glokom, OHT; Oküler Hipertansiyon, NVG; Neovasküler Glokom, RGH; Retinal Ganglion Hücre, ROT; Reaktif Oksijen Türevleri, NOS; Nitrik Oksit Sentetaz, ALS; Amyotrofik Lateral Skleroz, TNF; Tümör Nekrozis Faktör, EPO; Eritropoietin, TRX; Tioredoksin, NAD; Nikatinamid Adenil Dinükleotid, Nmnat; Nikotinamid mononükleotid adeniltransferaz, NMDA; N-metil-D-aspartat, NGF; Nöronal Büyüme Faktörü, BDNF; Beyin Kaynaklı Büyüme Faktörü, CNTF; Siliyer Nörotrofik Faktör, GDNF; Glial Hücre Nörotrofik Faktör, IGF-I; İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü, Trk; Tropomiyozin-kinaz, AV; Adenovirüs, AAV; Adeno-Asosiye Virüs, LV; Lentivirüs, HSV; Herpes Simpleks Virüs, MMP; Matriks Metalloproteinaz, COX; Siklooksijenaz, 8-OHdG; 8-Hidroksil-2-Deoksiganizinin, BIRC; Bakuloviral Engelleyici Tekrar Muhtevi Protein, IAP; İnhibitör Apoptotik Protein, siRNA; Küçük Engelleyici RNA, shRNA; Kısa Firkete RNA, ROCK; Rho Kinaz, MLC; Miyozin Hafif Zincir, GTAaze; Guanozin 5-Trifosfataz.

1- M.D. Associate Professor, Ankara Numune Training and Research Hospital, 3rd Eye Clinic, Ankara/TURKEY
SARICAOGLU M.S., msinansarica@yahoo.com

Geliş Tarihi - Received: 30.05.2014
Kabul Tarihi - Accepted: 03.06.2014
Glo-Kat 2014;9:73-82

Yazışma Adresi / Correspondence Address: M.D. Associate Professor,
M. Sinan SARICAOĞLU
Numune Training and Reseach Hospital, 3rd Eye Clinic, Ankara/TURKEY

Phone: +90 507 313 67 43
E-Mail: msinansarica@yahoo.com

GİRİŞ

Glokom nörodejeneratif bir hastalık grubunu tariflemekte olup, retina ganglion hücre (RGH) hasarı ve aksonal dejenerasyon ile seyrederek. Retina ve optik sinir santral sinir sisteminin birer parçasıdır ve glokom olgularında normal bireylere göre lateral genikulat cismin MR değerlendirmelerinde dejenerasyon ve atrofik değişimlere rastlanmıştır. Bu bağlamda nöromotor sistemi (Parkinson, ALS) ve bilinç sistemini (Alzheimer) etkileyen nörodejeneratif patolojilere benzer olarak glokom da, görsel sistemi tehdit eden nörodest-rüktif bir hastalıktır.^{1,2} Dolayısıyla bu hastalık grubunda tedavi stratejileri geliştirilirken GİB kontrolü yanında nöronal korunmayı sağlayabilecek, hücresel apoptozisi engelleyebilecek yaklaşımların da devreye sokulma gerekliliği vardır. Ancak etkin tedavi metodlarının gelişimi glokomda hangi yollarla nöronal dejenerasyon ve apoptozis gerçekleşmektedir? sorusunun tam olarak yanıtlanabilmesiyle mümkündür. Glokomda patofizyolojinin anlaşılabilmesi için farklı glokom modellerinde birçok çalışma yapılmıştır.

Günümüze kadar elde edilen bilgiler ışığında RGH hasarında etkili olduğu düşünülen mekanizmalar: yüksek GİB'na bağlı barotravma dışında eksitotoksisite, oksidatif stres, reaktif oksijen ürünleri ve mitokondriyal disfonksiyon, nörotrofinlerin yetersizliği, immün modülasyonun bozulması, inflamasyon, vasküler yetmezlik ve iskemidir (Resim 1).³⁻⁶ Elbette orijinde genetik faktörler de büyük önem taşımaktadır.

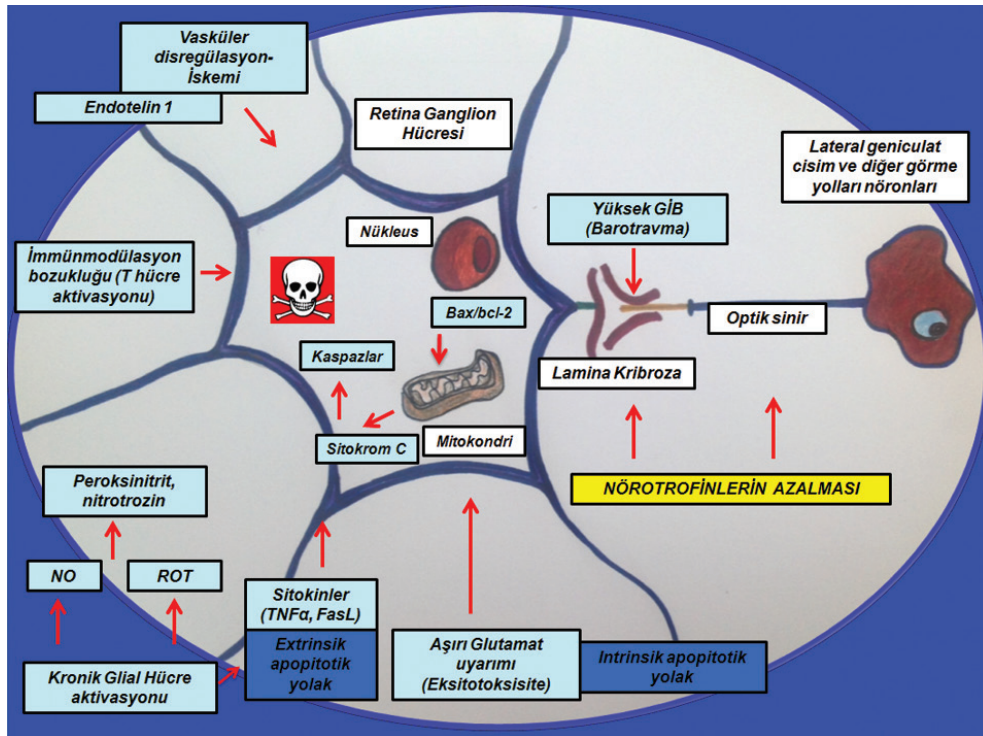
RGH Hasarı Mekanizmaları



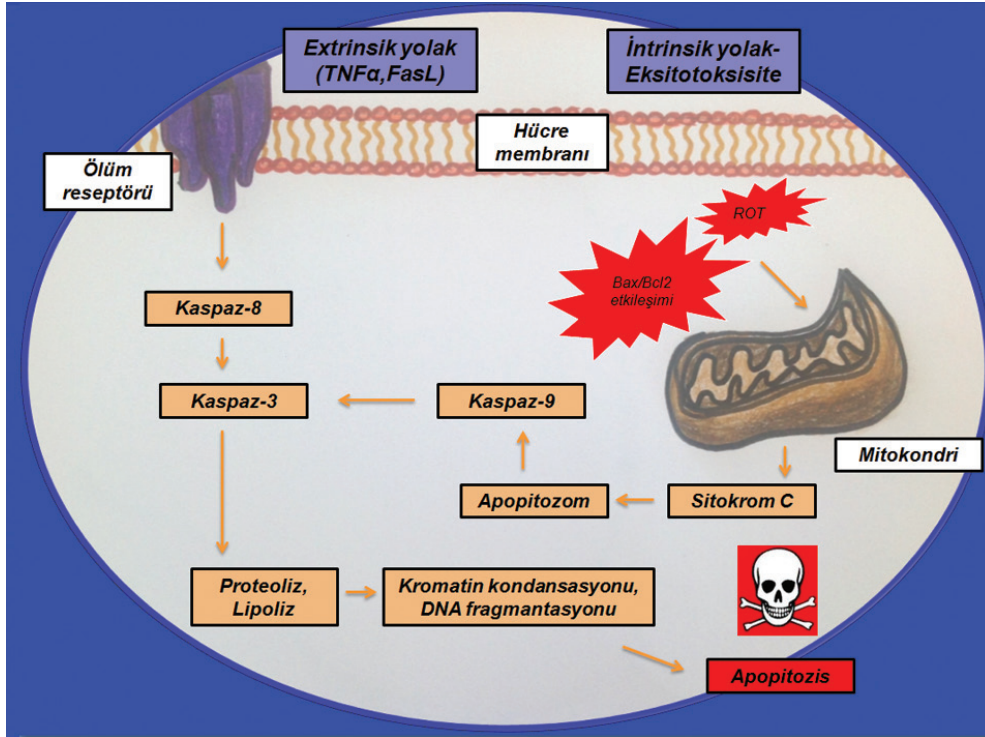
RETİNA GANGLİON HÜCRE HASARI MEKANİZMALARI VE TEDAVİ STRATEJİLERİ

Eksitotoksisite

Hücreler arası iletişimde nörotransmitter olarak görev yapan glutamat fizyolojik sınırların üzerine çıktığında toksik etki göstermektedir. Normalde hücreler arası mesafeye salınan glutamat Müller hücreleri tarafından tutularak glutamin sentetaz ile glutamine çevrilir. Ancak farklı mekanizmalarla (yüksek GİB, iske mi gibi) bozulmuş ve strese girmiş hücrelerden fazla miktarda salındığında ortamdaki uzaklaştırılamamakta ve eksitotoksisite kaskadının eksitator nörotransmitteri olmaktadır.



Resim 1: Retinal ganglion hücre hasarından yüksek göz içi basıncı, vasküler disregülasyon ve iske mi, endotelin 1 etkisi, oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon, immünmodülasyon bozukluğu, aşırı glutamat uyarımı (eksitotoksisite), sitokinlerin salınımı (TNFα, FasL), anormal protein birikimi ve nörotrofinlerin yetersizliği mekanizmaları sorumlu tutulmaktadır.



Resim 2: Apoptozisin ekstrinsik yolağında sitokinler, intrinsik yolağında ise NMDA reseptör aracılı glutamat fazlalığı (eksite toksisite) rol oynar. Hücre degradasyon sürecinde kaspaz sisteminin aktive olmasıyla ilerleyen yollar, kaspaz-3 noktasında buluşarak proteoliz ve lipoliz sonrasında DNA fragmentasyonu gerçekleşir. İntrinsik yolakda mitokondrinin apoptotik genlerle harekete geçirilmesi ve reaktif oksijen türevlerinin etkisiyle, membran geçirgenlik artışı sonrası sitokrom C salınımı ile apoptozom oluşumuna neden olarak kaspaz aktivasyonunu tetikler.

Böyle bir durumda hücre duvarındaki NMDA reseptörlerini uyararak hücre içine fazla miktarda Ca^{+2} girişine neden olur. Bir yandan mitokondrilere sitokrom C salınımı ve kaspazların (kaspaz 7,8,9 ve 3) aktivasyonuna neden olarak proteolizi tetiklerken; diğer yandan da NOS yolunu uyararak argininden fazla miktarda nitrik oksit (NO) sentezi gerçekleşir.

NOS'ın 3 tipi olup, NOS-2 (iNOS) indüklenen tipidir. Oksidatif stres sonucu açığa çıkan reaktif oksijen ürünleri (O_2^- , H_2O_2 , OH) ve NOS yoluyla artan miktarda sentezlenen NO hücre için son derece toksik bir ortam yaratır (peroksinitrit ve nitrorosin oluşumu ve birikimi). Sonuçta kromatin kondansasyonu ve DNA fragmentasyonu ile hücre ölümü meydana gelir.³⁻⁶

Riluzole glutamaterjik sistem ve Na kanalları üzerinden etkili olduğu ileri sürülen ve ALS hastalarında FDA onaylı yaşam süresi üzerinde etkili olduğu bilinen bir ajandır. Antidepresan ve anksiyolitik etkileri de söz konusudur. NMDA reseptör antagonistlerinden MK-801 in vivo ve in vitro çalışmalarda RGH'inde güçlü koruma sağladığı gösterilen bir ajandır, ancak NMDA reseptörlerine güçlü afinitesi ve uzun süre ortamdaki mevcudiyeti nörotoksik etkiyle sonuçlanmaktadır.⁷ Bir diğer eksitator aminoasit antagonisti olan non-NMDA, AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoxazolepropionik asit) reseptör antagonisti CNQX'dir.

Deneyisel modelde MK-801'den daha etkin olarak RGH'inde yaşam oranını artırmıştır. Tacrin, antikolinesteraz bir ajan olup, Alzheimer tedavisinde kullanılmaktadır. Bis 7 tacrin (B7T) ise antikolinesteraz, anti-nitrik oksit sentetaz, anti NMDA reseptör ve anti- β amiloid özellikleriyle nöron koruma alanında dikkat çekici ajanlardandır. Nöron korumada memantinden daha etkin bulunmuştur.⁸ Aminoguanidin asıl olarak NOS-2 ve kısmen de NOS-1 üzerinden NO sentezini bloklamakla birlikte, nöron koruyucu ajan olarak deneyisel glokom modellerinde başarısız kalmıştır.^{5,7} Bir dopaminerjik amantadin derivativesi olan memantin glokomda en umut verici ajan olarak denenmiş olup, NMDA reseptörlerinin non-kompetitif antagonistidir. Alzheimer hastaları için FDA onaylıdır.

Deneyisel glokom modellerinde farklı uygulama şekillerinde (cilt altı ve intraperitoneal enjeksiyon, oral kullanım) nöron koruyucu etkileri gösterilmiştir. Glokom hastalarında uygulanan Faz 3 çalışmaları sonunda plasebodan etkin bulunmamıştır. Ancak çalışmanın kurgusu ve sonlandırma şekliyle ilgili tartışmalar söz konusudur.^{5,8} Alzheimer hastalarında nöron koruyucu etkinin potansiyalize edilmesi açısından memantin ve D vitamininin (antioksidan ve antiinflamatuvar etkinlikten faydalanma) birlikte uygulandığı bir proje de yürütülmektedir.⁸

Apoptozisin İntersik ve Extersik Yolları

Apoptozis programlanmış hücre ölümü olup, bu süreçte kromatin kondansasyonu ve DNA fragmentasyonu, hücre organel hasarı ve sonuçta hücre zarı harabiyeti meydana gelmektedir. Apoptozisi intersik ve intersik faktörler tetikler ve hücre degradasyonu sürecinde bu yollar birbirleriyle ilişki halindedir. Kaspaz 3 aktivasyon aşamasında buluşurlar.

Extersik yolda Fas-ligandlar (FasL) ve TNF α büyük önem taşır. Bunlar ölüm reseptörlerine (Fas, TNFR) bağlanarak kaspazları aktive ederler. Önce kaspaz 8, ardından kaspaz 3 ve 7 aktive olur. İntersik yolda ise mitokondri ana hedeftir.

Eksitoksisite ile hücre içi girişi artan Ca⁺², kalsiyum bağımlı katalitik enzimler olan kalsinörin ve kalpaini uyarır. Bu durumda bir yandan hücre iskelet sisteminin degradasyonuna giden süreçte siklin bağımlı kinaz 5, stresle aktivasyon gösteren protein kinaz ve glikojen sentetaz kinaz 3 aktive olurken; diğer yandan da mitokondriyal zara bağlı proapoptotik gen olan Bad defosforilasyonu gerçekleşir.

Ardından Bcl-2 veya Bcl-X_L ile protein kompleksleri meydana gelir ve mitokondrinin zar geçirgenliği artarak sitokrom C salınımı olur. Bunun sonucunda apoptozom oluşumu ile kaspazların aktivasyonu (kaspaz 8,9 ve sonrasında 3) ve nükleer içeriğin yıkımı ile apoptozis gerçekleşir (Resim 2).³⁻⁶

Deneyisel glokom modelinde FK 806 ile kalsinörin inhibisyonunu optik sinir ve RGH'inde nöron koruma sağlarken, aksotomi sonrası kalpain inhibisyonu da RGH'ni apoptozisten korumuştur. Kaspaz inhibitörlerinin göz içi enjeksiyonu dışında ileride gen tedavisi bölümünde de anlatılacağı üzere, farklı şekillerde ortak noktada kaspaz sisteminin aktivasyonunun engellenmesi nöroprotektif etki sağlamaktadır.

TNF α glokomdaki intersik yol ve inflamasyon sürecinin önemli bir nörodestrüktif sitokindir. TNF α inhibitörü olan etanersept'in oküler hipertansiyon modelinde aksonal korunma sağladığı gösterilmiştir.⁹

Kalsiyum kanal blokerleri, Ca⁺² bağımlı apoptotik yolakda üzerinde en fazla çalışma yapılan gruptur. Özellikle kan akımı artırıcı etkinlikleri ile ön plana çıksalar da, glutamat ile aktive olan eksitotoksisite ve endotelin 1 üzerine etkileri de vurgulanmıştır. NTG olgularında oküler kan akımını artırdıkları, görme alanı kayıpları ve kontrast duyarlılık üzerinde olumlu etki gösterdikleri bildirilmiştir. Flunarizin sonrasında üzerinde en fazla çalışılan ajanlar, nimodipin, nilvadipin ve lomerizin'dir. Flunarizin'in ayrıca GİB düşürücü etkisi de rapor edilmiştir. Kalsiyum kanal blokerlerinin klinik kullanımı konusunda en çok rahatsızlık duyulan konu sistemik hipotansiyon ve perfüzyon basıncı üzerine olumsuz yansımalarıdır.

Ancak oküler dokulara geçiş özellikleri oldukça iyidir. Japonya'da migren tedavisinde kullanılan lomerizin faz çalışmaları ile bu grubun en dikkat çeken ajanıdır.¹⁰ Fizyolojik Ca⁺² kanal blokeri olan Mg'un oküler kan akımı ve görme alanı üzerine olumlu etkileri bildirilmiştir.⁷

Vasküler Disregülasyon-İskemi

Vasküler disregülasyon ve oküler perfüzyonun azalması hipoksi ile sonuçlanır. Hipoksi uzun süre devam ettiğinde hücrenin regülasyon mekanizmaları bozulur. Hayatıyette son derece önemli olan redoks sistemi çökerken (Thioredoksin 1 ve 2'de azalma), reaktif oksijen türevleri (ROT) ve serbest radikaller artar.¹¹ Antioksidan moleküller (glutasyon, askorbik asit) ve antioksidan enzim sistemleri (süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz) bu süreçte yetersiz kalır. Hücre protein, lipid ve nükleik asit içeriği hasarlanır. Hücre onarılamayacak sürece girdiğinde p53 gen aktivasyonu ile apoptozis gerçekleşir. Farmakolojik oksidatif stres ve glokom modelinde TRX 1 ve 2'deki ekspresyon artışının RGH'inde koruma sağladığı gösterilmiştir.¹¹

Vasküler regülasyonun sağlanmasında NO-prostasiklin (vazodilatasyon)/endotelin (vazokonstrüksiyon) homeostazisi önemlidir ve dengenin bozulması farklı patolojilere zemin hazırlar. Endotelin (ET) 1, yirmibir aminoasitli güçlü bir vazokonstriktör peptiddir.

Vasküler endotelial hücrelerce sentezlenir. Üç izofor mu vardır (ET 1,2,3). Kendine özgü membran reseptörlerini aktive ederek inozitol trifosfat (İP3) ve diacylgiserol aracılığı ile endoplazmik retikulumdan Ca⁺² salınımını artırmak suretiyle vazokonstrüksiyona neden olur. ET 1 ve reseptörleri göz dokularında yoğun (iris, siliyer cisim, trabeküler ağ) olarak bulunur.

Trabeküler akımı azaltıp GİB artışına neden olması yanında (barotravma), oküler kan akımını etkileyerek (iskemi) RGH kaybı ve glokomatöz hasar gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir. Farklı glokom tiplerinde humör aköz ET 1 düzeylerinde artış bildirilmiştir.^{12,13} Endotelin 1 reseptör antagonistleri 2 gruptur; peptid olanlar (BQ-123, BQ-485, BQ-788) ve asıl olarak pulmomer arteriyel hipertansiyon tedavisi için geliştirilen non-peptid bileşikler (ambrisentan, sitaxsentan, bosentan).

Peptid yapıda olanlar kan-beyin bariyerini geçemezler. Non-peptid olanların güçlü yan etkileri glokom tedavisi konusundaki gelişimlerini önlemiştir. Ancak deneyisel modellerde oküler kan akımı üzerine olumlu etkileri ile nöron koruyucu etkileri açısından dikkat çekici özellikleri olup, farklı uygulama şekillerinin geliştirilmesiyle glokom tedavisinin yeni yaklaşımları arasında düşünülebilirler.¹⁴

Oksidatif Stres ve Mitokondriyal Disfonksiyon

Apoptozis kaskadında mitokondrinin apoptotik genlerin ekspresyonu (Bax, Bad, Bid) ve antiapoptotik genlerin (bcl-2, Bcl-X_L) inhibisyonu ile harekete geçirilmesinin önemli rolü vardır. Sonuçta mitokondriyal geçirgenliğin artması, sitokrom C salınımı ve kaspaz aktivasyonu ile devam eden süreç ile apoptozis gerçekleşir. RGH yüksek metabolik aktiviteye sahip hücreler olup, bunun için gerekli enerjinin temini düzgün çalışan mitokondriyal fonksiyonla mümkündür.¹¹ Ancak farklı faktörlerle tetiklenen apoptotik gen aktivasyonu, Ca²⁺ bağımlı enzimlerin uyarımı ve reaktif oksijen türlerinin etkisiyle mitokondriyal disfonksiyon gelişir ve ATP üretimi baltalanır. PGC-1 α (receptor- γ co-activator 1 α) mitokondriyal biyoenerjinin anahtar moleküllerinden biridir. Birçok mitokondriyal disfonksiyona bağlı hastalıkta (nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar, kanser) önemi gösterilmiştir. Ancak glokomdaki rolü henüz iyi anlaşılamamıştır.¹⁵

Glokom hastalarında aköz ve serum örneklerinde antioksidan kapasitenin durumu ve oksidatif hasara uğramış DNA düzeyleri (8-OHdG) çalışılmıştır. Antioksidan kapasite azalmış, antioksidan enzim aktivitesi ise artmış olarak saptanmıştır. Ayrıca aköz ve serum örneklerinde 8-OHdG düzeylerinin arttığı rapor edilmiştir.¹⁶ Glokomda nöron koruyucu ajanlar olarak en çok çalışılmış grup antioksidan moleküllerdir. Serbest radikal tutucu özellikleriyle askorbik asit (C vit.) ve α tokoferol (E vit.)'ün glokomda olumlu etkilerini bildiren deneysel ve klinik çalışmalar mevcuttur.

Hayvan çalışmasında diyetdeki E vitamini yetersizliğinin daha fazla RGH hasarıyla birlikte olduğu gösterilmiştir.⁷ Taurin, metionin ve sisteinden türetilen sülfür türevi bir aminoasit olup, antioksidan özellikleri vardır. Nöronal hasar sonrası organizmadaki düzeyleri artmaktadır ve nöroprotektif etkisi çalışmalarla gösterilmiştir. Gözde fotoreseptör hayatıyetinde önemli rolü olduğu belirtilen taurinin, farklı hayvan modellerinde NMDA reseptör aracılı eksitotoksiste üzerinden RGH koruyucu etkinliği bildirilmiştir.¹⁷ Mexidol, Rusya'da kullanılan B₆ vitaminine benzer özelliklerde, ancak Avrupa ve Amerika'da kullanım onayı olmayan bir ajandır. Rusya kökenli çalışmalarda glokom olgularında olumlu etkileri rapor edilmiştir.¹⁸ Mirtogenol (piknogenol+mirtoselekt) spesifik flavonoidler içerir. Oküler kan akımını artırmaktadır. Endotel fonksiyonları ve siliyer fonksiyonlar üzerine olumlu etkileri vardır. GİB'nda da bir miktar düşüşe yol açtığı da bildirilmiştir.¹⁹ Melatonin, biyoretim üzerinde etkili bir molekül olmasının yanında güçlü bir antioksidandır. DNA hasarında etkili olabilmesi yanında, NO'e bağlı apoptozisi azalttığı ve mitokondriyal sitokrom C salınımını inhibe ettiği bildirilmiştir.²⁰ EGb761, ginkgo biloba ekstratı olup, Çin ve Japon tıbbında geleneksel olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır.

Güçlü bir antioksidan olup, nörodejeneratif hastalıklarda olumlu sonuçları bildirilmiştir. Oküler kan akımını artırdığı ve NTG olgularında görme alanı üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir. Glokomda nöron koruyucu etkinliği tam olarak bilinmemekle birlikte, NO sentetazı inhibe ederek ya da β amiloid zincir reaksiyonu üzerinde etkili olabileceği ileri sürülmüştür.^{8,21,22} Ancak beyana dayalı bir raporda EGb761 kullanımı ile glokom sıklığı arasında ilişki saptanmamıştır. α tokoferol ve ginkgo biloba içeren antioksidan kürün glokom progresyonu üzerine etkilerini inceleyen faz 3 çalışmanın sonuçları ise henüz yayınlanmamıştır.⁸ Lisium barbarum kurt üzümü adıyla da bilinen bir polisakkarid olup, yıllardan beri Çin tıbbında kullanılmaktadır. Deneysel çalışmalarda nöron koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Nöroprotektif etkisini ET-1, β amiloid ve AGEs (ileri glikasyon ürünleri) üzerine azaltıcı etkileriyle gerçekleştirdiği düşünülmektedir.²³ α lipoik asit güçlü bir antioksidan olup, optik diskte aksonal transportta olumlu etkileri ile antioksidan gen ve protein ekspresyonuna neden olduğu hayvan modelinde gösterilmiş bir ajandır.²⁴ Resveratrol güçlü antioksidan diğer bir moleküldür. Oksidatif strese karşı trabeküler hücrelerde koruyucu etki gösterdiği ve retinal iskemi modelinde yine koruyucu etkilerinin tespit edildiği rapor edilmiştir.^{15,25,26} Mitokondriyal enerji üretiminde etkin moleküller oldukları biyokimyasal olarak gösterilmiş ajanlar olan kreatin, nikotinamid ve koenzim Q glokom konusunda da test edilmişlerdir. Koenzim Q (ubikinon) mitokondrinin elektron transport zincirinde esansiyel bir kofaktör olup, ATP sentezini destekler. Bununla birlikte güçlü bir antioksidandır ve serbest radikal tutucu özelliği vardır. Deneysel modellerde hidrojen peroksit bağli oksidatif stres ve yüksek basınca bağli iskemik retinada RGH koruyucu özellikleri gösterilmiştir. Bunda antiapoptotik gen ekspresyonunun da rolü olduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla oksidatif stres aracılı mitokondriyal disfonksiyon tedavisinde etkin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür.^{8,27} İdebenon, koenzim Q'ya benzer özellikler gösteren bir antioksidandır. Elektron transport zincirinde taşıyıcı özellik gösterir ve ATP üretimini artırır. İn vitro çalışmada oksidatif stres altındaki optik sinir başi astrosit kültüründe apoptotik gen ekspresyonunu azaltıp, antiapoptotik gen ekspresyonunu artırarak (Bax/Bcl-2 stabilizasyonu) apoptozisi azalttığı ve glokomatöz dejenerasyonun kontrol altına alınmasında yararlı olabileceği rapor edilmiştir.^{8,28} NAD, ATP üretiminde önemli bir başka önemli moleküldür. Nikotinamid mononükleotid, NAD biyosentezinin final basamağında rol alan nikotinamid mononükleotid adeniltransferaz (Nmnat) enzimi ile NAD'den sentezlenir. Çalışmalar Nmnat izoformlarının (Nmnat 1,2,3) aksonal dejenerasyonda koruyucu rolünü göstermiştir. Sitoplazmik Nmnat 1 ekspresyonunun iskemi ve glokom modelinde RGH'inde aksonal koruma sağladığı bildirilmiştir.^{29,30}

Anormal Protein Birikimi

Nörodejeneratif hastalıklarda β amiloid ve Tau AT8 protein gibi birikimler görülmektedir.² Deneysel glokom modellerinde de RGH apopitozuyla beraber bu proteinlerin varlığı bildirilmiştir. β sekretaz inhibitörlerinin (Z-VLL-CHO) in vitro ve in vivo olarak RGH apopitozunu yavaşlattığı gösterilirken, anti β amiloid antikolları ve Kongo kırmızısının da koruyucu ajanlar olarak değerlendirilebileceği vurgulanmıştır.³¹

İmmün Modülasyon Bozukluğu

Glokomda T hücre aktivasyonu, kompleman aktivasyonu ve otoantikolarla gelişen immün modülasyon bozukluğunun RGH hasarından sorumlu bir diğer yolak olduğu ileri sürülmektedir. Bu yolla şüphesiz glial hücre aktivasyonu ve sitokinlerin (TNF α , interlekin 6) salınımı da önemli rol oynamaktadır. HSP (ısı şok proteinleri) ve miyelinizasyon ile ilgili proteinlerin antijenik özellikleriyle immün sistemi aktive ettikleri düşünülmektedir. HSP'ler stres durumlarında (hipoksi, ısı değişimi ve nutrisyonel bozukluklar gibi) açığa çıkmaktadır. Glokomlu gözlerde HSP 60 ve HSP 27 artışı gösterilmiştir. Ancak glokomda bu proteinlerin nasıl fonksiyon gösterdiği henüz çok iyi anlaşılamamıştır. Geranil geranil aseton'un yüksek basınçlı glokom modelinde HSP 27 ekspresyonuna neden olarak RGH hasarını azalttığı bildirilmiştir.^{7,32} İmmün modülasyon amaçlı kullanılan Copolimer-1 (Cop-1), sentetik miyelin benzeri bir polipeptid (glatiramer asetat) olup, FDA onaylı olarak MS tedavisinde kullanılan bir anti-inflamatuardır. Deneysel glokom modellerinde nöron koruyucu immün cevabı başlattığı savıyla RGH'inde yaşam süresini uzattığı bildirilmiştir. Aktif immünizasyondaki (aşılama) etkisinin majör histokompatibilite kompleks proteinleriyle bağlanarak ve nöroprotektif immün cevabı tetikleyen T lenfositleri aktive ederek gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir.⁵ Deneysel glokom modelinde gtatiramer asetat ile aşılama ve retinal kök hücre transplantasyonunun kombine edildiği bir çalışmada RGH'nin apopitoziden korunduğu ve bu etki altında yatan mekanizmanın nörotrofik faktörler (BDNF- IGF-I) olduğu bildirilmiştir.³³

Nörotrofinlerin Azalması

RGH'nin gelişiminde, farklılaşmasında ve hayatiyetlerini sürdürmelerinde nörotrofinlerin (NGF, BDNF, CNTF, GDNF, NT-3,4,5) önemi büyüktür. Nörotrofinlerin biyolojik etkilerine aracılık eden 2 reseptör çeşidi vardır. Bunlar Trk A, B, C (tropomiyozin-kinaz) ve p75 (p75^{NTR}) reseptörleridir. Trk reseptörlerinin aktivasyonu hücre yaşamının devamı ile birliktedir. p75^{NTR} uyarımı ise hem yaşam, hem de apopitotik yolda rol oynar.^{34,35} Avrupa orijinli hastalarda PAAG'lu olguların %1.7'sinde NTF4 gen mutasyonu saptanmıştır. Bu durum NTF4'ün TrkB reseptör afinitesinde azalma ve hastalığın progresyonu ile birliktelik göstermiştir.

NGF'ün lokal uygulamasının RGH üzerinde olumlu etkileri bildirilmiştir. İlginç bir çalışmada murin NGF 3 ay boyunca günde bir kez topikal damla şeklinde ileri evre glokom hastalarına uygulandığında görsel fonksiyonlarda düzelme geliştiği bildirilmiştir.^{36,37} Rekombinant BDNF'in direkt uygulaması ya da viral vektör aracılığıyla ekspresyonu deneysel glokom modellerinde RGH'nin korunması ile sonuçlanmıştır. GDNF ise nöronal korunmada BDNF'den daha az etkindir. CNTF primer olarak Müller hücrelerinde lokalizedir ve deneysel glokom modelleri ve aksotomiden sonra ekspresyonu artmaktadır. Lazerle gerçekleştirilen glokom modelinde CNTF'nin fazla salınımının RGH'nin yaşamını uzatabildiği bildirilmiştir.³⁸⁻⁴⁰ Mezenşimal hücrelerin intravitreal enjeksiyonu ile kök hücre aracılığıyla nörotrofin salınımı ve bu yolla nöron korumanın sağlanması deneysel glokom modelinde gösterilmiştir.⁴¹ Nörotrofinlerle nöron koruyucu tedavide bazı kısıtlamalar mevcuttur. Bunlar, nörotrofinlerin yarılanma ömrünün kısa oluşu, kan-retina bariyeri için düşük geçirgenlik, yüksek dozların gerekliliği ve hasara uğramış hücrelerde düşük reseptör düzeyidir. Ancak yeni taşıyıcı sistemlerin gelişimi, yarılanma ömrü uzun, kan-retina bariyerini kolay geçebilecek küçük moleküllü analogların gelişimi ya da reseptör upregülasyonuna yönelik çalışmalar nörotrofinlerin tedavide daha etkin şekilde kullanılabilmesine yardımcı olacak uygulamalardır.

Güncel Glokom İlaçları ve Nöron Koruma

Brimonidin antiapopitotik gen aktivasyonu (Bcl-2), glutamata bağlı iskeminin kontrol altına alınması, NMDA reseptör fonksiyonunun modülasyonu ve nörotrofin salınımının artırılması gibi çoklu mekanizmalarla nöron koruyucu etki gösterdiği düşünülen bir ajandır. NTG olgularında brimonidin ve timolol'ün karşılaştırıldığı çok merkezli çalışmada iki molekül arasında GİB düşüşü açısından istatistiksel fark saptanmazken; görme alanı üzerine etki konusunda anlamlı farka rastlanmıştır. Görme alanı progresyon oranı timolol kullanan grupta daha yüksek bulunmuştur (%9.1'e karşılık %39.1).⁴² Bu çalışma brimonidin GİB düşüşünden farklı bir mekanizmayla görme alanı korunmasında timolol'e üstünlüğünü gösterse de, bu etkinin nöron koruma ile sağlanmış olabileceği tezi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

β blokerlerin (betaksalol) voltaj bağımlı Ca²⁺ kanal blokajı ve oküler kan akımı artırıcı etkinlikleri ile nöroprotektif ajan olabilecekleri bildirilmiştir. Prostaglandin analoglarının (latanoprost, travoprost, bimatoprost, tafluprost) etkin GİB düşüşü ile birlikte COX-2 aktivasyonuna negatif feedback etkisi ile eksitotoksitesite üzerine etkili olabilecekleri düşünülmektedir. Ayrıca başta unoproston olmak üzere anti ET-1 etki ile oküler kan akımı artırıcı etkinliklerinin de olduğu ve bunun oküler perfüzyonu olumlu etkilemesinin yanında, nöron koruma da katkı sağlayabileceği vurgulanmaktadır.

Karbonik anhidraz inhibitörlerinin ise oküler kan akımını artırdıkları çalışmalarla gösterilmiştir.⁴³

Diğer Ajanlar

Eritropoietin (EPO), eritrositlerden salınan sitokin görevi gören bir glikoproteindir. Rekombinant teknoloji ile üretilerek tedavi amaçlı kullanılabilir. Glokomda aköz eritropoietin düzeyleri yüksek olarak tespit edilmiştir. Farklı glokom tiplerinde ELİSA yöntemi ile yapılan değerlendirmelerde kontrol grubuna göre glokomlu gözlerde daha yüksek seviyeler saptanırken, en yüksek düzeylere NVG olgularında rastlanmıştır. Deneyisel glokom modelinde farelere intraperitoneal enjeksiyonunun RGH'inde koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir.^{44,45}

İkinci jenerasyon tetrasiklin olan minosiklin antiinflamatuvar ve deneyisel glokom modellerinde nöprotektif etkileri bildirilmiş bir antibiyotiktir. Nörodejenetatif hastalık modellerinde de nöron koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Kan-beyin bariyerini geçebilmektedir. Etkisini proapoptotik gen ekspresyonunu azaltıp, antiapoptotik gen ve protein ekspresyonunu artırarak (Bcl-2, IAP, survivin) göstermektedir. Ayrıca kaspaz inhibisyonu yapıcı etkisi de vurgulanmıştır. Dolayısıyla dengeyi nöronal hücrelerin apoptozunu azaltmak adına değiştirmektedir.⁴⁶

Ancak nöprotektif potansiyeli ile ilgili olarak glokomda kullanımı konusunda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Östrojen analoglarının RGH üzerindeki koruyucu etkisi in vivo ve in vitro çalışmalarla gösterilmiştir. Glutamata bağlı eksitotoksiste üzerinden etki yanında, serbest radikallere karşı antioksidan özelliği de vurgulanmıştır.⁴⁷ 17β östradiol'ün farklı uygulama şekilleriyle nörotrofik ve nöprotektif etki gösterdiği; topikal uygulama ile de hayvan modelinde yüksek GİB'na rağmen görme potansiyelinin korunabildiği bildirilmiştir.⁴⁸

Weinreb'in glokomda ideal nöron koruyucu molekülde olması gereken özellikleri hatırlanacak olursa; ilacın retina veya optik sinirde spesifik reseptörlerinin olması, farmakolojik olarak bu dokularda etkin konsantrasyona erişebilmesi, deneyisel modellerde nöronal hasarı azaltıp, hücrelerin yaşam sürelerini artırdığının gösterilmesi ve insanlardaki randomize kontrollü klinik çalışmalarla nöprotektif etkinin kanıtlanabilmesi gerekmektedir.

In vivo ve in vitro çalışmalarda nöron koruyucu etkinliği gösterilen moleküllerin, faz çalışmalarında başarısız olabildiği düşünülürse (memantin) bu sürecin kolay ulaşılabilir olmadığı anlaşılabacaktır. Ancak glokomda faz çalışmaları süren birçok molekül bulunmaktadır. Bu konudaki bilgi ve deneyimler giderek artarken, her saptanan bulgu bir diğer çalışma için yol gösterici olmaktadır.

Göz içi Basıncı Kontrolünde Yeni Hedef Moleküller ve Taşıyıcı Sistemler

Glokomda GİB kontrolü konusunda yeni moleküllerin gelişim süreci de devam etmektedir.⁴⁹⁻⁵¹ Yakın gelecekte en ümit verici ajan, Rho/ROCK inhibitörleridir. Rho küçük G proteinlerindendir. ROCK bir serin-treonin kinaz olup, GTAaze Rho'nun bir alt efektörüdür. Rho proteinlerinin hücre iskeletinin korunması ve apoptizisde önemli rolleri vardır. MLC fosforilasyonu ile aktomiyozin bağlanmasını tetikleyerek kasılmayı gerçekleştirirler. İnhibitörleri (AR-12286, INS-117548, K-115, Y-39983) ise siliyer kas ve trabeküler ağda gevşemeye neden olarak aköz drenajını artırır. Ayrıca bleb koruyucu antiskar etkinlikleri ile nöron koruyucu etkileri de vurgulanmıştır. Vasküler düz kas hücrelerini etkileyerek oküler kan akımını da artırmaktadırlar. Prostaglandinlere benzer olarak konjonktival hiperemi yapabilmektedirler.⁵² Sonuçları yakın zamanda yayınlanmış olan Faz 2 çalışmada bir ROCK inhibitörü olan K-115 molekülü 210 PAAG ve OHT hasta popülasyonu 4 gruba ayrılarak 8 hafta boyunca farklı dozlardaki formülasyonları denenmiş ve sonuçlar plasebo ile karşılaştırılmıştır. Çok merkezli doz-cevap çalışmasına göre K-115'in %0.4'lük dozunun günde 2 kez uygulanması gün boyu etkili GİB düşüşü sağlamış ve glokom tedavisi için yeni bir molekül olarak umut vermiştir.⁵³ Diğer bir hedef molekül aktin olup, latrunkulin B ile polimerizasyonunun engellenmesi hücre iskelet yapısını bozar. Trabeküler akım artışıyla birlikte GİB düşer.^{50,54} Yeni bir hedef alanı olan adenosin reseptör agonistleri (A₁, A_{2a}, A₃) ise trabeküler ağda MMP senteziyle extraselüler matriksde yeni bir yapılanmaya ve hücresel değişikliklere neden olarak GİB düşüşü yapmaktadırlar.^{50,51,55} Bunların dışında serotonin reseptör (5-HT_{2A}) antagonisti ve kannabinoid reseptör agonistleri (CB₁/CB₂) ile ilgili çalışmalar vardır. RNA intereransı ile β₂ adrenerejik reseptör blokajı, yeni bir prostanoid EP₂ agonisti (taprenepag izopropil) ve FP reseptör agonisti (mopidamol) doz ve güvenlik çalışmaları süren moleküllerdir.^{50,51}

İlaç geliştirme çalışmalarının bir diğer kolu, yeni ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Puntal plaklar (latanoprost, bimatoprost), hidrojel kontakt lensler, nano teknoloji ile göz dokularına kolay ulaşılabilir taşıyıcı sistemler, enkapsüle hücre teknolojisi ile geliştirilen ve cerrahi olarak göz içi uygulamalarıyla farklı hastalıklar için (makula dejeneresansı, retinitis pigmentosa, glokom) uzun süreli molekül salınımı sağlayacak biodegradasyona uğrayan implantlar üzerinde çalışılan ve gelişim süreçleri halen devam eden yaklaşımlardır.⁵⁶⁻⁵⁸ Brimonidin intravitreal implantının prelinik çalışmalarda iyi tolere edildiği bildirilmiştir.⁵⁹ Durasert'in makula dejeneresansı için faz 3, glokom için faz 2 çalışmaları halen sürmektedir.

Yeni Bir Umut: Gen Tedavisi

Glokomun moleküler genetiğinin giderek daha iyi anlaşılması, gene yönelik tedavinin uygulanabilmesi açısından son derece umut vericidir. Günümüze değin PAAG ile ilişkili olmak üzere farklı lokuslar ve bu lokuslara ait hedef genler tespit edilebilmiştir. Özellikle juvenil başlangıçlı açık açılı glokomda miyosilin (MYOC), NTG olgularında belirgin optinörin, WDR36, PEXG'unda LOXL1 geni önemli saptamalardır.⁶⁰ Ancak hastalıktan sorumlu olabilecek gen mutasyonlarına ait araştırmalar henüz yetersiz olup, hızla devam etmektedir. Elbette uygun ve güvenli gen transferinin başarıyla gerçekleştirilmesi, genin kodladığı proteinin düzgün bir şekilde ekspresyonu ve işleve uygun fonksiyon görmesi, işlem sonrası gen kontrolünün sağlanması gibi konular, gen tedavisinin geliştirilmesi gereken diğer önemli basamaklardır.^{61,62}

Göz uzun süreli lokal etkinin sağlanabilmesi açısından gen tedavisi için uygun bir organdır. Hedef dokular trabeküler ağ, siliyer cisim, siliyer kas ve retina olabilir. Gen tedavisi GİB'ni düşürme amaçlı ön segmente ya da nöron korunması amaçlı arka segmente yönlendirilebilir. Konjonktiva altı, ön kamar, vitreus içi, subretinal uygulama alanları dışında son zamanlarda kanalooplasti tekniğiyle hedefe yönelik intrakanaliküler gen transferi yapılabileceği düşüncesi öne sürülmüştür.⁶³

Gen tedavisinde gen transferi dışında diğer bir yöntem de, hedef dokuya ilaç veya molekül aktarımlarının yapılmasıdır. Gözde gen tedavisine en güzel örneklerden biri, Leber'in konjenital amorozisidir. Burada hastalığa neden olan RPE65 geni viral vektörle (AVV) başarılı bir şekilde transfer edilebilmiştir. Gen transferinin yapıldığı hastalardan birinde mikropetri- metride anlamlı görsel değişimler saptanmıştır.

Gen tedavisinde viral ya da viral olmayan taşıyıcılar kullanılmaktadır. Virüsler hücrelere kolay penetre olabilirler. Viral vektörler olarak AV, AAV, LV veya HSV'ler kullanılabilir. HSV'ler gen aktarımına çok uygun değildir ve gen ekspresyonunda etki süreleri kısadır. AAV ve LV vektörlerde ise uzun süreli gen etkisi sağlanabilmektedir. AAV'ler göz için en çok tercih edilen gruptur, ancak büyük gen aktarım potansiyelleri sınırlı olabileceği gözardı edilmemelidir. Viral olmayan gen aktarım yöntemleri, lipozomlar, çıplak DNA enjeksiyonu, RNA interferans teknolojisi ve kontakt lens tipi elektrodlarla DNA enjeksiyonu (plazmid DNA) sonrası lokal elektrik akımı verilmesi şeklinde uygulanan elektroporasyon tekniğidir. Lipozomlar DNA yapısına iyi entegre olamadıkları için uzun süreli ekspresyon sağlayamamaktadırlar. Elektroporasyon tekniği ise nörotrofik faktör (GDNF)'ün RGH'ine verilmesinde başarıyla kullanılmış ve hücrelerde korunma sağlanabilmektedir.^{62,64}

Antiapoptotik genlerin viral vektörler aracılığı ile taşınımı başarıyla gerçekleştirilmiş ve hayvan modelinde RGH'inde apoptozis kontrol altına alınabilmektedir.⁶⁵ Steroid etkisiyle ekspresyonu azalan MMP1'in GİB yüksekliği ile ilişkili olduğunun anlaşılması ve sonrasında AV aracılı rekombinant MMP1 aktarımı ile GİB'nin düşürülebilmesi yanında^{66,67}, PAAG'da COX-2 ekspresyonunun azalmasına karşılık ön kamaraya LV aracılı COX-2 aktarımının uveoskleral akım artışıyla süreklilik gösteren (5 ay boyunca) GİB düşüşü sağlayabilmiş olması, gen tedavisi için umut veren ön çalışmalar olmuştur.⁶⁸

Diğer bir uygulama şeklinde ön kamarada dışa akım artışıyla GİB düşüşü sağlayıcı etki hedeflenmiştir. Daha önceki bölümde GİB düşüşünde en umut verici molekül olarak bahsedilen Rho/ROCK sistemi üzerinden deneysel bir model geliştirilmiştir. Viral vektör aracılı ekzoenzim C3 ekspresyonu sağlanarak Rho GTPaze inhibe edilmiş ve aktomiyozin hücre çatısının değişime uğramasıyla dışa akım artışı sağlanmıştır.⁶⁹

Extrinsik ve intrinsik apoptozis yollarının ortak noktası olan kaspaz sisteminin aktivasyonunun durdurularak nöron korunma sağlanması bir başka düşünce olmuştur. Bu amaçla güçlü kaspaz inhibitörleri olan BIRC4 ve IAP, AAV aracılı olarak hayvan modelinde denenmiş ve optik sinir akson canlılığı uzatılabilmektedir.^{70,71} Gen tedavisinde nörotrofinlerden faydalanmak adına iki önemli çalışmadan birinde, AAV aracılı intravitreal BDNF aktarımı ile aksonları kesilmiş RGH'inde canlılığın devamı sağlanırken, bir diğerinde BDNF reseptörünün (TrkB) AVV vektörü ile aktarımı yapılarak (upregülasyon) aksotomi sonrası RGH'leri apoptozisden korunmuştur.^{38,72} BDNF dışında GDNF ve CNTF'nin viral vektör aracılı taşınimleri da RGH'inde koruyucu etki sağlamıştır. Ancak iki nörotrofik faktör birlikte uygulandığında etkinin potansiyalize olmadığı görülmüştür. Glokomda oksidatif stres ve mitokondriyal disfonksiyon yolağı düşünüldüğünde bu konudaki bir diğer seçenek antioksidan enzimlere ait genlerin aktarımı ile apoptozis sürecinin kontrol altına alınması ve nöronal korunma sağlanması olabilir.^{61,64}

RNA interferans teknolojisinde kullanılan siRNA ve shRNA'larla gen ve protein ekspresyonu kontrol altına alınabilmektedir. siRNA, çift sarmal yapıdadır. Hayvan modelinde karbonik anhidraz enzimine ait gen ekspresyonu, siRNA teknolojisi ile durdurularak OHT modelinde GİB düşüşü sağlanabilmektedir. siRNA ve shRNA'larla MYOC geninde de supresyon başarıyla gerçekleştirilmiştir.^{74,75} Trabekulektomide fibroproliferasyonun inhibisyonu ile cerrahi başarının artırılması ve antimetabolit uygulamasına bağlı yan etkilerden uzaklaşmasını sağlayacak virüs aracılı gen ekspresyonu (p21 WAF 1/Cip-1) gen tedavisinin bir başka uygulama alanı olmuştur.^{76,77}

Glokomla ilgili moleküler genetik dataların artması nedene yönelik tedavi umutlarımızı artıracaktır. Böylelikle patolojiye neden olan genin kodladığı anormal protein ya da enzimatik yapının kontrol edilebilmesi mümkün olacaktır. Ancak diğer tedavi seçenekleri olan yeni hedef moleküller ve ilaç taşıyıcı sistemler üzerindeki araştırmalar da sürecektir. Genetik dışı da özellikle nörobiyoloji konusundaki çalışmalar yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine önemli katkı sağlayacaktır. Görünen o ki; glokomun geleceğine GİB kontrolü yanında aksonal korunmayı ve nöronal hücre bütünlüğünün devamını sağlayabilecek daha kolay uygulanabilir kombine tedavi metodları ile gen tedavisi damgasını vuracaktır.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Ly T, Gupta N, Weinreb RN, et al. Dendrite plasticity in the lateral geniculate nucleus in primate glaucoma. *Vision Res* 2011;51:243-50.
2. Yüksel N. Nörodejeneratif hastalık olarak glokom. *Türk Klin J Ophthalmol*. 2012;5:14-18.
3. Chen SD, Wang L, Zhang XL. Neuroprotection in glaucoma: present and future. *Chin Med J (Engl)* 2013;126:1567-77.
4. Chang EE, Goldberg JL. Glaucoma 2.0: neuroprotection, neuroregeneration, neuroenhancement. *Ophthalmology* 2012;119:979-86.
5. Vasudevan SK, Gupta V, Crowston JG. Neuroprotection in glaucoma. *Indian J Ophthalmol* 2011;59:102-13.
6. Qu J, Wang D, Grosskreutz CL. Mechanisms of retinal ganglion cell injury and defense in glaucoma. *Exp Eye Res* 2010;91:48-53.
7. Elgin U. Glokomda nöron koruyucu tedavi. *Glo-Kat* 2011;6:90-6.
8. Payne AJ, Kaja S, Naumchuk Y, et al. Antioxidant drug therapy approaches for neuroprotection in chronic diseases of the retina. *Int J Mol Sci* 2014;15:1865-86.
9. Agarwal R, Agarwal P. Glaucomatous neurodegeneration: an eye on tumor necrosis factor- α . *Indian J Ophthalmol* 2012;60:255-61.
10. Shahsuvarian M. Glaucomatous optic neuropathy management: the role of neuroprotective agents. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol* 2013;2:41-6.
11. Munemasa Y, Kitaoka Y. Molecular mechanisms of retinal ganglion cell degeneration in glaucoma and future prospects for cell body and axonal protection. *Front Cell Neurosci* 2013;9:60.
12. Chauhan BC. Endothelin and its potential role in glaucoma. *Can J Ophthalmol* 2008;43:356-60.
13. Prasanna G, Krishnamoorthy R, Yorio T. Endothelin, astrocytes and glaucoma. *Exp Eye Res* 2011;93:170-7.
14. Rosenthal R, Fromm M. Endothelin antagonism as an active principle for glaucoma therapy. *Br J Pharmacol* 2011;162:806-16.
15. Chen S, Fan Q, Li A, et al. Dynamic mobilization of PGC-1 α mediates mitochondrial biogenesis for the protection of RGC-5 cells by resveratrol during serum deprivation. *Apoptosis* 2013;18:786-99.
16. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Javadzadeh A, et al. Oxidative DNA damage and total antioxidant status in glaucoma patients. *Mol Vis* 2011;17:41-6.
17. Froger N, Jammoul F, Gaucher D, et al. Taurine is a crucial factor to preserve retinal ganglion cell survival. *Adv Exp Med Biol* 2013;775:69-83.
18. Egorov EA, Gvetadze AA, Davydova NG. Antioxidant agents in neuroprotection treatment of glaucoma. *Vestn Oftalmol* 2013;129:69-70.
19. Steigerwalt RD, Gianni B, Paolo M, et al. Effects of Mirtogenol on ocular blood flow and intraocular hypertension in asymptomatic subjects. *Mol Vis* 2008;14:1288-92.
20. Mozaffarieh M, Fraenkl S, Konieczka K, et al. Targeted preventive measures and advanced approaches in personalised treatment of glaucoma neuropathy. *EPMA J* 2010;1:229-35.
21. Mi XS, Zhong JX, Chang RC, et al. Research advances on the usage of traditional Chinese medicine for neuroprotection in glaucoma. *J Integr Med* 2013;11:233-40.
22. Cybulska-Heinrich AK, Mozaffarieh M, Flammer J. Ginkgo biloba: an adjuvant therapy for progressive normal and high tension glaucoma. *Mol Vis*. 2012;18:390-402.
23. Mi XS, Feng Q, Lo AC, et al. Protection of retinal ganglion cells and retinal vasculature by Lycium barbarum polysaccharides in a mouse model of acute ocular hypertension. *PLoS One* 2012;7:45469.
24. Inman DM, Lambert WS, Calkins DJ, et al. α -Lipoic acid antioxidant treatment limits glaucoma-related retinal ganglion cell death and dysfunction. *PLoS One*. 2013;8:65389.
25. Liu XQ, Wu BJ, Pan WH, et al. Resveratrol mitigates rat retinal ischemic injury: the roles of matrix metalloproteinase-9, inducible nitric oxide, and heme oxygenase-1. *J Ocul Pharmacol Ther* 2013;29:33-40.
26. Ammar DA, Hamweyah KM, Kahook MY. Antioxidants protect trabecular meshwork cells from hydrogen peroxide-induced cell death. *Transl Vis Sci Technol*. 2012;1:4.
27. Lee D, Kim KY, Shim MS, et al. Coenzyme Q10 ameliorates oxidative stress and prevents mitochondrial alteration in ischemic retinal injury. *Apoptosis* 2014;19:603-14.
28. Kernt M, Arend N, Buerger A, et al. Idebenone prevents human optic nerve head astrocytes from oxidative stress, apoptosis, and senescence by stabilizing BAX/Bcl-2 ratio. *J Glaucoma* 2013;22:404-12.
29. Kitaoka Y, Munemasa Y, Kojima K, et al. Axonal protection by Nmnat3 overexpression with involvement of autophagy in optic nerve degeneration. *Cell Death Dis* 2013;4:860.
30. Zhu Y, Zhang L, Sasaki Y, et al. Protection of mouse retinal ganglion cell axons and soma from glaucomatous and ischemic injury by cytoplasmic overexpression of Nmnat1. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:25-36.
31. Guo L, Salt TE, Luong V, et al. Targeting amyloid-beta in glaucoma treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:13444-9.
32. Tezel G. Immune regulation toward immunomodulation for neuroprotection in glaucoma. *Curr Opin Pharmacol* 2013;13:23-31.
33. Zhou X, Xia XB, Xiong SQ. Neuro-protection of retinal stem cells transplantation combined with copolymer-1 immunization in a rat model of glaucoma. *Mol Cell Neurosci*. 2013;54:1-8.
34. Danesh-Meyer HV. Neuroprotection in glaucoma: recent and future directions. *Curr Opin Ophthalmol* 2011;22:78-86.
35. Şatana B. Glokomda nöron korunması. *Türk Klin J Ophthalmol* 2012;5:76-82.
36. Colafrancesco V, Parisi V, Sposato V, et al. Ocular application of nerve growth factor protects degenerating retinal ganglion cells in a rat model of glaucoma. *J Glaucoma*. 2011;20:100-8.
37. Lambiasi A, Aloe L, Centofanti M, et al. Experimental and clinical evidence of neuroprotection by nerve growth factor eye drops: Implications for glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;3.

38. Martin KR, Quigley HA, Zack DJ, et al. Gene therapy with brain-derived neurotrophic factor as a protection: retinal ganglion cells in a rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4357-65.
39. Pease ME, Zack DJ, Berlinicke C, et al. Effect of CNTF on retinal ganglion cell survival in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2194-200.
40. Xiao JH, Zhang MN. Neuroprotection of retinal ganglion cells with GDNF-Loaded biodegradable microspheres in experimental glaucoma. *Int J Ophthalmol*. 2010;3:189-91.
41. Harper MM, Grozdanic SD, Blits B, et al. Transplantation of BDNF-secreting mesenchymal stem cells provides neuroprotection in chronically hypertensive rat eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:4506-15.
42. Krupin T, Liebmann JM, Greenfield DS, et al. Low-Pressure Glaucoma Study Group. A randomized trial of brimonidine versus timolol in preserving visual function: results from the Low-Pressure Glaucoma Treatment Study. *Am J Ophthalmol* 2011;151:671-81.
43. Shih GC, Calkins DJ. Secondary neuroprotective effects of hypotensive drugs and potential mechanisms of action. *Expert Rev Ophthalmol*. 2012;7:161-75.
44. Nassiri N, Nassiri N, Majdi M, et al. Erythropoietin levels in aqueous humor of patients with glaucoma. *Mol Vis* 2012;18:1991-5.
45. Zhong L, Bradley J, Schubert W, et al. Erythropoietin promotes survival of retinal ganglion cells in DBA/2J glaucoma mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(3):1212-8.
46. Kernt M, Neubauer AS, Eibl KH, et al. Minocycline is cytoprotective in human trabecular meshwork cells and optic nerve head astrocytes by increasing expression of XIAP, survivin, and Bcl-2. *Clin Ophthalmol* 2010;4:591-604.
47. Nixon E, Simpkins JW. Neuroprotective effects of nonfeminizing estrogens in retinal photoreceptor neurons. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53:4739-47.
48. Prokai-Tatrai K, Xin H, Nguyen V, et al. 17 β -estradiol eye drops protect the retinal ganglion cell layer and preserve visual function in an in vivo model of glaucoma. *Mol Pharm* 2013;10:3253-61.
49. Rocha-Sousa A, Rodrigues-Araújo J, Gouveia P, et al. New Therapeutic Targets for Intraocular Pressure Lowering. *ISRN Ophthalmol* 2013;16:2013:261386.
50. Chen J, Runyan SA, Robinson MR. Novel ocular antihypertensive compounds in clinical trials. *Clin Ophthalmol* 2011;5:667-77.
51. Wierzbowska J, Robaszkiewicz J, Figurska M, et al. Future possibilities in glaucoma therapy. *Med Sci Monit* 2010;16:252-9.
52. Wang J, Liu X, Zhong Y. Rho/Rho-associated kinase pathway in glaucoma. *Int J Oncol* 2013;43:1357-67.
53. Tanihara H1, Inoue T, Yamamoto T, et al. K-115 Clinical Study Group. Phase 2 randomized clinical study of a Rho kinase inhibitor, K-115, in primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 2013;156:731-6.
54. McKee CT, Wood JA, Shah NM, et al. The effect of biophysical attributes of the ocular trabecular meshwork associated with glaucoma on the cell response to therapeutic agents. *Biomaterials* 2011;32:2417-23.
55. Zhong Y, Yang Z, Huang WC, et al. Adenosine, adenosine receptors and glaucoma: an updated overview. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830:2882-90.
56. Schultz CL, Poling TR, Mint JO. A medical device/drug delivery system for treatment of glaucoma. *Clin Exp Optom* 2009;92:343-8.
57. Knight OJ, Lawrence SD. Sustained drug delivery in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2014;25:112-7.
58. Pita-Thomas DW, Goldberg JL. Nanotechnology and glaucoma: little particles for a big disease. *Curr Opin Ophthalmol* 2013;24:130-5.
59. Deokule SP, Baffi JZ, Guo H, et al. Evaluation of extended release brimonidine intravitreal device in normotensive rabbit eyes. *Acta Ophthalmol* 2012;90:344-8.
60. Sarıcaoglu MS. Glokomun moleküler genetiği. *Glo-Kat* 2006;1:231-7.
61. Wilson AM, Di Polo A. Gene therapy for retinal ganglion cell neuroprotection in glaucoma. *Gene Ther* 2012;19:127-36.
62. Güngör K. Glokomda gen tedavisi. *Türk Klin J Ophthalmol* 2012;5:83-7.
63. Aktas Z, Tian B, McDonald J, et al. Application of canaloplasty in glaucoma gene therapy: where are we? *J Ocul Pharmacol Ther* 2014;30:277-82.
64. Liu X, Rasmussen CA, Gabelt BT, et al. Gene therapy targeting glaucoma: where are we? *Surv Ophthalmol* 2009;54:472-86.
65. Malik JM, Shevtsova Z, Bähr M, et al. Long-term in vivo inhibition of CNS neurodegeneration by Bcl-XL gene transfer. *Mol Ther* 2005;11:373-81.
66. Spiga MG, Borrás T. Development of a gene therapy virus with a glucocorticoid-inducible MMP1 for the treatment of steroid glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:3029-41.
67. Gerometta R, Spiga MG, Borrás T, et al. Treatment of sheep steroid-induced ocular hypertension with a glucocorticoid-inducible MMP1 gene therapy virus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:3042-8.
68. Barraza RA, McLaren JW, et al. Prostaglandin pathway gene therapy for sustained reduction of intraocular pressure. *Mol Ther* 2010;18:491-501.
69. Liu X1, Hu Y, Filla MS, et al. The effect of C3 transgene expression on actin and cellular adhesions in cultured human trabecular meshwork cells and on outflow facility in organ cultured monkey eyes. *Mol Vis* 2005;11:1112-21.
70. McKinnon SJ, Lehman DM, Tahzib NG, et al. Baculoviral IAP repeat-containing-4 protects optic nerve axons in a rat glaucoma model. *Mol Ther* 2002;5:780-7.
71. Renwick J, Narang MA, Coupland SG, et al. XIAP-mediated neuroprotection in retinal ischemia. *Gene Ther* 2006;13:339-47.
72. Cheng L, Sapieha P, Kittlerova P, et al. TrkB gene transfer protects retinal ganglion cells from axotomy-induced death in vivo. *J Neurosci* 2002 15;22:3977-86.
73. Comes N, Borrás T. Functional delivery of synthetic naked siRNA to the human trabecular meshwork in perfused organ cultures. *Mol Vis* 2007;13:1363-74.
74. Yuan C, Zins EJ, Clark AF, et al. Suppression of keratoepithelin and myocilin by small interfering RNAs (siRNA) in vitro. *Mol Vis* 2007;13:2083-95.
75. Johnson KT, Rödicker F, Heise K, et al. Adenoviral p53 gene transfer inhibits human Tenon's capsule fibroblast proliferation. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:508-12.
76. Wen SF, Chen Z, Nery J, et al. Characterization of adenovirus p21 gene transfer, biodistribution, and immune response after local ocular delivery in New Zealand white rabbits. *Exp Eye Res* 2003;77:355-65.