

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

Татјана С. Шаренац Вуловић

**ПРОИНФЛАМАТОРНИ И РЕГУЛАТОРНИ
МЕДИЈАТОРИ У
ПСЕУДОЕКСФОЛИЈАТИВНОМ СИНДРОМУ**

Докторска дисертација

Крагујевац

Глорији и Јоакиму

Садржај

1. Увод.....	1
1.1. Увод.....	1
1.2. Историјат	1
1.3. Епидемиолошке карактеристике	3
1.3.1. Регионална заступљеност.....	3
1.3.2. Полна заступљеност	4
1.3.3. Старост болесника	4
1.4. Морфолошке карактеристике РЕХ.....	4
1.5. Генетска основа ПЕХ.....	6
1.6. Порекло РЕХ	7
1.7. Патогенеза РЕХ.....	9
1.8. Имунопатогенетске основе у процесу настанка РЕХ.....	11
1.8.1. Настанак фиброзног ткива	11
1.8.2. Оксидативни стрес.....	12
1.8.3. Функција цитокина	15
1.9. Офталмолошке манифестације.....	19
1.10. Системска манифестација РЕХ синдрома	23
1.11. Псеудоекфолијативни глауком.....	24
1.12. Лечење РЕХ глаукома	27
1.12.1. Медикаментно лечење.....	27

1.12.2. Ласерско лечење.....	29
1.12.3. Хируршко лечење	30
2. Циљеви и хипотезе рада	31
2.1. Хипотезе	31
3. Материјал и методе рада	32
3.1. Испитивани болесници.....	32
3.2. Узимање узорака очне водице и серума за испитивање.....	33
3.3. Биохемијске и имунолошке анализе	34
3.3.1. Биохемијске анализе	34
3.3.1.1. Одређивање концентрације азот-моноксида у очној водици и серуму болесника.....	34
3.3.1.2. Одређивање концентрације аскорбинске киселине у очној водици и серуму болесника	36
3.3.2. Одређивање нивоа TNF- α , IL-6, IL-17, TGF- β , PDGF, EGF, IGF, IL-8 и ITAC, индиректном ELISA техником у очној водици и серуму болесника	37
3.4. Статистичка обрада података	38
4. Резултати рада	40
4.1. Старост пацијената	40
4.2. Пол болесника	42
4.3. Монолатерална или билатерална испољеност	43
4.5. Придružена системска обољења.....	44
4.6. Тип катаракте	45
4.7. Величина мидријазе.....	47
4.8. Одређивање концентрације азот-моноксида (NO) и аскорбинске киселине као индикатора оксидативног стреса	48

4.8.1. Концентрација аскорбинске киселине је значајно смањена у очној водици код болесника са РЕХ глаукомом у односу на болеснике из контролне групе; док није уочена разлика у серумским концентрацијама у свим испитиваним групама.	48
4.8.2. Концентрација азот-моноксида је статички значајно повишена у очној водици болесника са РЕХ глаукомом у поређењу са болесницима са раном и касном фазом РЕХ синдрома и контролне групе. Постоји значајно повећање азот-моноксида у серуму болесника са раном фазом РЕХ синдрома	49
4.9. Одређивање концентрације проинфламаторних и регулаторних цитокина	50
4.9.1. Проинфламаторни цитокини	50
4.9.1.1. Ниво проинфламаторних цитокина TNF- α и IL-17 у очној водици је повишен код болесника са РЕХ синдромом (рана и касна фаза) и РЕХ глаукомом, док је ниво IL-6 у очној водици повишен код болесника са раном фазом РЕХ синдрома и болесника са РЕХ глаукомом.	50
4.9.1.2. Серумски ниво проинфламаторног цитокина IL-6 је повишен код болесника са раном и касном фазом РЕХ синдрома	51
4.9.2. Регулаторни цитокини.....	53
4.9.2.1. Ниво регулаторног цитокина TGF- β у очној водици је повишен код болесника са раном фазом РЕХ синдрома, док је ниво PDGF повишен у раној и касној фази РЕХ синдрома. Код болесника са РЕХ глаукомом је повишен ниво EGF, IL-8 и ITAC, а IGF је детектован код болесника са РЕХ глаукомом.	53
4.9.2.1. Повишен ниво TGF- β покреће процес стварања фиброзног ткива у раној фази РЕХ синдрома, уз активност PDGF, EGF и IL-8 у касној фази РЕХ синдрома. Каснију улогу у том процесу преузимају IL-8 и ITAC, у фази развијеног глаукома.....	55
4.9.3. Корелације између проинфламаторних и регулаторних цитокина у РЕХ синдрому/глаукому	57

4.9.3.1. Корелација проинфламаторних цитокина (TNF- α , IL-6 и IL-17) у очној водици и серуму болесника са PEX синдромом/глаукомом	57
4.9.3.2. Корелација између регулаторних цитокина (TGF- β , EGF, IGF, PDGF, ITAC) у очној водици и серуму болесника са PEX синдромом/глаукомом.....	58
5. Дискусија	61
6. Закључак	77
7. Литература.....	79

1. Увод

1.1. Увод

Псеудоексфолијације (РЕХ од енг. Pseudoexfoliation) представљају честу окуларну манифестацију системског обољења и један су од водећих узрока настанка глаукома (1). Псеудоексфолијативни синдром је поремећај организма који карактерише измењен састав екстрацелуларног матрикса са патолошким накупљањем фибриларног материјала у интра- и екстра- ћелијском ткива организма (плућа, јетра, срце, бубрег, жучна кеса, крвни судови, можданице, око, екстраокуларни мишићи) (2) (3). У оку у коме су настали хемодинамски поремећаји услед накупљања псеудоексфолијација и поремећаја протока крви у крвним судовима ретине развија се псеудоексфолијативни глауком (4). Псеудоексфолијативни синдром је значајан и због системских манифестација, које карактеришу цереброваскуларне и кардиоваскуларне промене (5). Утврђивање узрока и механизма настанка РЕХ у организму и оку значајно доприноси бољој контроли болести.

Претпоставља се да око 70 милиона људи у свету има РЕХ (1). Од тога 0,25% има повишен интраокуларни притисак, од чега трећина има развијену форму глаукома (6) (7) (8). Велики број пацијената има недијагностикован или погрешно дијагностикован РЕХ, тако да се претпоставља да знатно већи број особа има РЕХ (8). Псеудоексфолијације се ретко срећу код особа млађих од 40 година, а најчешће су присутне код особа старијих од 60 година (9).

1.2. Историјат

Први подаци о постојању псеудоексфолијација у оку потичу са почетка прошлог века када је Аксенфелд описао хијалину дегенерацију пупиларног руба и атрофију пигментног листа дужице уз отежано ширење зенице, али није знао порекло и значај уочених промена (10). Финац Џон Линдберг је 1914.год. уочио постојање беличастих накупина у предњем сегменту ока и започео је изучавање

детаља везаних за њихову природу и узрок настанка (11). Отежавајућа околност за детаљније и прецизније проучавање предњег сегмента ока у то време за њега је био недостатак биомикроскопа. Линдберг је, користећи Гулстрандова сазнања о оптици ока, направио биомикроскоп и започео детаљније проучавање промена на предњем сегменту ока (12). Своје изучавање је представио јавности 1917 год, као своју докторску дисертацију. Његова студија је обухватила 202 болесника са сенилном скрамом. Код појединих болесника је описао присуство беличастих пахуља на пупиларном рубу и предњој капсули сочива. Уочио је и да оне код појединих болесника стварају мембрану или диск на предњој капсули сочива и да се чешће јавља код старијих особа. Забележио је и податак да је 60 болесника имало и повишен интраокуларни притисак, а да је 50% болесника са глаукомом имало беле пахуље. Своја опажања је представио швајцарском офталмологу Вогту. Вођен претходним сазнањима Линдберга, Вогт је 1923.год., такође, описао присуство белих љуспи на пупиларној ивици и предњој капсули сочива код болесника који су подвргнути антиглаукоматозној операцији и сматрао је да су псеудоексфолијације резултат повећане ексудације у предњу очну комору (13) (14). Две године касније описао је клиничку слику под дијагнозом „површне ексфолијације предње капсуле“, јер је беле пахуље видео на предњој капсули сочива. Прегледом коморног угла болесника уочио је да га беле пахуље, са капсуле сочива, затрпавају и да су оне узрок настанка глаукома, па је ту врсту глаукома назвао-капсуларним. У размени свог искуства са колегама из других земаља, уочио је да мали број болесника који се лече због глаукома, у Немачкој има РЕХ (15), док је у Норвешкој описан код 40% болесника (16). Нешто касније, Трантас је 1929.год. писао о РЕХ као дегенеративном процесу, који укључује готова сва ткива ока, као и одводне путеве очне водице (17). Тиме је објаснио и настанак глаукома код особа са РЕХ. За разлику од Трантаса, Бусака је 1930.год. РЕХ описао као резултат процеса преципитације молекула које се нормално налазе у очној водици (18) (19).

1.3. Епидемиолошке карактеристике

Псеудоексфолијативни синдром и псеудоексфолијативни глауком се јављају у свим деловима света, али је њихова инциденца различита у зависности од региона (8). Ниска преваленца РЕХ се приписује нетачно постављеним дијагнозама (8). Отежана дијагностика је последица смањене видљивости, нарочито почетних форми РЕХ уколико се преглед ока болесника не врши у артефицијалној мидријази. Такође, уколико се млади пацијенти детаљно не прегледају у смислу постојања РЕХ, њихово постојање може да се превиди (8), јер је описано 3 случаја особа са РЕХ, које су млађе од 17 година (20) (21) (22) .

1.3.1. Регионална заступљеност

У Америци постоје подаци да 12% болесника са глаукомом има РЕХ, а да 7% болесника са РЕХ има глауком. Преваленца РЕХ синдрома је 1,8% (9). Уочено је да се РЕХ никада не јавља међу припадницима афричких Американаца и код Ескимана, као и код Инуита који живе на канадском Арктику (8).

Локација	Преваленца РЕХ
Северна Америка (Навахо Индијанци)	38 % ⁽²³⁾
Скандинавија	20-25% ⁽²⁴⁾
Европа	4,7% ⁽⁷⁾
Енглеска	6,3% ⁽⁷⁾
Француска	5,5% ⁽⁷⁾
Норвешка	4% ⁽⁷⁾
Грчка	1,1% ⁽⁷⁾
Африка (Банту племе)	8,2% ⁽²⁵⁾
Јапан	3,4% ⁽²⁶⁾
Индија	6,45% ⁽²⁶⁾
Кина	0,4% ⁽²⁶⁾

Табела 1. Преваленца РЕХ у различитим земљама света

1.3.2. Полна заступљеност

Већина података указује на већу заступљеност PEX код особа женског пола, и то у односу 3:1 (8). Постоје подаци који говоре о већој заступљености мушког пола међу болесницима са PEX, који потичу од аутора са азијског континента (23). Аутори такав податак објашњавају чињеницом да су припадници мушког пола, из верских разлога, чешће изложени дејству сунчевих зрака приликом извршавања радних обавеза, док жене остају код куће. Стога се и скрама чешће јавља код њих, па одлазе и на офталмолошке прегледе чешће, где се PEX и дијагностикује.

1.3.3. Старост болесника

Просечна старост болесника код којих су уочене псеудоексфолијације се креће у интервалу од 69-75 година (2). PEX се углавном јавља код особа старијих од 50 година (2). Установљено је да је преваленца обољења између 10-20% код особа које су старије од 60 година са тенденцијом раста и до 40% код особа са преко 80 година старости (2). Запажено је да број особа са PEX у Норвешкој највећи у старосној доби од 80-89 година (7,9%) у односу на 0,4% у старосној доби од 50-59 година (2). Овакви подаци указују да број болесника са PEX знатно расте са старењем.

1.4. Морфолошке карактеристике PEX

Псеудоексфолијативни синдром је генерализовани поремећај екстрацелуларног матрикса са повећаним стварањем и нагомилавањем фибриларног материјала на предњем сегменту ока, али и у кожи, плућима, јетри, срцу, мозданицама и др. (24) (25). Не зна се тачан механизам њиховог

настанка нити у потпуности њихова грађа, али се зна да настају услед прекомерног стварања и смањене разградње фибриларног материјала (2).

Испитивање електронским микроскопом, указује на композицију међусобно повезаних фибриларних структура дијаметра 25-45nm. Величина појединачних фибрила је од 8 до 10 nm. Индиректна хисто- и имуно-хистохемијска испитивања су показала да се у основи PEX налазе гликопротеини, тј. протеоглици (26). У средишту микрофибриле се налази протеин који је окружен различитим гликокоњугатима: хепаран сулфат протеогликан, хондроитин сулфат протеогликан, дерматан сулфат протеогликан, кератан сулфат протеогликан, хијалуронан (26). Протеинска компонента микрофибрила у основи има неколагену базалну мембрану: ламинин, нидоген, фибронектин; са епитопима еластичних фибрила: еластин, тропоеластин, амилоид П, витронектин, фибронектин и компонентама еластичних микрофибрила: фибрилин-1, микрофибрил везани протеин, MAP-1 (од енг. microfibril associated protein-1), латентни TGF- β везујући протеин, LTBP 1/2 (од енг. latent TGF- β binding protein) (26) (27). Каснија имунохистохемијска испитивања су показала повећану експресију фибрина-1 и LTBP-1/2 mRNA у свим ћелијама које су укључене у стварање псеудоексфолијација дајући подршку еластичној микрофибриларној основи патогенезе (28). Постоји и низ других протеинских молекула који су укључени у настанак псеудоексфолијација, а то су: унакрсно везујући ензими-чаперони, аполипопротеини, протеолитички ензими и њихови инхибитори, цитокини, као што је TGF- β , CTGF, IL-6, TNF- α и др. (28) (29) (30). Ovodenko и сарадници (27) су користећи течну хроматографију са спектрометријом дали коначну верзију грађе псеудоексфолијативних микрофибрила. У основи се налази базална мембрана од ламинина, фибронектина, верзикана, синдекана-3 уз присуство металопроотеиназа ADAM фамилије, чаперона, као и кластерина и комплемент фактора C1q. Такође је доказано и постојање других компоненти микрофибриларних влакана: фибрилин-1, фибулин-2, витронектин, компоненте амилоида P. Са обзиром да псеудоексфолијације садрже доста компоненти еластичног фибриларног система, њихова појава у организму се назива еластоза (28). Ова појава удружена са поремећеним односом активности

металопротеиназа и њихових инхибитора у очној водици омогућавају настанак и накупљање еластичних микрофибрила у оку (28).

1.5. Генетска основа ПЕХ

Различите студије су показале да у настанку псеудоексфолијација у организму важну улогу имају и генетски фактори (31). Данџи и сарадници (1998. год.) су први пут објавили да се потенцијал за настанак ПЕХ наслеђује аутозомно- доминантно са касним и некомплетним испољавањем (31). Тада су почела опсежна испитивања генетске основе ПЕХ. Стварање ПЕХ је тада повезивано са следећим генским локусима: 2p16, 2q35-q36 и 3q13-q2 (28). Касније студије су показале повезаност са 18q12.1-21.33 и слабију повезаност са 2q, 17p, 19q локусима (32).

Студије Thorleifsson и сарадника (33) о генетској основи ПЕХ су показале да је ген LOXL 1 (од енг. lysyl oxidase like 1) на 15q 24.1 хромозому чврсто повезан са настанком ПЕХ код становника Скандинавских земаља. Код особа које имају овај ген постоји повећана вероватноћа за настанак глаукома, посебно изазваног ПЕХ-ом. Постоје различите варијанте секвенци или полиморфизам појединачних нуклотида (SNP, од енг. single nucleotid polimorphisam) тог гена. Хаплотип са повећаним ризиком за настанак ПЕХ је Г-Г, тј. то је комбинација алела једног хромозома ког формирају два несинонимна SNP (rs 3825942 и rs 1048661) у егзону 1 LOXL 1 активирани фактором 27 и један интронски SNP (rs 2165241) (34). Особе које поседују овакву генетску комбинацију имају 700 пута већу могућност за настанак псеудоексфолијација (34). Након тога су овакве студије урађене у различитим деловима света и показано је да постоји повезаност између LOXL 1 и псеудоексфолијација (35). Нуклеотид rs 3825942 је чврсто повезан са ПЕХ, осим код малог броја становника Јужне Африке, док код rs 1048661 постоји нешто слабија веза код становника Јапана и Кине (35). Међутим, функционални значај LOXL 1 је још увек нејасан.

LOXL 1 се налази на 15q24.1 хромозому и део је петочлане фамилије лизил оксидаза ензима (LOX 1-4), који имају важну улогу у повезивању колагена и еластина у везивном ткиву, преко оксидативне деаминације лизина или хидроксилизина у бочним ланцима (36). Заправо, LOXL 1 катализује реакцију везивања трополастина и фибулина 5 и регулише стварање и обликовање еластичних влакана у оквиру процеса ожиљавања ткива, настанка тумора и др. (37) (38). Дејством металопроотеиназа долази до цепања протеина тако да се ослобађају места на протеину за које се везују лизил оксидазе (39).

Прелиманрне студије о улози LOXL 1 у настанку PEX су показале да је смањена експресија LOXL 1 код особа са касним стадијумом PEX синдрома (20%) и код особа са PEX глаукомом (40%), док постоји повећана активност LOXL1 код особа са раном фазом PEX синдрома (28). Показана је повећана активност ензима, чију синтезу регулише LOXL 1 у свим ткивима код особа са PEX (интра и екстраокуларно- кожа, везивно ткиво, зидови крвних судова висцералних органа), (40) (41).

1.6. Порекло PEX

Упркос многобројним испитивањима, не зна се тачно порекло псеудоексфолијативног материјала у организму. Електронска микроскопија и имунохистохемијске анализе су коришћене у изучавању природе и порекла PEX. Утврђено је да све епителне ћелије предњег сегмента ока учествују у стварању PEX (42). Каснијим испитивањима је показано да и ендотел рожњаче и трабекуларне ћелије у строми дужице активно учествују у процесу синтезе PEX (43). Постојање PEX на предњој капсули сочива, као и на уграђеном вештачком интраокуларном сочиву се, међутим, објашњавало пасивним таложењем фибриларног материјала (44). На основу спроведених истраживања, претпостављало се да епителне ћелије сочива и ендотел рожњаче активно учествују у стварању PEX, али је лецитин хистохемијска студија показала да је лецитин (неимунски везујући протеин који учествују у стварању гликокоњугата PEX материјала) део угљенохидратне композиције прекурсора PEX на предњој

капсули сочива и да се разликује од гликокоњугата на осталим деловима предњег сегмента ока (45) (46). У истраживањима су коришћени различити лецитини, како би се показало присуство различитих врста лецитина у РЕХ материјалу у различитим деловима ока. Показано је да постоји разлика у типу лецитина РЕХ материјала на предњој капсули сочива и остатка предњег сегмента ока. То објашњава теорију преципитације РЕХ на предњој капсули сочива као и постојања РЕХ на ендотелу рожњаче (46).

Недавно је прихваћена теорија о системској манифестацији РЕХ. Влакна окуларног РЕХ су слична онима која су пронађена у близини фибробласта, ендотела крвних судова, глатких, попречно-пругастих мишића и срчаног мишића. Сличност се огледа у појединим секвенцама протеинских компоненти, које су различито организоване у појединим ткивима (5). Структура микрофибрила је иста на различитим местима у организму, али сама композиција подструктра варира у зависности од околног ткива (5).

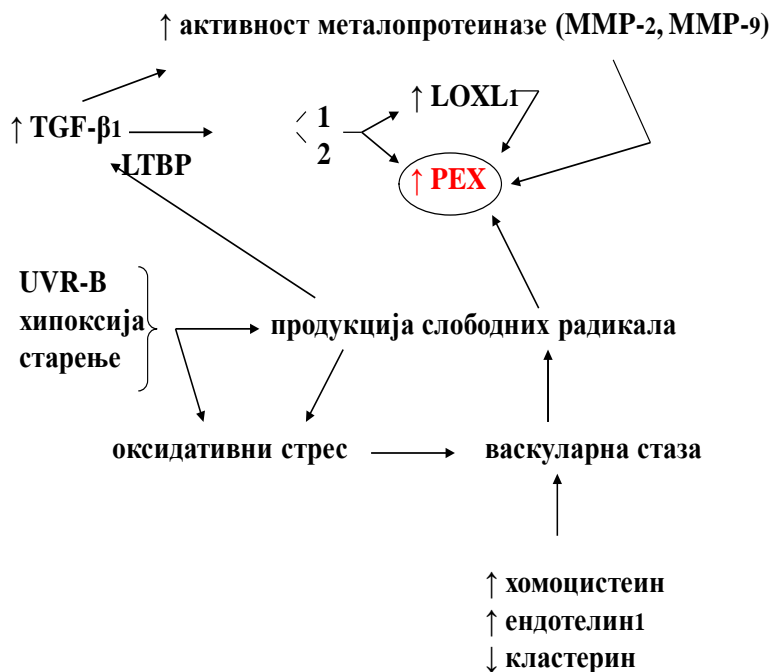


Схема 1. Процес настанка ПЕХ на основу података из литературе

1.7. Патогенеза PEX

На основу биохемијске грађе PEX и услова који постоје у оку са псеудоексфолијацијама, претпоставља се да следећи фактори могу да стимулишу стварања PEX материјала: оксидативни стрес и запаљење (Схема 1).

Многобројне студије о патогенези PEX пишу о оксидативном стресу као главном покретачу овог сложеног процеса (47) (48) (49). Оксидативни стрес у оку, тј. стање хипоксије регулише експресију LOXL 1 и синтезу молекула матрикса- еластина и фибрина (28). Неколико студија је дало резултате у којима је показано да смањена антиоксидативна заштита и повећан оксидативни стрес имају улогу у настанку PEX (28) (30) (49). Оксидативни стрес у оку је доказан преко смањеног нивоа важних антиоксидативних компоненти, као што су: аскорбинска киселина, глутатион; уз повећање фактора оксидативног стреса: 8- изопростагландин F2 α и малондиалдехид (50). Код болесника са PEX показан је и смањен ниво активности антиоксидативних механизма уз измењену активност заштитних гена, који регулишу синтезу глутатион-Ц-трансферазе, убиквитин- кођугованог ензима, ДНК репаришућих ензима, стресом индукованих транскрипционих фактора (51). Наведени механизми узрокују нагомилавање слободних радикала у ткиву. Оксидативни статус ткива додатно се мења и због присуства повишеног нивоа ендотелина-1 и хомоцистеина (52) (53). Ендотелин-1 својим вазоконстриктивним дејством додатно погоршава стање хипоксије (54), док хомоцистеин својим дејством смањује релаксацију ендотела (55). Услед наведених промена, мења се и стање крвних судова у оку. Смањен проток крви у крвним судовима дужице повећава хипоксију у предњој очној комори, што је показано флуоресцеинском и индоцијанингрин ангиографијом крвних судова дужице (56).

Слободни радикали настали под дејством ултраљубичастиг зрачења повећавају синтезу TGF- β 1 и стимулишу активност матриксних металопроотеиназа (MMP-2, MMP-9) (57) (58). Постоје подаци у литератури о повећању концентрације TGF- β 1 у очној водици и серуму болесника са PEX синдромом (59). TGF- β 1 је важан медијатор у стварању PEX материјала, кога

стварају ћелије предњег сегмента ока, који регулише и активност гена за синтезу фибрина- 1, LTBP-1 и -2, тропеоластина, кластераина, LOXL 1 и др. TGF- β 1 се везује преко LTBP-1 и 2 за PEX, али и за LOXL 1, повећавајући стварање PEX (59) (60). Познато је да TGF- β 1 повећава синтезу ендотелина-1, што поспешује стварање слободних радикала (28) (52). Тиме настаје зачарани круг и долази до новог погоршања оксидативног статуса. Са друге стране, Но и сарадници (58) су показали да у очној водици особа са PEX постоји повећана активност MMP, а смањена активност инхибитора металопроотеиназа (TIMP). Матриксне металоротеиназе ослобађају места на протеинима за везивање лизил оксидазе чиме се појачава њихов ензимски ефекат остварујући појачану синтезу PEX. Зато, за PEX синдром можемо да кажемо да је специфичан облик стресом изазване еластозе-еластична микрофибрилопатија повезана са повећаним стварањем и агрегацијом еластичних микрофибрила, унакрним повезивањем фибрила које укључује активност LOXL 1, уз повећан ниво TGF- β 1, протеолитичку неравнотежу активности MMP и TIMP, повећан оксидативни стрес и смањен ћелијски одговор на хипоксију (28). Напред наведене активности TGF- β 1, LOXL- 1 и ткивних металопроотеиназа међусобно испрепелтане доводе до појачаног стварања аберантних микрофибрила. Како је показано у студији Zenkel и сарадника (51), протеин који би могао да смањи стварање непожељних протеина-кластерин је снижене концентрације код болесника са PEX.

Такође, смањена функција фосфолипазе A2 код особа са PEX, која је значајна за ремоделирање и отклањање оксидисаних фосфолипида из ћелијске мембране у трабекуларној мрежи, доводи до повећане осетљивости на оксидативни стрес и настанак за глауком карактеристичних промена- повећан отпор отицању очне водике из предњег сегмента ока (61).

Прогресивно накупљање PEX материјала у одводне путеве очне водике изазива повећање ИОП (62). Постоји корелација измеђи висине ИОП и оштећења главе очног живца и количине PEX материјала у одводним путевима очне водике (62). Међутим, показано је да не постоји корелација између количине PEX материјала на предњој капсули сочива и висине ИОП (63). Нагомилавање PEX материјала у јукстаканаликуларном делу коморног угла је

повезано са поремећајем грађе Шлемовог канала што узрокује сужење и фокални колапс лумена. На сличан начин настаје и колапс лумена венских крвних судова (63).

1.8. Имунопатогенетске основе у процесу настанка PEX

Са обзиром на биохемијски састав псеудоексфолијација (фибрилин-1, фибулин-2, витронектин, амилоид II компонента, ламинин и фибронектин, синдекан-3, верзикан, АДАМ металопротеиназе, кластерин, LTBP-1 и 2) уз поремећај равнотеже односа активности металопротеиназа и њихових инхибитора, поставило се питање евентуалне имунопатолошке основе у процесу њиховог настанка (15). Сличност биохемијског састава микрофибрила PEX и фиброзног ткива даје нам могућност претпоставке модела њиховог настанка.

1.8.1. Настанак фиброзног ткива

Настанак фиброзног ткива у организму се састоји из три фазе: фаза оштећења ткива, фаза запаљења и фаза репарације ткива (64). За започињање процеса неопходно је дејство узрока на ткиво, који може да буде различите природе: микроорганизми, УВ зрачење, траума, хипоксија и др. (65). Под дејством различитих фактора настаје оштећење ткива, тј. нарушавања равнотеже у ткиву. Новонастало стање се одражава на промену функције ендотела, из кога се ослобађају медијатори (66). Ослобођени медијатори имају више улога: да привуку запаљенске ћелије на место оштећења, да врати нормалну функцију ендотела, али они активирају и ткивне металопротеиназе (66). Антифибринолитичка коагулациона каскада има улогу у регулисању функције ендотела и то преко активности тромбоцита, који се налазе на месту пропуштања, као и формирање коагулума и активности тромбина, који учествује у процесу диференцијације фибробласта у миофибробласте (66) (67).

Накупљање и дегранулација тромбоцита уз формирање тромба доводи до ослобађања медијатора који изазивају вазодилатацију и повећану пермеабилност (66). Базална мембрана представља препреку за излазак ћелија и биохемијски активних супстанци из оштећеног ткива. Металопроотеиназе (ММП) разлажу поједине структуре екстрацелуларног матрикса што омогућава екстравазацију ћелија. Најактивније су ММП-2 (гелатиназа А) и још више ММП-9 (гелатиназа Б) (68) (69).

У другој фази постоји миграција запаљенских ћелија на место оштећења ткива под дејством различитих проинфламаторних цитокина и хемокина (70). Ослобођени IL-8 делује на хемотаксу неутрофила, еозинофила, лимфоцита (71). Долази и до ослобађања TGF- β и IL-13 који регулишу активност запаљенских ћелија у самом ткиву (71). Помагачки CD4⁺ Т лимфоцити се могу диферентовати у више субпопулација од којих су најбоље проучене: Th1, Th2 и Th17 или њихове комбинације (64). Под дејством ослобођених цитокина из запаљенских ћелија, тј. CTGF уз присуство EGF и IGF долази до пролиферације фибробласта и њихове диференцијације у миофибробласте, који учествују у процесу формирања фиброзног ткива (72). Услед поремећаја циркулације у ткиву настаје ослобађање и ангиогенетских фактора из групе хемокина, али и синтезе ангиостатских фактора (73). Међусобни однос ове две групе цитокина одредиће даљи ток стварања или заустављање стварања нових крвних судова.

У трећој фази настаје депоновање фиброзних влакана у ткиву, са циљем да се врати ткиво у стање равнотеже. Депоновано фиброзно ткиво мења грађу ткива уз следствену промену функције (64).

1.8.2. Оксидативни стрес

Оксидативни стрес је процес који се неизбежно дешава физиолошки у свим живим ћелијама и последица је њиховог прилагођавања аеробном начину живота (74). Упоредо са развојем оксидативног стреса, дошло је до развоја механизма који би требало да штите организам од насталих продуката

оксидативног стреса- слободних радикала који учествују у многобројним хомеостатским и одбрамбеним реакцијама (74). Оксидативни стрес настаје у ћелијама када се повећа продукција слободних радикала или смањење капацитет антиоксидативне заштите (49). Оксидативни стрес је део многобројних патолошких процеса у организму, као што су различита запаљенска, дегенеративна, малигна и др. обољења (75). Дејство оксидативног стреса може да буде хронично, што подразумева оштећујући кумулативни ефекат и следствене промене у ткиву. Накупљање штетних молекула, производа оксидативног стреса, је и карактеристика процеса старења организма (76). Оштећење ткива које настаје услед оксидативног стреса је ланчана реакција, која започиње стварањем слободних радикала (77). Новонастали молекули покрећу интраћелијске сигнале и активирају регулаторне механизме са променама на ћелијским ДНК, што као резултат даје деструктивне промене ткива услед измена на молекулима протеина и липида (78). Оксидативни деградациони продукти су ткивни и серумски маркери оштећења ткива, а њих сачињавају: малон диалдехид (МДА), крајњи продукт оксидације липида и крајњи продукт разградње протеина (49). Молекули витамина А, Ц и Е, као и молекули трансферина везују кисеоничне јоне стварајући стабилна једињења која исказују антиоксидативни ефекат (79).

Псеудоексфолијације су феномен повезан са старашћу, који настаје услед промена екстрацелуларног матрикса. РЕХ карактерише стварање абнормалних фиброзних фибрила и њихово накупљањем у оку (24). Назване су стресом изазвана **еластоza**, јер је главни узрок настанка прекомерно стварање слободних радикала (28). Оксидативни стрес у организму могу да изазову: ултраљубичасто зрачење, старост, инфекције, траума и др. (28). Ослобођени слободни радикали активирају читаву палету догађаја у ткиву: васкуларне промене, стварање тромба, хемотакса, ослобађање простагландина и различитих цитокина уз учешће великог броја запаљенских ћелија. Смањена концентрација антиоксиданаса поспешују ослобађање проинфламаторних цитокина и убрзава процес стварања РЕХ (30).

Аскорбинска киселина је један од најмоћнијих антиоксиданаса у организму. Њена концентрација може да буде смањена код болесника са катарктом, глаукомом, сенилном дегенерацијом макуле и др. (50).

Азот моноксид, NO настаје из L-аргинин дејством ензима азот моноксид синтетазе (NOS- од енг. Nitric oxide synthetasis) (80) (81). Код сисара, NOS се среће у три облика: неурална, индуцибилна и ендотелна. Индуцибилна NOS (iNOS) се налази у макрофагама и може да је активира бактеријски липополосахарид или поједини цитокини (82). Неурална NOS (nNOS) и ендотелна NOS (eNOS) се налазе увек у ткивима (централни и периферни неурони, ендотелне ћелије) (83). Ендотелна NOS је одговорана за стварање азот монооксида у крвним судовима. Продукција NO је активирана преко великог броја агониста рецептора, које стимулише смањен проток крви кроз крвне судове (84). Азот моноксид има врло јаку вазодилаторну улогу, изазивајући релаксацију глатких мишића у зиду крвног суда (85). NO има и врло важну улогу у процесу запаљења, тромбозе, имунске неуротоксичности и у процесу неуротрансмисије (81). Могућа улога је у релаксацији елемената трабекуларне мреже, која има врло важну улогу у процесу патогенезе глаукома (48). Уочено је да у предњем сегменту ока постоји велика количина азот моноксид синтетазе (86).

Колиакос и сарадници (50) су први показали да поремећај равнотеже оксидативних и антиоксидативних реакција у оку може да буде један од покретача процеса стварања PEX. Тај поремећај је био више изражен код болесника са PEX глаукомом него са PEX синдромом (50). Сматра се да хронична изложеност факторима који могу да активирају оксидативне реакције доводи до њиховог кумулативног ефекта, који не може да буде заустављен, што за последицу има настанак трајних промена на ткивима (64). У ћелијама које су изложене дејству оксидационих продуката се активира транскрипциони фактор NFκB, тако да започиње процес синтезе молекула чаперона (αB кристалин) и активатора металопроотеиназа, што услед промене у функцији ендотела крвног суда изазива инфламацију у ткиву (49). Хронична инфламација активира и синтезу TGF-β, профибротичног цитокина (57), што условљава покретање сложеног процеса активације синтезе других регулаторних (профибротичних, ангиогенетских, антиангиогенетских) цитокина у ткиву. Крајњи производ целокупног процеса је синтеза фиброзна влакана, која се међусобно повезују и

стварање PEX. Његова функција се огледа у активацији процеса фиброзе, како би се оштећено ткиво што је пре могуће репарирало. На основу претходно наведеног, постаје јасније да се у основи процеса синтезе PEX налази оксидативни стрес (хипоксија, УВ зрачење и др.) и инфламација, уз смањен капацитет антиоксидативних реакција.

1.8.3. Функција цитокина

Све цитокине које учествују у процесу настанка фиброзног ткива, а самим тиме и PEX можемо у зависности од њихових функција да поделимо у две групе: проинфламаторне и регулаторне (профибротичке, ангиогенетске и антиангиогенетске).

Фактор некрозе тумора (**TNF- α** од енг. Tumor necrosis factor α) је снажан плејотропни проинфламаторни цитокин који се синтетише у активираним макрофагама, моноцитима и Th1 лимфоцитима (87). Одговоран је за низ биолошких ефеката и назива се системским медијатором ендотоксичног шока, кахексије и регресије туморског ткива (87). Припада фамилији протеина, која укључује и Fas лиганд, који делују аутокринно и регулишу ћелијску пролиферацију и апоптозу (88) (89). Тако да је TNF- α проинфламаторни цитокин и кључни регулатор апоптозе. Дејство оставрује везивањем за TNF рецептор који активира NF κ B (88) (90). Синтетише се у скоро свим ћелијама организма, а свој ефекат испољава на ендотелним ћелијама (91). Ефекат TNF- α се састоји у: повећању хемотаксе леукоцита, повећању експресије адхезивних молекула (P селектин, E селектин), хемотакси неутрофила и моноцита, повећаном стварању слободних радикала у макрофагама уз повећану синтезу IL-1 и IL-6, у аутокрином дејству, регулисању процеса запаљења преко IL-6, инхибицији фагоцитозе колагена (92) (93) (94). TNF- α повећава пермеабилност крвних судова и миграцију запаљенских ћелија на место инфламације уз смањену активност фибробласта (95). Постоје подаци да повећана секреција TNF- α делује на повећање секреције TGF- β , PDGF и GM-CSF, који имају профибротичку улогу у процесу запаљења и ожиљавања ткива (96).

Интерлеукин 6 (**IL-6**), је цитокин неспецифичног и стеченог имунског одговора (97). Његова улога у неспецифичном имунитету је да регулише синтезу протеина акутне фазе запаљења у хепатоцитима, слично као TNF- α (98). У стеченом имунском одговору делује стимулативно на пролиферацију В лимфоцита, нарочито на плазмоците (99). Настаје у моноклеарним фагоцитима, фибробластима, ендотелним и активираним Т лимфоцитима (100). Искузује аутокринно дејство, чиме се појачава његов ефекат. Ефекат IL-6 се огледа у повећању пермеабилности крвних судова, повећаном стварању тромбоцита, Т и В лимфоцита и повећању синтезе имуноглобулина Ig (од енг. immunoglobulin). Делује синергистички са IL- 1 и TNF- α (97).

Интерлеукин 17 (**IL 17**) секретују Th17 лимфоцити (101). IL-6 уз активност TGF- β може да активира диференцијацију CD4⁺ Т лимфоцита у правцу Th17 субпопулације (64) (102) (103). IL-17 повећава експресију интраћелијског адхезионог молекула 1, ICAM-1 (од енг. Intracellular adhesion molecule 1) у хуманим фибробластима (104). Стимулише синтезу IL-6, IL-8, G-CSF и простагланадина E2 у епителним, ендотелним ћелијама и фибробластима (105). Фибробласти уз присуство IL-17 изазивају пролиферацију CD 34⁺ (хематопоеТСки прогенитор) и њихову диференцијацију у неутрофиле (106). IL-17 има функцију медијатора ангиогенезе и стимулишу миграцију ендотелних ћелија и регулише синтезу различитих фактора ангиогенезе (101).

Трансформишући фактор раста (**TGF- β** од енг. Trasnforming growth factor β) припада групи од 20 различитих димера који имају сличну грађу (107). Ствара се у готово свим ћелијама лимфних органа, а највише га има у тромбоцитима, костима и у плазми (108). Подаци говоре о постојању Th3 субпопулације CD4⁺ Т регулаторних лимфоцита која синтетише и секретује TGF- β (109). Примарно се његово дејство огледа у стимулацији пролиферације фибробласта, али се зна да учествује у великом броју биолошких процеса: ембрионални развој, ожиљавање ткива, запаљењу и имунској регулацији (107). У макрофагама инхибира активност TNF- α и азот оксид синтетазу, смањујући стварање азот-мооксида и супероксидног јона и мења експресију костимулаторних молекула (110). Смањује експресију МНС (од енг. main hystocompatibility complex) молекула I и II класе на В лимфоцитима и

макрофагама (107). Смањујући експресију адхезионих молекула (E селектин) смањује и хемотаксу неутрофила и лимфоцита у ткиво. Инхибира синтезу IgG и IgM, али повећава секрецију IgA (110). Повећавајући активност фибробласта учествује у повећаном стварању екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ) (111). TGF- β своје ефекте на фибробластима остварује преко CTGF, изазивајући њихову пролиферацију и диференцијацију у миофибробласте (111). TGF- β повећава синтезу IL-6, и активност металопротеиназа, обезбеђујући разградњу ткива (112). Повећава активност LOXL 1 ензима и стварање абнормалних протеина, пре свега колагена типа 3 (113).

Интерлеукин 8 (**IL-8**) фактор активације неутрофила (114). Делује на Т лимфоците и мононуклеарне фагоците, повећава фагоцитну активност и миграцију неутрофила и делује ангиогенетски (115). IL-17 повећава секрецију IL-8 у неутрофилима (101).

Епидермални фактор раста (**EGF** од енг. Epidermal growth factor) се ствара у ћелијама различитих органа: мозак, бубрег, пљувачне жлезде и др. (116). По својој структури врло је сличан TNF- α , тако да се везују за исту групу рецептора, па је и њихова улога у процесу инфламације и фиброзе слична (117) (118). Везују се за специфичне EGF рецепторе, чију функцију може да промени PDGF, FGF и др. (118). Биолошка функција EGF није специфична за ту врсту цитокина. EGF је јак митоген за ектодермалне, мезодермалне и ендодермалне ћелије, стимулише пролиферацију фибробласта, глијалних, тиреоидних и других ћелија (116). CTGF повећава секрецију EGF, чиме се регулише процес стварања фиброзног ткива (72). Има снажан утицај на синтезу и секрецију протеина екстрацелуларног матрикса (фибронектин, колаген, ламинин и гликозаминогликана) (116). У процесу ангиогенезе, тромбин појачава његову ангиогенетску активност (119). Са обзиром на његову хемоатрактанску функцију у односу на фибробласте и епителне ћелије, заједно са другим цитокинима је укључен у процес фиброзе (117).

Инсулину сличан фактор раста (**IGF** од енг. Insulin like growth factor) се синтетише у хондробластима, фибробластима и остеокластима (120). Налази се у форми два изомера: IGF-1 и IGF-2. Код здравих особа, IGF изазива хипогликемију и пролазно снижење концентрације слободних масних киселина

у серуму (120). Обе форме су митогени за велики број мезодермалних ћелија. IGF-1 је јачи митоген од IGF-2 (121). IGF-1 стимулише синтезу колагена и матрикса у ћелијама костију. Главни фактор регулације синтезе IGF је хормон раста, који регулише експресију IGF-1 гена и такође контролише експресију неких IGF везујућих протеина (122). У фибробластима синтезу IGF-1 стимулише PDGF и FGF. Поспешује процес ангиогенезе (123)

Тромбоцитни катор раста (**PDGF** од енгл. Platelet derived growth factor) се синтетише у мегакариоцитима и ослобађа се из формираних гранула под дејством тромбина, али и у макрофагама, ендотелним ћелијама, фибробластима, астроцитима и др. (124). Тромбоцити синтетишу мешавину три изоформе: AA, AB, BB (125). Синтезу PDGF регулишу IL-6, TNF- α , TGF- β и EGF (124). PDGF се за разлику од многих цитокина не ослобађа у циркулацију и његов полу живот после интравенског давања је краћи од два минута. PDGF се везује за неколико протеина плазме и екстрацелуларног матрикса, што обезбеђује његову велику концентрацију у ткиву (125). У организму одраслих је уочена његова значајна улога у процесу зарастања рана (126) (127). У појединим васкуларним пролиферативним болестима, као што је атеросклероза, уочена је аберантна експресија PDGF (128). TGF- β у малим концентрацијама повећава секрецију PDGF AA, док веће концентрације TGF- β смањују синтезу и активност PDGF. PDGF AA је у односу на PDGF AB и PDGF BB слаб митоген за глатке мишићне ћелије крвних судова (128). PDGF не делује на епителне и ендотелне ћелије, јер оне не испољавају PDGF рецепторе (124). Показано је да је PDGF BB снажан медијатор у стварању строме везивног ткива, убрзавајући стварање функционалног васкуларног система. У малим концентрацијама PDGF је хемоатрактант за фибробласте, али и делује хемотактично на моноците и неутрофиле и активира циклус арахидонске киселине у овим ћелијама (125).

Интерферном изазван Т ћелијски α хемоатрактант (**ITAC** од енгл. Interferon inducible T cell α chemoattractant) припада групи CXС хемокина (129). Експресију ITAC регулишу различити интерферони (129). Хумани неутрофили синтетишу ITAC као одговор на стимулацију INF- γ у комбинацији са TNF- α или бактеријским липополисахаридима (129), а може да буде блокиран IL-10 или IL-4 (129). Има антиангиогенетску улогу у ткиву (130).

1.9. Офталмолошке манифестације

РЕХ могу да се нађу у готово свим сегментима ока, што углавном може да се уочи клиничким прегледом на биомикроскопу (131).

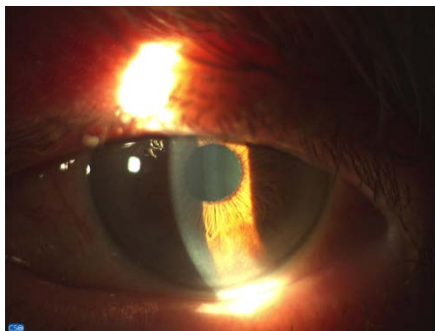
Клинички је врло тешко да се уочи постојање РЕХ на вежњачи, али биопсијом вежњаче и флуоресцеинском ангиографијом може да се уочи њихово присуство и смањење протока крви у крвним судовима лимбуса рожњаче (132). Такође, РЕХ може да се патохистолошки докаже у септуму орбите, екстраокуларним мишићима, вортикозним венама, централним ретиналним крвним судовима (132).

Ендотел рожњаче има активну улогу у стварању псеудоексфолијација уз истовремено смањење броја и промену облика ендотелних ћелија (133). Тако је настао концепт специфичне, за псеудоексфолијације везане, кератопатије (134). Описује се као беличасте пахуље наталожене на ендотел рожњаче, које могу диференцијално дијагностички да подсећају на инфламаторне преципитате (135). Електронском микроскопијом се уочава стварање микрофибрила у ендотелним ћелијама са повећаним бројем интраћелијских органела, што указује на повећану метаболичку активност ћелија (133). Повећана активност ендотелних ћелија доводи до њихове дегенерације. Спекуларном микроскопијом у деловима рожњаче у којима може да се уочи оваква активност, ендотелни слој има неправилан облик са повременим прекидом континуитета, чиме настају огољена места на Десцемтовој мембрани (133). Последична реендотелизација фибробластима огољене Десцеметове мембране узрокује утискивање насталог материјала и ћелијског дебриса у мембрану (133). Такође, спекуларна микроскопија указује на смањење броја ендотелних ћелија ($800-1500$ ћелија/ mm^2) са променом величине и облика ендотелних ћелија (136) (137). Клинички, ова промена може да се уочи на биомикроскопу као дифузни едем рожњаче уз задебљање Десцеметове мембране (136). Гониоскопски, у пределу Швалбеове линије може да се запази додатна пигментна линија, која је названа Сампоалезијева (136). Измењене ендотелне ћелија могу чак и да мигрирају према коморном углу, тако да прекривају трабекулум, што уз хипоксију

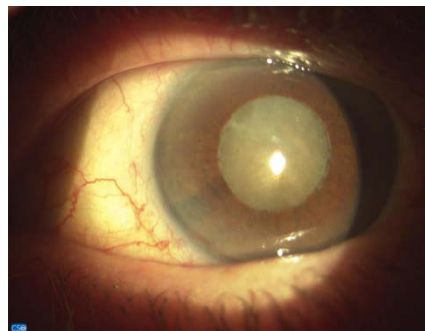
претходно описане промене у предњем сегменту ока, може да буде узрок развоја глаукома (136). Тешко је разликовати преципитате на ендотелу код псеудоексфолијативног синдрома у односу на промене које се срећу код особа са Фуксовом дистрофијом (135), али постоје параметри на основу којих је могуће разликовати ова два прилично слична клиничка ентитета: дифузно задебљање Десцетове мембране код РЕХ у односу на централно задебљање рожњаче код Фуксове дистрофије, уз дисперзију меланина код РЕХ у свим деловима предњег сегмента ока. Измењен ендотел рожњаче код особа са РЕХ теже подноси умерено повећање очног притиска. Међутим, код појединих особа са нормалним вредностима интраокуларног притиска, али са унапредовалим обликом РЕХ синдрома, може да се уочи едем рожњаче услед декомпензације ендотела. Из тих разлога је важно заштити ендотел рожњаче адекватним вискоеластиком приликом интраокуларних операција болесника са РЕХ.

На пупиларној ивици дужице РЕХ може врло рано клинички да се уочи у виду беличастих пахуља (Слика1). Услед трења дужице о предњу површину капсуле сочива, на којој се налазе псеудоексфолијације долази до ослобађања пигмента из пигментног слоја дужице у пределу пупиларне ивице и сфинктера дужице (138).

А



Б



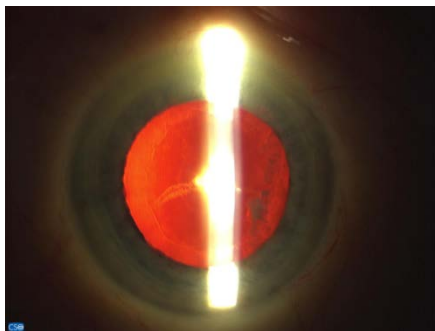
Слика 1. А) Псеудоексфолијације на пупиларном рубу Б) Зрела катаракта и псеудоексфолијације на пупиларном рубу

Прегледом на биомикроскопу се тада уочавају субатрофичне и атрофичне промене на дужици и пупиларној ивици са ефектом транслуминације (Слика 2А). Ослобођени пигмент се распоређује у све делове предњег сегмента ока (138). Пупиларни блок се чешће јавља код особа са РЕХ услед појачаног

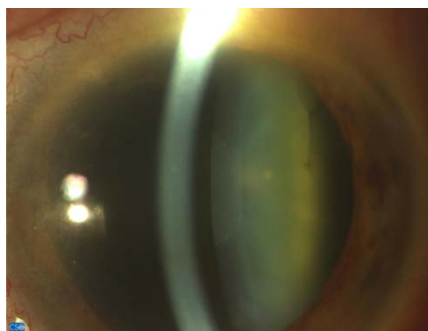
стварања задњих прираслица, повећане дебљине и ригидности дужице или услед кидања цилијарних зонула (24). Хронични ангуларни глауком се, такође, чешће јавља код особа са РЕХ, нарочито код оних пацијанта који су због повишеног ИОП дуго користили миотике (139). Флуоресценинском ангиографијом крвних судова дужице може да се уочи смањен протока крви, што доприноси развоју хипоксичног стања уз повећан ризик за настанак глаукома (56) (140). Измењена морфологија дужице уз смањење протока крви у крвним судовима исте узрокује отежано деловање мидријатика (138). Запажена је и повећана дисперзија пигмента у предњој очној комори, нарочито после ширења зеница уз последично повећање интраокуларног очног притиска (138).

На предњој капсули сочива долази до таложења псеудоексфолијација у виду централног беличастог диска и периферне прстенасте зоне које су одвојене чистом зоном предње капсуле (Слика 2Б), али 10-20% болесника нема поменута промене (138). Величина централног диска се креће од 1,5 до 3mm. Оваква формација на предњој капсули сочива настаје услед трења дужице о предњу површину сочива (141).

А



Б

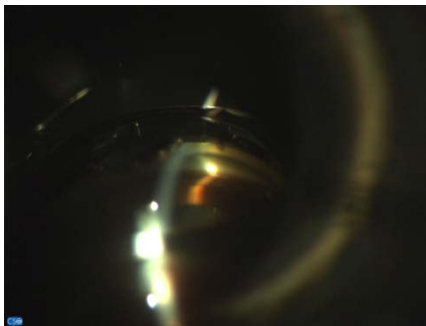


Слика 2. А) Субатрофичан пупиларни руб (транслуминација) Б) централни беличасти диск и периферна прстенаста зона РЕХ које су одвојене чистом зоном предње капсуле (138)

Псеудоексфолијације се таложе и на цилијарним наставцима у раној фази болести (43). Таложење РЕХ на цилијарним наставцима изазива слабљење зонуларног апарата, што може да узрокује њихово одвајање од цилијарног тела са подрхтавањем сочива и дужице (иридофакодонеца) или дислокацијом

(сублуксација/луксација) сочива пут напред или позади. Померање сочива према напред може да изазове настанак пупиларног блока, уз стварање псеудоплато-конфигурације коморног угла и повећање ИОП (43). Померање сочива према задњем сегменту ока може да изазове факолитички глауком или секундарни глауком услед пролапса стакластог тела према предњем сегменту ока, што може да створи пупиларни блок (43). Слабост зонуларног апарата је чест узрок компликација приликом операције катаракте (пролапс стакластог тела, пропадање нуклеуса сочива у стакласто тело и др.) (142) (143).

Псеудоексфолијације и диспергован пигмент могу да се талоче у предео коморног угла, дајући повећану пигментацију (пигментација по Schei III-IV) и настанак додатне пигментне линије близу Швалбеове, која се назива Сампоалезијева линија (Слика 3). Локално стварање PEX у пределу трабекулума, доводи до дегенеративних промена у Шлемовом каналу и јукстаканаликуларном ткиву са повећаним отпором отицању очне водиче (138). Наведене промене уз ендотелизацију коморног угла, представљају погодне услове за развој глаукома.



Слика 3. Гониоскопски налаз на оку са PEX-пигментација коморног угла по Schei III- IV (138)

После операције катаракте, у стакластом телу могу да се уоче псеудоексфолијације на предњој хијалоидној мембрани, што указује да није неопходно постојање сочива за развој PEX (2).

У односу на очни живац, изглед неуроретиналног обода, односа величине неуроретиналног обода и главе очног живца, величине екскавације у нормотензивном оку са PEX и парном оку без PEX не постоје значајне разлике (144). Такође не постоје разлике у том смислу и код особа са PEX глаукомом и особа са глаукомом отвореног угла (144). Патохистолошким испитивањем је

показано присуство PEX на глави очног живца у: решеткастој мембрани, овојницама очног живца, крвним судовима главе очног живца и др. (145).

1.10. Системска манифестација PEX синдрома

Постојања PEX није везано само за окуларне структуре, јер оне могу да се нађу у кожи, плућима, срчаном мишићу, јетри, бубрезима, жучној кеси, можданим овојницама (2) (139) (146). Ранија испитивања су показала повезаност великог броја системских обољења са постојањем псеудоексфолијативног материјала (147) (9). Међу обољењима које се доводе у непосредну повезаност са PEX, највећи број је васкуларних обољења, и то: кардиоваскуларних и цереброваскуларних (9). Смртност није повећана код болесника са PEX (148) (149). Постоји статистички значајна заступљеност PEX код особа са Алцхајмеровом болешћу (150), цереброваскуларном деменцијом (150), са абодминалном анеуризмом аорте (151); код болесника са сензонеуралним оштећењем слуха (152), код болесника са хомоцистеинемијом (153).

Познато је да постоји васкулопатија крвних судова дужице у очима особа са PEX (140), па се на основу њиховог испитивања дошло до различитих података везаних за PEX. Такође је добро познат податак да постоји средње изражена парасимпатичка неуропатија код особа са PEX (154), праћено смањењем капиларне перфузије у кожи (54), асимптоматском миокардијалном дисфункцијом (155), смањеном еластичношћу крвних судова (156) уз повећање ригидности, смањењем барорецепторске сензитивности крвних судова (157). Показано је да ниво хомоцистеина у крви повезан са дужином постојања PEX и смањеном барорецепторском сензитивношћу, као и са повећеном инциденцом кардиоваскуларних обољења (158).

Повезаност низа различитих кардио- и цереброваскуларних обољења са PEX даје посебан аспект за будућа испитивања PEX у смислу утврђивања

тачног механизма њиховог настанка како би се предупредиле системске и офталмолошке компликације.

1.11. Псеудоекфолијативни глауком

Учесталост РЕХ код особа са повишеним интраокуларним притиском се креће у интервалу од 10-80% (159). Особе које имају РЕХ имају 6 до 10 пута већу вероватноћу за настанак глаукома него особе које их немају (7). Код 25% болесника са РЕХ забележена је повећана вредност интраокуларног притиска, са или без глаукоматозних оштећења, у односу на особе које их немају (6). Степен преласка из РЕХ синдрома у РЕХ глауком се креће од 1,5 до 3,4% годишње (40). Поред високе стопе оболевања од РЕХ глаукома, код ових болесника постоји и веће оштећење вида услед генерално смањене прокрвљености ока, нарочито мрежњаче (160).

Вероватноћа развоја окуларне хипертензије код особа са РЕХ је 5,3% у периоду од 5 година и 15,4% у периоду од 10 година (23). Особе са псеудоексфолијацијама имају два пута већу могућност за развој глаукома у односу на особе које их не поседују (161). Код особа са РЕХ, глауком се развија у две трећине болесника у првих пет година, а у 32% болесника у периоду од 10 година (144). Уколико је дошло до појаве глаукома на једном оку са РЕХ, а друго око има РЕХ, постоји 21- 26% већа вероватноћа за развој глаукома на парном оку, у периоду од 5 година (144).

Клиничка слика РЕХ глаукома се разликује од клиничке слике примарног глаукома отвореног угла (РОАГ од енг. primary open angle glaucoma), пре свега по томе што се РЕХ глауком јавља код старијих болесника и по томе што се унапредовале форме болести чешће срећу код припадника мушког пола (24). Такође, промене на глави очног живца су више изражене, па је и видна оштрина знатно смањена код ових болесника. Услед знатног поремећаја хемодинамских односа у крвним судовима мрежњаче често се срећу и тромбозе венских крвних судова и оклузије артерија (162).

Постоји велики број фактора који доприносе развоју PEX глаукома код особа са псеудоексфолијацијама. Хистолошке студије су показале депоновање PEX материјала у адвентицијалном омотачу крвних судова дужице уз дегенерацију глаткомишићног слоја, перицита и базалне мембране са делимичном или потпуном облитерацијом лумена (163). Овакве промене су праћене смањеном перфузијом ткива дужице и микроанастомозама, што може да се уочи индоцијанингрин ангиографијом дужице (56).

Запажено је генерално смањење протока крви у кроз крвне судове ока са PEX променама у односу на особе са POAG (164) (165). Сматра се да је смањење протока крви последица смањења протока крви у крвним судовима ока услед депоновања PEX, али и због повећаног ИОП, који је знатно већи него код особа са POAG (165). Sibour и сарадници (160) су показали смањење крвотока у хороидалној циркулацији код особа са PEX синдромом, а Mistleberger и сарадници (166) су показали да постоји и додатно снижење крвотока код особа са PEX глаукомом у односу на особе са POAG. Vesti и сарадници су показали и смањење прокрвљености предела жуте мрље (161). Ласер Doppler флоуметрија је показала и смањење протока крви у пределу главе очног живца (164). На основу изнетих података, потпуно је јасно да се у основи изразитих глаукомних оштећења главе оптичког живца налази васкуларна инсуфицијенција у свим деловима ока.

Услед повећаног ИОП као и због повећаног нивоа хомоцистеина у крви особа са PEX синдромом, постоји повећана инциденца оклузије централне вене мрежњаче (162).

Пламенаста крварења, знак који се среће као део глаукомних промена на глави очног живца, су чешће код особа са PEX глаукомом у односу на особе са POAG услед измењене еластичности и протока крви у крвним судовима главе оптичког живца (167).

Додатни ефекат у смањењу протока крви у оку са POAG даје ендотелин-1. Различите студије су показале повећану концентрацију овог вазоконстриктора у очима са псеудоексфолијацијама (52).

Настанак PEX глаукома у очима са PEX синдромом је мултифакторијалан. Анатомски односи у очима са PEX (промене на ендотелу рожњаче, промене у коморном углу, промене на крвним судовима дужице, промене на цилијарним наставцима, сублуксирање сочива са повећањем предње-задњег дијаметра) и смањење крвотока у оку се налазе у стању равнотеже, све док ИОП не буде довољно висок, а проток крви у оку довољно смањен да настану функционална оштећења на нервним влакнима ретине и глави очног живца, праћено променом квалитета вида и објективним променама у видном пољу (168).

Клинички се PEX глауком карактерише већом средњом вредношћу ИОП, већим флукуацијама ИОП у току 24 сата (код особа без PEX, дневне варијације ИОП се крећу до 5mmHg, док 58% болесника са PEX има дневне варијације ИОП веће од 5mmHg) и асиметричном манифестацијом (71) (169). Већина болесника са PEX глаукомом има средњу вредност ИОП већу од 35mm Hg (3) (62). Веће вредности ИОП се појављују у јутарњим сатима (62). Повећана средња вредност ИОП као и веће дневне варијације ИОП су додатни фактори ризика за развој теже форме глаукома (62). Унилатерално испољавање болести се среће у односу 3:1, уз повећан ризик настанка глаукома на парном оку (170). Диференцијално дијагностички је од велике помоћи у разликовању РОАГ и PEX глаукома значајно додатно повећање ИОП и нагомилавање пигмента у предео коморног угла, након укапавања мидријатика у око код особа са PEX (171).

Величина главе очног живца може да буде мања код особа са PEX у односу на особе са РОАГ тако да могу да се превиде почетне глаукоматозне промене и ненамерно одложи почетак примене антиглаукоматозне терапије (167).

1.12. Лечење PEX глаукома

1.12.1. Медикаментно лечење

Са обзиром на познате чињенице у вези патогенезе и карактеристика PEX глаукома, медикаментни третман овог облика глаукома не даје довољно добре резултате (1) (131). На основу многобројнијих студија се уочило да снижење ИОП које се постиже применом медикаментне терапије није мање код особа са PEX у односу на особе са POAG, али је код особа са PEX глаукомом теже да се одреди циљни ИОП (7) (165). Констас и сарадници (169) су показали да постоји директна веза између снижења ИОП и прогресије болести. Снижење ИОП испод 17mmHg дају прогресију глаукомне болести за 28%, у односу на групу код које је постигнут притисак од 20 mmHg, где је прогресија болести била 70% (161).

Политерапија у лечењу PEX глаукома је скоро увек императив (161). Упркос великом броју антиглаукоматозних лекова, хируршко лечење PEX глаукома је прилично често. За лечење PEX глаукома се користе готово сви познати антиглаукомни лекови. Почетна употреба тимолола (β блокатор) резервисана је само за почетне форме болести, али је недовољна код болесника који имају тежак облик болести (високе вредности ИОП, велике дневне флукуације ИОП, изражена оштећења на глави очног живца и у видном пољу) (172). Зато се користи велики број нових лекова.

Инхибитори угљене анхидразе ординарани системски могу услед поремећаја у одводним путевима очне водице да доведу до појачаног нагомилавања PEX у предео коморног угла и до повећања ИОП (173). Али, локално ординирани у комбинацији са тимололом могу да смање ИОП за 30-35% (173).

Употреба аналога простагландина у лечењу PEX глаукома је у експанзији и добро је оправдана великим бројем студија (174) (175) (176). Аналози простагландина дају бољу диурналну контролу ИОП и мање дневне флукуације (174). Иако снижење ИОП није велико, сматра се да боља контрола

вредности ИОП има дугорочне ефекте (174). Алмова студија је показала да латанопрост даје довољно велико снижење ИОП уз најниже вредности у преподневним сатима (174). Травопрост у односу на латанопрост даје ниже вредности ИОП, али у поподневним сатима, и има бољу контролу дневних варијација ИОП, са нижом средњом вредношћу (177). Овакво дејство се приписује чвршћем везивању травопроста за простагландин F2 α рецепторе. Комбинација бета блокатора и аналога простагландина даје добре резултате у лечењу РЕХ глаукома, за дужи временски период, јер изазива смањење ИОП до 35% уз бољу контролу дневних флукуација ИОП (176). Употреба аналога простагландина у лечењу РЕХ глаукома је део многобројних студија, јер је показано да је у очној водици особа са РЕХ глаукомом које су лечене аналозима простагландина, мањи ниво TGF- β 1, MMP-2 и TIMP-2 (176). Постоји претпоставка да ови лекови смањују депоновање абнормалног екстрацелуларног матрикса у различите делове ока.

Данас је у употреби велики број фиксних комбинација антиглаукоматозних лекова. Значајна је њихова улога у раној фази лечења РЕХ глаукома, са обзиром на почетне високе вредности ИОП и на одмакле промене на глави очног живца. Употреба ових лекова има предност у односу на друге лекове због боље комплијансе и мање нежељених ефеката (178).

Нарочито је контраверзна употреба миотика у лечењу ове форме глаукома због тога што узрокује појачано стварање задњих прираслица (услед појачане ексудације у предњу очну комору) и нуклеране форме катаракте, чиме се додатно отежава стање у оку (179). Постоје студије које су показале да једнократно ординирање 2% пилокарпина у вечерњим сатима даје мање покретну дужицу и зеницу ширине од око 3 mm, што смањује ослобађање РЕХ и даље повећање ИОП (179).

1.12.2. Ласерско лечење

Ласерска терапија се користи за лечење РЕХ глаукома онда када медикаментна терапија не даје добре резултате, а пре филтрирајућих операција (180). Постоје две врсте ласерских интервенција за лечење РЕХ глаукома: аргон ласер трабекулопластика и селективна ласер трабекулопластика.

Аргон ласер трабекулопластика, (ALTP од енг. Argon Laser Trabeculoplasty) је индикована онда када медикаментна терапија не даје добру контролу ИОП, када постоји контраиндикације за њено коришћење или код старих болесника са ниском комплијансом (181). Овај метод може да буде и прва линија лечења онда када су иницијалне вредности ИОП јако високе и када постоје узнапредовале промене на глави очног живца и видном пољу. ALTP изазива снижење ИОП смањењем отпора протицању очне водике, повећавајући отворе у трабекулуму коморног угла (181). Ефекат ласерских печата зависи од степена пигментације коморног угла. Са обзиром на то да код болесника са РЕХ глаукомом постоји виши степен пигментације коморног угла, ефекат ласерске терапије код њих је већи него код болесника са РОАГ (182). Постоји неколико студија које показују да иницијални ALTP има исти ефекат у снижењу ИОП као и иницијална медикаментна терапија (183). Снижење ИОП код РЕХ глаукома употребом ALTP може да буде и до 30%, и да се одржава на тим вредностима до 24 месеца (184). Ефекти ALTP трају краће код РЕХ глаукома у односу на РОАГ због континуираног нагомилавања РЕХ материјала у коморном углу (184). ALTP може да се понови, али су ефекти поновљеног ALTP лошији.

Селективна ласер трабекулопластика (SLTP од енг. selective lasertrabeculoplasty) се изводи Nd:Yag ласером, који делује на меланинске грануле трабекулума коморног угла (185). Коришћење мање снаге ласера, дуже експозиције и већег дијаметра печата даје мања термална оштећења трабекулума, тако да процес SLTP може да се понови (185). Према до сада доступним подацима из студија, SLTP снижава ИОП код РЕХ глаукома за 30% (слично као код РОАГ), а бољи ефекти се постижу уколико је почетна вредност ИОП виша (186).

1.12.3. Хируршко лечење

Филтрирајуће операције су последња линија у лечењу РЕХ глаукома. Доношење одлуке о даљем лечењу филтрирајућом операцијом је индивидуална и базира се на основу односа корист/ризик од операције (187). Најчешће коришћена операција је трабекулектомија (188). Показано је да болесници са РЕХ глаукомом после операције имају нижу средњу вредност ИОП са споријом прогресијом болести у односу на болеснике са РОАГ (188). Бољи ефекат операције се постиже уколико се користе антимераболити (5-флуороурацил, митомицин Ц), због смањеног запаљења и ожиљавања ткива ока са РЕХ (189). Велики број компликација прати ову хируршку процедуру. Са обзиром на природу РЕХ материјала могућа је појава стакластог тела у отвору на трабекулуму услед руптуре цилијарних зонула, *ex vacuo* ефекат на крвним судовима дужице уз појаву хифеме после операције, убрзан развој катаракте, поремећај хемато-окуларне баријере уз фибринску ексудацију и стварања прираслица, хипотонија и др. (189).

2. Циљеви и хипотезе рада

Генерални циљ ове студије је да се утврди имунопатологија псеудоексфолијативног синдрома/глаукома.

У складу са овим општим циљем поставили смо и следеће специфичне циљеве:

1. Испитати утицај фактора оксидативног стреса у оку на развој патофизиолошког процеса у псеудоексфолијативном синдрому/глаукому.
2. Утврдити улогу проинфламаторних цитокина у развоју псеудоексфолијативног синдрома/глаукома.
3. Испитати улогу регулаторних медијатора у спречавању настанка ангиогенезе код псеудоексфолијативног синдрома/глаукома.

2.1.Хипотезе

1. Проинфламаторни цитокини и хипоксија индукују процес стварања псеудоексфолијација код оболелих од псеудоексфолијативног синдрома/глаукома.
2. Регулаторни медијатори спречавају настанак ангиогенезе код псеудоексфолијативног синдрома/глаукома.

3. Материјал и методе рада

3.1. Испитивани болесници

Студија је обухватила 120 испитаника подељених у четири групе. У свакој групи се налазило по 30 болесника са дијагнозом старачке скраме, који су хоспитализовани на Клиници за офталмологију Клиничког центара Крагујевац. Испитивање је вршено у периоду од 01. 03. 2011. до 31.12.2011.године.

Основни критеријум укључења болесника у студију било је постојање старачке скраме и псеудоексфолијација. После детаљно урађеног клиничког прегледа болесници су подвргнути хируршкој интервенцији операције замућеног сочива методом факоемулзификације. Код појединих болесника са јако израженим псеудоексфолијацијама није било могуће, због лоше мидријазе и ригидне дужице, да се уради факоемулзификација, па је код таквих болесника сочиво извађено методом екстракапсуларне екстракције катаракте.

Клинички преглед је обухватао: одређивање оштрине вида, мерење интраокуларног притиска, гониоскопију, преглед биомикроскопом при артефицијалној мидријазе, мерење ширине зеничног отвора пре и за време операције, преглед очног дна индиректном методом (лупом јачине 90 диоптрија). Сви болесници су били упознати са сврхом и начином испитивања. Попуњавали су анкетни лист везан за основне демографске карактеристике уз потписивање својевољног пристанка на предложене процедуре.

Испитаници су подељени у четири групе на основу присуства псеудоексфолијација. Присуство псеудоексфолијација у оку је градуисано на основу клиничког прегледа болесника биомикроскопом у мидријазе на три клиничка ентитета (групе): рана фаза РЕХ синдрома, касна фаза РЕХ синдрома, РЕХ глауком. Прву групу са раном манифестацијом РЕХ (30 болесника) чине

болесници који поред сенилне катаракте имају дифузне преципитате на предњој капсули сочива, псеудоексфолијације на пупиларном рубу уз ослобађање пигмента после артефицијалне мидријазе, почетно нагомилавање РЕХ у коморном углу, почетна атрофија пупиларног угла, умерено ослабљена мидријаза у односу на друго око без РЕХ. Другој групи припадају болесници који имају сенилну катаракту и класично развијену слику прстена на предњој капсули сочива, тоталну атрофију пупиларног руба, затрпавање коморног угла РЕХ и јако отежаном мидријазом. Трећу групу чине болесници који имају развијену клиничку слику РЕХ глаукома: ИОП већи од 22mmHg, променама у видном пољу, као и променама на глави очног живца. Док четврту, контролну групу чине болесници који имају сенилну катаракту, без присуства РЕХ-а.

Из испитивања су били искључени болесници млађи од 45 година или су имали придружену: кратковидост, претходно запаљење судовњаче, шећерну болест, повреду ока или јатрогену катаракту (кортикостероиди и др).

3.2. Узимање узорака очне водиче и серума за испитивање

Узорак очне водиче је узиман на почетку хируршке интервенције, уз дозволу Етичког комитета, КЦ Крагујевац у Крагујевцу, и пристанак болесника. Парацентезом је направљен отвор на рожњачи и иглом је у инсулинску бризгалицу аспирирано, око 0,2 ml очне водиче. Непосредно после узимања, узорци очне водиче су замрзнути на -20°C , а потом до испитивања су чувани на -80°C .

Узорак серума болесника је узиман на пријему уз дозволу Етичког комитета и пристанак болесника. Узимано је 5ml крви по протоколима добре лекарске праксе. Узорци крви су центрифугирани 10 минута на 3000 rpm и чувани на -20°C до даљег испитивања.

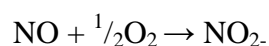
3.3. Биохемијске и имунолошке анализе

Биохемијске анализе очне водице и серума испитаника су урађене на Институту за физиологију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Одређивање нивоа цитокина у очној водици и серуму болесника је обављено на Институту за имунологију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

3.3.1. Биохемијске анализе

3.3.1.1. Одређивање концентрације азот-монооксида у очној водици и серуму болесника

Одређивање концентрације нитрита у очној водици и серуму урађена је специфичном екстракцијом по следећем протоколу: у епрувете смо пипетирали 0,1 ml 3M PCA (од енгл. Perchloric acid), 0,4 ml 20 mM EDTA (од енгл. Ethylenediaminetetraacetic acid) и 0,2 ml плазме. Тако добијене узорке смо инкубирали у леденом купатилу (-4°C) 10 минута. Након инкубације, узорке смо центрифугирали 4 минута на 15000 rpm; супернатант одлили, а преципитат ресуспендовали у 2 M K₂CO₃ до pH 7,4. У тако добијеним узорцима екстракта плазме одређивали смо концентрацију ослобођених нитрита спектрофотометријском реакцијом уз употребу Griess-овог реагенса (190). С обзиром да се у реакцији са молекуларним кисеоником:



ствара еквимоларна количина нитрита, можемо са веома великом сигурношћу тврдити да количина ослобођених нитрита представља количину ослобођеног NO.

Биохемијски се ова метода заснива на употреби Griess-реагенса, који са нитритима гради диазо-комплекс, који даје љубичасту боју. Griess-ов реагенс се припрема *ex tempore*, непосредно пре аналитичког одређивања, мешањем једнаких запремина (v/v) 1 % сулфанилне киселине, растворене у 5 % орто-фосфорној киселини (може се чувати на собној температури) и 0,1 % воденог раствора: N- (1-нафтил)- етилендиамин дихидрохлорида (NEDA), који се чува у тамној бочици на 4°C, због своје високе фотохемијске реактивности. У епрувете (12 x 100) пипетирати 0,1 ml екстракта плазме, 250 µl свеже направљеног Griess-ов реагенса и 125 µl амонијачног пуфера (pH=9,0), кога сачињавају амонијум хлорид (NH₄Cl) и натријум тетраборат (Na₂B₄O₇). Амонијачни пуфер, који се у току припеме мора загревати, због изузетно слабе растворљивост натријум тетрабората, има за сврху стабилизацију диазо-комплекса. Као слепа проба екстракта плазме коришћена је дестилована вода. Концентрација ослобођених нитрита у узорцима одређивана је на основу калибрационе криве. Калибрациона крива је конструисана на основу екстинкција узорака, који су у себи садржали познату концентрацију нитрита, након њихове реакције са Griess-овим реагенсом у присуству пуфера. Добијена је пипетирањем различитих количина воденог раствора 1 mM NaNO₂ у 1 ml дестиловане воде и то: 3, 6, 12, 24 µl, чиме је добијена концентрација нитрита од: 2,18; 4,37; 8,73 и 17,34 nmol NO₂-/ml. Након стабилизације боје на собној температури 5-10 минута приступа се детерминисању концентрације ослобођених нитрита спектрофотометријски на таласној дужини од λ=550 nm. Концентрација, а затим количина ослобођених нитрита добијена је на основу:

1. Одређивања стандардног фактора (ф), који се добијао из следеће једначине: Екстинкција стандарда-екстинкција слепе пробе

Концентрација NaNO₂ у стандарду

за сваки појединачни стандард (F1-F4), а затим добијањем њихове аритметичке средине.

2. Дељењем разлике екстинкција узорка и слепе пробе са стандардом ф:

$$\text{nmol NO}_2/\text{ml екстракта} = \Delta E (E_u - E_s)/F.$$

3.3.1.2. Одређивање концентрације аскорбинске киселине у очној водици и серуму болесника

Концентрација аскорбинске киселине у очној водици и серуму испитаника смо одређивали методом по Рутковском (191). Потребно је 1ml узорка (узорци очне воде разблажени 10 пута-1:10), који смо стављали у епрувете за центрифугирање, додајући 1ml фосфотунгстатног реагенса- PR (од енгл. Phosphotungstate reagent). Након мућкања смо га оставили на собној температури 30мин. Центрифугирали смо узорке (7000 обртаја/min, 10 min). Издвојени супернатант смо извадили из епрувете пипетом и он је послужио као тест за спектрофотометријска мерења. Припремили смо стандардни узорак, користећи 1ml стандардног раствора. Мерили смо апсорпцију узорка A_x и апсорпцију стандарда A_s на 700nm у односу на мешавину PR:50mM раствора оксалне киселине, што је референтна вредност. Концентрација витамина Ц се рачуна из формуле:

$$c_x = A_x / A_s * c_s$$

C_x - концентрација витамина Ц у узорку

C_s – концентрација витамина Ц у стандардном раствору.

Реагенси: Фосфотунгстат реагенс- се припрема непосредно пре употребе користећи суспензију 150g молибден тунгстат базе и 60g анхидрираног фосфатног хидрогена, који смо растварали у 240ml дејонизоване воде загревањем и додавали уз лагано мешање 145ml 3,7M сулфуричне киселине. Раствор смо загревали два сата са рефлуксним кондензером, без кључања. Након хлађења вршили смо подешавање рН на 1 додавањем кап по кап сулфуричне киселине.

3.3.2. Одређивање нивоа *TNF- α* , *IL-6*, *IL-17*, *TGF- β* , *PDGF*, *EGF*, *IGF*, *IL-8* и *ITAC*, индиректном *ELISA* техником у очној водици и серуму болесника

Очна водица и серум болесника су узимани уз пристанак болесника и на претходно описан начин. Сви узорци чувани су на температури од -20°C , а након тога одложени у замрзивач на -80°C до анализе. Мерени су серумски и хуморални нивои девет цитокина: *TNF- α* , *IL-6*, *IL-17*, *TGF- β* , *PDGF*, *EGF*, *IGF*, *IL-8* и *ITAC* коришћењем ензимоимунотест кита (*ELISA* од енг. Enzyme - linked immunosorbent assay; R&D Systems Minneapolis, MN) специфичног за хумане цитокине, уз сагласност са написаним протоколом. Стандард као и сви узорци су урађени у трипликату.

Стандарди за мерене цитокине су растворени у *PBS*-у (pH 7,2), тако да почетне концентрације за све цитокине буду 2000 pg/ml , осим за *IL-17*, која износи 1000 pg/ml . Затим је направљена серија седам двоструких разблажења почетних концентрација стандарда у реагенсу за разблаживање (енг - Reagent Diluent) (0,1% *BSA*, 0,05% *Tween-20* у *Tris buffered Saline*, pH =7,2), да би се формирала стандардна крива.

Количина од 100 μl радне концентрације антитела за облагање (*Capture Antibody*) растворено у *PBS* сипано је у све бунаре микротитар плоча и остављено да се инкубира преко ноћи на собној температури, након чега су сви бунари 3 пута испирани у пуферу за испирање (0,05% *Tween-20* у *PBS*, pH =7,2). На крају последњег испирања пуфер за испирање је комплетно аспириран из свих бунара. После испирања у све бунаре је сипано по 300 μl блокирајући пуфер (1% *BSA* у *PBS*, pH =7,2), након чега је микротитар плоча остављена да се инкубира на собној температури минимално 1 сат. По завршеној инкубацији сви бунари су 3 пута испрани у пуферу за испирање. На крају последњег испирања пуфер је комплетно аспириран из свих бунара. На овај начин су бунари припремљени за сипање узорака. Испитивани серуми нису разблаживани, док су узорци очне водике разблажени 10 пута (1:10). Одговарајућа разблажења стандарда (100 μl), испитиваних узорака- посебно серума и разблажене очне водике (100 μl) и дестиловане воде (100 μl) за контролу су сипана у опране бунаре обележене са *Capture Antibody*, затим су прекривена адхезивном траком

и остављена да се инкубирају 2 сата на собној температури. Након завршене инкубације сви бунари су 3 пута испирани у пуферу за испирање. После испирања у сваки бунар је додато по 100 μl детекционог антитела (енг. - Detection Antibody) раствореног у реагенсу за разблаживање, затим је микротитар плоча прекривена новом адхезивном траком и остављена да се инкубира 2 сата на собној температури. На крају инкубације је 3 пута поновљено испирање у пуферу. Потом је у све бунаре сипано по 100 μl Streptavidin-HRP (Streptavidin horseradish-peroxidase) и остављено да се инкубира (без директног излагања сунчевој светлости) на собној температури 20 минута. По завршеној инкубацији 3 пута је поновљено испирање у пуферу, после чега је урађено додавање 100 μl Substrate Solution (Color reagent A и Color reagent B у односу 1:1) и остављено да се инкубира (без директног излагања сунчевој светлости) на собној температури 20 минута. На крају поступка у сваки бунар је сипано 50 μl Stop Solution (2N H₂SO₄).

За читавање резултата коришћен је ELISA читач (Zenyth, Anthos,UK). Непосредно пре мерења оптичке густине у сваком бунару микротитар плоче су остављене на „шејкеру“ неколико минута. Оптичка густина је очитана на 450nm таласне дужине. Прво су очитани стандарди и према њима је помоћу компјутерског програма направљена стандардна крива. Након тога су очитани трипликати узорак и контрола. Одузимањем средње вредности узорака од средње вредности контрола добијена је вредност за сваки појединачан узорак.

3.4. Статистичка обрада података

Резултати истраживања су систематизовани и обрађени у софтверском програму SPSS ver 19.0. Пре статистичке обраде података, прво су урађене правилности расподеле добијених вредности (величина узорка одређује који ћемо тест користити за ту проверу). Ако је број узорака био мањи од 50 за проверу је коришћен Shapiro-Wilk тест, а ако је већи од 50 коришћен је Kolmogorov-Smirnov тест. Уколико су вредности имале нормалну расподелу користили смо параметарски Student's-ов t тест, док у случају вредности које

нису имале нормалну расподелу користили смо непараметарски Mann-Whitney-ев тест. Резултати експеримента су изражени као средња вредност \pm стандардна грешка (SE од енг. standard error). Представљени су табеларно и графиконима, а значајност је тестирана ANOVA тест, уз претопставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,9 (бета грешка 0,1), са односом испитаника 1:1, и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. Behavior Research Methods 2007; 39: 175-91.).

Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износи $p < 0,05$; док је статистички високо значајна разлика када је $p < 0,001$.

Такође су урађени и односи нивоа појединих цитокина и групе цитокина код испитаника у различитим фазама PEX синдрома, PEX глаукома и контролне групе Spearman-овим- и Pearson-овим тестом корелације.

4. Резултати рада

4.1. Старост пацијената

У испитивање су били укључени пацијенти старији од 45. године, јер се псеудоексфолијације ретко срећу пре 50. године живота. Све пацијенте смо поделили у три старосне групе. Прву групу чине испитаници од 45. до 60. године; другу групу од 60. до 75. године; трећу групу од 75. до 90. године старости. Просечна старост пацијената је износила $72,23 \pm 7,47$ године. Најмлађи болесник је имао 48 година, а најстарији 90 година.

У групи испитаника у старосном интервалу од 45–60 година је било њих 21 (17,5%), од чега 3 (2,5%) пацијента са раном фазом РЕХ синдрома. Највећи број болесника је био у старосном интервалу од 60–75 година њих 50 (41,67%), док је у старосном интервалу од 75–90 година било 49 (40,83%) пацијената, од којих је највише било оних са узнатредовалим обликом РЕХ манифестација: касна фаза РЕХ синдрома њих 17 (14,17%) и РЕХ глауком њих 18 (15%).

У групи испитаника са раном фазом РЕХ синдрома највећи број (18 болесника; 15%) је био у старосном интервалу од 60–75. године живота, док је 3 (2,5%) болесника било у првом старосном интервалу, а остатак (9 болесника; 7,5%) у трећем старосном интервалу.

Пацијенти са касном фазом РЕХ синдрома у највећем броју (18 болесника; 15%) су били у трећем, док су остали били у другом старосном интервалу (12 болесника; 10%).

Највећи број болесника (20 болесника; 16,67%) са РЕХ глаукомом је био у трећем старосном интервалу, док их је у другом било 10 (8,33%).

Највише пацијената из контролне групе са катарактом (18 болесника, 15%), док их је у другом било 7 (5,83%), а у трећем 5 (4,17%).

У групи болесника са раном фазом РЕХ синдрома средња вредност старости болесника је износила $73,42 \pm 6,56$ година, док је у групи болесника са касном фазом РЕХ синдрома она износила $74,34 \pm 4,31$ година. Средња вредност старости болесника са РЕХ глаукомом је износила $77,26 \pm 3,92$ година, а контролној групи $63,48 \pm 4,25$ година. Наши резултати указују да старост болесника представља фактор ризика за развој РЕХ синдрома/глаукома. Утврђена је статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у погледу старости болесника са РЕХ синдромом/глаукомом у односу на старост болесника контролне групе. Ипак, није уочена статистички значајна разлика ($p > 0,05$) у погледу старости пацијената између група са РЕХ синдромом/глаукомом, као ни између две групе у оквиру РЕХ синдрома (рана и касна фаза). Сви резултати старосне дистрибуције болесника су представљени у Табели 2.

Старост	РЕХ синдром-рана фаза (%)	РЕХ синдром-касна фаза (%)	РЕХ глауком (%)	Контролна група (%)	Средња вредност \pm SE	P (* $p < 0,05$)
45-60.	2 (1,67)	0 (0)	0 (0)	16 (13,33)	54,23 \pm 3,2	p=0,023 *
60-75.	15 (12,5)	12 (10)	9 (7,5)	14 (11,67)	70,57 \pm 5,21	p=0,078
75-90.	13 (10,83)	18 (15)	21 (17,5)	0 (0)	83,45 \pm 4,34	p=0,038 *
средња вредност \pm SE	73,42 \pm 6,56	74,34 \pm 4,31	77,26 \pm 3,92	63,48 \pm 4,25	72,23 \pm 7,47	p=0,029*

Табела 2. Старосна дистрибуција болесника. Болесници са РЕХ синдромом/глауком имају појединачну већу средњу вредност старости болесника у односу на контролну групу. Просечна старост пацијената је износила $72,23 \pm 7,47$ године. Најстарији су болесници са РЕХ глаукомом.

4.2. Пол болесника

У Табели 3. је приказана подела болесника у односу на полну заступљеност. У првој групи (рана фаза РЕХ синдрома), од укупно 30 испитаника њих 24 (20%) је било женског пола, тако да је однос женског и мушког пола био 4:1. У другој групи (касна фаза РЕХ синдрома) број пацијената женског пола је био 22 (18,33%), а однос према пацијентима мушког пола је износио 2,75:1. У трећој групи испитаника са развијеним РЕХ глаукомом број пацијенткиња је износио 21 (17,5%), па је однос према пацијентима био 2,33:1. У контролној групи је било 18 (15%) пацијенткиња, уз однос 1,5:1. Наши резултати показују да постоји статистички високо значајна разлика ($p < 0,001$) у погледу заступљености женског (74,4%) у односу на мушки пол (25,6%) у групи испитаника са РЕХ (синдромом/глаукомом) у односу на контролну групу (женски пол- 18 болесника; 15%, мушки пол- 12 болесника; 10%). Такође, наши резултати указују на статистички значајну доминацију ($p < 0,05$) женског пола у све три групе болесника са РЕХ синдромом/глаукомом. На основу добијених резултата, видимо да је однос болесника женског и мушког пола у групи болесника са РЕХ синдромом/глаукомом 3:1, а у контролној групи тај однос је 1,5:1.

Пол	РЕХ синдром-рана фаза (%)	РЕХ синдром-касна фаза (%)	РЕХ глауком (%)	Контролна група (%)	Укупно (%)
женски	24 (20)*	22 (18,33)*	21 (17,5)*	18 (15)	85 (70,83)
мушки	6 (5)	8 (6,67)	9 (7,5)	12 (10)	35 (29,17)

Табела 3. Међи испитаницима са РЕХ синдромом/глауком постоји доминација женског пола у односу на контролну групу.

4.3. Монолатерална или билатерална испољеност

Клиничка испољеност псеудоексфолијација може да буде унилатерална и билатерална. У првој групи пацијената са раном фазом РЕХ синдрома уочено је да њих 25 (27,8%) има унилатералну манифестацију, док је у групи пацијената са касном фазом РЕХ синдрома унилатерална заступљеност уочена код њих 15 (16,7%). У групи испитаника са РЕХ глаукомом, билатерална заступљеност псеудоексфолијација је уочена код 22 болесника (18,33%), од чега је код њих 18 (15%) забележен повишен ИОП на оба ока, а код преосталих је уочен монолатерални РЕХ глауком. Од преосталих 8 болесника (6,67%) треће групе, који су имали унилатерални РЕХ глауком, примарни глауком отвореног угла (РОАГ) је уочен код њих 5 (4,17%) на другом оку. Наши резултати указују на статистички значајну разлику ($p < 0,05$) у погледу унилатералне манифестације псеудоексфолијација између групе пацијената са раном фазом РЕХ синдрома и групе са касном фазом РЕХ синдрома. Добијени резултат указује на непосредну повезаност степена испољавања РЕХ и развоја болести на парном оку. Овакав налаз потврђује и број билатералне заступљености псеудоексфолијативних промена на оку код болесника са РЕХ глаукомом, Табела 4.

Заступљеност	РЕХ синдром-рана фаза (%)	РЕХ синдром-касна фаза (%)	РЕХ глауком (%)
монокуларна	25 (20,83)*	15 (12,5)	8 (6,67)
бинокуларна	5 (4,17)	15 (12,5)	22 (18,33)*

Табела 4. Монолатерална или билатерална заступљеност. Монолатерална испољеност РЕХ је чеића код болесника са раном фазом РЕХ синдрома, док билатерална манифестација РЕХ је чеића код болесника са РЕХ глаукомом.

4.5. Придružена системска обољења

Приликом пријема болесника на Клинику за офталмологију Клиничког центара Крагујевац, сваки болесник је имао као део преоперативне припреме интернистички преглед. Системске манифестације псеудоексфолијација код испитаника смо сврстали у следеће групе: повишен крвни притисак (ХТА), исхемијска болест срца (ИБС), анеуризма аорте, цереброваскуларни инсулти и сензонеурални губитак слуха, Табела 5.

У првој групи испитаника 12 (10%) је имало хипертензију, 7 (5,83%) ИБС, 2 анеуризму аорте (1,67%), 5 цереброваскуларну болест (4,17%) , док је оштећење слуха регистровано код њих 17 (14,67%).

У групи испитаника са касном фазом РЕХ синдрома било је 14 болесника (11,7%) са ХТА, код 8 (6,7%) је забележена ИБС, док је анеуризма аорте уочена код 2 пацијента (1,67%). Цереброваскуларна болест је забележена код 7 (5,83%), а оштећење слуха код 19 болесника (15,83%).

У групи испитаника са РЕХ глаукомом 15 болесника (12,5%) је имало ХТА, 9 (7,5%) ИБС, 5 (4,17%) анеуризму, 8 (6,67%) цереброваскуларну болест, а оштећење слуха њих 23 (19,17%).

У контролној групи је било 12 болесника (10%) са ХТА, 3 (2,5%) са исхемијском болешћу срца, док ниједан испитаник није имао анеуризму аорте. Цереброваскуларни инсулт је забележен код 2 (1,67%), а оштећен слух код 5 пацијената (4,17%).

Наши резултати указују да не постоји статистички значајна разлика ($p > 0,05$) заступљености ХТА у испитаним групама, док је уочена статистички значајна разлика ($p < 0,05$) заступљености исхемијске болести срца између болесника са РЕХ синдромом/глаукомом и контролне групе. Постоји високо статистички значајна разлика ($p < 0,001$) заступљености анеуризме аорте код болесника са РЕХ глаукомом у односу на контролну групу, као и статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у односу на болеснике са раном и касном фазом РЕХ синдрома. Истовремено, ова разлика није регистрована ($p > 0,05$) међу болесницима са раном и касном фазом РЕХ синдрома. У

свим испитиваним групама је било болесника са цереброваскуларним обољењима, али је регистрована статистички значајна разлика ($p < 0,05$) само у броју оболелих са касном фазом PEX синдрома и PEX глаукомом у односу на контролну групу. Наше испитивање је показало да постоји статистички високо значајна разлика ($p < 0,001$) у броју пацијената са губитком слуха између болесника са PEX синдромом/глаукомом и контролне групе, док она није уочена ($p > 0,05$) између болесника са раном и касном фазом PEX синдрома и PEX глаукомом.

Системска манифестација	РЕХ синдром-рана фаза (%)	РЕХ синдром-касна фаза (%)	РЕХ глауком (%)	Контролна група (%)
ХТА	12 (10)	14 (11,67)	15 (12,5)	12 (10)
Исхемијска болест срца	7 (5,83)	8 (6,67)	9 (7,5)	3 (2,5)
Анеуризма	2 (1,67)	2 (1,67)	5 (4,17)	0 (0)
Цереброваскуларна обољења	5 (4,17)	7 (5,83)	8 (6,67)	2 (1,67)
Губитак слуха	17 (14,67)	19 (15,83)	23 (19,17)	5 (4,17)

Табела 5. Системска манифестација PEX. Цереброваскуларне и кардиоваскуларне болести, као и оштећење слуха је чешиће код болесника са PEX синдромом/глаукомом.

4.6. Тип катаракте

У групи испитаника са раном фазом PEX синдрома било је 15 болесника (12,5%) са нуклераним обликом скраме, 9 болесника (7,5%) са задњом субкапсуларном скрамом док је код 6 испитаника (5%) нађена кортикална скрама. У групи болесника са касном фазом PEX синдрома највећи број је имао нуклеарни облик скраме 19 болесника (15,83%), док их је 7 (5,83%) имало задњу субкапсуларну, а 4 (3,33%) кортикалну скраму. Код 21 пацијента (17,5%) са PEX глаукомом је нађен нуклеарни облик скраме, док је њих 6 (5%) имало задњу субкапсуларну, а 3 (2,5%) кортикалну скраму. Контролна група има приближно једнак број болесника према типу скраме, 12 пацијената (10%) нуклеарни облик, 9 задњу субкапсуларну (7,5%) и 9 кортикалну

(7,5%) скраму. Наши резултати указују да највећи број болесника (55 од укупно 67) који има нуклеарни облик старачке скраме има као пропратни налаз РЕХ. Постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у броју болесника са нукларном скрамом у РЕХ синдрому/глаукому у односу на број болесника са нуклераном скрамом из контролне групе. Такође, постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$; $p < 0,001$) у броју болесника са РЕХ глаукомом и нуклераним обликом скраме и броја болесника са истим обликом скраме из групе са раном фазом РЕХ синдрома и из контролне групе. Установљена је статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у броју болесника са нуклераним обликом скраме у све три испитиване групе у односу на број болесника са другим облицима скраме. Истовремено, није уочена значајна ($p > 0,05$) разлика у погледу типа скраме у контролној групи.

Зрелу каратакту је имао 21 испитаник (17,5%): 5 болесника са раном фазом РЕХ синдрома (4,17%), 6 болесника са касном фазом РЕХ синдрома (5%), 8 болесника са РЕХ глауком (6,67%), док 2 пацијента (1,67%) нису имала РЕХ. Међу испитаницима коју су имали РЕХ синдром/глауком, постојало је статистички значајно ($p < 0,05$) већи број испитаника са зрелом скрамом и развијеним РЕХ глаукомом у односу на групу са раном фазом РЕХ глаукома. Све три групе су показивале статистички ($p < 0,001$; $p < 0,05$) већи број испитаника са зрелом скрамом у односу на контролну групу. Брунесцентну скраму је имало 24 болесника са РЕХ: 7 болесника са раном фазом РЕХ синдрома (5,83%); 8 болесника са касном фазом РЕХ синдрома (6,67%) и 9 болесника РЕХ глауком (7,5%), док је у контролној групи било 4 пацијента (3,33%). Овакав налаз указује на статистички значајно ($p < 0,05$) повишен број болесника који имају РЕХ и брунесцентну скраму у односу на болеснике без РЕХ, док међу испитаницима са РЕХ није уочена статистички значајна разлика ($p > 0,05$), Табела 6.

Тип катаракте	РЕХ синдром-рана фаза (%)	РЕХ синдром-касна фаза (%)	РЕХ глауком (%)	Контролна група (%)
Нуклеарна	15 (12,5)*	19 (15,83)*	21 (17,5)*	12 (10)
Задња субкапсуларна	9 (7,5)	7 (5,83)	6 (5)	9 (7,5)
Кортикална	6 (5)	4 (3,33)	3 (2,5)	9 (7,5)
Зрела	5 (4,17)*	6 (5)*	8 (6,67)*	2 (1,67)*
Брунесцентна	7 (5,83)*	8 (6,67)*	9 (7,5)*	4 (3,33)

Табела 6. Дистрибуција болесника у односу на тип катаракте Нуклеарна, зрела и брунесцентна катаракта су чешиће код болесника са РЕХ синдромом/глаукомом.

4.7. Величина мидријазе

Приликом пријема болесника на Клинику за офталмологију Клиничког центара Крагујевац мерена је ширина зенице непосредно пре операције (после употребе мидријатика) и приликом извођења операције. Подаци о ширини зенице су сврстани у три групе: лоше проширена зеница (дијаметар од 2-4мм), средње проширена зеница (дијаметар од 5-6мм), максимално проширена зеница (дијаметар од 7-9 мм), приказани су у Табели 7.

На основу добијених резултата можемо да уочимо да је највећи број болесника њих 27 (22,5%) из контролне групе и 21 (17,5%) из групе са раном фазом РЕХ синдрома постигао максималну мидријазу, док их је статистички значајано ($p < 0,05$) мање било у групи испитаника са касном фазом РЕХ синдрома (14 болесника; 11,67%) и са РЕХ глаукомом (9 болесника; 7,5%). Такође је уочено, да постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у погледу броја болесника са средње постигнутом мидријазом између болесника са касном фазом РЕХ синдрома (10 болесника; 8,33%) и РЕХ глаукомом (12 болесника; 10%) у односу на број болесника у групи са раном фазом РЕХ синдрома (6 болесника; 5%) и контролној групи (3 болесника; 2,5%). Мерења у нашем испитивању су показала да постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у погледу броја болесника са лоше постигнутом мидријазом међу припадницима групе са касном фазом РЕХ синдрома (9 болесника; 7,5%) и РЕХ глаукомом (12 болесника; 10%) у односу на контролну групу, али и између болесника са РЕХ глаукомом (12 болесника; 10%) и болесника са раном фазом РЕХ синдрома (3 болесника; 2,5%).

Преоперативно постигнута мидријаза се у потпуности интраоперативно задржала код свих болесника контролне групе, док у групи болесника са раном фазом РЕХ синдрома тај број је износио 25 (20,83%). У групи болесника са касном фазом РЕХ синдрома мидријаза се одржала код 12 болесника (10%), а код болесника са развијеним РЕХ глаукомом код њих 5 (4,16%). Добијени резултати указују на високо статистички значајно ($p < 0,001$) смањење броја болесника са добро одржаваном мидријазом у групи болесника са РЕХ глаукомом у односу на контролну групу и у односу на групу болесника са раном фазом РЕХ синдрома, као и статистички значајно ($p < 0,05$) смањење у односу на групу болесника са касном фазом РЕХ синдрома.

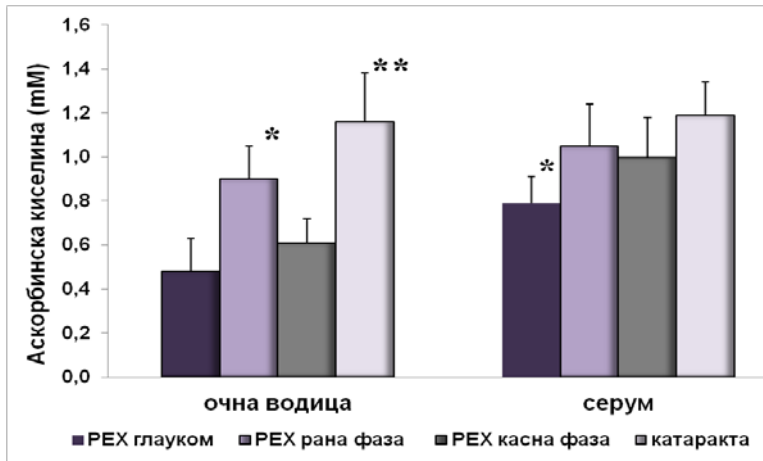
Ширина зенице	РЕХ синдром-рана фаза (%)	РЕХ синдром-касна фаза (%)	РЕХ глауком (%)	Контролна група (%)
7-9mm	21 (17,5)	14 (11,67)	9 (7,5)	27 (22,5)
4-6mm	6 (5)	10 (8,33)	12 (10)	3 (2,5)
2-4mm	3 (2,5)	6 (5)	9 (7,5)	0 (0)
Одржавијање мидријазе	25/30	12 /30	5 /30	30 /30

Табела 7. Ширина зенице и оперативно одржавање мидријазе. Највећа ширина зенице је постигнута код болесника без РЕХ, код којих се и широка зеница најбоље одржавала за време операције. Болесници са РЕХ глауком су имали најмању ширину зенице, а и код њих се најлошије одржавала широка зеница за време операције.

4.8. Одређивање концентрације азот-мооксида (NO) и аскорбинске киселине као индикатора оксидативног стреса

4.8.1. Концентрација аскорбинске киселине је значајно смањена у очној водици код болесника са РЕХ глаукомом у односу на болеснике из контролне групе; док није уочена разлика у серумским концентрацијама у свим испитиваним групама.

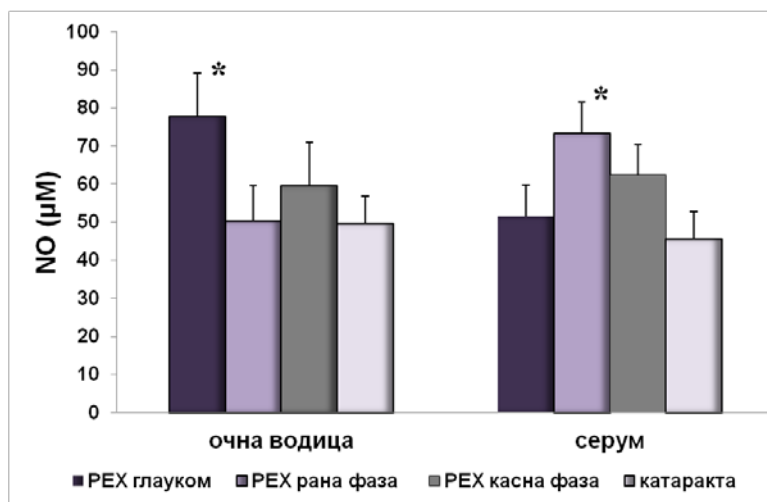
На Графикону бр. 1 је приказан ниво аскорбиске киселине у очној водици и серуму испитиваних болесника. Концентрација аскорбинске киселине у очној водици болесника са развијеним РЕХ глаукомом ($0,48 \pm 0,15 \text{mM}$) и касном фазом РЕХ синдрома ($0,61 \pm 0,11 \text{mM}$) је статистички значајно ($p < 0,05$; $p < 0,001$) смањена у односу на њену концентрацију код болесника са раном фазом РЕХ синдрома ($0,9 \pm 0,15 \text{mM}$) и испитаника контролне групе ($1,16 \pm 0,22 \text{mM}$). Анализом серумских концентрација аскорбинске киселине код све четири групе испитаника није регистрована ($p > 0,05$) статистички значајна разлика између добијених вредности: рана фаза РЕХ синдрома $1,05 \pm 0,19 \text{mM}$; касна фаза РЕХ синдрома $1,0 \pm 0,18 \text{mM}$, РЕХ глауком $0,79 \pm 0,12 \text{mM}$ и контролна група $1,19 \pm 0,15 \text{mM}$.



Графикон1. Концентрација аскорбинске киселине у очној водици и серуму (n=30 пацијената у групи). Концентрација аскорбинске киселине у очној водици болесника са касном фазом PEX синдрома и са PEX глаукомом показују високо статистички значајно ($p < 0,001$) снижену вредност у односу на болеснике са раном фазом PEX синдрома и из контролне групе. Није уочена статистички значајна разлика у погледу концентрације аскорбинске киселине у

4.8.2. Концентрација азот-моноксида је статички значајно повишена у очној водици болесника са PEX глаукомом у поређењу са болесницима са раном и касном фазом PEX синдрома и контролне групе. Постоји значајно повећање азот-моноксида у серуму болесника са раном фазом PEX синдрома

Концентрација азот-моноксида (NO) у очној водици и серуму испитаних болесника је показана на Графикону бр. 2. Запажа се да је концентрација NO у очној водици болесника са развијеним PEX глаукомом ($77,7 \pm 1,4 \mu\text{M}$) статистички значајно повећана ($p < 0,05$) у односу на пацијенте са раном фазом PEX синдрома ($50,27 \pm 9,34 \mu\text{M}$) и у односу на испитанике контролне групе ($49,77 \pm 7,1 \mu\text{M}$, $p < 0,05$). Такође, серумска концентрација NO код болесника са раном фазом PEX синдрома ($73,26 \pm 8,29 \mu\text{M}$) је статистички значајно повишена ($p < 0,05$) у односу на контролну групу ($45,73 \pm 6,98 \mu\text{M}$) и групу болесника са развијеним PEX глаукомом ($51,54 \pm 8,23 \mu\text{M}$).



Графикон 2. Концентрација азот-моноксида у очној водици и серуму ($n=30$ пацијената у групи). Концентрација азот-моноксида у очној водици болесника са развијеним PEX глаукомом је била статистички значајно повишена ($p<0,05$) у односу на болеснике са раном фазом PEX синдрома и из контролне групе. Серумска концентрација азот-моноксида болесника са раном фазом PEX синдрома је статистички значајно повишена у односу на контролну групу и болеснике са PEX глаукомом * $p<0,05$; ** $p<0,001$.

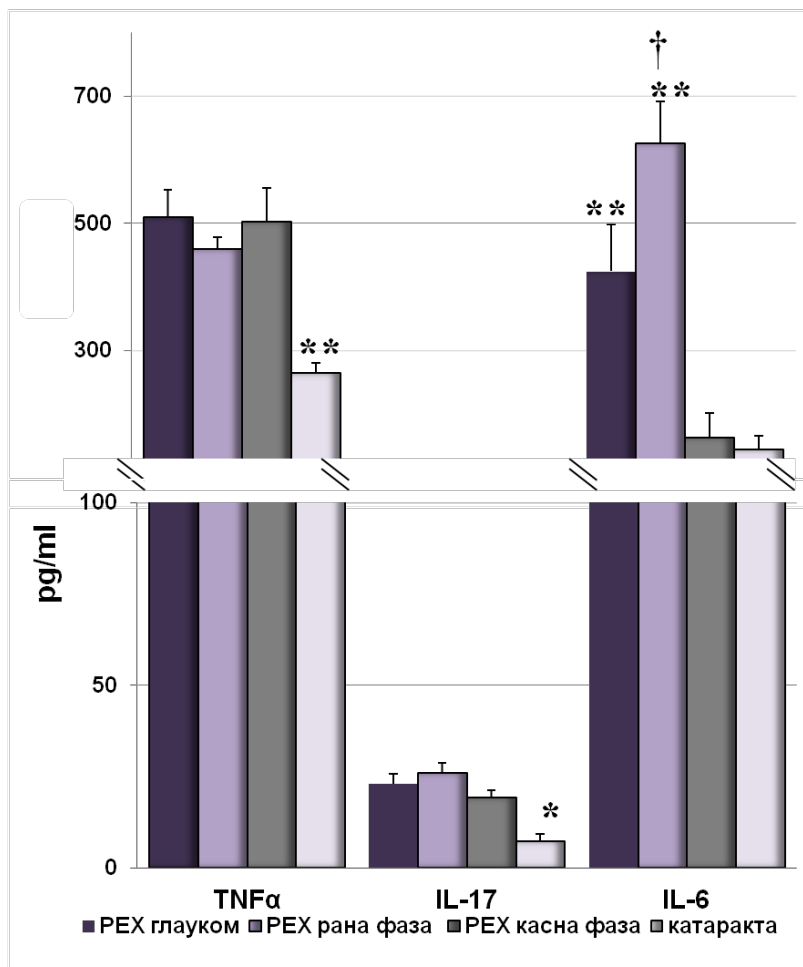
4.9. Одређивање концентрације проинфламаторних и регулаторних цитокина

4.9.1. Проинфламаторни цитокини

4.9.1.1. Ниво проинфламаторних цитокина TNF- α и IL-17 у очној водици је повишен код болесника са PEX синдромом (рана и касна фаза) и PEX глаукомом, док је ниво IL-6 у очној водици повишен код болесника са раном фазом PEX синдрома и болесника са PEX глаукомом.

Познато је да проинфламаторни цитокини (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-17 и др.) покрећу запаљенски процес у ткивима, а како се претпоставља да се у основи патогенезе PEX налази запаљење, претпоставља се да ови цитокини започињу и овај сложени процес (30). Стога је у овом раду испитана експресија појединих проинфламаторних цитокина у различитим фазама болести. Раније студије су показале да није било статистички значајног повећања нивоа IL-1 (2), наше испитивања је обухватило одређивање нивоа TNF- α , IL-6 и IL-17 у очној водици болесника са PEX синдромом (рана и касна фаза), PEX глаукомом и у контролној групи, како бисмо на основу добијених резултата проучавали њихову могућу улогу у процесу настанка PEX, Графикон 3. Мерење нивоа TNF- α у очној водици болесника указују на његово високо статистички значајно повећање ($p<0,001$) код болесника са раном ($460,04\pm 18,32\text{pg/ml}$) и касном фазом ($502,42\pm 53,23\text{pg/ml}$) PEX синдрома и са PEX глаукомом ($510,34\pm 43,07\text{pg/ml}$) у односу на контролну групу ($264,30\pm 16,4\text{pg/ml}$). Измерени ниво IL-6 у очној

водици је високо статистички значајно повишен ($p < 0,001$) код болесника са раном фазом PEX синдрома ($627,05 \pm 65,69 \text{ pg/ml}$) и са развијеним PEX глаукомом ($424,86 \pm 72,98 \text{ pg/ml}$) у односу на болеснике са касном фазом PEX синдрома ($162,86 \pm 38,37 \text{ pg/ml}$) и болеснике контролне групе ($143,82 \pm 22,41 \text{ pg/ml}$). Такође је уочено да постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у нивоу IL-6 између ране фазе PEX синдрома и PEX глаукома. Пацијенти са PEX синдромом (рана фаза- $25,84 \pm 2,76 \text{ pg/ml}$ и касна фаза- $19,25 \pm 1,93 \text{ pg/ml}$) и PEX глаукомом ($22,89 \pm 2,95 \text{ pg/ml}$) имају статистички значајно повишен ($p < 0,05$) ниво IL-17 у очној водици у односу на контролну групу ($7,4 \pm 1,94 \text{ pg/ml}$).

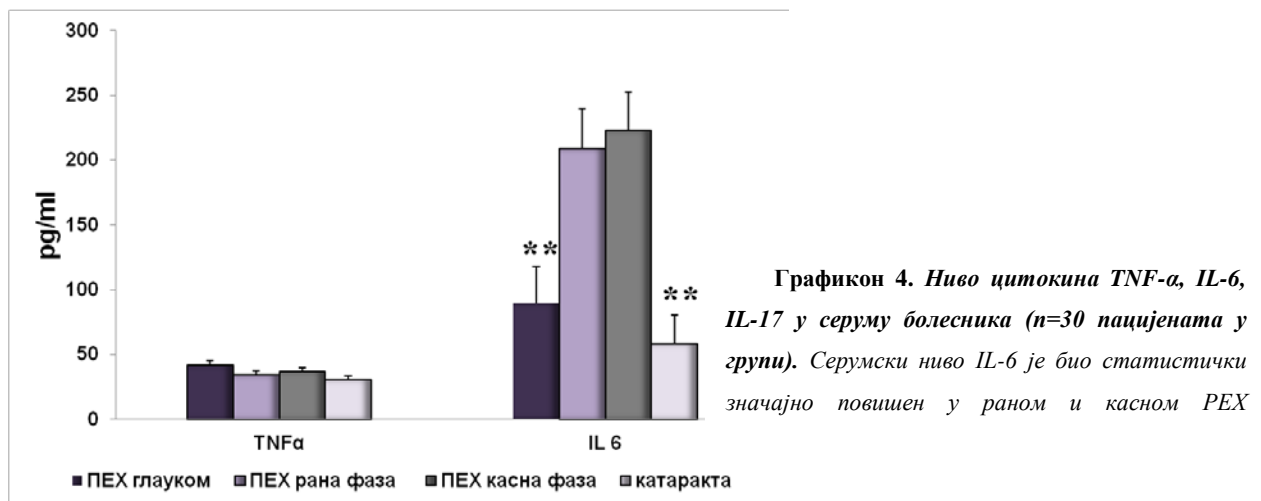


Графикон 3. Ниво цитокина TNF- α , IL-6, IL-17 у очној водици (n=30 пацијената у групи). Мерење нивоа TNF- α и IL-17 у очној водици указују статистички значајно повишен ниво код болесника са раном и касном фазом PEX синдрома и са PEX глаукомом ($p < 0,05$; $p < 0,001$) у односу на контролну групу. Ниво IL-6 у очној водици болесника са раном фазом PEX синдрома и са PEX глаукомом је био статистички високо значајно ($p < 0,001$) повишен у односу на болеснике са касном фазом PEX синдрома и контролне групе. Пацијенти са раном фазом PEX синдрома су показали статистички значајно ($p < 0,05$) виши ниво IL-6 у очној водици у односу на болеснике са PEX глаукомом, † $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

4.9.1.2. Серумски ниво проинфламаторног цитокина IL-6 је повишен код болесника са раном и касном фазом PEX синдрома

У циљу разјашњења утицаја проинфламаторних цитокина TNF- α , IL-6 and IL-17, где се сматра да локални утицај ових цитокина пресудан, одређивали смо њихову

концентрацију у серуму свих наших испитаника (30) (192). На овај начин бисмо могли да разјаснимо серумски утицај њихових концентрација на ткиво, али и да разјаснимо порекло системских манифестација РЕХ. Серумски ниво проинфламаторних цитокина TNF- α , IL-6 and IL-17 болесника из контролне групе, групе са раном и касном фазом РЕХ синдрома и са РЕХ глаукомом су приказани на Графикону 4. Наша мерења указују да постоји статистички високо значајно ($p < 0,001$) повишен ниво IL-6 у серуму болесника са раном ($209,01 \pm 30,91 \text{ pg/ml}$) и касном ($223,08 \pm 29,48 \text{ pg/ml}$) фазом РЕХ синдрома у односу на ниво болесника са РЕХ глаукомом ($89.44 \pm 28.7 \text{ pg/ml}$) и контролном групом ($58,13 \pm 22,23 \text{ pg/ml}$). Као што се види из резултата приказаних на Графикону 4, није уочена статистички значајна разлика ($p > 0,05$) серумског нивоа TNF- α између испитиваних група пацијената. Код болесника РЕХ глаукомом измерено је $41,5 \pm 3,55 \text{ pg/ml}$, са раном фазом је $34,42 \pm 2,98 \text{ pg/ml}$, са касном фазом $36,56 \pm 3,08 \text{ pg/ml}$, а у контролној групи $30,95 \pm 2,6 \text{ pg/ml}$). Истовремено, у свим узорцима серума није детектован IL-17.

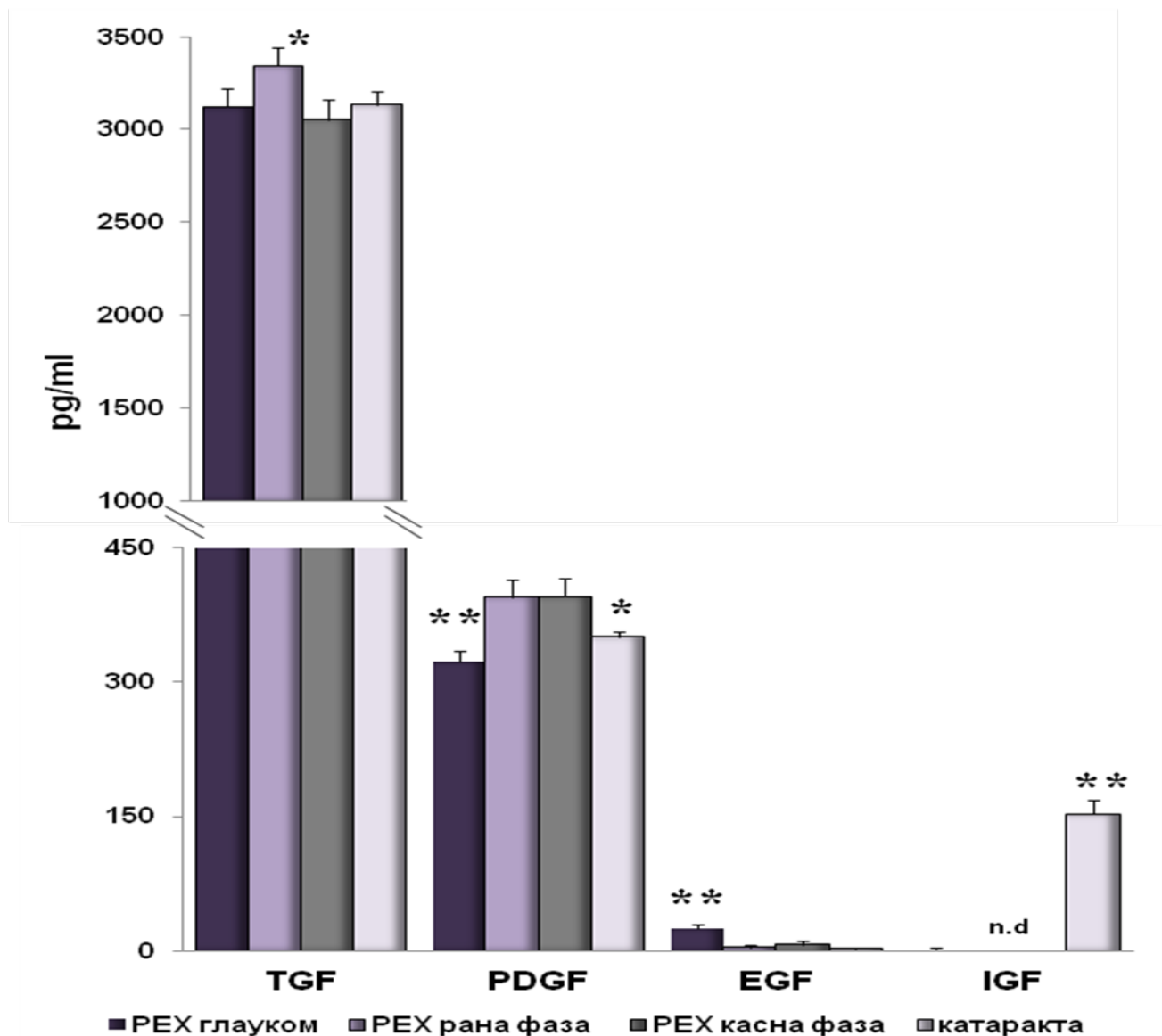


4.9.2. Регулаторни цитокини

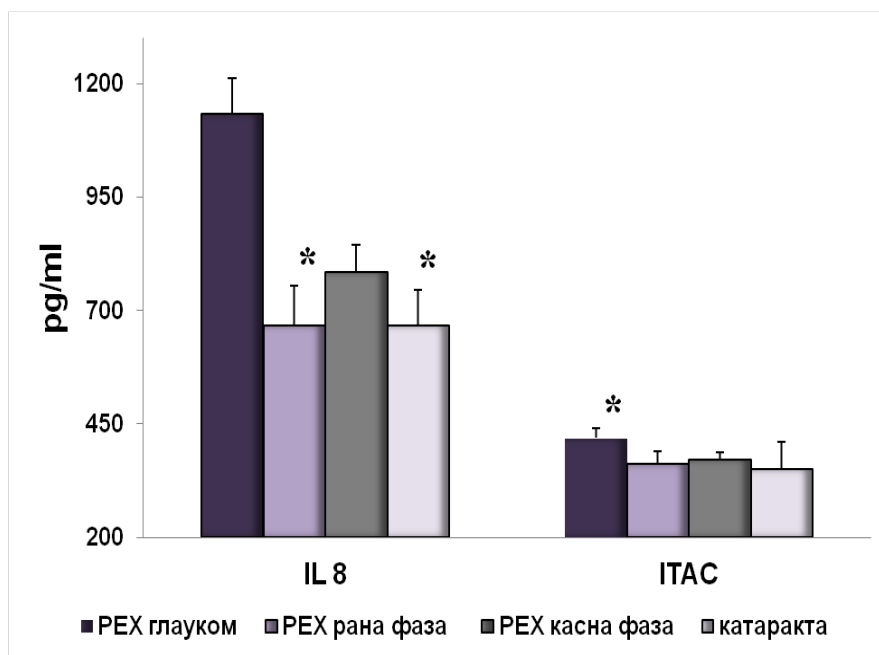
4.9.2.1. Ниво регулаторног цитокина TGF- β у очној водици је повишен код болесника са раном фазом PEX синдрома, док је ниво PDGF повишен у раној и касној фази PEX синдрома. Код болесника са PEX глаукомом је повишен ниво EGF, IL-8 и ITAC, а IGF је детектован код болесника са PEX глаукомом.

Имајући у виду да су псеудоексфолијације у основи сличне фиброзном ткиву (193), а како је патогенеза фиброзног ткива доста проучавана, у нашем испитивању смо одређивали и нивое појединих регулаторних цитокина, који би могли да имају значајну улогу у овом сложенем процесу.

Нивои регулаторних цитокина у очној водици наших испитаника су приказани на Графикону 5. Уочено је да постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$) у нивоу TGF- β код болесника са раном фазом PEX синдрома ($3346,89 \pm 95,53 \text{ pg/ml}$) у односу на све друге испитиване групе: PEX глауком- $3123,86 \pm 96,29 \text{ pg/ml}$, касна фаза PEX синдрома- $3054,63 \pm 109,37 \text{ pg/ml}$, контролна група- $3134,83 \pm 73,01 \text{ pg/ml}$. Ниво PDGF је статистички значајно био повишен код болесника са раном ($395,16 \pm 20,21 \text{ pg/ml}$) и касном фазом PEX синдрома ($395,61 \pm 19,92 \text{ pg/ml}$) у односу на болеснике са PEX глаукомом ($323,34 \pm 11,48 \text{ pg/ml}$), $p < 0,001$; и контролне групе ($350,95 \pm 5,84 \text{ pg/ml}$); $p < 0,05$. Статистички високо значајно ($p < 0,001$) повишен ниво EGF је уочен код болесника са PEX глаукомом ($24,44 \pm 4,67 \text{ pg/ml}$) у односу на болеснике са раном ($3,78 \pm 2,27 \text{ pg/ml}$) и касном фазом PEX синдрома ($7,12 \pm 3,56 \text{ pg/ml}$) и контролну групу ($2,38 \pm 1,2 \text{ pg/ml}$). У очној водици болесника са PEX синдромом (рана и касна фаза) IGF није детектован, али је зато његово присуство показано код болесника са PEX глаукомом ($1,88 \pm 1,38 \text{ pg/ml}$). Код болесника са PEX глаукомом ($1132,57 \pm 78,56 \text{ pg/ml}$) је уочен статистички значајно ($p < 0,05$) повишен ниво IL-8 у односу на болеснике с раном фазом PEX синдрома ($667,24 \pm 87,67 \text{ pg/ml}$) и контролну групу ($666,95 \pm 78,49 \text{ pg/ml}$), али без статистички значајне разлике ($p > 0,05$) у односу на болеснике са касном фазом PEX синдрома ($785,14 \pm 59,43 \text{ pg/ml}$), Графикон 6. Ниво ITAC у очној водици болесника са PEX глаукомом ($418,93 \pm 22,67 \text{ pg/ml}$) је статистички значајно ($p < 0,05$) повишен у односу на болеснике са раном фазом PEX синдрома ($362,46 \pm 28,5 \text{ pg/ml}$) и контролне групе ($351,97 \pm 18,34 \text{ pg/ml}$), Графикон 6.



Графикон 5. Ниво *TGF-β*, *PDGF*, *EGF* и *IGF* у очној водици ($n=30$ пацијената у групи). Ниво у очној водици је био статистички значајно ($p<0,05$) повишен код болесника са раном фазом *PEX* синдрома у односу на све остале испитанике. Статистички значајно повишен ниво *PDGF* је забележен у раном и касном *PEX* синдрому у поређењу са болесницима из преостале две групе ($p<0,05$; $p<0,001$). Болесници са *PEX* глаукомом су имали статистички значајно ($p<0,05$; $p<0,001$) повишен *EGF* и *IGF*, $*p<0,05$; $**p<0,001$. Серумски ниво *TGF-β* је био значајно ($**p<0,001$) повишен у раном *PEX* синдрому у односу на преостале три групе. Нивои *PDGF* и *EGF* су били значајно повишени код болесника са касном фазом *PEX* синдрома, $*p<0,05$. Болесници са *PEX* глаукомом су имали статистички значајно повишен ниво *IGF* (B), $*p<0,05$; $**p<0,001$.

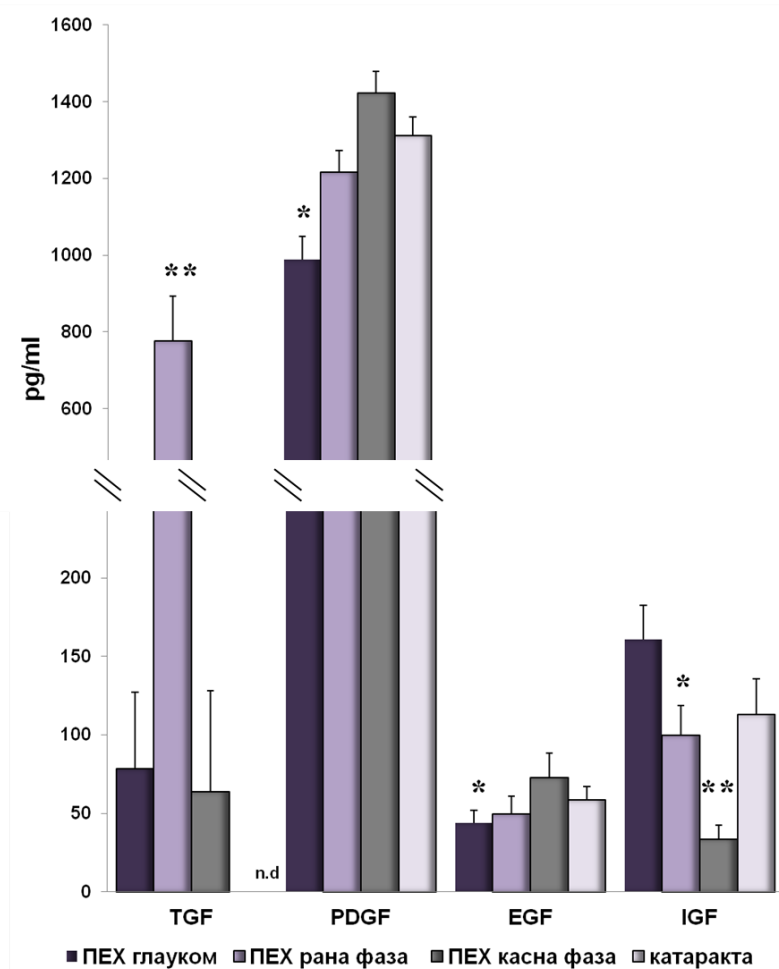


Графикон 6. Нивои IL-8 и ITAC у очној водици (n=30 пацијената у групи). Очна водица болесника са PEX глаукомом је имала статистички значајно повишен ниво IL-8 у односу на рани PEX синдром и контролну групу, $p < 0,05$. Болесници са PEX глаукомом су имали значајно повишен ниво ITAC у очној водици, $p < 0,05$.

4.9.2.1. Повишен ниво TGF- β покреће процес стварања фиброзног ткива у раној фази PEX синдрома, уз активност PDGF, EGF и IL-8 у касној фази PEX синдрома. Каснију улогу у том процесу преузимају IL-8 и ITAC, у фази развијеног глаукома

Псеудоексфолијације показују изразиту повезаност са многобројним васкуларним болестима (исхемијска болест срца, анеуризма, цереброваскуларне болести и др.), те се препоставља да и серумске концентрације регулаторних цитокина имају врловажну улогу у процесу њиховог стварања (194). Серумске концентрације регулаторних цитокина су приказане на Графикону 7 и 8. Ниво TGF- β је статистички високо значајно ($p < 0,001$) био повишен у серуму болесника са раном фазом PEX синдрома ($776,19 \pm 117,93 \text{ pg/ml}$) у односу на болеснике са касном фазом PEX синдрома ($63,95 \pm 34,0 \text{ pg/ml}$) и болеснике са PEX глаукомом ($78,47 \pm 48,50 \text{ pg/ml}$), док код болесника из контролне групе није детектован, Графикон 7. Болесници са развијеним PEX глаукомом ($988,69 \pm 60,59 \text{ pg/ml}$) су имали статистички значајно ($p < 0,05$) снижен ниво PDGF у односу на болеснике са касном фазом PEX синдрома ($1422,05 \pm 57,33 \text{ pg/ml}$), али без статистички значајне разлике ($p > 0,05$) у односу на болеснике са раном фазом PEX синдрома ($1216,18 \pm 57,42 \text{ pg/ml}$) и контролну групу ($1312,37 \pm 47,67 \text{ pg/ml}$), Графикон 7. Наши резултати указују на статистички значајно ($p < 0,05$) смањен ниво EGF код болесника са PEX глаукомом ($43,89 \pm 7,94 \text{ pg/ml}$) у

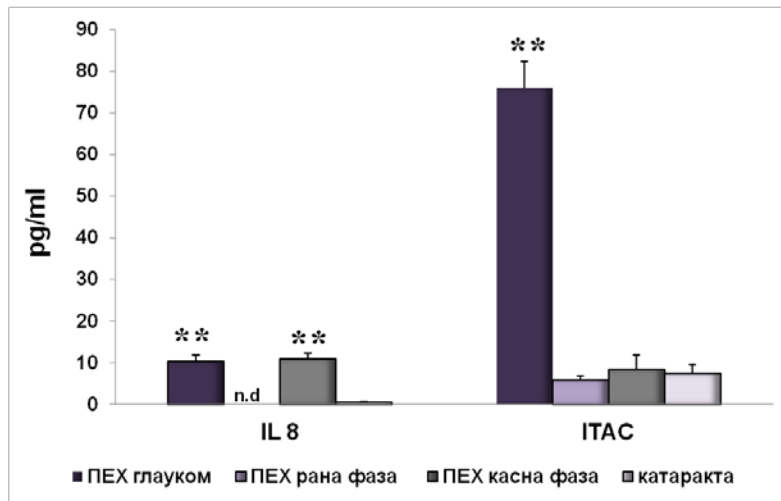
односу на болеснике са касном фазом РЕХ синдрома ($72,74 \pm 15,67 \text{ pg/ml}$), али без статистички значајне разлике ($p > 0,05$) у односу на болеснике са раном фазом РЕХ синдрома ($49,81 \pm 10,96 \text{ pg/ml}$) и контролну групу ($58,68 \pm 8,63 \text{ pg/ml}$), Графикон 7. Статистички значајно повећан ниво IGF је уочен код болесника са РЕХ глаукомом ($160,96 \pm 21,48 \text{ pg/ml}$) у односу на болеснике са раном ($99,86 \pm 18,65 \text{ pg/ml}$; $p < 0,05$) и касном фазом РЕХ синдрома ($33,31 \pm 9,23 \text{ pg/ml}$; $p < 0,001$), али без разлике ($p > 0,05$) у односу на контролну групу ($113,23 \pm 22,61 \text{ pg/ml}$), Графикон 7.



Графикон 7. Ниво TGF- β , PDGF, EGF и IGF у серуму (n=30 пацијената у групи). Серумски ниво TGF- β је био значајно ($p < 0,001$) повишен у раном РЕХ синдрому у односу на преостале три групе. Нивои PDGF и EGF су били значајно повишени код болесника са касном фазом РЕХ синдрома, * $p < 0,05$. Болесници са РЕХ глаукомом су имали статистички значајно повишен ниво IGF (B), * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.**

Серумски ниво IL-8 је био статистички високо значајно ($p < 0,001$) повишен код болесника са касном фазом РЕХ синдрома ($10,91 \pm 1,29 \text{ pg/ml}$) и РЕХ глаукомом ($10,35 \pm 1,45 \text{ pg/ml}$) у односу на контролну групу ($0,56 \pm 0,14 \text{ pg/ml}$), док код болесника са раном фазом РЕХ синдрома није детектована његова активност, Графикон 8. Ниво хемокина ITAC је био статистички високо значајно ($p < 0,001$) повишен код болесника са РЕХ глаукомом ($76,01 \pm 6,26 \text{ pg/ml}$) у односу на болеснике са раном ($5,98 \pm 0,98 \text{ pg/ml}$)

и касном фазом РЕХ синдрома ($8,43 \pm 3,45 \text{ pg/ml}$) и контролну групу ($7,39 \pm 2,13 \text{ pg/ml}$), Графикон 8.

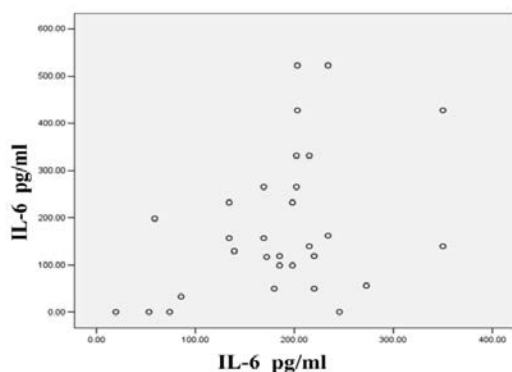
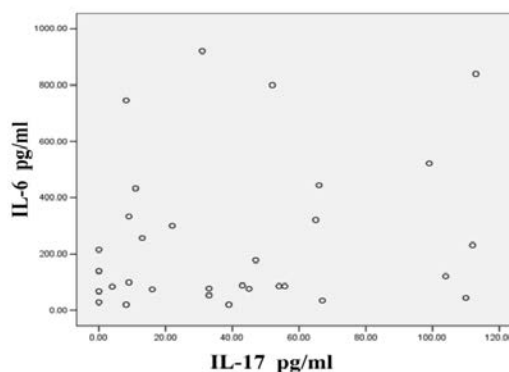
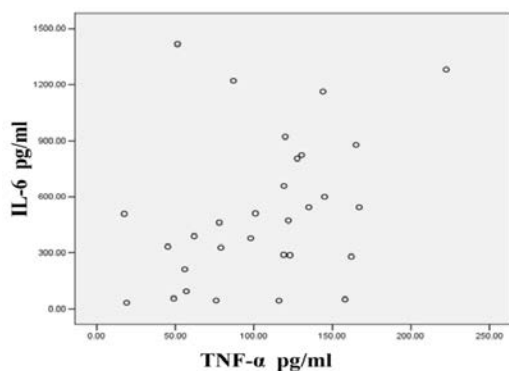
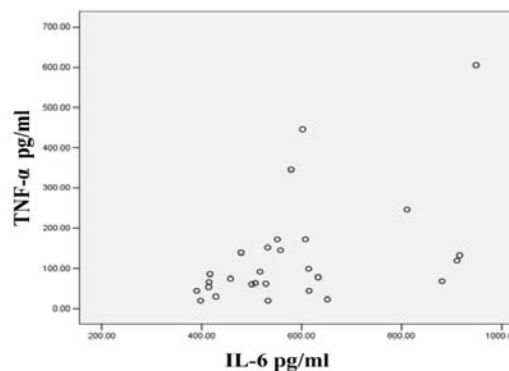


Графикон 8. Нивои IL-8 и ITAC у серуму (n=30 пацијената у групи). Серумски ниво IL-8 је био статистички значајно повишен у касном РЕХ синдрому и РЕХ глаукому у односу на рани РЕХ синдром и контролну групу ($p < 0,001$). Болесници са РЕХ глаукомом су имали статистички значајно повишен ниво ITAC у поређењу са болесницима из преостале три групе, $*p < 0,05$; $p < 0,001$.**

4.9.3. Корелације између проинфламаторних и регулаторних цитокина у РЕХ синдрому/глаукому

4.9.3.1. Корелација проинфламаторних цитокина (TNF- α , IL-6 и IL-17) у очној водици и серуму болесника са РЕХ синдромом/глаукомом

Како би се нивои одабраних проинфламаторних цитокина међусобно повезали у овом процесу одређене су њихове међусобне корелације, које су приказане на Графикону бр. 5. У групи проинфламаторних цитокина установљена је јака позитивна корелација између нивоа IL-6 у очној водици болесника са раном фазом РЕХ синдрома и серумског нивоа истог цитокина код болесника са РЕХ глаукомом ($r=0,741$; $p < 0,001$), Панел А. Такође је уочена јака позитивна корелација нивоа IL-6 и IL-17 у очној водици болесника са раном фазом РЕХ синдрома ($r=0,720$; $p < 0,001$), Панел Б. Серумски ниво TNF- α у раној фази РЕХ синдрома и ниво IL-6 у очној водици болесника са РЕХ глаукомом показују јаку позитивну корелацију ($r=0,884$; $p < 0,001$), Панел В. Ниво IL-6 у очној водици болесника са раном фазом РЕХ синдрома је у јакој позитивној корелацији са нивоом TNF- α у очној водици болесника са РЕХ глаукомом ($r=0,699$; $p < 0,001$), Панел Г.

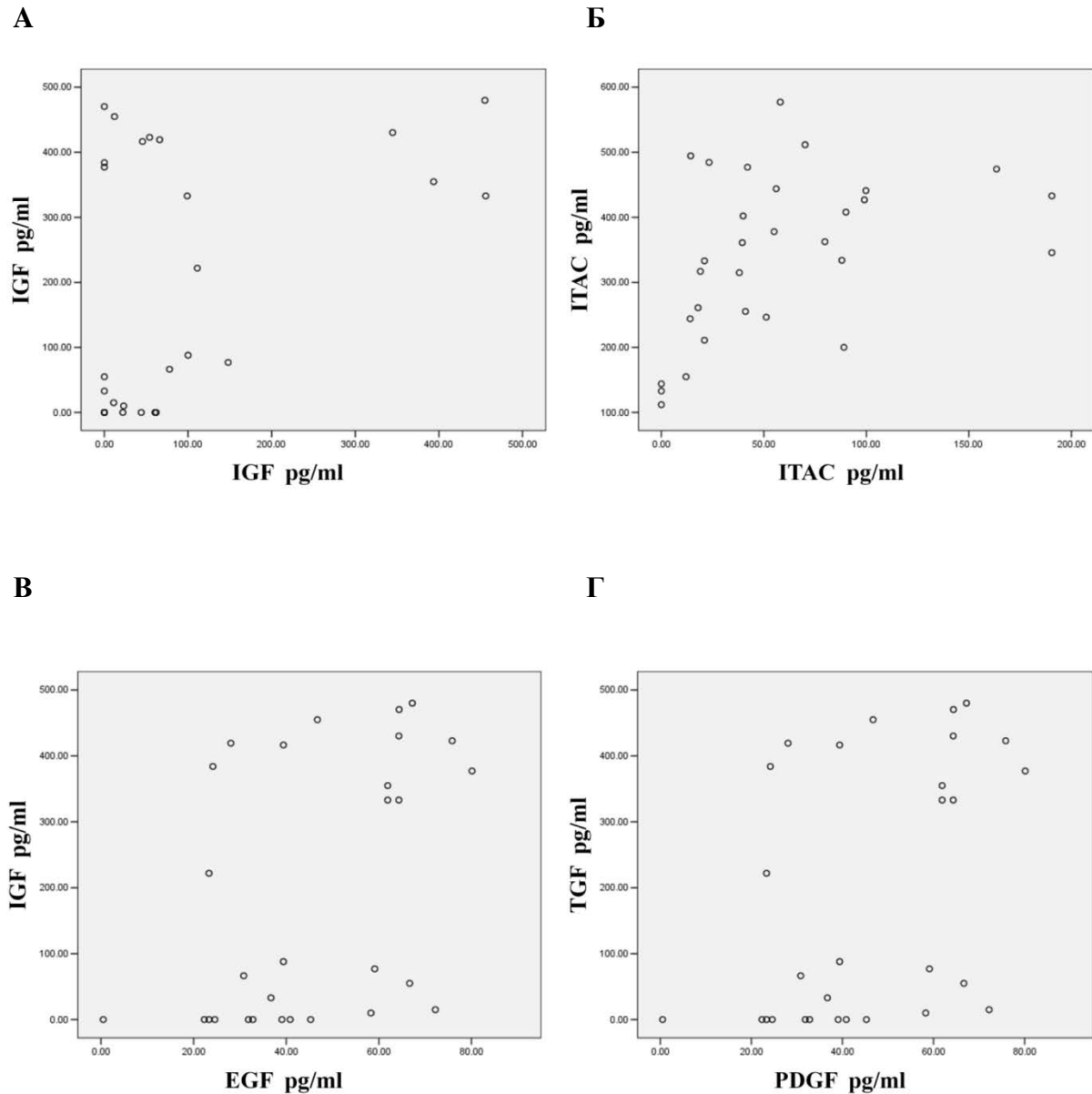
A**Б****В****Г**

Графикон 9. Корелације проинфламаторних циоткина у очној водици и серуму болесника са PEX синдром/глауком. У групи проинфламаторних циоткина је уочена јака позитивна корелација између нивоа IL-6 у очној водици у раном PEX синдрому и серумског нивоа истог циоткина у PEX глаукому ($r=0,741$; $p<0,001$), Панел А; Нивоа IL-6 и IL-17 у очној водици ране фазе PEX синдрома ($r=0,720$; $p<0,001$), Панел Б; серумског нивоа TNF- α у раног фазе PEX синдрома и нивоа IL-6 у очној водици PEX глаукома ($r=0,884$; $p<0,001$), Панел В; као и нивоа у очној водици IL-6 ране фазе PEX синдрома и TNF- α у PEX глаукому ($r=0,699$; $p<0,001$), Панел Г.

4.9.3.2. Корелација између регулаторних циоткина (TGF- β , EGF, IGF, PDGF, ITAC) у очној водици и серуму болесника са PEX синдромом/глаукомом

Корелација између регулаторних циоткина (TGF- β , EGF, IGF, PDGF, ITAC) у очној водици и серуму болесника са PEX синдромом/глаукомом су приказане на Графикону бр. 6. У групи регулаторних циоткина је уочена јака позитивна корелација између серумског нивоа IGF болесника са развијеним PEX глаукомом и пацијената са раном

фазом PEX синдрома ($r=0,839$; $p<0,001$), Панел А. Такође, установљена је јака позитивна корелација нивоа ITAC у очној водици и серуму болесника са развијеним PEX глаукомом ($r=0,718$; $p<0,001$), Панел Б.



Графикон 10. Корелације проинфламаторних циоткина у очној водици и серуму болесника са PEX синдром/глауком. У групи регулаторних циоткина уочена је јака позитивна корелација између серумског нивоа IGF болесника са PEX глаукомом и болесника са раном фазом PEX синдрома ($r=0,839$; $p<0,001$), Панел А; нивоа ITAC у очној водици и серуму болесника са PEX глаукомом ($r=0,718$; $p<0,001$), Панел Б; Нивоа EGF у серуму болесника са раном фазом PEX синдрома и серумског нивоа IGF у PEX глаукому ($r=0,859$; $p<0,001$), Панел В; серумског нивоа TGF- β болесника са PEX глаукомом и серумског нивоа PDGF болесника са PEX глаукомом ($r=0,865$; $p<0,001$), Панел Г. **** $p<0,001$.**

У групи регулаторних цитокина је уочена јака позитивна корелација серумског нивоа EGF пацијената са раном фазом PEX синдрома и серумског нивоа IGF пацијената са развијеним PEX глаукомом ($r=0,859$; $p<0,001$), Панел В. Серумски ниво TGF- β болесника са PEX глаукомом је у јакој позитивној корелацији са серумским нивоом PDGF пацијената исте групе испитаника ($r=0,865$; $p<0,001$), Панел Г.

5. Дискусија

Псеудоексфолијативни (РЕХ) синдром је генерализовани поремећај екстрацелуланог матрикса који се карактерише стварањем и накупљањем фибриланог материјала не само у оку већ и у кожи и везивним ткивима многих висцералних органа, особа старије животне доби (6). Псеудоексфолијације су присутне у свим ткивима предњег сегмента ока, али и у ткивима очне шупљине (194). На основу досадашњих испитивања претпоставља се да настају услед прекомерног стварања и смањене разградње фиброзног материјала, као последица пормећеног оксидативног статуса у ткиву (30). Псеудоексфолијације представљају један од најчешћих узрока глаукома (193).

Псеудоексфолијације се ретко јављају код особа млађих од 50 година старости, и њихова инциденца се повећава са повећањем година старости (24). Aasved је у свом раду навео да је преваленца псеудоексфолијација код становника Норвешке 0,4% код особа у старосном интервалу од 50-59 године, да би она у старосном интервалу од 80-89. године старости износила 7,9% (2). Са обзиром да је у непосредној повезаности са поремећеним односом оксидативног стреса и антиоксидативне заштите оваква дистрибуција болесника је очекивана. Наше испитивање је показало да је највећи број болесника старије од 70 година. У нашем испитивању просечна вредност година је износила $72,2 \pm 7,4$ (најмлађи је имао 48, а најстарији 90 година). Испитаници са развијеном формом РЕХ глаукома су били просечно старији од болесника са РЕХ синдромом (рана и касна фаза), али та разлика није достигла статистичку значајност. Ипак, испитаници из наведене три групе су просечно били значајано старији од испитаника из контролне групе. Уочено је постојање тренда пораста броја болесника са псеудоексфолијацијама у старијем животном добу и то тако да се у групи болесника у млађој животној доби (до 60 године старости) налази мали број болесника са раном фазом развоја РЕХ синдрома, а у каснијој животној доби већи број болесника са раном фазом и сви болесници са касном фазом РЕХ синдрома и са развијеним РЕХ глаукомом. Оваква старосна дистрибуција болесника указује на хронолошку везу развоја РЕХ синдрома и РЕХ глаукома. Такође је уочено да међу болесницима у млађој животној доби није било болесника са развијеном формом РЕХ глаукома. Наши подаци одговарају подацима из светске литературе, који указују на то да је РЕХ болест

старијег животног доба и да са временом (годинама) долази до развоја глаукомних промена на очима са РЕХ-ом (159) (195). Сматра се да 10% од укупне популације старије од 60 година има псеудоексфолијације (196) и да та инциденца расте и до 40% код особа старијих од 80 година (197). Astrom и сарадници су у својој студији изнели податак да у Шведској сваки четврти становник старији од 66 година има РЕХ синдром (198).

Подаци из светске литературе указују на већу заступљеност женског пола међу болесницима са РЕХ-ом, у односу 3:1 (199). Иако постоје стручни радови који говоре о већој заступљености мушког пола међу болесницима са РЕХ-ом у земљама на азијском континенту, у односу 2:1 (23). Овакви подаци се објашњавају чињеницом да мушкарци у тим земљама чешће имају скраму и више времена проводе напољу изложени сунчевим зрацима, што поспешује настанак РЕХ. Наше испитивање је показало сличне резултате, где је у групама испитаника са: раном фазом РЕХ синдрома (4:1), касном фазом РЕХ синдрома (2,75:1) и РЕХ глаукомом (2,33:1) постојала статистички значајна доминација женског пола у односу на контролну групу, у којој су оба пола била еквивалентно заступљена. Истовремено, није постојала статистички значајна разлика према полу испитаника међу групама са псеудоексфолијацијама. Овакав налаз може да указује на значај пола у испољавању РЕХ-а у зависности од места живљења (континент, град/село, култура, вера и др.), али још не постоје студије које са сигурношћу указују на утицај XX хромозома на активност гена за синтезу псеудоексфолијација.

Псеудоексфолијативни синдром и глауком се клинички често виде као унилатерална манифестација. Ипак, РЕХ синдром никада није унилатералан, већ је његово клиничко испољавање асиметрично што може да представља проблем при дијагностиковању (170). Сматра се да је грешка приликом дијагностиковања РЕХ-а и до 15% (163). Грешка приликом постављања дијагнозе се јавља код субклиничких форми на другом оку, које нису видљиве приликом клиничког прегледа или уколико се преглед не врши у максималној мидријази. Светски подаци указују на то да је билатерални РЕХ чећши и то у односу 3:1 (4). Наши резултати указују на статистички значајну разлику у погледу унилатералне манифестације РЕХ између групе болесника са раном фазом РЕХ синдрома и касна фазе РЕХ синдрома, што указују да је степен испољавања РЕХ-а непосредно повезан са развојем болести на парном оку. Овакав

налаз потврђује и број билатералне заступљености код болесника са PEX глаукомом. Такође, наши подаци указују да међу болесницима који су имали једнострану PEX глауком код њих 32% је уочено постојање PEX-а али без развијене форме глаукома. Овај податак се поклапа са подацима из светске литературе који указују да је број болесника са PEX глаукомом и псеудоексфолијацијама на другом оку, али без развијеног глаукома износи око 40% (200).

Особе које имају псеудоексфолијације чешће имају скраму, али према литератури не постоји значајне разлике у типу скраме и степену тврдоће језгра сочива у односу на њихово постојање (201). Према типу катаракте, све испитанике смо поделили на пет група: болесници са нуклеарном, задњом субкапсуларном катарактом и кортикалном; као и на зреле (матурне) и брунесцентне. Добијени резултати указују да највећи број болесника (55 болесника од укупно 70) са нуклеарним обликом старачке скраме имају као пропратни налаз PEX, а највише њих има развијену форму PEX глаукома. Такође, уочено је да болесници са PEX-ом имају тврђи и зрелији облик скраме у односу на болеснике без PEX-а. У групи болесника са PEX глаукомом највећи број је имао тзв. „тврде“ катаркте, што се и уклапа у слику болесника касне животне доби са јако израженом склерозом језгра сочива.

Код болесника са псеудоексфолијацијама уочено је њихово таложење и на цилијарним наставцима и цилијарном телу (23), па је код њих отежано је постићи жељену мидријазу услед таложења псеудоексфолијација на цилијарним наставцима (202). Позната је и чињеница појаве „уске“ зенице код запаљења у предњем сегменту ока, услед промена на цилијарном телу (203). Мидријаза је неопходна за преглед и постављање дијагнозе псеудоексфолијација, као и за оперативно лечење скраме. Из доступне литературе, подаци указују да приликом преоперативне припреме највећи број пацијената са PEX-ом има лоше постигнуту мидријазу (48%), док нешто мање (42%) има средње постигнуту мидријазу (23). Наше испитанике смо поделили према степену испољавања PEX-а, па смо сходно томе добили податке који указују да је боља мидријаза постигнута код болесника са мањим степеном испољености PEX-а. Током испитивања мерили смо и интраоперативно одржавање мидријаза, где смо уочили да је смањење мидријаза забележено код болесника који су имали већи степен испољености PEX-а. Добијени резултат може да се објасни повећаном синтезом простагландина приликом отварања очне коморе и контакта инструментата са

дужицом оперисаног ока, који делују на рецепторе у сфинктеру дужице и цилијарног тела, који изазивају миозу (203). Из свега наведеног јасан је значај преоперативне припреме болесника, у смислу профилактичке припреме болесника, применом локалних, нестероидних антиинфламторних лекова, пре свега због могућих компликација у току саме операције и у постоперативном току.

Окуларна манифестација РЕХ-а је повезана са појавом катаракте и глаукома. Међутим, постоји и екстраокуларна манифестација РЕХ-а, која пре свега подразумева постојање псеудоексфолијација у периокуларним ткивима, али и у везивном ткиву других органа: бубрези, срце, јетре, плућа и др. (194). Појава псеудоексфолијација у ткивима подразумева присуство еластичних фибрила, колагених влакана и фибробласта у зиду малих крвних судова у читавом организму, што указује на системску манифестацију РЕХ синдрома. Додатно, постоје бројни подаци о повезаности повишеног нивоа хомоцистеина у серуму болесника са РЕХ-ом, што потврђује системску манифестацију болести (153). Бројни подаци истичу повезаност РЕХ са различитим системским, пре свега васкуларним болестима: исхемијска болест срца (ИБС), инфаркт миокарда, хипертензија (ХТА), цереброваскуларни инсулт, постојање анеуризме абдоминалне аорте (204) и сензонеурално оштећење слуха (152). Мерење протока крви кроз многе органе је показало његово смањење код болесника са РЕХ-ом (205). Такође, предходна испитивања индоцијанин грин ангиографијом предњег сегмента ока указују на васкулопатију крвних судова дужице (56), која може да повећа хипоксију предњег сегмента ока (206). Сличне дијагностичке процедуре су коришћене у неким студијама за испитивање протока крви у другим органима. Једна студија је показала смањени проток крви кроз брахијалну и дорзопедалну артерију коришћењем колор Доплер технике код болесника са РЕХ-ом (205). Кутана капиларна перфузија је коришћена за испитивање протока крви у кожи на прстима пацијената. Мерења протока крви су показала да постоји статистички значајно смањена перфузија ткива код болесника са РЕХ-ом у односу на контролну групу (207).

Подаци добијени приликом израде овог рада указују да је постојала статистички значајна разлика у погледу броја болесника са ИБС, анеуризмом аорте и цереброваскуларним инсултима, али да није постојала статистички значајна разлика у погледу броја болесника са ХТА у испитиваним групама. Исхемијска болест срца је статистички значајно више била заступљена код болесника са РЕХ-ом у односу на

контролну групу, али није уочена статистички значајна разлика у броју међу пацијентима све три групе са PEX-ом. Анеуризма аорте није забележена код болесника контролне групе, али је највећи број њих имао развијен PEX глауком. Добијени резултати указују на могућу повезаност степена испољавања PEX-а и слабости зида аорте, у смисли да што је већи степен PEX манифестација већа је и слабост зида аорте, што се поклапа са резултатима светске литературе (151). Такође смо показали да је степен испољавања цереброваскуларних болести у непосредној вези са постојањем и степеном испољавања PEX-а. Наши резултати се поклапају са доступним подацима предходних студија (9). Они указују на непосредну повезаност PEX-а са различитим васкуларним обољењима. Поставља се питање: да ли је таложење PEX материјала у зидова малих крвних судова последица локалног запаљенског процеса или је локални запаљенски процес последица исхемије која настаје у тквима због смањеног протока крви у крвним судовима услед депоновања PEX у њихове зидове. Вероватно да је за покретање овог процеса први корак локално запаљење услед дејства различитих фактора (УВ зрачење, старост, инфекције, траума и др.), а које има свој ток који се завршава стварањем фиброзног ткива- PEX. Новостворени PEX се таложи у зидове крвних судова, тј. на месту запаљења тако да се смањује проток кроз овако измењене крвне судове.

Разни токсични агенси, акустична траума и др. могу да изазову сензонеурално оштећење слуха (208). Спољашњи и унутрашњи слој косастих ћелија, које леже на базиларној мембрани и прекривају текторијалну мембрану су део сложеног Кортијевог органа (208). Оштећење слуха код особа са PEX синдромом/глаукомом настаје услед депоновања PEX материјала на структуре унутрашњег уха. Депоноване псеудоексфолијације узрокују промене у финим вибрацијама, које изазива звук, инхибирајући и конверзију енергије вибрације у биоелектричне сигнале, њиховим таложењем на текторијалне и базиларне мембране (209). Раније студије указују на чињеницу да је постојање PEX-а у непосредној вези са сензонеуралним оштећењем слуха (209). Резултати нашег истраживања иду томе у прилог, јер је уочена статистички значајна разлика у погледу броја болесника са PEX (синдром и глауком) у односу на број болесника са сензонеуралним оштећењем слуха у контролној групи. Истовремено, није уочено постојање корелације између степена развијености PEX-а и степена оштећења слуха.

Псеудоексфолијативни синдром/глауком се чешће јавља у старијем животном добу, што нам указују подаци из предходно спроведених истраживања (210). Оваква твдрња говоре у прилог томе да измењен оксидативни статус, какав се виђа код старијих особа је у непосредној повезаности са појавом РЕХ у оку. Наши резултати показују да постоји високо статистички значајно већа концентрација аскорбинске киселине у очној водици болесника контролне групе у поређењу са болесницима који имају РЕХ. Аскорбинска киселина има важну улогу у функционисању имунског система, јер се као антиоксиданс везује за поједине молекуле (хистамин, пероксиде и др.) и смањује запаљенску реакцију у ткивима (211) (212). За оксидативни стрес се може рећи да је присутан у основи настанка већег броја запаљенских обољења: Кронова болест, реуматоидни артритис, Алцхајмерова болест, атеросклероза и др. (213). Упркос чињеници да аскорбинска киселина има важну антиоксидативну улогу, она може и да погорша оксидативно стање у фази запаљења (211). Наиме, у условима хроничног запаљења, повећана пермеабилност крвних судова доводи до накупљања ћелија крви у ткиву, са последичним таложењем гвожђа. Активацијом хем-оксигеназе повећава се таложење гвожђа. Редокс форме јона метала се ослобађа од везујућих протеина активношћу нативног кисеоника из полиморфонуклеара. Аскорбинска киселина учествује у процесу редукције добијених јона метала, чиме се погоршава оксидативни статус (211).

Са друге стране, концентрација азот-моноксида је значајно повишена у очној водици болесника са развијеним РЕХ глаукомом, као и серуму болесника са раном фазом РЕХ синдрома у поређењу са испитаницима контролне групе. Азот-моноксид, као релаксирајући фактор ког синтетише ендотел крвног суда настаје из Л-аргинина, кисеоника и NADPH (од енг. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) дејством различитих азот-моноксид синтетаза-NOS (од енг. nitric oxide synthase), (81). Ендотел крвног суда користи азот-моноксид за релаксацију околне глатке мускулатуре, дајући ефекат вазодилатације уз повећање протока крви у ткиву. Његова функција се огледа у дуготрајној регулацији синаптичке трансмисије у централном нервном систему и централној регулацији крвног притиска и централној релаксацији глатких мишића, али и периферној вазодилатацији преко нитрергичких нерава (214).

Азот-моноксид синтетисан унутар крвног суда инхибира и контракцију глатких мишића крвних судова, агрегацију тромбоцита и адхезију леукоцита за зид крвног суда (215). Већина особа са атреосклерозом, шећерном болести, повишеним крвним

притиском имају поремећај у синтези азот-моноксида (215). Фагоцити, као значајне ћелије имунског система такође синтетишу азот-моноксид (216). Раније студије су показале да у фагоцитима постоји индуцибилна азот-моноксид синтаза- iNOS (од енгл. Inducible nitric oxide synthase). Она може да буде активирана преко TNF- α сигналног пута (80). Наши резултати су показали да постоји повишен ниво овог проинфламаторног цитокина у очној водици болесника са PEX синдромом (рана и касна фаза) и PEX глаукомом, док у серуму та разлика није забележена. Крајњи резултат описаног следа догађаја у очној водици болесника са PEX глаукомом је повишен ниво азот-моноксида, као једног од крајњих продуката запаљења (81).

Различите студије су се бавиле системским и локалним статусом параметара оксидативног стреса болесника са PEX глаукомом (50) (49). Смањена концентрација аскорбинске киселине, која је део антиоксидативне заштите важне за спречавање настанка PEX-а, може да настане услед оштећења секретујућих ћелија цилијарног тела или услед повећаног отпора отицању очне водиче уз повећање очног притиска (48). Даље погоршање оксидативног статуса узрокује повишен очни притисак који настаје услед накупљања псеудоексфолијација у коморном углу ока и смањеног протока крви у крвним судовима мрежњаче. Смањен проток крви у крвним судовима може додатно да погорша оксидативни статус у оку. Наши резултати се поклапају са ранијим студијама које су показале да постоји поремећени оксидативни статус у оку са PEX синдромом/глаукомом, услед хроничног дејства спољних агенаса (УВ зрачење, старост, инфекције, траума и др.) (65). Овако настали поремећај оксидативног статуса може даље да изазове настанак запаљенске реакције у ткиву, која се и налази у основи настанка PEX (192). Услед запаљења у ткиву настаје накупљање запаљенских ћелија (фагоцита, лимфоцита, моноцита, неутрофила) уз ослобађање TNF- α , као једног од главних проинфламаторних цитокина (47). У покушају да изазове вазодилатацију, чији је крајњи циљ смањење оксидативног стреса у ткиву, приспели фагоцити продукују азот-моноксид (217). Глауком је обољење ока праћено поремећеним оксидативним статусом (218) услед повишеног очног притиска и смањеног протока крви у крвним судовима мрежњаче (219) уз последични губитак ганглијских ћелија (168). Апоптотичне глијалне ћелије могу да стварају TNF- α , као резултат дејства азот-моноксида, док се аскорбинска киселина троши у циљу одржања хомеостазе ткива. Коначани ефекат дејства TNF- α у процесу неуродегенерације може да буде смрт олигодендроцита и ретиналних ганглијских ћелија (220).

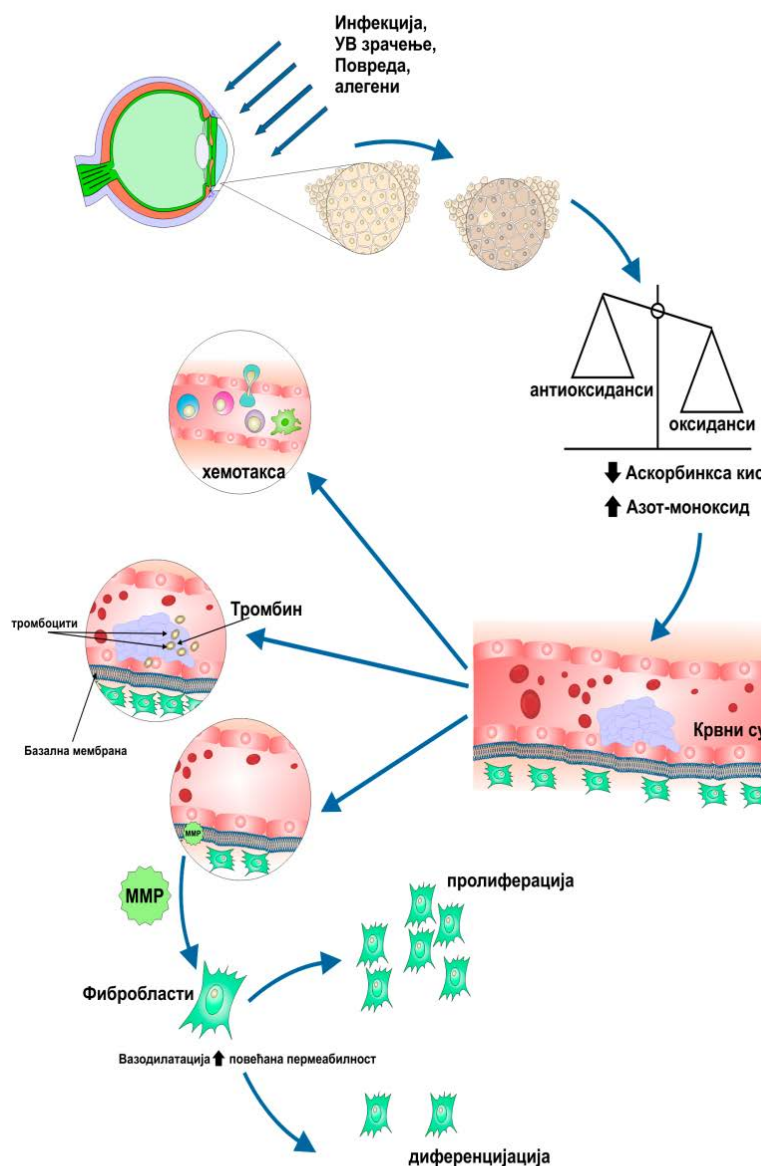
Фиброзирање се дефинише као накупљање фиброзног везивног ткива, компоненте екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ), на и око места запаљења што узрокује настанак ожиљног ткива и измену функције органа или као крајњи исход смрт организма (идиопатска плућна фиброза) (64). Фиброза је патолошки исход многих хроничних запаљенских обољења. Такође, депоновање колагена је обавезан део процеса зарастања рана. Фиброза је и главна карактеристика многобројних аутоимунских обољења као што је склеродермија, реуматоидни артритис и др. (64). Она је и део процеса ширења малигних обољења, одбацивања трансплантата и многобројних прогресивних миопатија (64). Различити фактори могу да допринесу покретању процеса фиброзе: наследни генетски поремећаји, перзистирајуће инфекције, излагање токсичним супстанцама, иритансима или диму; хронична аутоимунска инфламација, висока вредност серумског холестерола, гојазност, лоше контролисана шећерна болест или хипертензија (221).

Процес настанка фиброзног ткива се дели на три стадијума: оштећење ткива, запаљење, обнављање ткива (222). Оштећење ткива настало дејством различитих фактора (инфекција, ултраљубичасто зрачење, траума, алергени спољашње средине) покреће промене на ендотелним и епителним ћелијама, које могу да синтетишу различите проинфламаторне цитокине (IL-1, TNF- α , IL-6, IL-17) уз активацију антифибринолитичке коагулационе каскаде, чији је циљ стварање тромба на месту оштећеног крвног суда у ткиву (66). Настаје активација тромбина, који активира фибробласте повећавајући њихову пролиферацију и диференцијацију у миофибробласте (67). Тромбин и TGF- β , уз вазодилатацију, повећану пермеабилност са екстравазацијом и хемотаксом леукоцита на месту оштећеног ткива, учествују у формирању тромба на месту оштећеног крвног суда, (66). Базална мембрана, која лежи испод епителних и ендотелних ћелија паренхимног ткива, онемогућава прелазак запаљенских ћелија (лимфоцита, моноцита, макрофага, неутрофила и др.) из крвног суда у околно ткиво које учествују у запаљенском процесу. Међутим, у фази оштећеног ткива, активирају се матриксне металопротеиназе (MMPs од енгл. *matrixmetaloproteinases*), посебно MMP-2 и MMP-9, које разграђују једну или више компоненти екстрацелуларног матрикса, што повећава екстравазацију у ткиво (69) (68). Хемокински градијент привлачи запаљенске ћелије: неутрофиле, еозинофиле, лимфоците, макрофаге, моноците на место оштећења ткива уз повећану фагоцитозу ћелијског дебрија у зони ткивне некрозе (70). Врста ћелија, које се накупљају на месту

запаљења, одређују тип и исход запаљења. (222). Запаљенске ћелије у ткиву ослобађају TNF- α (110), који активира синтезу TGF- β у фибробластима, који преко CTGF повећава синтезу EGF и IGF у ткиву повећавајући пролиферацију и диференцијацију фибробласта у миофибробласте, Слика 4., (223) (224)225. У каснијим фазама запаљења активира се антифибринолитички процес, чија је улога неопходна у поступку зарастања (222). У касној фази запаљења накупљени макрофаги и IL-10, синтетисан у регулаторним Т лимфоцитима, регулишу синтезу и ослобађање цитокина и хемокина који активирају фибробласте (226).

Из предходно наведених стадија процеса фиброзе ткива као и према нашим резултатима, можемо да направимо претпоставку процеса стварања PEX у оку са приказом улоге појединих цитокина у том процесу.

Офталмолози су направили скалу градације PEX манифестација на: рану фазу PEX синдрома, касну фазу PEX синдрома и PEX глауком, у односу на количину псеудоексфолијативног материјала у предњем сегменту ока, висине ИОП и променама на глави очног живца. У првој фази процеса настанка PEX постоји дејство узрока на ткиво ока: ултраљубичасто зрачење, инфекција, оксидативни стрес и др. (28). Оксидативни стрес је везан за старење читавог организма, па и ћелије (49). Стварање PEX-а се дешава у старијем животном добу болесника, тако да измењени оксидативни услови активирају процес стварања псеудоексфолијација (131). Наши резултати су показали да је концентрација аскорбинске киселине, као индикатора антиоксидативне заштите, смањена у очној водици болесника са PEX глаукомом у односу на контролну групу, иако није било разлике у односу на две подгрупе PEX синдрома (рана и касна фаза), нити између ране и касне фазе PEX синдрома и контролне групе. Истовремено, не постоји разлика у серумским концентрацијама аскорбинске киселине међу испитиваним групама.



Слика бр 4. Процес стварања фиброзног ткива. Дејство различитих фактора (УВ зрачење, инфекција, оксидативни стрес и др) изазива оштећење епителних и ендотелних ћелија, што је праћено ослобађањем проинфламаторних цитокина ($IL-1$, $TNF-\alpha$, $IL-6$, $IL-17$) уз активацију коагулационе каскаде, чија је функција репарација оштећеног крвног суда. Активирани тромбин поспешује диференцијацију и пролиферацију фибробласта у миофибробласте. Тромбин делује заједно са $TGF-\beta$, настаје коагулум у крвном суду што на даље повећава пермеабилност (накупљање запаљенских ћелија) и изазива вазодилатацију.

Матриксне металопротеиназе разграђују базалну мембрану, што додатно повећава екстравазацију у оштећено ткиво. Инфламаторне ћелије поспешене хемокинским градијентом надлазе у ткиво. Развија се запаљење. Након запаљења уз пратеће промене у ткиву, настаје фаза обнављања ткива. Запаљенске ћелије, користећи $TNF-\alpha$, активирају синтезу $TGF-\beta$, који преко $CTGF$ повећава секрецију EGF и IGF у ткиву, чиме се поспешује пролиферација и диференцијација фибробласта у миофибробласте, који су одговорни за синтезу фиброзних влакана.

Супротно томе, забележена је статистички значајно већа концентрација азот-моноксида у очној водици болесника са РЕХ глаукомом у односу на рану фазу РЕХ синдрома и контролну групу. Додатно, серумски ниво азот-моноксида је значајно већи у раној фази РЕХ синдрома у односу на пацијенте са РЕХ глаукомом и контролну групу. Добијени резултати указују да је у очној водици болесника са РЕХ глаукомом смањена концентрација аскорбинске киселине уз виши ниво азот-моноксида, што даје слику локалног запаљења са нарушеном оксидативном равнотежом. У новонасталим околностима почиње процес привлачења ћелија са покретањем инфламације на месту оштећења ткива. Придошле ћелије синтетисањем проинфламаторних цитокина ($TNF-\alpha$,

IL-6 и IL-17) започињу процес инфламације у оштећеном ткиву, што је показано и нашим резултатима за ниво проинфламаторних цитокина у очној водици. Проинфламаторни цитокини (TNF- α , IL-6 и IL-17) својим дејством на околне ћелије и ткиво започињу процес инфламације. Наши резултати указују да постоји виши ниво TNF- α , IL-6 и IL-17 у раној фази PEX синдрома уз виши ниво IL-6 у серуму болесника са раном и касном фазом PEX синдрома. Добијени резултати се разликује од резултата досадашњих истраживања (30). Такође смо утврдили да постоји виши ниво TNF- α и IL-17 у касној фази PEX синдрома и у фази развијеног PEX глаукома, док се тренд пораста нивоа IL-6 задржава у касној фази да би у фази PEX глаукома тај ниво досегао статистичку значајност. На основу података о могућим узроцима за покреатње процеса стварања фиброзног ткива, зна се да продужени утицај различитих фактора изазива хронично запаљење ткива (222). Главни узрок фиброзног процеса у телу, па и самом оку, може да буде оксидативни стрес са хроничним (продуженим) дејством на циљно ткиво (194). Хронични оксидативни стрес започиње процес измена у ткиву, са нарушеном хомеостазом- вазодијалтације, повећана пермеабилност, активација коагулационе каскаде, накупљање запљенских ћелија. Зато се сматра да су ови проинфламаторни цитокини укључени у рану фазу PEX синдрома. Добијени резултати указују на локалну и системску синтезу IL-6, као последицу нарушавања ткивне хомеостазе. Локално IL-6 активира синтезу и продукцију TNF- α и IL-17 у склопу Th1/Th17 имунског одговора (222). Раније студије су показале да TNF- α има профибротички ефекат путем индукције синтезе TGF- β (110). На овај начин може да се објасни виши ниво TGF- β у очној водици болесника са раном фазом PEX синдрома. Повишен ниво TNF- α у току целог процеса стварања PEX-а указује на хроничну инфламацију предњег сегмента ока. Од раније је доказано да TNF- α може да инхибира фагоцитозу колагена, што додатно потстиче процес фиброзе (94). Код људи, диференцијација Т лимфоцита у правцу Th17 захтева заједничку активност IL-6 и IL-1 (102). Поједине студије су показале да IL-6 и TGF- β исто тако могу да учествују у наведеном процесу диференцијације (103) (227). Стромалне ћелије под дејством IL-17 синтетишу IL-6, IL-8, гранулоцитни стимулирајући фактор- GCSF (од енгл. Granulocyte colony-stimulating factor), простагландин E2 и азот-моноксид (101) (228) (105). IL-17 својим дејством на моноците, макрофаге, лимфоците може да контролише и синтезу IL-1, TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12, IL-1Ra, простагландина E2 и стромелизин у хуманим макрофагама (106). Тако, IL-17 може да контролише синтезу IL-6 у раној фази PEX синдрома. TNF- α , IL-6 и IL-17 су главни проинфламаторни цитокини ране фазе PEX

синдрома. У касној фази РЕХ синдрома, у очној водици су повишени нивои IL-17 и TNF- α што је неопходно за одржавање процеса запаљења и настанак фиброзе ткива (стварање РЕХ-а). Према приказаним резултатима, ниво IL-6 је повишен у фази РЕХ глаукома док је снижен у касној фази РЕХ синдрома. Овакав налаз може да се објасни сазнањима Литона и сар који су показали да је ниво IL-6 повишен код болесника са глаукомом, услед активирања хомеостатског механизма за одржавање нормалне висине ИОП путем повећаног отицања очне водике (229). Механичким стрес, као што је повишен ИОП, стимулише ћелије трабекулама да синтетишу и продукују IL-6. Додатно, TGF- β може да активира синтезу IL-6 у трабекуларној мрежи (229). Из свега наведеног можемо да закључимо да у формирању РЕХ-а, спрега Th1/Th17 лимфоцита вероватно има пресудну улогу у настанку и развоју процеса запаљења. Са обзиром на то да је ниво IL-6 повишен у серуму болесника касне фазе РЕХ синдрома, говори у прилог хроничне инфламације у предилатационим местима читавог организма (зид крвног суда, висцерални органи, мозак и др.) (139) Анализирајући корелацију проинфламаторних цитокина дошли смо до закључка да постоја и јака позитивна корелација између нивоа IL-6 и IL-17 у очној водици болесника са раном фазом РЕХ синдрома, што и покреће локално запаљење. Потврдили смо да је повишен ниво IL-6 у очној водици болесника са раном фазом РЕХ синдрома праћен повишеним нивоом истог цитокина у серуму болесника са РЕХ глаукомом. На основу урађених корелација видимо да проинфламаторни цитокини утичу међусобно на одржавање високог ниво у свим фазама болести, локално, док системски ту улогу је преузео IL-6. Позитивна корелација између серумског нивоа TNF- α у раној фази РЕХ синдрома и нивоа IL-6 у очној водици болесника са РЕХ глаукомом. Додатно, забележена је и јака позитивна корелација у нивоима IL-6 и TNF- α у очној водици испитаника са РЕХ глаукомом. Предходно наведено упућује на значајну проинфламаторну улогу IL-6 у одмаклој фази болести. Добијени налази указују да се локална инфламација одржава дуж читавог процеса развоја РЕХ синдрома, преко ране и касне фазе, до фазе РЕХ глаукома. Локално запаљење, путем проинфламаторног цитокина TNF- α може да активира синтезу и продукцију азот-моноксида (81). Тако да је азот-моноксид као један од крајњих продуката запаљења у ткиву повишен у фази РЕХ глаукома.

У току процеса стварања фиброзног ткива (РЕХ) регулаторни цитокини преузимају главну улогу. Регулаторне цитокине смо на основу њихове улоге у процесу стварања РЕХ, поделили на: профибротичке, ангиогенетске и антиангиогенетске.

Повишен ниво TGF- β и PDGF у очној водици болесника са раном фазом PEX синдрома први је корак у даљем процесу фиброзе, са крајњим циљем стварања фиброзног ткива (222). Повишен ниво PDGF се одржава и током касне фазе PEX синдрома. Могуће је да TGF- β својим деловањем привлачи фибробласте у ткиво, док преко PDGF на даље контролише њихову пролиферацију и диференцијацију (222). PDGF поспешује и синтезу IGF (230). Повишен ниво PDGF у очној водици праћен је повишеним нивоом истог цитокина и у циркулацији болесника групе са касним PEX синдромом. Одржавање повишеног ниво PDGF у касној фази PEX синдрома продужава стимулацију фибробласта у циљу секреције других профиброчких цитокина, неопходних за настављање процеса фиброзе ткива (EGF, IGF). Удружено, напред поменути профибротички цитокини појачавају стимулативни ефекат на фибробласте. Додатно, на ток запаљења утичу и повишени нивои EGF, IL-8 и PDGF у серуму испитаника у касној фази PEX синдрома. Наставља се процес хроничног локалног запаљења даљом стимулацијом синтезе фиброзног ткива. За одржавање тог процеса најодговорнији су EGF и IL-8, јер је њихов ниво повишен у PEX глаукому. С обзиром да је позната чињеница да IL-17 поспешује синтезу IL-8, а како је ниво IL-17 повишен у фази PEX глаукома, и ниво IL-8 је повишен и у фази развијеног PEX глаукома (101). Како је ниво TGF- β повишен у очној водици у току ране фазе PEX синдрома, вероватно да он активира синтезу CTGF што може да допринесе регистрању повишеног нивоа CTGF у очној водици болесника са PEX глаукомом (30). Предходна испитивања су показала да CTGF локално повећава синтезу и ослобађање EGF и IGF (72). EGF делује на пролиферацију, а IGF на диференцијацију фибробласта у миофибробласте (72). Миофибробласти су кључне ћелије у процесу стварања фиброзног ткива, јер својом активношћу стварају фиброзна влакна, која се депонују у околноштећено ткиво. Наши резултати говоре о повишеном нивоу EGF и IL-8 у очној водици болесника са PEX глаукомом, док IGF није детектован код болесника са раном и касном фазом PEX синдрома, да би се његова активност појавила у фази PEX глаукома. Утврђена је јака позитивна корелација серумског нивоа IGF болесника са PEX глаукомом и раном фазом PEX синдрома, као и позитивна корелација серумског нивоа EGF код болесника са раном фазом PEX синдрома и IGF болесника са PEX глаукомом. Такође, серумски ниво TGF- β болесника са развијеним PEX глаукомом је у позитивној корелацији са серумским нивоом PDGF исте групе испитаника. На основу добијених резултата закључујемо да је главна активност профибротичких цитокина (TGF- β и PDGF) у раној фази PEX синдрома, што је касније праћено појачаном

активношћу других регулаторних цитокина (EGF и IGF) у фази развијеног PEX глаукома. Повишене вредности EGF и IGF у очној водици праћене су њиховим високим вредностима у серуму у касној фази PEX синдрома што се одржава и у фази PEX глаукома. Резултати могу да укажу да је главни узрок настанка PEX-а локалног карактера, али да каснија системска синтеза цитокина може да допринесе локалном погоршању васкуларног и оксидативног статуса кроз таложење фиброзног материјала (PEX) у све делове предњег сегмента ока и зидове крвних судова. Таложење PEX-а у предњи сегмент ока изазива повећање очног притиска због повећаног отпора отицању очне водике, док таложење PEX у зидове крвних судова смањује проток крви у крвним судовима мржењаче, чиме се ствара основа за развој глаукома.

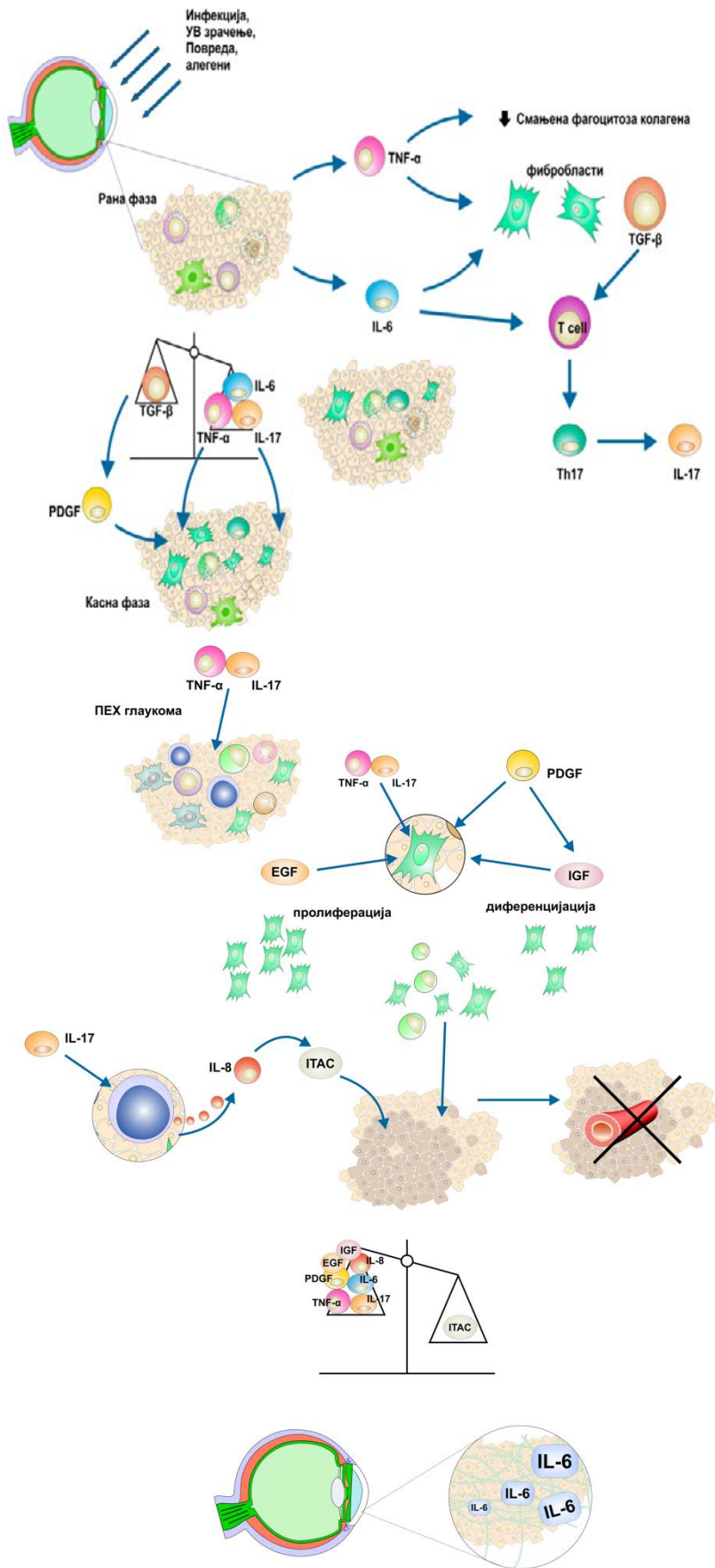
Важно је знати да поремећај оксидативног статуса може да активира синтезу ангиогенетских фактора. Хронични утицај различитих фактора активира процесе васкулогенезе (*de novo* стварање крвних судова) и ангиогенезе (настајање нових капилара из постојећих крвних судова) (73). Постоји неколико ангиогенетских фактора који су укључени у овај процес: васкуларни ендотелни фактор раста- VEGF (од енгл. Vascular endothelial growth factor) (192), фибробластни фактор раста- FGF (од енгл. Fibroblast growth factor), TGF- β , PDGF (231), али и други цитокини и хемокини (232). Наше истраживање указује да су нивои TGF- β и PDGF повишени у очној водици болесника са раном фазом PEX синдрома, док је IL-8 повишен у очној водици и серуму болесника са развијеним PEX глаукомом. Из предходно наведеног можемо да претпоставимо да процес фиброзирања започиње у раној фази PEX синдрома, уз доказану активност TGF- β и наставља се уз таложење у све делове ока у касној фази (појачана активност PDGF), као и у фази развијеног PEX глаукома (EGF, IGF). Новонастали продукат-фиброзно ткиво (PEX) се таложи у све делове ока, па и у крвне судове, чиме се смањује перфузија локалног ткива. Упркос новонасталим хипоксичним условима и ангиогенетском утицају цитокина, не уочавају се крвни судови у оку. Једноставно, постоје фактори (цитокени, хемокини) који блокирају процес ангиогенезе. Познато је да MCP-1 (од енгл. Monocyte chemotactic protein-1), MIP-1 α (од енгл. Macrophage Inflammatory Proteins), RANTES (од енгл. Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted), ITAC могу да зауставе процес ангиогенезе (224). С обзиром на то да су раније студије показале да нивои MCP-1, MIP-1 α , RANTES нису повишени у PEX глаукому (233), желели смо да испитамо ниво ITAC молекула, као могућег важног антиангиогенетског фактора. Добијени резултати указују да је ниво овог хемокина повишен у очној водици и серуму болесника са развијеним PEX

глаукомом. Додатно, установљена је позитивна корелација између серумског и хуморалног нивоа овог хемокина код болесника са РЕХ глаукомом. Из свега наведеног можемо да закључимо да је коначни корак у процесу ангиогенезе у оку код пацијената са РЕХ глаукомом заустављен деловањем ITAC молекула.

На основу наведених резултата и познатих чињеница везаних за процес стварања РЕХ, направили смо схематски приказ могућих дешвања у оку у току процеса стварања РЕХ, Слика бр 5.

Према нашим сазнањима, локално измењен оксидативни статус је први корак у покретању хроничне инфламације у оку, уз следствено ослобађање проинфламаторних цитокина. Проинфламаторни цитокини, на даље, условљавају ослобађање профибротичких цитокина у ткиво, који су неопходни за активацију, диференцијацију и пролиферацију фибробласта. Активирани фибробласти су главни прозвођачи фиброзовних влакана, који се међусобно везују у РЕХ материјал. Накупљени РЕХ материјал у свим деловима ока, нарочито у пределу одводних путева очне водиче и у крвним судовима, су основа за развоја РЕХ глаукома, који је по својим карактеристикама сврстан у теже форме глаукома.

Из свега наведеног важно би било да се у овом процесу пронађе *locus minoris*, где он може бити заустављен.



Слика бр 5. Процес стварања PEX.

Рана фаза- запаљење у ткиву које је праћено повишеном секрецијом проинфламаторних цитокина (TNF-α, IL-6 IL-17). TNF-α својим дејством на фибробласте поспешује секрецију TGF-β и инхибира макрофагну фагоцитозу колагена у ткиву (поспешује се процес фиброзе). IL-6 уз садејство TGF-β поспешује диференцијацију Th ћелија у Th17, када и започиње секреција IL-17, уз појачану секрецију профибротичког цитокина PDGF, који започиње активацију фибробласта. PEX глауком-Постоји појачана активност проинфламаторних цитокина (TNF-α, IL-6 и IL-17), али како IL-6 није показивао активност у касној фази, препоставља се да је за његову секрецију одговоран механички стрес трабекулама коморног угла услед, због присуства PEX, повишеног ИОП. PDGF активира синтезу EGF и IGF синтезу, што поспешује пролиферацију и диференцијацију фибробласта. IL-17 дејством на неутрофиле активира синтезу IL-8, али његова ангиогенетска активност је заустављена истовременом секрецијом ITAC. Коначан исход овог процеса је стварање PEX, њихова акумулација у све делове ока, повишен ИОП, повећана хипоксија у ткиву, али без стварања нових крвних судова.

6. Закључак

На основу нашег истраживања можемо да изведемо неколико закључака:

1. Псеудоексфолијације су системско обољење које изазива стварање и акумулацију РЕХ материјала у свим деловима ока, али и у зидовима крвних судова ока и читавог организма.
2. Псеудоексфолијативни синдром/глауком се чешће јавља у старијем животном добу код особа женског пола.
3. Болесници са РЕХ синдромом/глаукомом чешће оболевају од исхемијске болести срца, анеуризме аорте, цереброваскуларних болести и имају сензонеурално оштећење слуха.
4. Псеудоексфолијације су у синдрому клинички чешће монолатерално, док је код развијене форме РЕХ глаукома чешћа билатерална манифестација.
5. Нуклеарна, као и брунесцентна и зрела скрама су најчешће присутне код болесника са РЕХ синдромом/глаукомом.
6. Степен мидријазе је у реципроцитету са степеном испољености РЕХ-а, док је одржавање постигнуте мидријазе у обрнутом односу.
7. Концентрација аскорбинске киселине у очној водици се смањује са напредовањем процес стварања РЕХ материјала, што указује на поремећен антиоксидативни статус.
8. Концентрација азот-моноксида, као индикатора оксидативног стреса и запаљења, се повећава у серуму болесника са раном фазом РЕХ синдрома и у очној водици болесника са РЕХ глаукомом.
9. Проинфламаторни цитокини (TNF- α , IL-6 и IL-17) су кључни у започињању процеса стварања РЕХ материјала. Нивои TNF- α и IL-17 су повишени у очној водици болесника са РЕХ синдромом/глаукомом, док је IL-6 повишен локално у раној фази РЕХ синдрома и у РЕХ глаукому. Ниво IL-6 у серуму наших испитаника је био повишен код болесника са раном и касном фазом РЕХ синдрома.
10. Регулаторни цитокини показују локално почетну активност TGF- β у раној фази РЕХ синдрома, праћена појачаном активношћу PDGF, која се одржава и у касној фази РЕХ синдрома. У фази развијеног РЕХ глаукома је повишен ниво

EGF, IL-8 и ITAC, док IGF није детектован у фазама PEX синдрома (рана и касна фаза), али је његова активност забележена у фази PEX глаукома.

11. У серуму болесника са раном фазом PEX синдрома је повишен TGF- β , да би у касној фази профибротичку улогу преузели PDGF, EGF и IL-8. Коначну улогу у фази PEX глаукома имају IL-8 и ITAC.
12. Наши резултати указују да је настанак PEX непосредно везан за старије животно доба, што обезбеђује нарушен оксидативни статус уз адитивни, хронични утицај различитих фактора спољашње средине. Поремећен оксидативни статус покреће Th1/Th17 инфламаторни одговор. Продукцијом проинфламаторних цитокина (TNF- α , IL-6 и IL-17) започињање процес стварања PEX материјала, који карактерише рани PEX синдром, где своју активност бележи и први регулаторни цитокин TGF- β . Његовим дејством започиње фиброза ткива. У касном PEX синдрому PDGF наставља процес фиброзе, чији већи део се одвија у процесу PEX глаукома. Дејством EGF и IGF настаје пролиферација и диференцијација фибробласта у миофибробласте, чији је задатак синтеза фиброзног ткива (псеудоексфолијација). Концентрација проинфламаторних цитокина (TNF- α и IL-17) се одржава на вишем нивоу у свим фазама болести, што указује на хроничан процес, а IL-6 је повишен у раном PEX синдрому и PEX глаукому, што је последица реакције трабекулума на механички стрес услед повишеног ИОП. IL-17 делујући на неутрофиле поспешује синтезу IL-8, који делује хемотактично, али и ангиогенетски. Клинички крвни судови нису уочљиви, а наши резултати показују да ITAC спречава њихов настанак. Фиброзно ткиво (PEX) се таложи у све делове предњег сегмента ока и крвне судове. У зависности од степена таложења PEX-а, настају различите псеудоексфолијативне промене (рана и касна фаза PEX синдрома или PEX глауком).

7. Лумепамыра

1. Henry JC, Krupin T, Schmitt M, et al. Long-term follow-up of pseudoexfoliation and the development of elevated intraocular pressure. *Ophthalmology* 1987;94:545–552.
2. Aasved H. Mass screening for fibrillogluthia epitheliocapsularis, so-called senile exfoliation or pseudoexfoliation of the anterior lens capsule. *Acta Ophthalmol* 1971;49:334-343.
3. Kozart DM, Yanoff M. Intraocular pressure status in 100 consecutive patients with exfoliation syndrome. *Ophthalmology* 1982;89:214-218.
4. Kozobolis VP, Papatzanaki M, Vlachonikolis IG, Pallikaris IG, Tsambarlakis IG. Epidemiology of pseudoexfoliation in the island of Crete (Greece). *Acta Ophthalmol* 1997;75:726-729.
5. Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GOH. Perspective-ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome *Am J Ophthalmol* 2006;141:921-937.
6. Ritch R, Schlotzer-Schrehardt U, Konstas AGP. Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome? *Prog Ret Eye Res* 2003; 22: 253- 255.
7. Aasved H. Intraocular pressure in eyes with and without fibrillogluthia epitheliocapsularis. *Acta Ophthalmol* 1971;49:334-343.
8. Ringvold A. Epidemiology of glaucoma in Northern Europe. *Eur J Ophthalmol* 1996;6:26-29.
9. Shrum K, Hattenhauer MG, Hodge D. Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol* 2000;129:83-86.
10. Axenfeld T. Uber besondere Formen von Irisatrophie, besonders die hyaline Degeneration des Pupillarsaumes und die pupillare Pigmentatrophie des Irishinterblates. *Bericht Ophth Gesellschaft Heidelberg* 1911;37:225-235.
11. Lindberg JG. Kliniska Undersokningar over Depigmentering av Pupillarandes och Genomlysbarheten av Iris vid Fall av Alderstarr samt Normala Ogon hos Gamla Personer. Thesis. Helsingfors Unviversitat. Helsingfors 1917.

12. Gullstrand A. Einführung in die Methoden der Dioptrik des Auges. Leipzig. 1911.
13. Vogt A. Ein neues Spallampenbild: Abschilferung des Linsenvorderkapsel als wahrscheinliche Ursache von senilem chronischen Glaukom. Schweiz Med Wochenschr 1926;56:413-423.
14. Vogt A. Ein neues Spaltlampenbild des Pupillargebietes: Heilblauer Pupillarsaumfilitz mit Hautchenbildung auf der Linsenvorderkapsel. Klin Monatsbl Augenhk 1925;56:413-423.
15. Handmann M. Über drei Fälle von Pupillarsaumfilitz und Hautchenbildung auf der vorderen Linsenkapsel in Alter. Klin Monatsbl Augenhk 1926;76:482-489.
16. Malling B. Untersuchungen über das Verhältnis zwischen iridocyclitis und Glaukom. Acta Ophthalmol 1923;1:97-130.
17. Trantas A. Lesions seniles de la capsule antérieure du cristallin et du bord pupillaire. Arch Ophthalmol 1929;46:482-491.
18. Busacca A. Struktur und Bedeutung der Hautchenniederschläge in der vorderen und hinteren Augenkammer. Graefes Arch Ophthalmol 1927;119:135-176.
19. Busacca A. Zonulalamelle Ablösung, Linsenkapselhautchen oder Hautchenniederschläge? Klin Monatsbl Augenhk 1930;85:823-828.
20. Kuchle M, Naumann GO. Occurrence of pseudoexfoliation following penetrating keratoplasty for keratokonus. Br J Ophthalmol 1992;76:98-100.
21. Konstas AG, Ritch R, Bufidis T, Morales J, Qi Y, Streeten BW. Exfoliation syndrome in a 17-year-old girl. Arch Ophthalmol 1997;115:1063-1067.
22. Horven I, Hutchinson BT. Exfoliation syndrome. Case report of 31 and 35-year-old patients. Acta Ophthalmol (Copenh) 1967;45:294-298.
23. Mohamad S, Kazmi N. Subluxation of the lens and ocular hypertension in exfoliation syndrome. Pak J Ophthalmol 1986;2:77-78.
24. Ritch R, Schlotzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. Surv Ophthalmol 2001;45:265-315.

25. Schlotzer-Schrehardt U, von der Mark K, Sakai LY, Naumann GOH. Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:970-984.
26. Zenkel M. Differential gene expression in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3742-3752.
27. Ovodenko B, Rostagno A, Neubert TA et al. Proteomic analysis of exfoliation deposits. *Invest Ophthalmol* 2007;48:1447-1457.
28. Schlotzer-Schrehardt U. Molecular pathology of pseudoexfoliation syndrome- glaucoma- New insights from LOXL1 gene expression. *Exp Eye Res* 2008;88:776-785.
29. Yoneda K, Nakano M, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Disease-related quantitation of TGF- β 1 in human aqueous humour. *Growth factors* 2007;25:160-167.
30. Zenkel M, Lewczuk P, Junemann A, Kruse F, Naumann GOH, Schlotzer-Schrehardt U. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Am J Pathol* 2010;176:2868-2879.
31. Damji KF, Bains HS, Stefansson E, et al. Is pseudoexfoliation syndrome inherited? A review of genetic and nongenetic factors and a new observation. *Ophthalmic Genet* 1998;19:175-185.
32. Lemmela S, Forsman E, Sistonen P, Eriksson A, Forsius H, Jarvela I. Genome-wide scan of exfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:4136-4142.
33. Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem GB, et al. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science* 2007;317:1397-1400.
34. Fan BJ, Pasquale L, Grosskreutz C, et al. DNA sequence variants in the LOXL1 gene are associated with pseudoexfoliation glaucoma in a US clinic-based population with broad ethnic diversity. *BMC Med Genet* 2008;9:5.
35. Ramprasad VL, George R, Soumitra N, Scharmila F, Vijaya L, Kumaramanickavel G. Association of non-synonymous single nucleotide polymorphism in the LOXL1 gene with pseudoexfoliation syndrome in India. *Mol Vis* 2008;14:318-322.

36. Hayashi H, Gotoh N, Ueda Y, Nakanishi H, Yoshimura N. Lysil oxidase- like 1 polymorphism and exfoliation syndrome. *Investig Ophthalmol* 2008;145:582-585.
37. Csiszar K. Lysil oxidases: a novel multifunctional amine-oxidase family. *Prog Nucleic Acid res* 2001;70:1-32.
38. Decitre M, Gleyzal C, Raccurt M, et al. Lysil oxidase-like protein localizes to sites of de novo fibrinogenes in fibrosis and in the early srtoal reaction of ductal breast carcinomas. *Lab Invest* 1998;78:143-151.
39. Liu X, Zha, Y, Pawlyk B, et al. Elastic fiber homeostasis requires lysil oxidase-like 1 protein. *Nat Genet* 2004;36:178-182.
40. Ritch R. Exfoliation syndrome. The most common identifiable cause of open angle glaucoma. *J Glaucoma* 1994;3:176-177.
41. Bertelsen TI, Drablos PA, Flood PR. The so- called senile exfoliation (pseudoexfoliation) of the anterior lens capsule, a product of the lens epithelium. *Fibrillopathia epitheliocapsularis*. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1964;42:1096-1113.
42. Seland JH, Chylack LT. Cataracts in the exfoliation syndrome (fibrillopathia epitehliocapsulares). *Trans Ophthalmol Soc UK* 1982;102:375-379.
43. Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GOH. A hystopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 1994;118:730-743.
44. Seland JH. Histopathology of the lens capusle in fibrillopathia epitheliocapsularis (FEC) or so-called senile exfoliation or pseudoexfoliation. An electronic microscopic study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1979;57:477-499.
45. Hietanen J. Histopathological and lecitin histochemical study of exfoliation syndrome. MD thesis, Helsinki University of Helsinki, 1-93, 1995.
46. Hietanen J, Tarkannen A. Glycoconjugates in exfoliation syndrome. A lecitin histochemical study of the cilliary body and lens. *Acta opthalmol (Copenh)* 1989;67:288-294.

47. Engin KN, Yemişçi B, Yiğit U, Ağaçhan A, Coşkun C. Variability of serum oxidative stress biomarkers relative to biochemical data and clinical parameters of glaucoma patients. *Molecular Vision* 2010;16:1260-1271.
48. Li G, Luna C, Liton P, Navarro I, Epstein DL, Gonzales P. Sustained stress response after oxidative stress in trabecular meshwork. *Molecular Vision* 2007;13:2282-2288.
49. Schlötzer-Schrehardt U. Oxidative stress and pseudoexfoliation glaucoma. *Klin Monbl Augenheilkd* 2010;227:108-113.
50. Koliakos GG, Konstas AGP, Schlötzer-Schrehardt U. et al. 8-Isoprostaglandin F2a and ascorbic acid concentration in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol* 2003;87:353-356.
51. Zenkel M, Kruse FE, Junemann AG, Naumann GOH, Schlotzer- Schrehardt U. Defficiency of the extracellular chaperone clusterin in eyes with pseudoexfoliation syndrome may be implicated in the aggregation and deposition of pseudoexfoliative material. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1982-1990.
52. Koliakos GG, Konstas AGP, Schlotzer- Schrehardt U, et al. Endothelin-1 concentration is increased in the aqueous humor of patients with exfolition syndrome. *Br J Ophthalmol* 2004;88:523-527.
53. Bleich S, Roedl J, von Ahsen N, et al. Elevated homocysten levels in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2004;138:162-164.
54. Hollo G, Lakatos P, Farkas K. Cold pressor test and plasma endothelin-1 concetration in primary open angle glaucoma and capsular glaucoma. *J Glaucoma* 1998;7:105-110.
55. van Guldener C, Nanayakkara PBW, Stehouwr CDA. Homocystein and blood pressure. *Current Hypertension reports* 2003;5:26-31.
56. Parodi MB, Bondel E, Saviano S, Ravalico G. Iris indocyanine green angiography in pseudoexfoliation syndrome and capsular glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2000;78:437-442.
57. Wang H, Kochevar IE. Involment of UVB-induced reactive oxygen in TGF-beta biosynthesis and activation in keratinocytes. *Free Radic Biol Med* 2005;38:169-173.

58. Ho SL, Dogar GF, Wang J, et al. Elevated aqueous humor tissue inhibitor of matrixmetalloproteinase-1 and connective tissue growth factor in pseudoexfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol* 2005; 89:169-173.
59. Koliakos GG, Schlotzer- Schrehardt U, Konstas AG, Bufidis T, Georgiadis N, Dimitriadou A. Transforming and insulin-like growth factors in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:482- 748.
60. Zenkel M, Poschl E, von der Mark K,et al. Role of transforming growth factor-beta1 and its latent form binding protein in pseudoexfoliation syndrome. *Exp Eye Res* 2001;73:765-780.
61. Ronkko S, Rekonen P, Kaarniranta K, Puutstjarvi T, Terasvirta M, Uusitalo H. Phospholipase A2 in chamber angle of normal eyes and patients with primary open angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Mol Vis* 2007;13:408-417.
62. Johnson DH, Brubaker R. Dynamics of aqueous humor in the syndrome of exfoliation with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1982;93:629-634.
63. Schuba L, Nicoleta MT, Rafuse PE. Correlation of capsular pseudoexfoliation material and iridocorneal angle pigment with the severity of pseudoexfoliation glaucoma. *J Glaucoma* 2007;16:94-97.
64. Wilson MS, Wynn TA. Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation. *Mucosal Immunol* 2009;2:103-121.
65. Abu-Amero KK, Kondkar AA, Mousa A, Osman EA, Al-Obeidan SA. Decreased total antioxidants status in the plasma of the patients with pseudoexfoliation glaucoma. *Molecular Vision* 2011;17:2769-2775.
66. Chen LB, Buchanan JM. Mitogenic activity of blood components. Thrombin and Prothrombin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:131-135.
67. Bogatkevich GS, Tourkina E, Silver RM, Ludwicka- Bradley A. Thrombin differentiates normal lung fibroblasts to a myofibroblasts phenotype via the proteolytically activated receptor-1 and a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem* 2001 30;276:45184-45192.

68. Murphy G, Docherty AJ. The matrix metalloproteinase and their inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7:122-125.
69. McKeown S, Richter AG, O'Kane C, McAuley DF, Thickett DR. Matrix metalloproteinase expression and abnormal lung permeability are important determinants of outcome in IPF. *Eur Respir J* 2008;33:77-84.
70. Erjafalt JS, Sundler F, Persson CG. Eosinophils, neutrophils and venular gaps in the airway mucosa at epithelial removal-restitution. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1666-1674.
71. Wilke CA, Morris SB, Glass MC, Di Giovine B, Kunkel SL, Strieter RM. The CXC chemokines, IL-8 and IP-10 regulate angiogenic activity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 1997;159:1437-1443.
72. Grotendorst GR, Rahmanie H, Duncan R. Combinatorial signaling pathways determine fibroblast proliferation and myofibroblast differentiation. *The FASEB J* 2004;18:469-480.
73. Semenza GL. Vasculogenesis, angiogenesis, and arteriogenesis: mechanisms of blood vessel formation and remodeling. *J Cell Biochem* 2007;102:840-847.
74. Đorđević V. Free radicals in cell biology. *International Review of Cytology* 2004; 237:57-89.
75. Lancelot E, Callebert J, Revaud ML, Boulu RG, Plotkin M. Detection of hydroxyl radicals in rat striatum during transient focal cerebral ischemia: possible complication in tissue damage. *Neurosci Lett* 1995;197:85-8.
76. Harmon D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:7124-7142.
77. Martin-Cayuela M. Oxygen radicals in chemistry and biology. *Biochimie* 1995;77:147-161.
78. Thomas JP, Maivirino M, Ursini F, Girotti AW. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1990;265:454-461.
79. Jackues PF, Chylack LT, Mc Gandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataract. *Arch Ophthalmol* 1988;106:337-40.

80. Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: role of L-arginine deaminase and imuno nitrogen oxidation to nitrite. *Science* 1987;235:473-6.
81. Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM. Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1988;157:87-94.
82. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, et al. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertensio* 1994;23:1121-1131.
83. Stuehr DJ, Cho HJ, Kwon NS, Weise MF, Nathan CF. Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an FAD- and FMN-containing flavoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7773-7777.
84. Rapoport RM, Murad F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxation in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ Res* 1983;52:352-357.
85. Ignarro LJ, Harbison RG, Wood KS, Kadowitz PJ. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;237:893-900.
86. Grierson I. Glaucoma and nitric oxide. *Lancet* 1996;347:1781-1782.
87. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell* 2001;104:487–501.
88. Mikocka-Walus AA, Turnbull DA, Moulding NT, Wilson IG, Andrews JM, Holtmann GJ. Controversies surrounding the comorbidity of depression and anxiety in inflammatory bowel disease patients: a literature review. *Inflammatory Bowel Diseases* 2007;13:2.
89. Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem. Pharmacol* 2003;66:1403–1408.
90. Bouwmeester T, Bauch A, Ruffner H, et al. A physical and functional map of the human TNF alpha/NF-kappa B signal transduction pathway. *Nat Cell Biol* 2004;6:97–105.

91. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:363666–70.
92. Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, et al. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984;312:724–729.
93. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans. *FASEB J* 2003;17:884–886.
94. Chou DH, Lee W, McCulloch CA. TNF- α in activation of collagen receptors: implications for fibroblast function and fibrosis. *J Immunol* 1996;156, 4354–4362.
95. Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). *Science* 1985;230:630–632.
96. Clark IA. How TNF was recognized as a key mechanism of disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007;18:335–343.
97. Hurst SM, Wilkinson TS, McLoughlin RM, et al. IL-6 and its soluble receptor orchestrate a temporal switch in the pattern of leukocyte recruitment seen during acute inflammation. *Immunity* 2001;14:705-714.
98. Oh JW, Van Wagoner NJ, Rose-John S, Benveniste EN. Role of IL-6 and the soluble IL-6 receptor in inhibition of VCAM-1 gene expression. *J Immunol* 1998;161:4992-4999.
99. Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 1998;101:311-320.
100. McLoughlin RM, Hurst SM, Nowell MA, et al. Differential regulation of neutrophil-activating chemokines by IL-6 and its soluble receptor isoforms. *J Immunol* 2004;172:5676-5683.
101. Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, et al. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med* 1996;183:2593-2603.
102. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukin-1 and 6 but not transforming growth factor- β is essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol* 2007;8:942-949.

103. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006;441:231-234.
104. Awane M, Andres PG, Li DJ, Reinecker HC. NF-kappa B-inducing kinase is a common mediator of IL-17, TNF-alpha, and IL-1 beta-induced chemokine promoter activation in intestinal epithelial cells. *J Immunol* 1999;162:5337-5344.
105. Teunissen MB, Koomen CW, de Waal Malefyt R, Wierenga EA, Bos JD. Interleukin-17 and interferon-gamma synergize in the enhancement of proinflammatory cytokine production by human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1998;111:645-649.
106. Jovanovic DV, Di Battista J, Martel-Pelletier J, et al. IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-1 and TNF- α , by human macrophages. *J Immunol* 1998;60:3513-3521.
107. Khalil N. TGF-beta: from latent to active. *Microbes Infect* 1999;1:1255-1263.
108. Daopin S, Piez K, Ogawa Y, Davies D. Crystal structure of transforming growth factor-beta 2: an unusual fold for the superfamily. *Science* 1992;257:369-373.
109. Annes JP, Munger JS, Rifkin DB. Making sense of latent TGF-beta activation. *J Cell Sci* 2003;116:217-224.
110. Sullivan DE, Ferris M, Pociask D, Brody AR. Tumor necrosis factor- α induces transforming growth factor- β 1 expression in lung fibroblasts through the extracellular signal-regulated kinase pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;32:342-349.
111. Taipale J, Miyazono K, Heldin CH, Keski-Oja J. Latent transforming growth factor-beta 1 associates to fibroblast extracellular matrix via latent TGF-beta binding protein. *J Cell Biol* 1994;124:171-181.
112. Taylor AW. Review of the activation of TGF-beta in immunity. *J Leukoc Biol* 2009;85:29-33.
113. Mu D, Cambier S, Fjellbirkeland L, et al. The integrin alpha(v)beta8 mediates epithelial homeostasis through MT1-MMP-dependent activation of TGF-beta1. *J Cell Biol* 2002;157:493-507.

114. Mukaida N, Shiroo M, Matsushima K. Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J Immunol* 1989;143:1366-1371.
115. Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K, Strieter RM. Interleukin-8 (IL-8): the major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res* 1991;17:17-23.
116. Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *The Journal of Biological Chemistry* 1990;265:7709–7712.
117. Barnham KJ, Torres AM, Alewood D, et al. Role of the 6-20 disulfide bridge in the structure and activity of epidermal growth factor. *Protein Science* 1998;7:1738–1749.
118. Harris RC, Chung E, Coffey RJ. EGF receptor ligands. *Experimental Cell Research* 2003;284:2–13.
119. Dreux AC, Lamb DJ, Modjtahedi H, Ferns GA. The epidermal growth factor receptors and their family of ligands: their putative role in atherogenesis. *Atherosclerosis* 2006;186:38–53.
120. Cohen P, Peehl DM, Lamson G, Rosenfeld RG. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *Journal of Clinical Endocrinol and Metabol* 1991;73:401–407.
121. Rosenfeld RG, Roberts CT, Jr, eds. *The IGF system—molecular biology, physiology and clinical applications*. Totowa, NY: Humana Press, 1999.
122. Ross M, Francis GL, Szabo L, Wallace JC, Ballard FJ. Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins inhibit the biological activities of IGF-1 and IGF-2 but not des-(1-3)-IGF-1. *Biochem. J* 1989;258:267-272.
123. Shigematsu S, Yamauchi K, Nakajima K, Ilijaima S, Aizava T, Hashizume K. IGF-1 Regulates Migration and Angiogenesis of Human endothelial cells. *Endocrine J* 1999;46:59-62.
124. Hannink M, Donoghue DJ. Structure and function of platelet-derived growth factor (PDGF) and related proteins. *Biochim. Biophys Acta* 1989;989:1–10.

125. Heldin CH. Structural and functional studies on platelet-derived growth factor. *EMBO J* 1992;11:4251–4259.
126. Alvarez RH, Kantarjian HM, Cortes JE. Biology of platelet-derived growth factor and its involvement in disease. *Mayo Clin Proc* 2006;81:1241–1257.
127. Pierce GF, Mustoe TA, Altmann BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem* 1991;45:319–326.
128. Kratchmarova I, Blagoev B, Haack-Sorensen M, Kassem M, Mann M. Mechanism of divergent growth factor effects in mesenchymal stem cell differentiation. *Science* 2005;308:1472–1477.
129. Cole KE, Strick CA, Paradis TJ, et al. Interferon-inducible T Cell Alpha Chemoattractant (I-TAC): A Novel Non-ELR CXC Chemokine with Potent Activity on Activated T. cell through selective high affinity binding to CXCR3. *J Exp Med* 1998;187:2009-2021.
130. Loetscher P, Pellegrino A, Gong JH, et al. The ligands of CXC chemokine receptor 3, I-TAC, Mig, and IP10, are natural antagonists for CCR3. *J Biol Chem* 2001; 276:2986–2991.
131. Naumann GOH, Schlotzer-Schrehardt U, Kuchle M. Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist. Intraocular and systemic manifestation. *Ophthalmology* 1998;105:951-968.
132. Schlotzer-Schrehardt U, Kuchle M, Naumann GOH. Electron-microscopic identification of pseudoexfoliation material in extrabulbar tissue. *Arch Ophthalmol* 1991;109:565-70.
133. Schlotzer-Schrehardt, U, Dorfler S, Naumann GOH. Corneal endothelial involvement in pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1993;110:1752- 1756.
134. Naumann GOH, Schlotzer- Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation. *Ophthalmology* 2000;107:1111-1114.
135. Chern KC, Meisler DM, Rockwood EJ, Lowde CY. Pseudoexfoliation syndrome masquerading as uveitis. *Am J Ophthalmol* 1994;118:392-393.

136. Miyake K, Matsuda M, Inaba M. Corneal endothelial changes in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 1989;108:49-52.
137. Knorr KLJ, Junemann A, Handel , Naumann GOH. Morphometrische und qualitative Veränderungen des Hornhautendothels bei Pseudoexfoliationssyndrome. *Fortschr Ophthalmol* 1991;88:786-789.
138. Prince AM, Ritch R. Clinical signs of the pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology* 1986;93:803-807.
139. Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 2006;141:921–937.
140. Konstas AG, Marshall GE, Cameron Sa, Lee WR. Morphology of iris vasculopathy in exfoliation glaucoma. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1993,71:751-759.
141. Joannides T, Katsourakis N, Velissaropoulos P. Glaucoma capsulare. *Ophthalmologica* 1961;142:160-189.
142. Kuchle M, Viestenz A, Martus P, Andel A, Junemann A, Naumann GOH. Anterior chamber depth and complications during cataract surgery in eyes with pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 2000;129:281-285.
143. Drolsum I, Haaskjold E, Sandvig K. Phacoemulsification in eyes with pseudoexfoliation. *J cataract Ref Surg* 1998;24:787-792.
144. Grodum K, Hejli A, Bengtsson B. Risk for glaucoma in ocular hypertension with or without pseudoexfoliation. *Ophthalmology* 2005;112:386-390.
145. Netland PA, Ye H, Streeten BW, Hernandez MR. Elastosis of the lamina cribrosa in pseudoexfoliation syndrome with glaucoma. *Ophthalmology* 1995;102:878- 886.
146. Schlotzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H: Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol* 1992;110:1752–1756.

147. Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC Jr, Keshgegian AA. Pseudoexfoliative fibrillopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1992;110:1757–1762.
148. Ringvold A, Blika S, Sandvik L. Pseudoexfoliation and mortality. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;75:255-256.
149. Grodum K, Hejl A, Bengtsson B. Glaucoma and mortality. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:397-401.
150. Linner E, Popovic V, Gottfries CG, Jonsson M, Sjogren M, Wallin A. The exfoliation syndrome in cognitive impairment of cerebrovascular or Alzheimer's type. *Acta Ophthalmol Scand* 2001;79:283- 285.
151. Hietanen J, Soisalon- Soininen S, Kivela T, Tarkkanen A. Evaluation of the clinical association between exfoliation syndrome and abdominal aortic aneurysm. *Acta Ophthalmol Scand* 2002;80:617- 619.
152. Cahill M, Early A, Stack S, Blayney AW, Eustace P. Pseudoexfoliation and sensorineural hear loss. *Eye* 2002;16:261- 266.
153. Leibovitch I, Kurtz S, Shemesh G. et al. Hyperhomocystinemia in pseudoexfoliation glaucoma. *J Glaucoma* 2003;12:36-39.
154. Hollo G, Jozsa A; Kempler P, Bansagi B, Vargha P. Altered regulation of systemic circulation in capsular glaucoma. *Ophthalmologica Hungarica* 1998;135:51-54.
155. Bojic I, Ermacora R, Polic S, et al. Pseudoexfoliation syndrome and asymptomatic myocardial dysfunction. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:446-449.
156. Irkec M. Exfoliation and carotid stiffness. *Br J Ophthalmol* 2006;90:529-530.
157. Visontai Z, Merisch B, Kollai M, Hollo G. Increase of carotid artery stiffness and decrease of baroreflex sensitivity in exfoliation syndrome and glaucoma. *Br J Ophthalmol* 2006;90:563-567.

158. Puustjarvi T, Blomster H, Kontkanen M, Punnonen K, Terasvurta M. Plasma and aqueous humor levels of homocysteine in exfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:749-754.
159. Astrom S, Linden C. Incidence and prevalence of pseudoexfoliation and open angle glaucoma in northern Sweden. Baseline report. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85:828-831.
160. Sibour G, Finazzo C, Boles Carenini A. Monolateral pseudoexfoliation of the capsule: a study of choroidal blood flow. *Acta Ophthalmol Scand* 1997;224:13-14.
161. Vesti E, Kivela T. Exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 2000;19:345-368.
162. Cursiefen C, Hammer T, Kuchle M, Naumann GOH, Schlotzer-Schrehardt U. Pseudoexfoliation syndrome in eyes with ischemic central vein occlusion. *Acta Ophthalmol (Scand)* 2001;79:476-478.
163. Kivela T, Hietanen J, Uuistalo M. Autopsy analysis of clinically unilateral exfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2008-2015.
164. Harju M, Vesti E. Blood flow of the optic nerve head and peripapillary retina in exfoliation syndrome with unilateral glaucoma or hypertension. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:271-7.
165. Harju M. Exfoliation glaucoma: studies on intraocular pressure, optic nerve head morphometry, and ocular blood flow. *Acta Ophthalmol (Scand)* 2002;80:228-229.
166. Mistlberger A, Grushmann M, Hitzl W, Grabner G. Pulsatile ocular blood flow in patients with pseudoexfoliation. *Int Ophthalmol* 2001;23:337-342.
167. Jonas JB, Papastathopoulos KI. Optic disc appearance in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol* 1997;123:174-180.
168. Tezel G, Wax MB. Increased production of tumor necrosis factor- α by glial cells exposed to simulated ischemia or elevated hydrostatic pressure induces apoptosis in cocultured retinal ganglion cells. *J Neurosci* 2000;20:8693-8700.

169. Konstas AGP, Mantziris DA, Stewart WC. Diurnal intraocular pressure in untreated exfoliation and primary open angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1997;115:182-185.
170. Puska PM. Unilateral exfoliation syndrome: Conversion to bilateral exfoliation and to glaucoma. A prospective 10-year follow-up study. *J Glaucoma* 2002;11:517-524.
171. Wishart PK, Speath GL, Poryzess EM. Anterior chamber angle in the exfoliation syndrome. *Br J Ophthalmol* 1985;69:103-107.
172. Blika S, Saunte E. Timolol maleate in the treatment of glaucoma simplex and glaucoma capsulare. A three-year follow up study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1982;60:967-976.
173. Heijl A, Strahlman E, Sverrisson T, et al. A comparison of dorzolamide and timolol in patients with pseudoexfoliation and glaucoma or ocular hypertension. *Ophthalmology* 1997;104:137-142.
174. Alm A, Schoenfelder J, Dermott J. A five-year, multicenter, open-label, safety study of adjunctive latanoprost therapy for glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2004;122:957-965.
175. Konstas AG, Mylopoulos N, Karabatsas CH, et al. Diurnal intraocular pressure reduction with latanoprost 0.005% compared to timolol maleate 0.5% as monotherapy in subjects with exfoliation glaucoma. *Eye* 2004;18:893-899.
176. Petounis A, Mylopoulos N, Kandarakis A, Andreanos D, Dimitrakoulis N. Comparison of additive intraocular pressure-lowering effect of latanoprost and dorzolamide when added to timolol in patients with open angle glaucoma or ocular hypertension: a randomized open-label multicenter study in Greece. *J Glaucoma* 2001;10:316-324.
177. Konstas AGP, Hollo G, Irkec M, et al. Diurnal IOP control control with bimatoprost vs latanoprost in exfoliative glaucoma: a crossover observer-masked 3-center study. *Br Ophthalmol* 2007;91:757-760.
178. Konstas AGP, Kozobolis VP, Tersis I, Leech J, Stewart WC. The efficacy and safety of the timolol-dorzolamide fixed combinationcs latanoprost in exfoliation glaucoma. *Eye* 2003;17:41-46.
179. Brinchmann-Hansen O, Albreksten T, Anmarkrud N. Pilocarpine drops do not reduce intraocular pressure sufficiently in pseudoexfoliation glaucoma. *Eye* 7:511-516.

180. Melamed S, Ben Simon GJ, Levkovitz- Verbin H. Selective laser trabeculoplasty as primary treatment for open angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2003;121:957-960.
181. Society, European Glaucoma. Terminology and Guidelines for glaucoma. Dogma S.r.l. Savona.2003.
182. Wise JB, Witter SL. Argon laser therapy for open angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1979;97:319-322.
183. Threlkeld A, Hertzmark E, Sturm RT, et al. Comparative study of the efficacy of argon laser trabeculoplasty for exfoliation and primary open angle-glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1986;70:837-839.
184. Brancato R, Carassa R, Bettin P, Fiori M. Laser treatment of pseudoexfoliation glaucoma. *New Trends Ophthalmol* 1993;8:229-231.
185. Latina MA, Sibayan SAB, Shin DH, et al. Nd:YAG laser trabeculoplasty (selective laser trabeculoplasty). a multicenter, pilot, clinical study. *Ophthalmology* 1998;105:2082-2090.
186. Hodge WG, Damji KF, Rock W, Buhrmann R, Bowel AM, Pan Y. Baseline IOP predicts selective laser trabeculoplasty success at 1 year post-treatment:results from a randomised clinical trial. *Br J Ophthalmol* 2005;89:1157-1160.
187. Serghun S, Spiegel D. Comparasion of postoperative recovery after trabeculoplasty for pseudoexfoliation glaucoma and chronic primary open angle glaucoma. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1999;215:281-286.
188. Tornquist G, Drolsum L. Trabeculectomies. A long-term study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1991;69:450-454.
189. Popovic V, Sjostrand J. Course of exfoliation and simplex glaucoma after primary trabeculectomy. *Br J Ophthalmol* 1999;83:305-310.
190. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of Nitrate, Nitrite and [15N] Nitrate in Biological Fluids. *Anal Biochem* 1982;126:131-138.

191. Ruktowski M, Grzegorzczak K. Modifications of spectrophotometric methods for antioxidative vitamins determination convenient in analytic practice. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2007;6:17-28.
192. Yildirim Z, Yildirim F, Ucgun NI, Sepici-Dincel A. The role of the cytokines in the pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome. *Int J Ophthalmol* 2013;6:50-53.
193. Ritch R. Exfoliation syndrome. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12:124-30.
194. Schlotzer-Schrehardt U, Koca M, Naumann GOH. Pseudoexfoliation syndrome: ocular manifestation of systemic disorder? *Arch Ophthalmol* 1992;110:1752-1756.
195. Forsius H. Prevalence of pseudoexfoliation of the lens in Finns, Lapps, Icelanders, Eskimos, and Russians. *Trans Ophthalmol Soc UK* 1979;99:296-298.
196. Foster PJ, Buhrmann R, Quigly HA, Johnson GJ. The definition and classification of glaucoma in prevalence study. *Br J Ophthalmol* 2002;86:238-242.
197. Jonasson F, Damji KF, Arnarsson A et al. Prevalence of open angle glaucoma in Iceland. Reykjavik Eye Study. *Eye (Lond)* 2003;17:747-753.
198. Astrom S, Linden C. Incidence and prevalence of pseudoexfoliation and open angle glaucoma in Northern Sweden. I Baseline Report- *Acta ophthalmol Scand.* 2007;85:828-831.
199. Kozart DM, Yanoff M. Intraocular pressure status in 100 consecutive patients with exfoliation syndrome. *Ophthalmology* 1982;89:214-218.
200. Pohjanpelto P. Influence of exfoliation syndrome on prognosis in ocular hypertension >25mmHg. A long-term follow-up. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986;64:39-44
201. Bialasiwicz AA, Wali U, Shenoy R, Al Saeidi R. Cataract patients with pseudoexfoliation (PEX) syndrome among a population with high prevalence of PRX. Clinical findings and morphological and surgical characteristics. *Ophthalmology* 2005;102:1181-1185.
202. Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GOH. A histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1994;118:730-743.

203. Kim SJ, Flach AJ, Jampol LM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in ophthalmology. *Survey of Ophthalmology* 2010;55:108–133.
204. Mitchell P, Wang JJ, Smith W. Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *Am J Ophthalmol* 1997;124:68-77.
205. Praveen MR, Shah SK, Vasavada AR, et al. Pseudoexfoliation as a risk factor for peripheral vascular disease: a case control study. *Eye* 2011;2:174–179.
206. Helbig H, Schlotzer-Schrehardt U, Noske W, Kellner U, Foerster MH, Naumann GO. Anterior-chamber hypoxia and iris vasculopathy in pseudoexfoliation syndrome. *Ger J Ophthalmol* 1994;3:148-153.
207. Ritland JS, Egge K, Lydersen S, Juul R, Semb SO. Exfoliative glaucoma and primary open angle glaucoma: associations with death causes and comorbidity. *Acta ophthalmol Scand* 2004;82:401-404.
208. Lim DJ. Functional Structure of the organ of corti: a review. *Hear res* 1986;22:117-46.
209. Yazdani SH, Tousi A, Pakravan M, Faghihi AR. Sensorineural Hearing Loss in Pseudoexfoliation Syndrome. *Ophthalmology* 2008;115:425-9.
210. Konstas AGP, Hollo G, Astakhov Ys, et al. Presentation and long-term follow-up of exfoliation glaucoma in Greece, Spain, Russia and Hungary. *Eur J Ophthalmol* 2006; 16:60-66.
211. Fisher AEO, Naughton DP. Vitamin C contributes to inflammation via radical generating mechanisms: a cautionary note. *Medical Hypotheses* 2003;61:657-660.
212. Thomas WR, Holt PG. Vitamin C and immunity: an assessment of the evidence. *Clin Exp Immunol* 1978;32:370-379.
213. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Ann N Y Acad Sci* 2000;899:136-147.
214. Yoshida K, Okamura T, Kimura H, Brecht DS, Snyder SH, Toda N. Nitric oxide synthase-immunoreactive nerve fibers in dog cerebral and peripheral arteries. *Brain Res* 1993;629:67-72.

215. Dessy C, Ferron O. Pathophysiological Roles of Nitric Oxide: In the Heart and the Coronary Vasculature. *Current Medical Chemistry – Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents* 2004;3:207-216.
216. Green SJ, Mellouk S, Hoffman SL, Meltzer MS, Nacy CA. Cellular mechanisms of nonspecific immunity to intracellular infection: Cytokine-induced synthesis of toxic nitrogen oxides from L-arginine by macrophages and hepatocytes. *Immunol Lett* 1990;25:15-19.
217. Bredt DS, Snyder SH. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:682-685.
218. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res* 2006;25:490-513.
219. Takamoto M, Araie M. Genetics of primary open angle glaucoma. *Jap J Ophthal* 2014;58:1-15.
220. Berger S, Savitz SI, Nijhawan S, et al. deleterious role of TNF-alpha in retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:3605-3610.
221. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008;214:199-210.
222. Kovacs EJ, DiPietro LA. Fibrogenic cytokines and connective tissue production. *FASEB J* 1994;8:854-861.
223. Elovic AE, Ohshima H, Sauty A, et al. IL-4 dependent regulation of TGF-alpha and TGF-beta1 expression in human eosinophils. *J. Immunol* 1998;160:6121-6127.
224. Strieter RM, Gomperts BN, Keane MP. The role of CXC chemokines in pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest* 2007;117:549-556.
225. Schreier T, Degen E, Baschong W. Fibroblast migration and proliferation during in vitro wound healing. *Res in Exp Med* 1993;193:195-205.
226. Nakagome K, Dohi M, Okunishi K, Tanaka R, Miyazaki J, Yamamoto, K. In vivo IL-10 gene delivery attenuates bleomycin induced pulmonary fibrosis by inhibiting the production and activation of TGF beta in the lung. *Thorax* 2006;61:886-894.

227. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006;24:79-189.
228. Attur MG, Patel RN, Abramson SB, Amin AR. Interleukin-17 upregulation of nitric oxide production in human osteoarthritis cartilage. *Arthritis. Rheum* 1997;40:1050-1053.
229. Liton PB, Luna C, Bodman M, Hong A, Epstein DL, Gonzalez P. Induction of IL-6 expression by mechanical stress in the trabecular meshwork. *Biochem and Biophys Res Commun* 2005;337:1229-1236.
230. Clemmons DR. Variables controlling the secretion of a somatomedin-like peptide by cultured porcine smooth muscle cells. *Circ Res* 1985;56:418-426.
231. Eyries M, Collins T, Khachigen LM. Modulation of growth factor gene expression in vascular cells by oxidative stress. *Endothelium* 2004 ;11:133-139.
232. Liu T, Clark RK, Mc Donnell PC, et al. Tumour necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke* 1994;25:1481-1488.
233. Browne JG, Ho SL, Kane R, et al. Connective tissue growth factor is increased in pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:3660-3666.