

# Deneyisel Fototromboz Modelinde E Vitamininin Antioksidan Etkinliğinin İnce Yapı Düzeyinde İncelenmesi

Güngör SOBACI\*, Osman ÖZCAN\*\*, Erol YILDIRIM\*\*\*,  
Ali İhsan İNCESU\*\*\*\*, Hüseyin GÜN\*\*\*\*\*, Ayhan KUBAR\*\*\*\*\*

## ÖZET

Fotokimyasal tromboz (fototromboz), son yıllarda vizyon araştırmalarında giderek daha fazla ilgi çeken alanlardan biri olan yeni bir tekniktir. Bu çalışmada beyaz sıçan koroid damarlarında operasyon mikroskobu ışığı ile fototromboz oluşturularak E vitamininin antioksidan etkinliği ince yapı düzeyinde incelenmiştir. İV rose bengal verilmeden operasyon mikroskobu ışığına maruz bırakılan kontrol grubu (n=10) sıçan gözleri normal histolojik yapıda idi. 5 gün önceden 1 doz subkutan 600 mg/kg E vitamini (alfa tokoferol) verilen grupta (n=10) koroidal arteriol endotel hücrelerinde minimal histopatolojik değişiklik gözlenirken, E vitamini verilmeden fototromboz oluşturulan grupta (n~10) koroidal arteriol endotel hücreleri ile sınırlı yoğun harabiyet bulguları saptandı. Bu modelde, E vitamininin antioksidan özellikleri ile endotel hücrelerindeki fotokimyasal hasarı önlemekte etkili olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fototromboz, E vitamini, İnce yapı, Sıçan

T Klin Oftalmoloji 1993, 2: 323-327

## SUMMARY

AN ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF ANTIOXIDANT EFFECT OF VITAMIN E ON AN EXPERIMENTAL PHOTOTHROMBOSIS MODEL

In recent years, the novel technique, photochemically induced thrombosis (photothrombosis) has been one of the field of interest in vision researches. In this study, the antioxidant effect of vitamin E in the photothrombosis of the choroidal vasculature of IV rose bengal injected albino rats induced by the light of an operation microscope was evaluated ultrastructurally. No cellular pathology was present in the control group with no previous IV rose bengal injection (n=10). While minimal histopathological changes were observed, in the vitamin E pretreated (600 mg/kg subcutaneous injection for 5 days) rats (n=10) severe cellular damage limited to arteriolar endothelium was observed in photothrombosis group without vitamin E pretreatment (n\*\*10). Results of the present study suggested that vitamin E prevented the photochemical damage to endothelium by its antioxidant effects.

Key Words: Photothrombosis, Vitamin E, infrastructure, Rat

Turk J Ophthalmol 1993, 2: 323-327

## Giriş

Biyolojik ortamlarda; ışık enerjisi, oksijen ve fotosensitizör elemanlarının varlığında gerçekleşen fotokimyasal reaksiyonlar serbest radikaller oluşturarak sitotoksik etki gösterebilirler (1). Vücutta bu üçlünün en yoğun olarak bir arada bulunduğu dokular olan retina ve koroidea; içerdikleri antioksidatif sistemler ile fototoksik etkilerden korunabilmektedirler (2,3).

Geliş Tarihi: 1.4.1993

Kabul Tarihi: 19.10.1993

\* Doç.Dr.GATAGöz Hastalıkları ABD,

\*\* Yard. Doç. Dr.GATA Histoloji-Embriyoloji BD,

\*\*\* Prof.Dr.GATA Göz Hast. ABD,

\*\*\*\* Uz.Dr.Ankara Hastanesi Göz Kliniği Uzmanı,

\*\*\*\*\* Doç. Dr.GATA Mikrobiyoloji ABD,

\*\*\*\*\* Uz.Öğr.GATA Mikrobiyoloji ABD, ANKARA

1 Bu çalışma, Türk Oftalmoloji Derneği Ankara Şubesinin 25.12.1992 tarihli bilimsel toplantısında sunulmuştur.

Operasyon mikroskobu ya da indirekt oftalmoskop altında olduğu gibi, retinanın ameliyatları ve muayenele-ri sırasında da kısa süreli ancak yoğun foton bombardımanı altında kaldığı durumlarda oluşan serbest radikal-lerin fazlalığı ile ortamdan yeterince\* uzaklaştırılmama-sı, klinik olarak da tanımlanabilen ışığa bağlı retinopati ve makülopati gelişiminden sorumlu tutulmaktadır (3,4). E vitamini (alfa tokoferol)'nin fotokimyasal reaksiyonla-rından oluştuğu dokularda membran stabilizan etkisi ile önemli bir antioksidan rolü bulunduğu bildirilmektedir (5). Wilson ve Hatchell biyomikroskop ışığı ile oluşturdıkları sıçan fototrombozmodelinde retina ve koroid damarlarında endotel harabiyeti ile karakterize lezyonlar saptamışlardır (6). Koroidin zengin kan akımı ile retinadaki oksidan maddelerin uzaklaştırılması işlevini yü-rüttüğü bilinmektedir. Koroid parsiyel oksijen basıncı yüksekliği nedeniyle, koroid damar yatağındaki hasarın daha kolay oluşabilmesi mümkündür. Böyle oir patoloji klinikte ışık bağımlı retinopati ve makülopati gelişiminde rol oynayabilir. Çalışmamızda sıçan koroid damarlarında operasyon mikroskop ışığına bağlı fotokimyasal ha-sarın ve bu hasarın önlenmesinde E vitamini antioksi-dan etkinliğinin ince yapı düzeyinde araştırılması planlanmıştır.

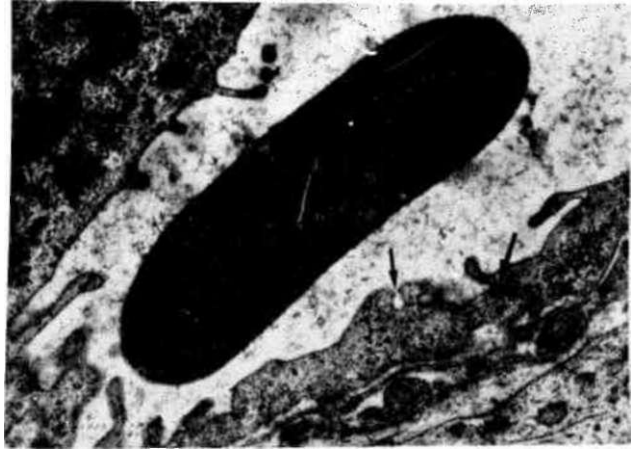
### Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada GATA Araştırma Merkezinde üretilen ağırlıkları 180-290 gr (ortalama  $240 \pm 20$  gr) arasın-daki 30 erkek Wistar norveglcus sıçan kullanılmıştır. Aynı merkezin mikrocerrahi laboratuvarındaki operas-yon mikroskobu (Zeiss Op-Mi 1F, 100W, 12 V, 200 mm. odak uzaklığında halojen, fiberoptik aydınlatmalı lamba,  $28.4 \text{ Cd/cm}^2$  aydınlatma yoğunluğu ile) kulla-nılmıştır. Deney hayvanları ketamin HCL ile (5mg/hay-yan) anestezi edilmiştir. Sıçanların gözlerinde %10 fe-nilefrin ile midriyazis sağlanmıştır. Herbir grupta 10'ar deney hayvanı kullanılmıştır. Kontrol grubunda sıçanlar-ın sağ gözleri beşer dakika süreyle operasyon mikros-kobu ışığı altında tutulmuştur. Fototromboz (FT) gru-bunda deneklere dorsal penil venden 0.22 mikronluk filtrelerden geçirilerek hazırlanan rose bengal boyası (Sigma R-3877) 40 mg/kg iv olarak enjekte edilip sağ gözleri aynı süre operasyon mikroskobu ışığına maruz bırakılmıştır. E vitamini grubunda beş gün önceden tek doz 600 mg/kg alfa tokoferol (Roche) subkutan enjekte edilmiş olan sıçanlarda aynı koşullarda FT oluşturul-muştur. Uygulamalar sırasında koroid ve retinadaki değişimler 5.00 dpt yakınsak mercekle kornea ile temas-ta iken mikroskop retinada papillanın bir papilla uzağın-da ve temporalinde odaklanarak izlenmiştir. Sıçan ko-roid damarlarında FT oluşması için geçen sürenin belir-lenmesi amacıyla yapılan ön çalışmada, bu süre beş dakika olarak saptanmıştır. Tüm sıçanlar beş gün son-ra reserebrasyon yöntemi ile öldürülerek gözleri en-ükle edilmiştir. Enükle edilen sağ ve sol gözler %4 paraformaldehit ve %5 gluteraldehit soLsyonunda bir gece tespit edilmiştir. Limbal kesi ile önden açılan göz küreleri %1'lik oslum tetroksitte 120 dakika bekletil-dikten sonra kakodilat tamponu ile üç kez yıkanmış ve

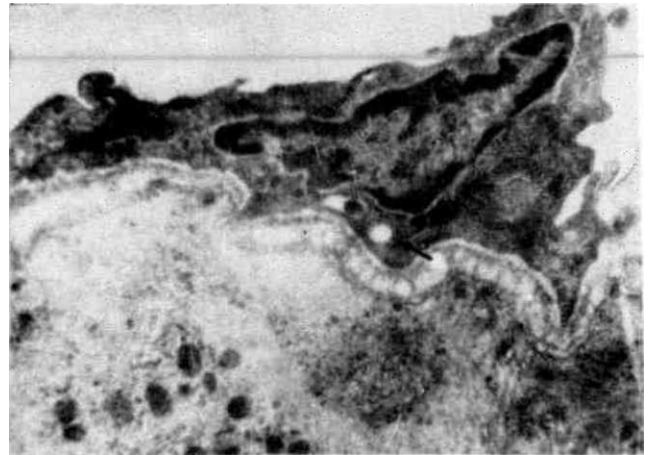
etil alkolün giderek artan yoğunluklarında 10'ar dakika süreyle dehidrate edildikten sonra epoksi resin (Epon-812) ile bloklanarak incelemeye hazır şekle getirilmiştir. Yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyanmış ve ışık mikroskobunda incelenmiştir. Elektron mikroskobik in-celeme; Zeiss 9S2 elektron mikroskobu ile tüm sıçan-larda papilladan bir papilla çapı uzakta üst temporal kadrandan 60 nm kalınlığındaki kesitlerin uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanması yapılmıştır.

### Bulgular

FT uygulamaları sırasında öncelikle koroideada beyazlaşma oluşmuş, bunu retina damarlarının tıkan-ması izlemiştir. Kontrol grubu sıçanların gözlerinin nor-mal histolojik yapıda olduğu gözlenmiştir (Şekil 1). Elek-tron mikroskobik incelemelerde, profilaktik E vitamini uygulanan grupta koroidal arteriol endotel hücre sitop-lazmasında minimal düzeyde vakuolizasyon saptanın-ken (Şekil 2), fototromboz grubu sıçanların gözlerinde



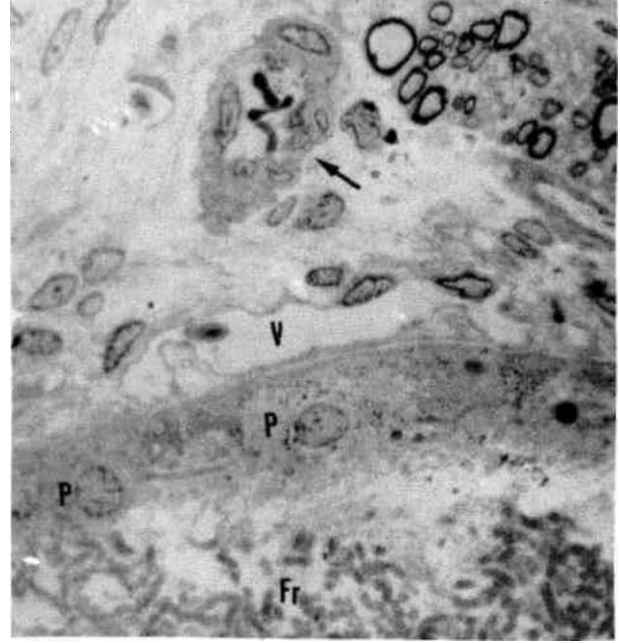
Şekil 1. Kontrol grubu sıçana ait normal yapıda koroidal arteriol endotel hücre ince yapısı. Apikal ve bazal yüzde pinositik veziküller (ok) ve iki endotel hücresi arasında sıkı bağlantı gözlenmektedir (kalın ok), (uranil asetat+kurşun sitrat,x9800).



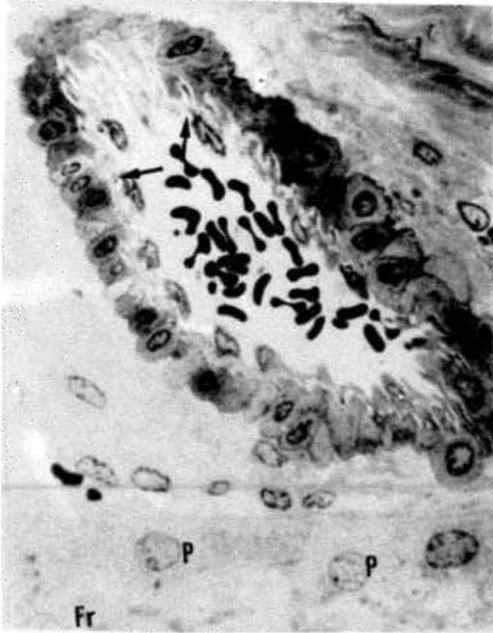
Şekil 2. Profilaktik E vitamini uygulanan sıçan koroid arteriol endotel hücresinde minimal düzeyde vakuolizasyon (ok) izlenmektedir, (uranil asetat+kurşun sitrat, X 9800).



Şekil 3. Fototromboz grubu sıçan koroidal arteriol endotel hücrelerinde ileri düzeyde vakuolizasyon (ok) görülmektedir, (uranyl asetat+kurşun sitrat, X 5600).



Şekil 5. Protolitik E vitamini uygulanmış gruba ait sıçan gözünden elde edilmiş yarı-ince kesit mikrofotograf. P: pigment epitel, Fr: Fotoreseptörler, arteriol (ok), V: venül. (toluidin mavisi x 1200).



Şekil 4. Fototromboz grubu sıçan gözüne ait yarı-ince kesit mikrofotograf. Koroidal arteriol endotel hücrelerinde vakuolizasyon (oklar) görülmektedir. P: Pigment epitel, Fr: Fotoreseptör. (toluidin mavisi x 1200).

koroidal arteriol endotel hücrelerinde ileri derecede vakuoler dejenerasyon izlenmiştir (Şekil 3). Fototromboz grubu yarı-ince kesitlerde de koroidal arteriol endotel hücrelerinde vakuolizasyon gözlenmiştir (Şekil 4). Bununla birlikte tam bir endotel kaybı olan alanlar izlenmemiştir. Yarı-ince kesitlerin incelenmesinde, profilaktik

E vitamini uygulanan ve fototromboz grubu gözlerde retina fotoreseptörleri ve retina pigment epitelinde ayrılmalar saptanmıştır. (Şekil 4,5).

#### Tartışma

Retinaya ulaşan ışık enerjisi termal, termoakustik ve fotokimyasal reaksiyonları başlatır (3). Fotokimyasal reaksiyonlarda oluşan serbest radikaller, oksijen radikalleri, başta lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı olmak üzere hücre içi membran yapılarının niteliğini bozarak, sonuçta fototoksik reaksiyonları uyarır (2,7). Günümüzde, başta ışığa bağımlı retinopati ve makülopati ile pigment epitelopati olmak üzere yaşa bağımlı maküla dejenerasyonu, üveit ve katarakt gelişiminden bu reaksiyon zincirleri sorumlu tutulmaktadır (2-4,8,9). Deneysel FT uygulamalarında damar lümeninde ısı etkisi ile oluşan fotokoagulasyondan farklı olarak, çoğunluğu trombotiklerin oluşturduğu rekanalizasyona dayanıklı trombüs gelişmektedir (10). Daha düşük argon lazer enerjisi ile daha kısa zaman süresinde oluştuğunu gözlediğimiz bu reaksiyonun (11) rose bengalin uygun dalga boylarında uyarımı ile açığa çıkardığı oksijen radikallerinin damar endotel hücrelerinde hasar oluşturması ile başladığı bildirilmektedir (10).

FT oluşumunda fotosensitizör ajan olarak yararlanılan rose bengal (RB) boyası en yüksek fotodinamik aktivasyonda oksijen radikali üreten ksantin derivesi bir vital boyadır (1,6). FT oluşumu için geçen sürenin RB'In dozu ile ters orantılı olduğu bilinmektedir (6,11). Bu çalışmada olduğu gibi RB'in maksimum etkinlik gös-

terdiği 40 mg/kg dozda uygulayan yazarlar (8,12,13), FT'un önce arterlerde oluştuğunu, yapay olarak parsiyel oksijen basıncı (PO<sub>2</sub>) artırıldığında trombüs oluşumu için geçen sürenin kısaldığını bildirmektedirler (6). Çalışmalarda retina ve koroid damarlarında geçici tıkanmalar oluştuğu ve bunların koroid kapiflerinde üç ile altı gün sürdüğü, üç hafta sonunda normal yapı özelliklerinin yeniden kazanıldığı ancak gangliyon hücrelerindeki hasarın kalıcı olduğu bildirilmiştir (12,13). Onlar, FT sonrası ilk günleri de kapsayan incelemelerinde bu çalışmadan farklı olarak damar lümeninde trombüs kümelerinin de izlenebildiğini ve arterioller yanısıra venüllerin endotel yapılarında da hasar bildirmişlerdir (6,12,13). Bu çalışmadaki FT uygulamaları sırasında ise öncelikle koroideada beyazlaşma oluşmuş, bunu retina damarlarının tıkanması izlemiştir. Bu beyazlaşmanın koroid iskemisinden kaynaklandığı bildirilmektedir (6). İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da koroidea kanlanması ve oksijen doygunluğu en yüksek doku olarak bilinmektedir (3,6). Fotokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesinde önemli bir faktör olan oksijen radikallerinin (14) FT'un öncelikle koroideada oluşmasında rolü bulunduğu, PO<sub>2</sub> artırıldıkça trombüs oluşumu için geçen sürenin kısılması ile açıklık kazanmaktadır (6). Bu çalışmada ince yapı değişikliklerinin yalnızca arter yapılarında izlenmesi PO<sub>2</sub>'nin venöz damarlardakine oranla daha yüksek olması ile açıklanabilir. Ancak, retinadan farklı olarak koroideadaki arteriol ve venül PO<sub>2</sub> farkının çok az olduğunun göz önünde tutulması gerekmektedir (3,6). Bu durumda, dolaşımdaki trombosit ve lökositlerden salınan ADP benzeri faktörlerin damarların kas tabakalarına etki ederek vazospazm oluşturabileceği, bundan dolayı kas tabakası daha iyi gelişmiş olan arterlerin venlere göre daha kolay tıkanabileceği kuramının (15) da dikkate alınması gerekir. Bununla birlikte uygulama sonrası örneklerin 6. günde incelemeye alınmış olması nedeniyle, venlerde trombüsün geç oluştuğu ve/veya arterlere göre daha çabuk rekanalize olduğu olasılıklarının dikkate alınması gerekir. Bu maksatla daha erken (5. günden önce) dönemlere ait histolojik incelemeler yapılması gerektiği anlaşılmaktadır. Bu çalışmada, FT gelişen damar çeperlerinde tam bir endotel kaybı ile karakterize çıplak alanlar izlenmemesi, trombüs oluşumu için endotel hasarı varlığının yeterli olduğunu bildiren çalışmayı desteklemektedir (16).

Tüm respiratuvar sistemlerde oksijenin İSO'ya dönüşümü ile serbest oksijen radikali oluşumu arasında hassas bir denge vardır (3). Dokular içerdikleri antioksidan sistemleri (katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz enzimleri ve C, E vitaminleri gibi..) yanısıra DNA yapılarını yenilemeleri ile kısa ve uzun süreli fototoksik etkilerden korunmaktadır (2,3). Günümüzde E vitaminin biyolojik sistemlerdeki rolü tam olarak açıklık kazanmamış (17) olmakla birlikte, in vitro olarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmektedir (18). E vitamininin bu etkiyi serbest lipid radikaller ile reaksiyona girerek oluşturduğu gösterilmiştir (14,18). E vitamini

yoksunluğunda ışık etkisi altındaki maymun fotoreseptör hücrelerinde dejenerasyon geliştiği (3), E vitaminin düzelttiği hasarın diğer antioksidanlarca giderilemediği anlaşılmıştır (17). Normalde biyolojik membranların yapısında yer alan bu liposolubl vitaminin antioksidan etki gösterebilmesi için belirli bir düzeyde bulunması gerektiği (18) terapötik güven indeksinin yüksek olduğu ancak yüksek dozlarda verildiğinde toksik etki gösterebileceği (19) bildirilmiştir.

Bu çalışmada **PO<sub>2</sub>** dışarıdan değiştirilmeden ve aynı koşullarda FT uygulanan, oksidan (RB) ve antioksidan (E vitamini) kapasiteleri artırılmış beyaz sıçanların koroid damarlarındaki ince yapı değişiklikleri incelenmiş. Literatür taramalarından elde edilen bilgilere göre geliştirdiğimiz deney modeli FT için operasyon mikroskobunun kullanıldığı ilk çalışmadır. Melaninden yoksun retina yapısının ışığın koroideaya ulaşımını kolaylaştırması ve insandakine yakın benzerlik gösteren damarsal ağ tabakası ile (20) beyaz sıçan fotokimyasal tromboz oluşumu için ideal bir deney hayvanıdır (14). İnsanda, retina duyu epitell katında başlatılan fotokimyasal reaksiyonlarda fotosensitizör eleman olarak en çok etkilenen fotoreseptör disk membranlarının doymamış yağ asitlerinden zengin yapısı ile bu reaksiyonların oluşumunu kolaylaştırabileceği bilinmektedir. Fotoreseptör disk membranlarında oluşan lipit peroksit ürünlerinin ortamdaki uzaklaştırılmaması ile gelişen reaksiyonlar yaşlı popülasyondaki en sık görülen körlük nedeni olan yaşa bağımlı maküla dejenerasyonundan sorumlu tutulmaktadır (3,4). Bu çalışmada, normal fotokimyasal reaktör gibi davranan retinayı soğutarak oksidatif ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılması işlevini yüklenen koroideanın (3), bu reaksiyonlardan etkilenebileceği, ancak patoloji gelişebilmesi için oksidan/antioksidan dengelerin bozulması gerektiği anlaşılmaktadır.

Bu çalışmada, operasyon mikroskobu aydınlatma yoğunluğu sabit tutularak ve her defasında gruptardan birer örnekte FT oluşturularak, fiberoptik aydınlatma ile minimuma indirilmiş olan ısı etkileri ve lamba aydınlatması ile renk ayarındaki düzensizliklere bağlı hatalardan kaçınılması amaçlanmıştır. Önceki deneyimlerimiz ve ilgili çalışmalar bu reaksiyonun ısı etkilerinden bağımsız ve fotokimyasal yol ile olduğunu ortaya koymuştur (11-13). Bu bakımdan, modelimiz oluşumunda fotokimyasal reaksiyonların rol oynadığı düşünülen operasyon mikroskobuna bağlı retina patolojilerinin incelenmesinde yararlanılabilir özelliktedir.

Bu çalışma, normalde antioksidan sistemler aracılığı ile dengelenen fototoksik retinanın yoğun foton bombardımanı altında kaldığı durumlarda hücresel hasarın kaçınılmaz olacağını göstermesinden dolayı önemlidir. Nitekim, Khvvarg ve ark. benzer operasyon mikroskobu ve aydınlatma koşullarında katarakt ameliyatı uygulanan 135 olgunun %7.4'ünde operasyon mikroskobu ışığına bağlı retina toksisitesi oluştuğunu saptamışlardır (21). Klinikte, özellikle enerjisi yüksek olan kısa dalga

boylarında daha kolay gerçekleştiği ve bu nedenle önemli bir risk faktörü olduğu bildirilen afaki ve psödo-faki (3,4) için ameliyat mikroskobu ışığının yeterli dozda kullanılması, ameliyat süresinin kısaltılması ve ameliyat sırasında parsiyel oksijen basıncını yükseltebileceği düşünülerek nazal oksijen kullanımının kısıtlanmasına yönelik çabaların artırılması gerektiği anlaşılmaktadır.

Işık mikroskopisinde gözlemlerimiz bu modelin retinanın seröz dekolmanı için ideal bir model olabileceğini bildiren çalışmayı (22) desteklemekte ise de histolojik olarak gözlenen bu dekolmanın retinanın hatalı preparasyonundan ya da enüklasyon sırasındaki travmadan kaynaklanmadığının tarafımıza kanıtlanması gerektiği düşüncesindeyiz. Gerek bu maksatla, gerekse yaşa bağımlı makülopatli gelişimine ışık tutabileceği varsayımı ile çalışmalarımız devam etmektedir. Ayrıca, bu modelinin ilaçların antioksidan etkinliklerinin karşılaştırılmasında da kullanılabileceği düşüncesindeyiz.

#### Kaynaklar

1. Banks JG, Board RG, Carter BJ, Dodge AD. The cytotoxic and photodynamic inactivation of microorganisms by rose bengal. *J Appl Bacteriol* 1985; 58: 391-400.
2. Eldem B. Serbest radikaller ve retina. *T Oft Gaz.* 1990; 20: 143-6.
3. Guerry RK, Ham WT, Mueller HA. Light toxicity in the posterior segment. In: Duane TD, Jeager EA, editors. *Clinical Ophthalmology*. Philadelphia: Harper and Row, 1986; 3, 37:1-17.
4. Mainster MA, Photoc retinal injury. In: Ryan S, editor. *Retina*, St Louis: Mosby, 1989; 109: 749-51.
5. Hiramitsu T, Armstrong D. Preventive effect of antioxidants on lipid peroxidation in the retina. *Ophthalmic Res* 1991; 23: 196-203.
6. Wilson CA, Hatchell DL. Photodynamic retinal vascular thrombosis. Rate and duration of vascular occlusion, *invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2357-65.
7. Demopoulos HB. The basis of free radical pathology. *Symposium of the American Society for Experimental Pathology*. Atlantic City, 1970; 1859-61.
8. Goto H, Wu GS, Gritz DC, Atalla LR, Rao NA. Chemotactic activity of the peroxidized retinal membrane lipids in experimental autoimmune uveitis. *Curr Eye Res* 1991; 11: 1009-14.
9. Zigler JS, Bodaness RS, Gerry I, Kinoshita JH. Effects of lipid peroxidation products on the rat lens in organ culture, a possible mechanism of cataract initiation in retinal degenerative disease. *Arch Biochem Biophys* 1983; 225:149-56.
10. Dietrich WD, Watson BD, Busto R, Ginsberg MD, Bethea JR. Photochemically induced cerebral infarction, I: early microvascular alterations. *Acta Neuropathol* 1987; 72:315-25.
11. Sobacı G, Tuncer K, Yıldırım E, Celasun B, Mutlu F. Deneysel kornea neovaskularizasyonlarında fototrombozis uygulamasının etkinliği ve güvenilirliğinin araştırılması. *T Oft Gaz* 1992; 22: 211-17.
12. Nando SK, Hatchell DL, Tiedeman JS, Dutton JJ, Hatchell MC, McAdoo T. A new method for vascular occlusion: photochemical initiation of thrombosis. *Arch Ophthalmol* 1988; 106:1608-14.
13. Royster AJ, Nanda SK, Hatchell DL, Tiedeman JS, Dutton JJ, Hatchell MC. Photochemical initiation of thrombosis fluorescein angiographic, histologic, and ultrastructural alterations in the choroid, retinal pigment epithelium and retina. *Arch Ophthalmol* 1988; 106:1608-14.
14. Feeney L, Berman ER. Oxygen toxicity: membrane damage by free radicals. *Invest Ophthalmol*, 1976; 15: 789-92.
15. Mason RG, Sharp D, Chuang HYK, Mohammad SF. The endothelium-roles in thrombosis and hemostasis. *Arch Pathol Lab Med* 1977; 101:61-4.
16. Pavlishock JT, Rosenblum WI, Sholley MM, Wei EP. An ultrastructural analysis of endothelial change paralleling platelet aggregation in a light/dye model of microvascular insult. *Am J Pathol* 1983; 110:148-60.
17. Zubay G. In: *Biochemistry of vitamin E*. New York: M Millan Publ 1988; 171.
18. Fukuzawa K, Takase S, Tsukatani H. The effect of concentration on the antioxidant effectiveness of  $\alpha$ -tocopherol in lipid peroxidation induced by superoxide free radicals. *Arch Biochem Biophysics* 1985; 240:117-20.
19. Abdo KM, Rao G, Montgomery CA, Dinowitz M, Kanagalimgam K. Thirteen-week toxicity study of d- $\alpha$ -tocopherol acetate (vitamin E) in Fischer 344 rats. *Fd Chem Toxic*, 1988; 24: 1043-50.
20. Mutlu F. Sıçan retina vasküler sistemi, insan retina vasküler sistemi. Ankara, 1988; 154-5.
21. Khwarg SG, Linstone FA, Daniels SA, Isenberg SJ, Hanscom TA, Geoghegan M, Straatsma BR. Incidence, risk factors and morphology in operating microscope light retinopathy. *Am J Ophthalmol*, 1987; 103: 255-63.
22. Wilson CA, Royster AJ, Tiedeman JS, Hatchell DL. Exudative retinal detachment after photodynamic injury. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 125-34.