

**T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TAVŞANLARDA UYGULANAN GLOKOM FİLTRAN CERRAHİSİNDE
EVEROLİMUS UYGULAMASININ SKAR OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN
MİTOMİSİN-C İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ**

Dr.Ruken ÇİNİK

Göz Hastalıkları Uzmanlık Tezi

2014

T.C.

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**TAVŞANLARDA UYGULANAN GLOKOM FİLTRAN CERRAHİSİNDE
EVEROLİMUS UYGULAMASININ SKAR OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN
MITOMİSİN-C İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ**

Dr.Ruken ÇİNİK

Göz Hastalıkları Uzmanlık Tezi

Tez Danışmanı

Prof.Dr.Nurşen YÜKSEL

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Nurşen YÜKSEL

Etik Kurul Onayı 28.02.2012 tarihli KOÜ/HADYEK – 2/7-2012

ÖNSÖZ

Üniversitemizin ve anabilim dalımızın kurulmasında ve gelişmesinde büyük emekleri olan bize her zaman bir baba sevgi ve özverisi ile yaklaşan saygıdeğer hocam Prof.Dr.Yusuf ÇAĞLAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İhtisas sürem boyunca ve tezimin her aşamasında tecrübesini ve bilgisini benden esirgemeyen, yaşadığımız her sorunda ve başarıda desteğini yanımızda hissettiğimiz değerli hocam Göz Ana Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Nurşen YÜKSEL'e, uzmanlık eğitimi sürem boyunca gerek bilgi gerekse cerrahi tecrübe açısından kendisinden çok şey öğrendiğim, kişiliğiyle hepimize örnek olmuş kıymetli hocam Prof.Dr.Özgül ALTINTAŞ'a, bilgi ve becerisiyle bizleri kendine hayran bırakan, her koşulda eğitimimize katkıda bulunmaya çalışan, her zaman arkamızda olduğunu hissedeceğimiz değerli hocam Doç.Dr.Levent KARABAŞ'a, hoşgörüsü ile hep desteğini yanımızda hissettiğimiz, cerrahi becerilerimizin gelişmesi sürecinde sabırla bizlere emek veren ve güler yüzünü esirgemeyen kıymetli hocam Doç.Dr.Berna ÖZKAN'a, birlikte geçirdiğimiz asistanlık sürecinden bu yana bizlerle tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen , bir abla olarak gördüğümüz değerli hocam Yrd.Doç.Dr.Dilara PİRHAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her aşamasında desteklerini yanımda hissettiğim, bitirme dönemimde stresimi ve sıkıntılarımı göğüsleyen ve bana destek olan sevgili anneme, babama ve kardeşlerime, bu süreç boyunca tüm sıkıntılarımı ve mutluluklarımı beraber yaşadığımız, benden hiçbir zaman sabır ve sevgisini esirgemeyen, en büyük destekçim eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım....

İçindekiler Dizini

<u>Konu Başlığı</u>	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK SAYFASI	2
ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	4
ŞEKİLLER DİZİNİ	7
TABLolar DİZİNİ	8
SİMGELER VE KISALTMALAR	9
1.GİRİŞ	10
1.1.Amaç ve Kapsam	10
1.2.Genel Bilgiler	12
1.2.1. Primer Açık Açılı Glokom ve Tedavisi	12
1.2.1.1.Epidemiyoloji ve Prevalans	12
1.2.1.2.Risk Faktörleri	12
1.2.1.2.1.İntraoküler Basınç	12
1.2.1.2.2.Yaş	13
1.2.1.2.3.Irk	13
1.2.1.2.4.Aile Hikayesi	14
1.2.1.2.5.Miyopi	14
1.2.1.2.6.Vasküler Hastalık	14
1.2.1.3.Tıbbi Tedavi	15
1.2.1.4.Laser Trabeküloplasti	16
1.2.1.5.Cerrahi Tedavi	17
1.2.2.Glokom Filtrasyon Cerrahisi, Komplikasyonlar ve Tedavisi	18
1.2.2.1.Glokom Filtrasyon Cerrahisi	18
1.2.2.1.1.Genel Teknikler	18
1.2.2.1.2.Cerrahi Teknik	18
1.2.2.2.İntraoperatif Komplikasyonlar	20
1.2.2.2.1.Konjonktivada Delik veya Yırtık Oluşması	20
1.2.2.2.2.Skleral Flep Yırtığı veya Kopması	20
1.2.2.2.3.Vitreus Kaybı	20
1.2.2.2.4.İntraoperatif Kanama	21
1.2.2.2.5.Koroid Efüzyonu	21
1.2.2.2.6.Zonül ve Lens Hasarı	21
1.2.2.3.Erken Postoperatif Komplikasyonlar	21
1.2.2.3.1.Drenaj Azlığı	21
1.2.2.3.2.Sığ Ön Kamara	22
1.2.2.3.3.Koroid Efüzyonu	23

1.2.2.3.4.Korneal Epitelyopati	23
1.2.2.4.Geç Postoperatif Komplikasyonlar	23
1.2.2.4.1.Geç Blep Yetersizliği	23
1.2.2.4.2.Tenon Kisti Oluşumu	24
1.2.2.4.3.Geç Blep Sızdırması	24
1.2.2.4.4.Geç Endoftalmiye Neden Olabilecek Blebitis	24
1.2.2.4.5.Geç Hipotoni	25
1.2.3.Cerrahi Başarısızlığın Nedenleri	25
1.2.3.1.Uzun Süre Topikal Tedavi Kullanımı	25
1.2.3.2.Irk	25
1.2.3.3.Yaş	25
1.2.3.4.İntraoküler Enflamasyon	25
1.2.3.5.Afaki	25
1.2.3.6.Geçirilmiş Başarısız Filtran Cerrahi	25
1.2.3.7.Ön Segment Neovaskülarizasyonu	26
1.2.4.Trabekülektomide Yara İyileşmesi	26
1.2.4.1.Yara İyileşmesinde Etkili Mediatörler	29
1.2.4.1.1.Epidermal Growth Faktör	29
1.2.4.1.2.Fibroblast Growth Faktör	30
1.2.4.1.3.Transforming Growth Faktör Alfa	30
1.2.4.1.4.Transforming Growth Faktör Beta	31
1.2.4.1.5.Hepatosit Growth Faktör	31
1.2.5.1.6.Platelet Derived Growth Faktör	31
1.2.5.Glokom Cerrahisinde Yara İyileşmesi Modülasyonu	32
1.2.5.1.Cerrahi Teknik ile İlgili Değişiklikler	32
1.2.5.2.Doku Bütünlüğünün Korunması ve Yara İyileşmesi Cevabının Geciktirilmesi Amacı ile Kullanılan İlaçlar	32
1.2.5.3.Antimetabolit ve Antifibrotik Ajanlar	33
1.2.5.4.Fibrinolitik Ajanlar	35
1.2.5.5.Sitokin/Büyüme Faktörü Üzerine Etki Eden Ajanlar	36
1.2.5.6.Amnion Zarı Transplantasyonu	37
1.2.6.Everolimus	39
2.GEREÇ VE YÖNTEM	42
2.1.Fibroblast Hücre Kültüründe Everolimus Uygun Dozunun Bulunması	42
2.1.1.Hücrelerin Hazırlanması	42
2.1.2.Deney Aşaması	43
2.2.Anestezi Tekniği	43
2.3.Cerrahi Teknik	43
2.4.İntraoküler Basınç Ölçümü	45
2.5.Biomikroskopik Muayene	45

2.6.Mikroskopik İncelemeler	45
2.6.1.Histopatolojik İnceleme	45
2.6.2.Apoptoz Tayini İçin TUNEL	46
2.6.3.İmmunohistokimyasal işaretlemeler (İHC)	46
2.7.İstatistiksel Analiz	46
3.BULGULAR	47
3.1.Fibroblast Hücre Kültüründe Everolimus Uygun Dozunun Bulunması	47
3.2.Postoperatif Göz İçi Basıncı Değişimleri	48
3.3.Klinik Değerlendirme ve Komplikasyonlar	49
3.4.Postoperatif Filtran Blepler ve Sağkalım Süreleri	50
3.5.Histopatolojik Değerlendirme	52
3.6.Apoptoz Tayini	53
3.7.İmmunohistokimyasal Değerlendirme	55
3.7.1.PCNA	55
3.7.2.TGF-β1	56
3.7.3.MMP-2	57
3.7.4.MMP-9	57
4.TARTIŞMA	59
5.SONUÇ	69
6.ÖZET	70
7.ABSTRACT	72
8.KAYNAKLAR	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Everolimus yapısal formülü

Şekil 2 :A: cerrahi sırasında periferik iridektominin uygulanması, **B:** sklera ile konjonktiva arasına mitomisin-c emdirilmiş sponge uygulanması

Şekil 3: *İn vitro* şartlarda fibroblast hücrelerinin everolimus ile muamele edilmesi sonrasında 24. ve 72. saatlerde hücre çoğalım düzeyleri izlenmektedir.

Şekil 4: *İn vitro* şartlarda fibroblast hücrelerinin everolimus ile muamele edilmesi sonrasında 24. ve 72. saatlerde hücre çoğalım düzeylerinin sonuçları karşılaştırılmalı olarak izlenmektedir.

Şekil 5. Postoperatif dönemde 28 gün boyunca gruplardaki ortalama GİB değişimlerini gösteren grafik

Şekil 6: Filtran bleblerinin postoperatif morfolojik değişimleri.

Şekil 7 :Kaplan-Meier methodu ile her bir gruptaki filtran bleplerin yaşam sürelerinin GİB'e göre analizi (n=10).

Şekil 8: Everolimus, mitomisin-c ve sham grubuna ait deney hayvanlarının cerrahi bölge doku örneklerinin hematoksilin –eosin ile boyanmış histolojik kesitleri

Şekil 9: TUNEL yöntemiyle yapılan immünboyama sonrası belirlenen apoptotik hücre sayılarının gruplara göre dağılımı

Şekil 10: TUNEL yöntemi ile apoptotik hücrelerin her bir gruptaki immunoflouresans mikroskopik görüntüleri.

Şekil 11: Tüm deney gruplarına ait parafin kesitlerine PCNA, TGF- β , MMP-2 ve MMP-9 için uygulanmış immünboyama sonrası ışık mikroskopik görüntüleri

Şekil 12: PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik

Şekil 13: TGFB1 (transforming growth factor, beta 1) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik

Şekil 14: MMP2 (matrix metalloproteinase-2) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik

Şekil 15: MMP9 (matrix metalloproteinase-9) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo1: Gruplardaki fibroblast sayılarının ortalama ve standart deviasyon değerleri



SİMGELER VE KISALTMALAR:

- ALT** : Argon laser trabeküloplasti
AMP : Adenozin monofosfat
CYP : Sitokrom p
DNA : Deoksiribonükleik asit
ECM : Ekstraselüler matriks
EGF : Epidermal growth faktör
FGF- β : Fibroblast growth faktör beta
FU : Fluorourasil
GFC : Glokom filtrasyon cerrahisi
GİB : Göz içi basıncı
GMCSF : Granülosit makrofaj koloni stimulan faktör
HGF : Hepatosit growth faktör
IGF : İnsulin-like growth faktör
IL : İnterlökin
MMC : Mitomisin-C
MMP : Matriks metaloproteaz
NO : Nitrik oksit
PAAG : Primer açık açılı glokom
PAKG : Primer açı kapanması glokomu
PDGF : Platelet derived growth faktör
PG : Prostaglandin
PCNA :Proliferating cell nuclear antigen
RNA : Reoksiribonükleer asit
Rt-PA : Rekombinant doku plazminojen aktivatörü
TBS : Tris buffer solüsyonu
TGF- α : Transforming growth faktör alfa
TGF- β : Transforming growth faktör beta
TNF- α : Tümör nekrotizan faktör alfa
TUNEL :terminal deoxynucleotidyltransferase mediated dUTP nick end labeling
VEGF : Vasküler endotelial growth faktör
 μ M : Mikrometre

1.GİRİŞ

1.1.AMAÇ VE KAPSAM

Optik diskte kendine özgü çukurlaşma ve atrofiyle seyreden, görme alanı değişikliklerine yol açan, tedavi edilmezse körlükle sonuçlanan multifaktoryel, kronik, progresif, iskemik optik nöropatili bir grup hastalığa glokom denir (1).

Genellikle bilateral olmakla birlikte simetrik değildir. Glokom dünyada körlük nedenleri arasında katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra 3. sırada yer almaktadır (2).

Glokom tedavisi başlangıç olarak medikaldir. Genellikle tekli veya kombine ilaç kullanımıyla başlar, ancak medikal tedavi bazı olgularda yetersiz kalabilir ve cerrahiye gereksinim duyulabilir. Fistülizan cerrahi teknikleri arasında trabekülektomi glokom tedavisinde en sık kullanılan cerrahi yöntemdir ve kontrol edilemeyen primer açık açılı glokomda göz içi basıncının cerrahi olarak düşürülmesi için en pratik tedavi olarak kabul edilmektedir (3). Fistülizan cerrahinin sonucu büyük oranda glokomun tipine, hastalığın şiddetine, yara iyileşmesiyle ilgili kişisel özelliklere, farmakolojik modülasyon yapıp yapılmadığına ve cerrahinin komplike olup olmamasına bağlıdır (3).

Trabekülektomi ameliyatı sonrasında hızlı yara iyileşmesi, uygulanan cerrahi işlemin başarısızlığına neden olmaktadır (6). Fistülizan cerrahi artmış fibroblastik aktivite nedeniyle başarısızlıkla sonuçlanabildiğinden fibroblast fonksiyonunun inhibe edilmesi başarıyı etkileyen önemli bir faktördür (6,7). Yüksek riskli hastalarda Mitomisin-C (MMC) ve 5 fluorourasil (5-FU) gibi antimetabolitler yara yerinde fibrozisi engellemede yaygın olarak ve başarıyla kullanılmaktadır. Ancak, gerek artık klasik kabul edilebilecek bu ilaçların gerekse benzer etkilere sahip diğer sitostatik ajanların, özellikle uzun vadede hipotoni, artmış enfeksiyon riski, stafilom gelişimi ve benzeri ciddi yan etkilere yol açabilmesi söz konusudur (5,6,7). Bu durum glokom filtran cerrahisinde skar oluşumunu engellemede yeni ve daha az zararlı maddelerin aranmasına yol açmıştır.

Everolimus Paskalya adasında bulunan toprak numunesinden elde edilen Streptomyces hygroscopicus adlı bakteri ailesinden izole edilmiş bir peptit olan Rapamisin ailesinden aktif immunsupressif ve antiproliferatif bir makrolittir . Everolimus ile ilgili kemoterapiden, organ transplant rejeksiyonuna; kardiak cerrahide uygulanan stentlerin açık tutulmasından, kornea yanıkları ve üveit tedavisine pek çok alanda değişik denemeler yapılmış ve pek çoğunda da

olumlu sonuçlar alınmıştır. Etkisini T hücrelerine spesifik interlökinler (IL-2 ve IL-5) tarafından yönlendirilen, antijen etkisiyle aktive olmuş T hücrelerinin çoğalmasını ve dolayısıyla da klonlanmasını inhibe ederek gösterir.

Bu çalışmanın amacı da tavşanlarda gerçekleştirilen glokom filtran cerrahisinde Everolimus'un konjonktival ve skleral yara yeri iyileşmesine olan etkisini Mitomisin-C ile karşılaştırmalı olarak incelemesidir.



1. 2. GENEL BİLGİLER

1. 2. 1. PRİMER AÇIK AÇILI GLOKOM VE TEDAVİSİ:

2000’li yılların başında tüm dünyadaki glokomlu hasta sayısının 70 milyondan daha fazla olduğu ve 6.7 milyon hastanın glokom nedeniyle kör olduğu bildirilmektedir (12). Bunların yaklaşık % 53’ü primer açık açılı glokom (PAAG), % 36’sı primer açılı kapanması glokomu (PAKG) ve %11’i sekonder glokomlardır. Her yıl 2 milyon hasta glokom tanısı almaktadır (2, 13).

1. 2. 1. 1. Epidemiyoloji ve Prevelans:

Beyaz ve siyah popülasyonda PAAG tüm glokomların yaklaşık olarak 2/3’ünü oluşturmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalarda beyaz erişkinlerde PAAG prevelansı %1-2 iken, siyahlarda 4 kez daha yüksek (%4.2-8.8), Afrika kökenli Amerika’lılarda ise %5.2’dir (12). Tüm çalışmalarda ortak olan nokta ise yaş arttıkça PAAG prevelansının da hızla arttığıdır (2, 13). Avrupa kökenlilerde PAAG Afrika’lılara oranla daha az sıklıkta ve daha ileri yaşta görülmektedir. 60 yaş üstünde PAAG riski 7 kat daha fazladır. Türkiye popülasyonunda PAAG prevelansı Avrupa’ya benzerdir (14). Melbourne çalışmasında 5 yılda kesin PAAG insidansı 40- 49 yaş arası %0.5, 80 yaş üstünde insidans %11 olarak saptanmıştır (15).

1. 2. 1. 2. Risk Faktörleri:

1. 2. 1. 2. 1. İntraoküler Basınç:

PAAG’nin tanısında GİB tek başına belirleyici bir faktör olmamasına rağmen, GİB yüksekliği glokom için en önemli risk faktörüdür ve glokom tedavisinin primer amacı GİB’i düşürmektir (16). Leydhecker ve arkadaşlarının normal olarak kabul edilen 20.000 kişi üzerinde Schiotz tonometrisi ile GİB’i 15.5 mmHg olarak gösterdiğinden bu yana GİB, glokomu tanımlayan bir parametre haline gelmiştir (17). Leydhecker ve ark. Gaussian dağılımını kullanarak yaptıkları değerlendirme sonucunda GİB 20.5 mmHg ve üzerinde olanları glokom için riskli

grup, GİB 24 mmHg üzerinde olanları ise glokom tanısı alan grup olarak tanımlamışlardır. Bu çalışmayı takip eden ve daha güvenilir ölçüm yöntemleri kullanan çalışmalar bu bulguları doğrulamakla birlikte, GİB Gaussian dağılımı izlememekte, daha yüksek basınçlara doğru kaymaktadır (18, 19). Klinik olarak GİB'in glokom gelişimi ve tedavisine katkısı, devam eden bir süreç olarak kabul edilmelidir. Hastalıklı sağlam ayrımı yalnız GİB'e dayanarak yapılamaz. Bunun bir örneği de düşük basınçlı, normotansif glokomun ve oküler hipertansiyonun ayrı kavramlar olarak kabul edilmesi ve GİB'in önemli rol oynadığı ve diğer risk faktörlerinin de patogenezinde rol oynadığı hastalık spektrumunun farklı kutuplarını oluşturmalarıdır. Bu bağlamda glokomatöz hasarın en önemli özelliği kişinin GİB'e bağlı retina ganglion hücresi ve optik sinir hasarına yatkınlığıdır. Her koşulda yüksek GİB en önemli risk faktörüdür ancak hastalığın kendisi değildir.

1.2. 1. 2. 2. Yaş:

PAAG prevalansı yaşla birlikte giderek artmaktadır (13). Optik sinir hasarı ve görme kaybı olan hastaların sayısı 40 yaş altında %1 iken, 70 yaş üzerinde 3-8 kat artmaktadır. Bu ilişki yaşlı kişilerin yüksek GİB' i gençlere göre daha uzun süre kompanse edebilmeleri, mikrovasküler perfüzyon defektleri ve gençlere göre yaşlılarda daha fazla olabilen bağ dokudaki değişikliklerle açıklanabilir.

1.2. 1. 2. 3. Irk:

PAAG prevalansı siyahlarda beyaz ırka göre 3-4 kat daha fazladır (2). Optik sinir hasarı siyahlarda en az 10 yıl daha erken ortaya çıkmakta, tanı aldıklarında daha ciddi düzeyde olmakta, medikal ve cerrahi tedaviye daha dirençli olmaktadır. Yüksek GİB, optik sinirin vasküler anormallikleri ve optik sinirin büyüklüğü bu grupta artmış glokom riskinden sorumlu faktörler arasında yer almaktadır. Japon ve batı toplumlarında da PAAG'de majör farklılıklar vardır. PAAG olan Japonların yaklaşık % 75' inde basınç 21 mmHg'nın altındadır. Bu oran, Amerika'da yapılan popülasyon çalışmalarında saptanan %25-30 oranından oldukça yüksektir.

1.2. 1. 2. 4. Aile Hikayesi:

Ailesel faktörler PAAG'a yatkınlıkta rol oynamaktadır (20). Bu ilişki ikizlerden birinde PAAG olduğunda, ebeveynlerden birinde veya çocuklardan birinde olmasına göre çok daha yüksektir (21). PAAG'da aile öyküsü olması yukarıda bahsedilen risk faktörleri kadar ağır gelmemektedir. PAAG'yi etkileyen genetik faktörler oldukça komplekstir. Şimdiye kadar altı gen saptanmasına rağmen, erişkin başlangıçlı glokomlar arasında sadece jüvenil başlangıçlı açık açılı glokomda 1q kromozomunda bir defekt bildirilmiştir (GLC1A). Myosilin proteini üreten bir gen bu aralıkta bulunmakta ve myosilin mutasyonu erişkin başlangıçlı PAAG olgularının %4.6' sında görülmektedir (22).

1. 2. 1. 2. 5. Miyopi:

Miyopi ile PAAG arasında bağlantıyı destekleyen bulgular glokom olgularında normal populasyona göre miyopi prevalansının artmış olmasına dayanmaktadır (23). Miyopik bireylerde yüksek GİB'in bu grupta glokom gelişimine önemli derecede katkıda bulunduğu ileri sürülmüş ancak ispatlanamamıştır. Optik sinir ekstraselüler matriksinde kollajen ve diğer kısımlardaki değişiklikler de miyopi ve PAAG'da etkili faktörlerdendir. Ancak miyopi PAAG için belirleyici değildir (24).

1.2. 1. 2. 6. Vasküler Hastalık:

İlişkileri tam olarak karakterize edilmese de arteriyel hipertansiyon, diabetes mellitus ve migren gibi vasküler fonksiyondaki anormallikler PAAG ile ilişkilidir. Optik diskin bozulmuş mikrosirkülasyonu optik sinir hasarı için muhtemel bir mekanizma olduğu için sistemik vasküler hastalıkların PAAG üzerine potansiyel etkisi genellikle bu yolla olur. Migren, açık açılı glokom ve normal sınırlardaki basınç değerleri ile daha yakın ilişkili olarak görülmektedir (25). Ancak vasküler hastalık ve PAAG ilişkisi üzerine yapılan retrospektif ve populasyon tabanlı çalışmaların sonuçları net değildir (24).

Uzun vadede görme keskinliği, görme alanı ve kontrast duyarlılık gibi görsel fonksiyonların korunması ve böylece kişinin yaşam kalitesinin yükseltilmesi tedavinin hedefleri olarak kabul edilebilir. Primer açık açılı glokomda temel olarak 3 tedavi metodu mevcuttur:

1. 2. 1. 3. Tıbbi Tedavi:

Glokom tedavisinin asıl amacı hastanın yaşamı süresince düşük GİB sağlamaktır. Çünkü glokom kronik ve çoğu kez asemptomatiktir ve tedavisi çoğu kez birçok pahalı ilacı gerektirir ki bunların çoğu kez kullanılması istenmeyen yan etkilere neden olur ya da riskli cerrahi yöntemler gerektirir. Aynı zamanda tedavi kararında hastanın yaşı, yaşam süresi, fiziksel ve sosyal durumu da düşünülmelidir. Çünkü bu faktörler başarılı tedavi için istenen yüksek düzeydeki hasta uyumunu etkiler. Bu nedenle yöntemler hastaya göre değişir, fakat en büyük evrensel amaç en önemli potansiyel faydayı sağlamak için en düşük risk, maliyet ve hasta uyumunu da düşürerek görmeyi korumaktır. Medikal tedavi PAAG'nin tedavisinde tercih edilen ilk yöntem olmayı sürdürmektedir. Medikal tedavide aşağıda özetlenen topikal ve sistemik antiglokomatöz ilaçlar tek başlarına ya da kombine olarak kullanılmaktadır:

I. Topikal adrenerjik antagonistler:

Nonselektif β -blokörler: timolol, levobunolol, karteolol, metipranalol

Selektif β -blokörler: betaksolol

Beta blokörler aköz humör yapımını azaltarak etki etmektedir.

II. Topikal adrenerjik agonistler:

Selektif olmayan agonistler: epinefrin, dipivefrin

α -2 selektif agonistler: brimonidin, apraklonidin

Bu grup ilaçlar aköz humörün iridokorneal açıdan ve uveoskleral yollardan dışa akımını kolaylaştırarak GİB'i düşürmektedir.

III. Topikal parasempatomimetikler (miyotikler): Pilocarpin, karbakol,

ekotiofat aközün trabeküler yoldan dışa akımını kolaylandırmaktadır. Ancak son

yıllarda uveoskleral yoldan dışa akımı zorlaştıran etkilerinin de olduğu ortaya konulmuştur.

IV. Topikal prostoglandin analogları: Latanoprost, travaprost, bimatoprost.

Bu ilaçlar uveoskleral yoldan dışa akımı kolaylaştırarak etki etmektedir.

V. Sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri: Asetazolamid, diklorfenamid,

metazolamid. Aköz humör yapımını azaltarak etki etmektedirler.

VII. Topikal karbonik anhidraz inhibitörleri: Dorzolamid

VIII. Sistemik hiperosmotik ajanlar: Mannitol, gliserol

Hiperosmotik ajanlar kan osmotik basıncını yükselterek vitreus sıvısının göz dışına çıkmasına ve bu şekilde GİB'in düşmesine neden olmaktadır (26).

Glokomda medikal tedavi, GİB'in yeterince düşürülememesi, ilaç kullanımını engelleyen oküler veya sistemik hastalıklar, yan etkiler veya yetersiz hasta uyumu gibi nedenlerle uygulanamayabilir ve diğer tedavi yöntemlerine başvurmak zorunda kalınabilir.

1. 2. 1. 4. Laser Trabeküloplasti:

Argon laser trabeküloplasti (ALT) çeşitli açık açılı glokom tiplerinde göz içi basıncını düşürmek için kullanılan, iyi tolere edilebilen bir yöntemdir (27). ALT'nin GİB'in kısa süreli kontrolünde etkili olduğu bilinmektedir. Schlemm kanalının delinmesiyle insan trabeküler ağının lazer tedavisi ilk olarak 1973 yılında Krasnov tarafından uygulanmış ama tarif ettiği düşük GİB kısa süreli olmuştur (27). 1979 yılında Wise ve Witter PAAG olan fakik gözlerde küçük eşit aralıklarla yerleşmiş nonpenetran argon lazer spotlarının kalıcı biçimde GİB'i düşürdüğünü bildirmişlerdir. ALT ilaç tedavisinin uygulanamadığı veya cevap alınmadığı olgularda, özellikle hasta cerrahi tedavi için uygun bir aday değilse gerekli olabilmektedir. İşlemden 30-60 dakika önce %0,5 Apraklonidin ya da %0,2 Brimonidin, tedavi sonrası GİB artışını azaltmak için göze damlatılır. %0,5 propakain topikal anestezi için işlemden hemen önce göze damlatılır. Göze gonyolens yerleştirilerek iridokorneal açıdaki trabekülumun ön kısmına argon laser 0.1 sn. süre ile 50 mikron çapta, 200-800 miliwatt güçte uygulanmaktadır. Uygulama esnasında yanık yerlerinde beyazlaşmalar ve küçük hava kabarcıkları oluşmaktadır. ALT'nin 360°'ye tek seansta her kadrana 20-25 spot uygulanması önerilmektedir. ALT'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İlk başlarda yanıkların trabekülumdaki kollagen liflerini kısalttığı, yanık aralarındaki trabeküler ağdaki delikleri büyütürük etki ettiği ve bu yolla dışa akımı kolaylaştırdığı düşünülmekteydi. Fakat bugün daha geçerli olan teori, laser yanıklarının kollagenaz ve matriks metalloproteinaz aktivitesini artırdığı ve bu enzimlerin kalınlaşmış olan trabeküler ağ demetlerini eriterek boşlukları genişlettiği şeklindedir (28). Kesin sonuç belli olmadan önce uygulama sonrası en azından 4-6 haftalık bir süre geçmesi beklenir.

Çocuklarda, gençlerde ve sekonder glokomlarda başarı oranı çok düşüktür. Pigmenter glokom ve psödoeksfolyatif glokomda ise bu oran daha yüksektir. Başarılı bir ALT uygulamasından yaklaşık dört-beş yıl sonra olguların yarısında GİB'nin tekrar yükseldiği gösterilmiştir (29). Bu nedenle, bu yöntem popülaritesini kaybetmiş, kullanım alanı cerrahi uygulanamayan ve GİB'ı medikal tedaviyle regüle olmayan hastalarla sınırlı kalmıştır.

1. 2. 1. 5. Cerrahi Tedavi:

Tolere edilebilen maksimum medikal tedavi veya laser tedavisi gören progresif veya beklenen glokomatöz hasarı olan hastaların çoğunluğu GFC'ye adaydır. Medikal tedavinin ve bazı olgularda ALT'nin GİB'i düşürmede yeterli olmadığı PAAG olgularında cerrahi tedavi gereklidir. Ayrıca GİB'in istenen değerlere düşmesine rağmen optik diskte çukurlaşmanın ve görme alanı kaybının ilerlemesi, tıbbi tedaviye bağlı tolere edilemeyen yan etkiler görülmesi ve kötü hasta uyumu da cerrahi endikasyonlar arasındadır (3). PAAG'de en sık kullanılan operasyon çeşitleri filtrasyon prosedürleridir. Trabekülektomi GFC'nin en popüler formudur (3). Trabekülektomi çok etkilidir ve kontrol edilemeyen PAAG, PAKG, eksfoliyasyon glokomu, pigmenter glokom ve arka kamara intraoküler lensli psödo fakik glokomlu çoğu vakada tercih edilen prosedürdür. Trabekülektominin önceki tam kat filtrasyon prosedürleri olan trepanasyon, sklerektomi ve termal sklerostomiye en önemli üstünlüğü güvenilir bir prosedür oluşudur(30). Trabekülektomi tekniğindeki konjonktival ve skleral flepe ait modifikasyonlar ve yara iyileşmesinin modülasyonu 1980'lerden sonra trabekülektominin başarısını daha da artırmıştır. GİB'in düşürülmesinde ve görmenin korunmasında cerrahinin, medikal veya laserle tedaviye üstünlük taşıdığına ait görüşler bildirilmiştir. Ayrıca başarılı cerrahinin, tıbbi tedaviyle karşılaştırıldığında hastalar için daha iyi bir yaşam kalitesi sağladığı ve topikal ilaç kullanımının daha sonraki cerrahi yetmezlik olasılığını arttırdığı (31-34) bildirilmektedir. Cerrahinin glokom tedavisindeki seçimi bazı kriterlere göre yapılmaktadır. Erken dönemde uygulanan bir filtran cerrahi, minimal komplikasyonlarla birlikte iyi bir basınç kontrolü sağlamaktadır. Erken veya primer cerrahi, eğer hastanın GİB tek ilaçla kontrol altına alınamıyorsa, düşük basınç hedefleniyorsa veya hasta uyumu sorunlu ise düşünülmelidir (26).

1.2. 2.GLOKOM FİLTRASYON CERRAHİSİ, KOMPLİKASYONLAR VE TEDAVİSİ

1. 2. 2. 1. Glokom filtrasyon cerrahisi

1. 2. 2. 1. 1. Genel Teknikler:

Oküler yüzey hastalığı bulunmayan kontrolsüz primer glokomlu gözler ve oküler cerrahi hikâyesi bulunmayanlar başarılı glokom filtrasyon cerrahisi için en iyi adaylardır. Mümkün olduğunca konjonktival skarların bulunduğu alanlardan kaçınılmalıdır. Eger limbusta önemli bir skarlaşma mevcutsa forniks tabanlı konjonktival flep tercih edilebilir. Yüksek endoftalmi oranlarından dolayı filtrasyon alanının mümkün olduğunca inferior yerleşiminden kaçınmak gereklidir.

1. 2. 2. 1. 2. Cerrahi teknik:

İlk başta üst rektüs ya da korneal traksiyon sütürü geçilir. İki farklı konjonktival insizyon açılabilir. Limbal tabanlı ya da önceden cerrahi geçirmiş, limbal açıklığı az olan, limbal skarlı gözlerde forniks tabanlı konjonktival fleb hazırlanır. Limbal tabanlı keside traksiyon sütürü ile cerrahi yapılacak alan açığa çıkarılır. 2-3 ml'lik dengeli salin solusyonu 30 gauge'luk bir iğne ile limbusun 10-12 mm posteriorunda subkonjonktival şekilde uygulanır. Keskin Westcott makasın künt ucu konjonktivaya yerleştirilir ve altta yatan tenonun fasyası 8-10 mm boyunca fornikse paralel olarak kesilir. Tenon kapsülünde yapılacak olan açıklık konjonktival disseksiyonun izdüşümünde gerçekleştirilir. Bir miktar tenon dokusu çıkarılabilir. Uygun miktarda tenon dokusu uzun dönem blep bozulmasını, hipotoni ve endoftalmi oranını azaltır fakat fazlası fibrozise ve filtrasyon yetmezliğine yol açar. Limbus tabanlı cerrahide konjonktiva altı tenon kapsülünün kenarını tutmak için künt forsepsler kullanılır. Kapsül altta yer alan rektus kasından özenle ayrılarak ve yara kenarında bir miktar bırakılarak episkleraya kadar insize edilir. Flep limbusa doğru disseke edilir ve bu esnada bir miktar daha tenon eksize edilebilir. Bütün konjonktiva disseksiyonu boyunca Westcott makasının ucu yarı saydam konjonktivadan görülebilir. Derinde episkleral doku altta limbus görülene kadar disseksiyon yapılır. Skleral flep disseksiyonu öncesi uygun hemostaz gerekmektedir. Koter kanamayı durdurmak için ve öngörülen skleral flep ve çevreleyen alanı sınırlandırmak için kullanılır. Konjonktivaya koter uygulanmasından kaçınılmalıdır. Antimetabolit uygulama kararı cerrahiden önce alınmalıdır. Filtrasyon bozukluğuna sebep olabilecek risk faktörlerinin sayısı ve önemi arttıkça daha güçlü antimetabolitler kullanılmalıdır. Düşük başarısızlık riski

için antimetabolit kullanımı gereksizdir. Bu gibi vakalarda ameliyat sonrası blebe 5 mg 5- FU enjeksiyonu uygulanabilir. Orta derecede riskli vakalarda intraoperatif 5- FU (50 mg / ml) 5 dakika süresince veya düşük doz MMC 0.2 mg / ml 2-5 dakika boyunca uygulanabilir. Risk faktörünün fazlalığına göre süre 2 dakikadan 5 dakikaya kadar artırılabilir. Çok yüksek risk taşıyan gözlerde yüksek konsantrasyonlarda MMC 0.4 mg/ml 2-5 dakikalık periyotlarda uygulanması gerekebilir. Skleral flep disseksiyonundan önce antimetabolit emdirilmiş dikdörtgen şeklindeki sünger flebin oluşturulmak istendiği bölgeye yerleştirilir ve tenon ile konjonktiva süngerin üzerine örtülerek belirlenmiş süre boyunca bekletilir. Belirtilen süre sonunda tenon ve konjonktiva geri çekilir ve en az 10 ml dengeli tuz solüsyonu ile alan yıkanır (35).

Skleral flepin disseksiyonu yapılacak alanın görünür hale gelmesini sağlamak için göz aşağı doğru traksiyone edilir. Limbal anatomiye bağlı olarak flep saat 11, 12 ya da 1 pozisyonundan kaldırılabilir. Bıçak yardımıyla kısmi kalınlıkta skleral flep kaldırılır. Genelde 4×4 mm genişliğinde ve 2/3 kalınlığındaki kare şeklinde skleral flep tercih edilir. Flep saydam korneaya kadar disseke edilir. Korneaskleral blok çıkarılmadan önce ön kamaraya temporalden parasentez yapılabilir. Bu daha sonra trabekülektomi yerindeki akımı ölçmek amacıyla ön kamara oluşturulmasında kullanılır. 1×2 mm boyutlarında korneaskleral blok çıkarılır. Cerrahi olarak bu bölgeden iris dokusu periferden çıkarılarak iridektomi yapılır. Hızlı kapatmayı kolaylaştırmak için skleral flebin uç kısımlarına tercihen 2 adet 10/0 nonabsorbabl suture konulur. Gözün bütünlüğünün sağlanması amacıyla parasentez yerinden ön kamaraya sıvı verilip cerrahi bölgeden drenajı izlenir. Tenon kapsülü tek tek 8/0 absorbabl suture ile konjonktivada 8/0 veya 9/0 absorbabl suture ile iki tabaka olarak suture edilir.

Glokom cerrahisine bağlı komplikasyonlar başlıca üç gruba ayrılır:

- 1-İntraoperatif komplikasyonlar
- 2-Erken postoperatif komplikasyonlar
- 3-Geç postoperatif komplikasyonlar

1. 2. 2. 2. İnteroperatif komplikasyonlar

1.2. 2. 2. 1. Konjonktivada delik veya yırtık oluşması:

Cerrahinin herhangi bir safhasında konjonktivada düğme deliği şeklinde defektler oluşabilir. Bu komplikasyondan kaçınmak için konjonktival manevralarda dişsiz forseps kullanılmalıdır. Delik oluşursa operasyonu takiben sızdırmayacak şekilde kapatılmalıdır. Operasyonun erken döneminde saptanırsa trabekülektomi defektten uzak bir bölgede yapılmalı, antimetabolit kullanımı öncesi saptanırsa antimetabolit uygulamasından vazgeçilmelidir. Deliğin yeri, büyüklüğü ve şekline göre kapatma tekniği uygulanmalıdır (36).

1.2. 2. 2. 2. Skleral flep yırtığı veya kopması:

Yeterli kalınlıkta yani 2/3 kalınlıkta skleral flep hazırlanamadığı zaman bu flepler kolayca yırtılabilir veya kopabilirler. Yırtık erken saptanırsa ve küçükse 10/0 naylon suture ile direkt kapama uygulanabilir. Flep tabanı kısmi olarak ayrılacak olursa çift uçlu horizontal matres suture ile şeffaf korneadan çıkacak şekilde flep düzeltilebilir. Total ayrılma ve büyük yırtıklarda yapılabilecek en iyi girişim sorunlu flep üzerine ek örtü kaplanmasıdır. Bu amaçla tenon dokusu, donör sklera, dura, perikardiyum ve fascia lata kullanılabilir (37).

1. 2. 2. 2. 3. Vitreus kaybı:

Bu komplikasyon özellikle komplike olmuş katarakt ekstraksiyonu sonrası psödo fak veya afak hastalarda iridektomiden sonra ortaya çıkabilir. Vitreus çok kuvvetli bir tıkaç olduğundan sklerotomi bölgesinden tüm vitreusun temizlenmesi çok büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla makas, sellüloz sponç veya otomatik vitrektör kullanılabilir. Postoperatif dar ön kamara daha fazla vitreus gelmesine yol açacağından erken dönemde suture ayarlaması ve medikal önlemlerle aşırı drenaj önlenmelidir (36).

1. 2. 2. 2. 4. İntraoperatif kanama:

Ameliyat sırasında yapılan iridektomi sonrası iris kökü veya siliyer cisimden olacak kanama sklerotomi bölgesini tıkayabilir. Düşük konsantrasyonda epinefrin içeren soğuk irrigasyon sıvısı damlatılması ile kanama durdurulabilir ya da eğer kanama bölgesi görülebiliyorsa monopolar ıslak 23 gauge koter uygulanabilir. Viskoelastik maddeler tampon olarak ve hipotoniye engellemek için göz içinde bırakılabilir. Suprakoroidal hemoraji bir diğer intraoperatif kanama nedenidir. Bu durumda operasyon bölgesi hemen sütüre edilmelidir. GİB'i 40 mmHg'nin üstünde olan ve trabekülektomi planlanan hastalarda preoperatif olarak 100 ml %20'lik mannitol, intravenöz yolla, 15 dk sürede verilmelidir; bu arada hastaya foley kateteri yerleştirilmiş olması hastayı ve hekimi rahatlatır (36).

1. 2. 2. 2. 5. Koroid efüzyonu:

Genellikle efüzyon, ameliyat sırasından çok ameliyat sonrası gelişir. Ancak Sturge-Weber sendromu ve artmış episkleral venöz basınç intraoperatif koroid efüzyonu riskini artırır (38). Bu komplikasyon, ön kamaradaki ani daralma ile kendini gösterir. Tedavide inferior radyal sklerotomiden drenaj yapılmalıdır (36).

1. 2. 2. 2. 6. Zonül ve lens hasarı:

İridektomi bölgesinde lokalize zonül veya kapsül hasarı oluşabilir. Bu komplikasyon ileride lokalize lens kesafeti gelişmesine neden olabilir. Cerrahi esnasında sığ ön kamarası olan ve ön kamara teşkili için fazlaca manupülasyon yapılan gözlerde daha sonra ön kapsül altında opasiteler gelişebilir (36).

1. 2. 2. 3. Erken postoperatif komplikasyonlar

1. 2. 2. 3. 1. Drenaj azlığı:

Erken postoperatif dönemdeki drenaj azlığı, sklerotomi blokajıyla ilgili değilse, çoğu kez kendiliğinden veya basit önlemlerle düzelir. Postoperatif yedinci günden önce dijital masaj bu

amaçla yaygın olarak kullanılır. İnatçı olgularda, çözülebilir sütün kullanılmışsa bu sütün alınabilir ya da laser sütün lizis yapılabilir. Eğer kalıcı sütün konulmuşsa 10/0 naylon sütün Hoskins lensi kullanılarak argon laserle koterize edilebilir. İnternal sklerotomi fibrin veya kan pıhtısı ile tıkanmış ise bu durumda düşük dozlarda intrakameral doku plazminojen aktivatörü kullanılabilir. Fibrin, topikal ve/veya oral yüksek doz kortikosteroid kullanılmadıkça sıklıkla tekrarlama eğilimindedir (36, 39).

1. 2. 2. 3. 2. Sığ ön kamara:

Bu durumda öncelikle sığığın nedeni ortaya çıkarılmalıdır. Sığ ön kamara nedenleri arasında aşırı drenaj, düşük GİB veya bleb sızdırması sayılabilir. Aşırı drenajın tedavisi bleb sızıntısı yoksa zor olmaktadır. Eğer bleb kabarıksa, kornea lens teması veya öpüşen koroid teması yoksa siklopleji ile takip uygundur. Ancak ön kamara sığığı progressif ise erken büyük yumuşak kontakt lens kullanımı daha sonra oluşabilecek problemleri önlemede faydalıdır. Bu lensler blebin fazla büyümesini ve aşırı aköz akımını önlemektedir. Kullanımları bir-iki hafta sonra kesilebilir (40).

Diğer seçenek; bazı cerrahların kullandığı sıkı kapama fakat burada hasta yukarı baktığında (uyku, Bell fenomeni) sıkı kapama kornea lens temasına neden olabilmektedir. Ön kamaraya viskoelastik enjeksiyonu gözün kendisini toparlaması için yeterli süreyi sağlamaktadır (41). Başlangıç aşırı drenaj ve bleb sızıntısı sıklıkla gözden kaçan bir konjonktiva defekti nedeniyle. Özellikle antimetabolit kullanılmışsa ve/veya konjonktiva kistik veya incelmışse, konjonktiva sütünasyonu delikte büyümeye yol açabileceğinden kapama amacıyla yumuşak kontakt lens veya Simmon shell kullanılabilir. Cerrahi bleb takip edilerek yukarıda sayılan tedavilere cevap izlenir. Küçük geç postoperatif bleb sızdırmaları için diğer alternatifler otolog fibrin doku yapıştırıcısı, otolog kan enjeksiyonu ve kontakt lens ile birlikte siyanoakrilat uygulamasıdır. Büyük erken postoperatif bleb sızdırması, delik defekti olmayan konjonktivadan yeni bleb oluşturulması ile tedavi edilebilmektedir (42). Diğer erken postoperatif ön kamara sığığı nedenleri arasında düşük GİB, yoğun postoperatif inflamasyon nedeniyle siliyer ayrılma sayılabilir. Bu gözlerde düz bleb varlığı, bleb sızdırmasının olmaması, dar ön kamara, düşük GİB ve bazen inflamatuvar koroid efüzyonu mevcuttur. Bu vakalarda yüksek doz topikal, peribulber ve sistemik kortikosteroid yardımcı olabilir. Ayrıca postoperatif 5-FU enjeksiyonu da düşünülebilir. Bir başka dar ön kamara ve yüksek GİB nedeni aköz yanlış yönlendirme sendromudur (malign glokom). Aköz yanlış yönlendirme sendromu yüksek GİB ile birlikte iris-lens diyaframının belirgin şekilde öne gelmesi ile

karakterizedir. Erken başlanılırsa yoğun sikloplejik tedavi ile (atropin % 15 dk. ara ile 3 damla ve sonra 4x1) %50 olguda düzelme görülebilmektedir. Ayrıca aköz süpresan ve/veya osmotik ajan kullanılabileceği de ileri sürülmektedir. Eğer bu tedaviler başarılı olmazsa, hasta afak veya psödoafak ise laser tedavisi uygulanmalıdır (36).

1. 2. 2. 3. 3. Koroid efüzyonu:

Sıklıkla dar ön kamara ile birlikte. Ama normal ön kamara derinliği ve düşük GİB durumlarında da görülebilmektedir. Tedavi siklopleji, topikal steroid ve gözlemdir. Efüzyon çok fazla ilerler ancak temas olmazsa drenaj gerekmemektedir. Temas santralde olursa retinal adezyon riski nedeni ile bir çok cerrah alt kadrandan posterior sklerotomi yapmayı tercih etmektedir. Koroid efüzyonunun drenajı sırasında daha fazla hipotoni ve efüzyon rekürrensini önlemek açısından skleral bleb tekrar gözden geçirilmelidir. Kalıcı veya gevşetilebilir sütür kısa dönemde sızıntıyı azaltmakta yeterli olmaktadır (36).

1. 2. 2. 3. 4. Korneal epitelyopati:

5-FU enjeksiyonu sonrası korneal epitel toksisitesi ve defekti insidansı artmaktadır. Tedavisinde erken geçici punktal oklüzyon korneal ıslanmayı sağlamakta, prezervan içermeyen suni gözyaşları da yardımcı olmaktadır. Bandaj kontakt lens uygulamasının inflamasyonu azaltıp rahatlama sağladığı da rapor edilmiştir (43).

1. 2. 2. 4. Geç postoperatif komplikasyonlar

1. 2. 2. 4. 1. Geç bleb yetersizliği:

Bu komplikasyon yoğun vaskülarizasyon ve bleb etrafında aşırı yara iyileşmesinden kaynaklanabilmektedir. İğneleme revizyonu tek başına veya 5-FU enjeksiyonu ile birlikte filtrasyonu sağlayabilir (36).

1. 2. 2. 4. 2. Tenon kisti oluşumu:

Tenon kisti yüksek kubbe şeklinde gergin bleb enkapsülasyonudur ve aköz sızıntısını sınırlamaktadır. Vaskülarize bleb yetmezliğinden ayırımı yapılmalıdır. Postoperatif birinci ayda %15 oranında görüldüğü rapor edilmiştir. Ancak 5-FU veya MMC alan gözlerde daha az görülmektedir. Kortikosteroid ile birlikte veya birlikte olmaksızın GİB'deki ani artışın medikal tedavisi yapılmalıdır. Bleb genellikle yeniden şekillenme fazından bir süre sonra çalışmaya başlayacaktır (36).

1. 2. 2. 4. 3. Geç bleb sızdırması:

Bu sızıntıların başlangıç tedavisi kapama, aköz baskılayıcıları ve antibiyotik kullanımını içermektedir. Bunlardan başka bandaj kontakt lens, otolog serum, doku yapıştırıcıları veya triklorasetik asid uygulaması yapılabilir. Ayrıca dikkatli bir şekilde kriyoterapi uygulanabilir. Eğer bu tedaviler başarısız olursa ileri tedavi olarak Nd:Yag laser ile blebe düzeltme denenebilir. Diğer bir alternatif, kistik sızdıran blebin eksize edilerek sklerotomi üzerine serbest konjonktival greft uygulanmasıdır. Skarlaşma minimal ise, konjonktival rotasyon ile lokal revizyon denenebilir (44).

1. 2. 2. 4. 4. Geç endoftalmiye neden olabilecek blebitis:

Yaklaşık %1 olguda bleb enfeksiyonu gelişebilmektedir. Antimetabolit uygulanması sonrası kistik, ince bleblerde risk daha fazladır. Eğer bleb varsa, mutlaka her kırmızı göze acil antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Blebitin konjunktivitten ayırımı yapılmalıdır. Vitreus analizinde vitreus sakın ise saat başı antibiyotik uygulaması bleb ve gözün sağlığı açısından önemlidir. Enflamasyon tedavisi için 48 saat sonra topikal kortikosteroid başlanabilir. Vitreus tutulumu ile birlikte endoftalmi varsa intravitreal kültür ve antibiyotik tedavisi gerekmekte ve göz nadiren kurtarılmaktadır. Bu gözlerde en sık etken hemofilus, streptokok ve stafilokok suşlarıdır. Sonuçta tedavide en iyi seçenekler fortifiye sefazolin veya vankomisin ve tobramisindir. İntravitreal antibiyotik enjeksiyonu için vankomisin ve amikasin kullanılabilir (36).

1. 2. 2. 4. 5. Geç hipotoni:

Antimetabolitler geç postoperatif dönemdeki trabekulektomi komplikasyonlarına geç hipotoni komplikasyonunu eklemiştir. Genellikle gevşek skleral flep kapaması ve yüksek doz MMC uygulaması ile gelişmesine rağmen 5-FU uygulaması sonrasında da görülebilmektedir. Geç hipotoninin karakteristik bulguları görme azlığı, yumuşak göz, büyük ince-vasküler bleb, makulada katlantılar, kıvrımlı retinal damarlar ve optik sinir başında kabarıklıktır. Tedavi bleb içine otolog kan enjeksiyonu ve Nd: YAG uygulanmasıdır (45). Bir donör örtü aköz geçisini sınırlamak için gerekli olabilmektedir. Alternatif olarak semptomatik katarakt varsa yapılacak olan katarakt ekstraksiyonu sonucu gelişen enflamasyon blebden filtrasyonu azaltarak hipotoniye düzeltmektedir (46).

1. 2. 3. CERRAHİ BAşARISIZLIğIN NEDENLERİ

Filtran cerrahinin başarısız olmasına yol açan bir takım risk faktörleri bulunmaktadır:

1. 2. 3. 1. Uzun süre topikal tedavi kullanımı:

Daha önceden topikal tedavi almış olanlarda filtran cerrahinin başarısızlık olasılığının arttığı bildirilmiştir (33). Primer cerrahi yapılan hastalardan ve cerrahiden önce bir yıl süreyle en azından iki topikal ilaç alan hastalardan alınan konjonktival biyopsilerin karşılaştırılması sonucunda tıbbi tedavi alan grupta goblet hücrelerinin sayısında anlamlı derecede dş, konjonktiva ve tenon kapsülündeki makrofaj, lenfosit, mast hücreleri ve fibroblastların sayısında anlamlı derecede artış gözlenmiştir (47). Topikal tedavi almış olan hastaların fornikslerinin kontrakte olduğu bilinmektedir (48). Bu sonuçlar uzun süreli medikasyonların bulber konjonktivada kronik enflamatuar değişiklikleri arttırdığını göstermektedir. Uzun süre tedavi alan grupta başarı %79 iken primer cerrahi uygulanan grupta başarı %98 olarak bildirilmektedir (33). Bu vakalarda antimetabolitler uzun dönem filtrasyonda başarıya yardımcı olmaktadır. Adrenerjik ilaçlar ilaç allerjisine neden olabilmektedir ayrıca postoperatif tenon kisti oluşumuna öncülük edebilmektedir (3). Bu nedenle tıbbi tedavinin cerrahiden en az iki hafta önce kesilmesi ve GİB'in oral karbonik anhidraz inhibitörlerinin kısa süreli kullanımıyla kontrol edilmesi önerilmekte, ayrıca düşük doz topikal steroidlerin de cerrahiden önce konjonktival enflamasyonu önemli lde azaltabileceğinden bahsedilmektedir (3).

1. 2. 3. 2. Irk:

Siyah ırkta aşırı skar dokusu oluşumuna olan yatkınlık nedeniyle cerrahi başarı düşüktür. Bu fibröz doku oluşumunu azaltmak için özellikle siyah ırkta, bir fibröz doku kaynağı olan tenon kapsülünün eksizyonu önerilmektedir (4).

1. 2. 3. 3. Yaş:

Özellikle 30 yaşın altındaki glokomlularda yaş önem göstermektedir. Trabekülektomi 60 yaşın üstündeki hastalarda, genç hastalara oranla daha başarılıdır. Gressel ve ark.'na göre 30-49 yaşları arası cerrahi başarı oranı %83 iken bu oran 30 yaşın altındakilerde %44'dür. Başarı oranının düşüklüğü yara iyileşmesinin gençlerde daha şiddetli olmasına bağlanmaktadır (49).

1. 2. 3. 4. İntraoküler enflamasyon:

Kronik intraoküler enflamasyonlu olgulardaki cerrahi, sıklıkla başarısızlıkla sonuçlandığından standart filtran cerrahiden kaçınılması önerilmektedir (50).

1. 2. 3. 5. Afakî:

Afak gözlerde fakik gözlere göre glokom cerrahisinin başarısı düşüktür (51). Bunun en sık nedeni filtrasyon bölgesinde skarlaşmaya eğilimin artmış olmasıdır (4). Ayrıca yetmezliğin, filtrasyon bölgesindeki subkonjonktival yüzey ve episkleral yüzdeki skarlaşma ile birliktelik gösterebileceği düşünülmektedir. Katarakt cerrahisi sonucu konjonktivanın skarlaşmış olması ve fistül ağzının vitreus tarafından kapatılması da başarıyı düşürebilecek ek risk faktörlerindedir (51). Afak gözlerde aköz içeriğinin değişmiş olması da cerrahi sonrası başarının azalmasında rol oynayabilir. Çünkü aköz hümanın yapısında hücre proliferasyonunu inhibe eden bir faktörün olduğu ileri sürülmektedir (52).

1. 2. 3. 6. Geçirilmiş başarısız filtran cerrahi:

Önceki başarısız filtrasyon cerrahisi sonraki başarılı operasyon ihtimalini azaltmaktadır. Önceki başarısız filtran cerrahi sonrası başarı oranları %20-51 arasında değişmektedir. Büyük serilerde ise beş yıllık süreçte bu oran %36'dır (53).

1. 2. 3. 7. Ön segment neovaskülarizasyonu:

Neovasküler glokomlularda konvansiyonel filtran cerrahinin başarı şansı oldukça düşüktür. Aktif neovaskülarizasyon operasyon bölgesinde daha şiddetli bir yara iyileşmesine neden olmakta ve fistül postoperatif bir kaç hafta içinde kapanmaktadır (4).

1. 2. 4. TRABEKÜLEKTOMİDE YARA İYİLEŞMESİ

GFC'den sonra yara iyileşmesi vücudun diğer bölgelerindeki gibidir. Yara iyileşmesi cerrahi travmaya dokuların bir reaksiyonu sonucu ortaya çıkmakta, hemostaz ile ameliyat bölgesinin sınırlandırılmasıyla kontrol edilmektedir. Konjonktiva ve skleraya yapılan kesi bağ dokusu ve damarlarda hasar oluşturmaktadır. Böylece yara iyileşmesinin başlangıç fazı olan enflamatuar faz başlamaktadır. Damar duvarı hasarı, vasküler kaçağın artışına neden olabilen çeşitli hormonal faktörlerin salınımını uyarmaktadır (54, 55). Bunlardan histamin damar duvarı geçirgenliğini artıran vasküler endotelial hücrelerdeki ayrılma ve kontraksiyona neden olmaktadır (55). Serotonin ise arteriollerini dilate etmektedir (54, 55). Bunun dışında lökotrienler ve prostaglandinler de etki eden hormonal faktörlerdendir. Plazma proteinlerinin subkonjonktival aralığa kaçağı damar geçirgenliğini daha da arttırmaktadır (56). Plazma proteinleri çeşitli doku faktörlerinin açığa çıkmasından sonra pıhtılaşma kaskadını ve pıhtılaşma fazını başlatmaktadır. Subkonjonktival kanama, ek pıhtılaşma faktörleri ve plateletler de iştirak etmektedir (55). Trombositler yara içine hücre göçünü hızlandırarak ve plateletlerden derive büyüme faktörleri (PDGF) nin salınımıyla erken yara iyileşmesini etkilemektedir. Ayrıca PDGF fibroblastlar üzerine etki eden proliferasyonu hızlandırıcı ve direkt kemotaktik bir faktördür (55,56). Fibrin, fibronektin ve bu bölgede hapsolmuş kırmızı kan hücrelerinin kombinasyonu olan pıhtı, enflamatuar hücrelerin ve fibroblastların yara yerine hareketini kolaylaştırmaktadır. Pıhtılaşma aşaması fibrin oluşumunu önleyen heparin ve doku plazminojen aktivatörü ile kontrol edilebilmektedir (4). Yeni açılan fistülden gelen humor aköz iyileşme cevabına etki etmektedir. Aközün fibroblastlar üzerine in vivo ve invitro olarak inhibe edici etkisi olduğu bilinmektedir. Normalde aköz humor doku kültüründeki konjonktival fibroblastların çoğalmasını yavaşlatmaktadır. Bu, aköz içerisinde fibroblast proliferasyonunu inhibe eden bir faktörün olabileceğini düşündürmektedir (57). Aköz içerisinde yüksek oranda bulunan askorbik asit tenon kapsülünün fibroblastlarına toksiktir, ancak postoperatif dönemdeki aköz veya %20'lik dehidrate edilmiş embriyo materyali ile

karişik olan aköz ise fibroblastların proliferasyonunu arttırmaktadır. Ayrıca aközün oküler fibroblastlar üzerine kemoatraktif aktivitesi mevcuttur. Bu aktivite önceden glokom cerrahisi geçirmiş gözlerde daha fazla olmaktadır (57). Kan-aköz bariyerinin yıkılması sonucu aköze çeşitli büyüme faktörleri geçmekte ve aközün yara yerine filtrasyonu bu faktörlerin yara iyileşmesi sürecine katkısı olmaktadır (5). Polimorf nüveli lökositler yara yerine ilk gelen hücrelerdir. Bunları makrofaj öncü hücreleri olan monositler izlemektedir. Monositlerin kemotaksisi fibronektin, PDGF ve kompleman sistemiyle daha da artmaktadır. Çevre doku ve kan monositlerinden kaynaklanan makrofajlar fibroblast göçü ve proliferasyonunu uyaran faktörleri salmaktadır ve erken yara kapanmasını sağlamaktadır. Yaralanmadan üç gün sonra makrofajlar pik yapmakta ve beşinci günde azalmaya başlamaktadır (58). Yara iyileşmesinin bir başka evresi olan fibroblastik evrede kan, yara dudakları, episklara ve konjonktiva altı dokulardaki mezenkimal hücrelerden kaynaklanan fibroblastlar cerrahi travmadan üç gün sonra yara yerine gelmeye başlamakta ve fibronektin, serotonin ve prostoglandinler gibi doku hormonları tarafından yara yerine çekilmektedirler (4). Yara iyileşmesinin beşinci gününde fibroblastlar yara yerindeki baskın hücresel komponent haline gelmektedir. Fibroblastlardan glikozaminoglikan, fibronektin ve kollajeni oluşturacak olan tropokollagen sentezlenmektedir (58). Kollagen yara matriksinin en önemli bileşeni olup filtran cerrahinin başarısızlığının önde gelen sebeplerindedir. Blep yetmezliği olan gözlerin histopatolojik incelemesinde, fibroblastların sitoplazmalarının endoplazmik retikulumdan zengin ve sisternalarının geniş olduğu gözlenmiştir. Fibroblastların yara yerine gelmesinden hemen sonra anjiogenezis başlamaktadır. Vasküler endotel hücreleri uzayarak hücresel lümen, daha sonra da kapiller ağ oluşturmaktadır. Bu kapillerler fibroblastlar için ilave kaynak sağlamakta ve daha fazla kollagen sentezi olmaktadır. Bu kollagen desteği yeni damarların daha da büyümesini sağlayarak yara dudakları ince vasküler yapılarla köprülenmektedir (6). GFC'den yaklaşık on gün sonra, granülasyon dokusunda artma ve yara yeri kontraktürüyle karakterize geç yara iyileşmesi yani granülasyon evresi başlamaktadır. Filtrasyon yetmezliğinde blep küçülmekte, kalınlaşmakta ve vasküler yapıları artmaktadır. Yara dudaklarında kontraktürü sağlayan miyofibroblastlar özellikle düz kas özellikleri olan farklılaşmış fibroblastlardır. Kontraksiyonları cerrahiden 5-7 gün sonra başlamakta, 4-5. haftalarda en üst düzeye varmaktadır (4).

Yara iyileşmesinin son fazı olan yeniden şekillenme aşaması fibroblastik fazda başlayarak 2-3 ay boyunca devam etmekte ve bu aşamada fonksiyonel filtran bleb oluşmaktadır. Damarların sayısı ve çaplarının azalması ile subkonjonktival skar gelişmektedir. Fibroblastlar ve kollagen, korneaskleral lamellere paralel olarak yerleşmektedir. Aralıklı olarak yapılan dijital masajın

kollagenin episkleral kanallardaki sıvı akımına paralel yerleşmesini sağladığı ve yeniden şekillenme aşamasını etkilediği düşünülmektedir (4, 6). Filtran bleb oluşumu postoperatif ikinci haftada kontraksiyon ve yeniden şekillenme aşamasında başlayıp yıllarca sürebilmektedir. Aktif filtran bleb yumuşak, kabarık, ince duvarlı; kistik olanı ise vasküler yapıları azalmış olarak görülür. Konjonktival mikrokistler başarılı filtran cerrahinin karakteristik özelliğidir. Başarısız bleb vaskülarize, kalın ve opak görünümlüdür (6). Yara iyileşmesi ve skar oluşumu süreci değişik noktalardan yönlendirilebilmesine rağmen skar oluşumunu önlemede daha çok skatrizasyon sürecinin en önemli hücreleri olan fibroblastlar üzerine yoğunlaşmıştır. Filtrasyon cerrahisi sıklıkla hücre dışı matriksin özellikle kollagenin yapımı nedeniyle başarısızlıkla sonuçlandığından fibroblast fonksiyonunun inhibisyonu yara iyileşmesinin kontrolünde önemli bir faktördür (4, 6)

1. 2. 4. 1. Yara İyileşmesinde Etkili Mediatörler:

Büyüme faktörleri birçok hücre tarafından salgılanan, hücre çoğalmasını, göçünü ve hayatının devamını uyarın, bazı durumlarda ise bunları engelleyen peptidlerdir. Hareketlerini otokrin, jukstakrin veya en yaygın biçimde parakrin mekanizmalarla gerçekleştirirler. Karşılıklarına gelen hücre yüzey reseptörleri tirozin kinaz veya G proteiniyle eşleşen transmembran glikoproteinleridir. İlgili reseptörlere bağlanan büyüme faktörleri deoksi ribonükleik asit (DNA) sentezinin sentez fazını uyarır ve ardından hücre çoğalması gerçekleşir (59). Göz, birçok growth faktör için hedef doku konumundadır: Epidermal growth faktör (EGF), Platelet-derived growth faktör (PDGF), İnsulin-like growth faktör (IGF), Transforming growth faktör (TGF) ve Fibroblast growth faktör (FGF) bunların başlıcalarıdır (60).

1. 2. 4. 1. 1. Epidermal Growth Faktör:

EGF epitel hücreleri için potent bir mitojen olan, 6 kilodalton ağırlığında kompakt bir polipeptittir. EGF reseptörü 175.000 dalton ağırlığında bir membran glikoproteinidir ve konjonktiva epitelinde, tenon kapsülü epitelinde, kornea epitel ve endotelinde, irisin pigment epitelinde ve lens epitelinde mevcuttur. Reseptörde EGF'nin yüksek ve düşük afinite ile bağlandığı bölgeler vardır. EGF'nin reseptörüne bağlanması tirozin kinazı aktive eder, fibronektin, hyaluronik asit gibi ekstraselüler matriks (ECM) moleküllerinin salgılanmasına ve kontakt inhibisyonunun olmadığı hücrelerin çoğalmasına neden olan DNA sentezini uyarır. Reseptör fosforilasyonu, hücre göçüne yardımcı olan, hücre iskeletindeki aktinin yeniden

düzenlenmesini de sağlar (61). Lakrimal bezdeki ve gözyaşındaki EGF'nin de kornea epiteline etkileri olmaktadır (62). EGF normal kornea epitel kalınlığının devam ettirilmesinde de önemlidir. Stromada timidin alınmasını artırır, fibroblastlarda mitoz ve migrasyonu aktive eder, aktive fibroblastların insizyon yerinde çoğalmasını sağlayacak kemotaksisten sorumludur. Epitel ve stromal iyileşmeye olan etkileri ile gerginliğe karşı yara direncini artırır, ayrıca endotel proliferasyonuna da yol açar (63).

1. 2. 4. 1. 2. Fibroblast Growth Faktör:

FGF ailesi ortalama 18 kilodalton ağırlığında olan, 20 kadar heparin bağlayan, birçok dokuda çoğalma, farklılaşma, göç, ekstraselüler matriks depolanması ve anjiogenez gibi olayları düzenleyen protein grubudur. Parçalanmadan korunmak için düşük afiniteli heparan sülfat proteoglikanlarına tutunurlar ve hücre yüzeyindeki yüksek afiniteli tirozin kinaz reseptörlerine bağlanırlar (64). Asidik FGF, konjonktiva, tenon dokusu, Bowman zarı ve Descement membranlarında, endotel hücrelerinde, daha az oranda ise epitelde tespit edilmiştir. Lakrimal bez tarafından da salınan bu faktörün, epitel hücrelerinde hem parakrin hem de otokrin etkileri vardır. Asidik ve bazik FGF epitel, endotel ve stroma hücrelerinde mitojeniktir (65). Bazik FGF, fibroblastlarda DNA sentezini, yara gerginliğine direncini ve endotel hücrelerinde mitotik hızı artırır (60).

1. 2. 4. 1. 3. Transforming Growth Faktör Alfa:

Fare embriyosunda TGF- α sentezi engellenerek yapılan deneylerde göz kapağı gelişim bozukluğu, mikroftalmi, yüzeysel opasiteler, göz kapağı ve ön segment disgenezisi, korneal enflamasyon ve skar oluşumu, lense ve retinaya ait defektler gözlenmiştir. Transforming growth faktör- α , EGF gibi gözyaşında bulunur ve olası kaynak yine lakrimal bezlerdir. Ek olarak epitel hücreleri TGF- α , TGF- α mRNA'sı ve proteinini içerirler. Bu durum EGF ve TGF- α üreten epitel hücrelerinin otokrin mekanizmayla normal sikluslarını devam ettirdiklerini düşündürmektedir. Endotel hasarında aköz humörde TGF- α konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir (60).

1. 2. 4. 1. 4. Transforming Growth Faktör Beta:

TGF- β ailesi TGF- β 1, TGF β 2 ve TGF- β 3'den oluşan yaklaşık 25 kilodalton ağırlığında ve birçok doku tarafından üretilen polipeptidlerdir. TGF- β dimerik, inaktif biçimde salgılanır ve latent growth faktör havuzu oluşturmak üzere ekstraselüler matrikse bağlanır ve ekstraselüler veya membrana bağlı enzimlerle aktif hale getirilir (66). TGF- β ekstraselüler matriks aktivasyonu ve üretimi, hücre büyüme ve farklılaşması gibi cevaplara neden olur (67). TGF- β 'nın genel olarak epitel, endotel hücreleri, lökositlerin büyümesini engellediği ve fibroblast üretimini uyardığı kabul edilmektedir (68). TGF- α 'nın epitelden stromaya salgılanması ve gözyaşında üretimi stromal hücrelerde çoğalma ve göçe neden olur. TGF- β 'nın enflamasyon odağına fibroblast, monosit ve makrofajları çekme özelliği de vardır (69). Bunların dışında IL-1, IL-6, TNF- α epitel göçünde indirekt olarak etkili olabilmektedirler (66). Tavşanlarda korneal insizyonlarda gerilmeye karşı yara direncini arttırıcı etki gösterir. Bu etkisini insizyon yerinde kemotaksis ile fibroblast sayısını arttırarak gerçekleştirir. Ayrıca matriks metalloproteaz (MMP) sentezini azaltması ve metalloproteinaz doku inhibitörü sentezini arttırması da olasıdır (67).

1. 2. 4. 1. 5. Hepatosit Growth Faktör:

HGF yaklaşık 90 kilodalton ağırlığında bir glikoproteindir. Mezenşimal kökenli hücrelerden salgılanır ve travma, enflamatuvar uyarılar ve koagülasyon kaskadındaki proteazlarla aktif hale gelir. HGF reseptörü tirozin kinaz özelliği taşır. HGF reseptörü en yoğun olarak epitel hücrelerinde bulunur; ancak HGF klasik parakrin etki ile fibroblastlardan üretilerek epitel hücrelerine etki eder (70). HGF hücre göçünü uyarır, stroma fibroblastlarına etkisi minimaldir (71).

1. 2. 4. 1. 6. Platelet Derived Growth Faktör:

PDGF sistein bağlı, 35 kilodalton ağırlığında, A ve B zincirlerinden oluşmuş dimer yapısındadır (59). Bu faktör'ün -AA, -AB, -BB izomerleri vardır ve reseptörü heterodimerik ve monomerik formlarda bulunur (66). PDGF'nin reseptörüne bağlanması mitojenik etkileri indükler (59). PDGF reseptörleri fibroblastlarda ve endotel hücrelerinde bulunur. PDGF-BB proteini epitel hücrelerinde üretilir ve en yüksek miktarda bazal membrana bağlanır (69). Endotel hücrelerinin ve fibroblastların göçü PDGF-BB ile uyarılır. Fibronektin varlığında

PDGF-AA ve –BB epitel hücrelerinin kemotaksisini uyarmaktadır (66). PDGF aköz hümörde eser miktarda bulunur ve fibroblastların TGF- β 'ya olan çoğalma cevabını arttırır (72).

1. 2. 5. GLOKOM CERRAHİSİNDE YARA İYİLEŞMESİ MODÜLASYONU

Glokom cerrahisi sonrasında yara iyileşmesi sürecine müdahale etmede kullanılabilen çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Aşağıda belirtilen yöntemlerden ilk ikisi, filtrasyon cerrahisi yapılan tüm hastalarda klasik olarak uygulanan yöntemlerdir; üçüncüsü ise başarı şansı düşük cerrahi grubuna saklanması gereken modifikasyonlardan oluşur.

1. 2. 5. 1. Cerrahi teknikle ilgili değişiklikler:

Cerrahi teknikte yapılacak küçük değişiklikler tek başlarına başarıyı önemli ölçüde arttırabilir.

a) Konjonktiva, episklara ve irise minimal travma ile pıhtı oluşumuna yol açabilecek plazma proteinlerinin sızması azaltılır ki bunun için disli forseps yerine daha az travmatizan olan çizgili forseps ve daha az doku nekrozu yapan bipolar diatermi kullanılmalıdır.

b) Operasyon sırasında göz içine kanama önlenmelidir. Bunun için siliyer cisme travmayı önlemek amacıyla konjonktival flep diseksiyonu öne doğru devam etmeli ve ön limbusa kadar gelmelidir. Trabekülektomi flebi ise periferik korneaya kadar uzanmalıdır.

c) Yara yerine iris inkarserasyonunun önlenmesi için iridektomi bazal yapılmalı, iris kökü ve siliyer cisimden kanama olması önlenmelidir.

d) İç sklerostominin yeri mümkün olduğu kadar fazla ayrılmalıdır. Bu şekilde aköz fistül yerinden kolayca çıkabilir (57).

1. 2. 5. 2. Doku bütünlüğünün korunması ve yara iyileşmesi cevabının geciktirilmesi amacıyla kullanılan ilaçlar:

a) **Steroidler:** Antienflamatuar etkilerinin yanısıra yara iyileşmesini inhibe edici etkileri nedeni ile de kullanılmaktadır. Topikal steroidlerin bleb skarlaşmasını kısmen azaltarak GFC'nin başarısını arttırdıkları bilinmektedir (73). Ancak steroidler yüksek risk gruplarında

yetersiz kalmaktadır. Kortikosteroidler ve nonsteroid antiinflamatuvarlar doku kültürlerinde fibroblast çoğalmasını inhibe edip filtrasyon cerrahisinin başarısını artırmakta ve cerrahi sonrası inflamatuvar cevabı baskılamaktadır. Steroidler fosfolipaz A'yı inhibe ederek arasidonik asid sentezini, lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolunu inhibe ederek de inflamatuvar mediyatörlerin sentezini önlemektedir. Ayrıca granülosit ve mast hücrelerinden proteolitik enzim salınımını engellemektedir. Ameliyat öncesi ve sonrası kullanımları skar oluşumunu geciktirmektedir. Kortikosteroidlerin bleb oluşumu ve GİB'i düşürücü etkileri yakın zamanlarda gösterilmiştir. Bu amaçla kullanılan başlıca steroidler deksametazon, prednizolon ve triamnisolondur. Kötü prognozlu gözlerde ameliyat öncesi subkonjonktival triamsinolon önerilmiştir ve yapılan bir çalışmada neovasküler glokomlu 12 gözün hepsinde ameliyattan bir hafta önce subkonjonktival olarak uygulanan steroidle GİB'in düştüğü, tüm olgularda bleb oluşumu, kabarıklık, relatif avaskülarite ve diffüz subepitelyal mikrokistlerin görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca steroidlerin fibroblastlar üzerine öldürücü etkileri ve bağ dokusunun makrofajlarla lizisi söz konusudur (74). Kortikosteroidlerin uzun süreli kullanımlarından sonra intraoküler basınçta artış, katarakt ve viral korneal hastalıklara yatkınlık gözlenebilmektedir.

b) Atropin farmakolojik olarak vasküler bütünlüğün artırılması ve plazma proteinlerinin eksüdasyonunun azaltılması ve ayrıca kan aköz bariyerinin geçirgenliğinin normale döndürülmesi amacıyla kullanılabilir. Bunun dışında, miyotik tedavisinin kesilmesi de geçirgenliği normale döndürmektedir.

c) Kollagen ve diğer matriks maddelerinin fibroblastlar tarafından sentezinin önlenmesi amacıyla kollagen çapraz bağlarına etkiyen bir takım ilaçlar (beta aminopropionitril, D-penisilamin) uygulanabilir (57).

1.2. 5. 3. Antimetabolit ve antifibrotik ajanlar:

a) 5-Fluorourasil:

Filtran cerrahide ilk olarak 1984'de Heuer tarafından 5-FU antimetabolit aktiviteli bir pirimidin analogudur. Hücre siklusunda S ve G2 fazına spesifik olduğundan çoğalan hücrelere çoğalmayanlara göre daha toksiktir. Fistülizan cerrahideki etkisi filtran bleb, episklara ve tenon kapsülündeki hızla artan fibroblastlarda belirgin olup 5-FU kullanımı ile fibroblast

çoğalması ve dolayısıyla skar oluşumu inhibe edilmektedir (4, 7, 55). İlaç cerrahi sonrası subkonjonktival 5 mg enjeksiyon şeklinde uygulanır. Ayrıca 25-50 mg/ml konsantrasyonunda 5 dakika intraoperatif uygulaması da mevcuttur (55). Ancak yarışmalı inhibitör olduğu için düşük konsantrasyonda etkisi geçicidir, bu nedenle çok sayıda enjeksiyon gerekmektedir. İlk uygulamalarda cerrahi sonrası 1. hafta, günde iki ve 2. hafta günde tek enjeksiyon önerilmekteydi. Günümüzde ise enjeksiyon sayısı klinik seyre göre ayarlanmakta; cerrahi sonrası ilk 10 gün günde tek enjeksiyon önerilmektedir (7, 55). 5-FU uygulamasının, punktat korneal epitelyopati, korneada epitel defekti, ülser, skar ve perforasyon, enjeksiyon bölgesinde konjonktiva defekti, subkonjonktival kanama, orbita çevresi ödem, kontakt dermatit, geç bleb sızıntısı, koroid efüzyonu, striyat melanokeratozis, suprakoroidal hemoraji gibi komplikasyonları vardır (75). Blebe bağlı geç dönem endoftalmi insidansı yüksektir (76, 77). Ayrıca ilacın lokal yan etkileri fazla ve enjeksiyonları ağrılıdır. Ancak cerrahi sonrası hipotoni riski yüksek olgularda tercih edilebilir (4, 78).

b) Mitomisin-C:

MMC 1956 yılında Hata ve ark. tarafından *Streptomiçes caespitosus*'tan izole edilen, antibiyotik yapısında olan sitosidal bir antitümöral ajandır. DNA ile çapraz bağlar yaparak DNA sentezini bozmakta ve mitozu S fazında durdurmaktadır (79). MMC GFC'de başarıyı artırmak amacıyla ilk olarak 1983 yılında Chen tarafından kullanılmıştır (80). MMC, GFC'de kullanıldığında fibroblastları öldürmekte ve proliferasyonlarını önlemektedir; sonuçta filtrasyon bölgesindeki skarlaşmayı azaltmaktadır (81). Yamamoto MMC'nin doku kültürlerinde tavşan konjonktiva fibroblastlarının proliferasyonunu inhibe ettiğini ve inhibitör etkinin doz ve süreye bağlı olduğunu belirlemişlerdir (82). MMC uygulanmış trabekülektomili maymunların gözlerinin histopatolojik incelemesinde tüm gözlerde bleb alanının asellüler veya hiposellüler olduğu gösterilmiştir (83). MMC, 5-FU'dan yaklaşık 100 kez daha güçlü bir ajandır (84). En çok tercih edilen uygulama şekli 0.1-0.5 mg/ml MMC solüsyonunun konjonktival flep altına 1- 5 dakika süre ile ve bir sponç yardımıyla uygulamasıdır. Skleraya uygulanan MMC, komşu siliyer cisim epiteline toksiktir ve bu etki flep altına ilaç uygulananlarda daha fazladır. Siliokoroidal dekolman sıklığı da flep altına MMC uygulanan grupta daha fazladır. Her iki uygulama tipinde başarı benzerdir ancak fleb üstüne uygulama daha emniyetlidir (7). MMC'nin ameliyat sırasında GFC bölgesine lokal olarak uygulanması tercih edilmektedir. Sürenin bitiminde ön kamaranın MMC ile

kontaminasyon ihtimalini en aza indirmek için kesi yeri ve konjonktival kese serumla iyice yıkanmalıdır. MMC'nin lokal uygulanması sonucu ciddi bir oküler toksisite ile karşılaşmadığı bildirilmiştir (85, 86). Palmer, skleral flep altına beş dakika süre ile 0.2 mg/ml MMC uyguladığı 33 yüksek riskli hastada ortalama 15.6 aylık takip sonrasında %84'lük başarı elde etmiş ve herhangi bir komplikasyon gözlememiştir (85). Skuta ve ark. cerrahi prognozunun zayıf olacağı beklenen olgularda MMC ile 5-FU'ü karşılaştırmış ve 6 aylık takip periyodu sonrasında MMC grubunda GİB'de daha fazla düşme olduğunu ve 5-FU grubunda karşılaşılan korneal epitelyal toksisitenin MMC grubunda hiç görülmediğini bildirmişlerdir (86). MMC uygulanan olgularda GFC'nin başarı ve emniyeti için mutlaka limbus tabanlı konjonktival flep hazırlanmalıdır. Aşırı hipotoni veya yara yerinden sızıntı olasılığına karşı skleral flep ve tenon normalden daha dikkatli ve güvenli olarak sütüre edilmelidir (85). MMC uygulanan ve başarı kaydedilen olgularda blebin görünümü tipik olarak büyük, kabarık ve avaskülerdir. MMC uygulanması sonrası histopatolojik değişiklikler; fibroblastlarda nekroz, atrofi ve azalma, sklera alt tabakalarındaki hücrelerde dejenerasyonla birlikte hücre aktiviteleri, kollagen ve ara madde yapısında korunma, sklera orta tabakalarında hücre inaktivasyon ve kollagende disorganizasyon, sklera yüzeyinde fibriller, ara madde ve bunları sentezleyen hücrelerde azalma, kollagen molekülleri arasındaki proteoglikan çapraz bağlarında kayıp şeklindedir ve intraoküler basınçtaki düşmenin mekanizmasından skleral değişiklikler sorumludur (4, 7, 87). MMC'nin komplikasyonları, operasyon esnasında kornea ve konjonktivaya temasla doku hasarı ve nekroz, ön kamaraya sızıntı olursa endotelde toksik etki, uzun süre uygulamada toksisitede artış, korneal ülser, epitele toksik etki, siliyer cisim toksisitesi ile hipotoni, koroid dekolmanı, fundusta fold oluşumu, blebte sızıntı, skleral incelme-perforasyon ve endoftalmidir (78, 88, 89, 90)

c) Diğer antimetabolitler (Daunorubisin, bleomisin, mitramisin, doksorubisin, vinkristin, vinblastin)

1.2.5.4.Fibrinolitik Ajanlar:

Glokom cerrahisinde fibrin eksudasyonu, hifema, pıhtı formasyonu gibi lokalize hematolojik komplikasyonlar oluşabilmekte ve bu faktörler cerrahi başarıyı sıklıkla düşürmektedir. Bu aşamada cerrahi başarıyı arttırmada fibrinolitik ajanların (ürokinaz, tPA, heparin, traneksamik asit) kullanımı gündeme gelmiştir. Ürokinaz hem fibrine bağlı hem de, serbest plazminojeni

aktive ederek fibrinolizis sağlayan bir ajandır. Postoperatif fibrin veya pıhtı formasyonu nedeniyle GİB artışı saptanmış hastalara 0.1 ml intrakameral ürokinaz enjeksiyonu sonrası ön kameradaki reaksiyonun çözüldüğü ve GİB'nin düştüğü gözlenmiştir.(91) tPA, fibrine bağlı plazminojeni aktive etmesi nedeniyle ürokinaza göre daha spesifik ve güvenli bir ajandır (92). 12.5 mikrogram intrakameral tPA'nın, güvenle hematolojik komplikasyonların tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir. (93,94). Glokom drenaj implantı uygulanan 620 hastalık bir seride, tüp obstrüksiyonu gelişen 36 hastaya 15.5 mikrogram intrakameral tPA uygulandıktan sonra 32 hastada (%88.9) tıkanan tüplerin açıldığı izlenmiştir. Şiddetli hifema, derin hipotoni ve sığ ön kamara gibi yan etki insidansı %10.9 olarak belirtilmiştir.(95) Heparin sülfat grubu içeren bir polisakkarit olup özellikle hücresel adezyonda önemli rolü olan fibronektinin kompetitif inhibitörüdür. Aynı zamanda heparin, fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi faktörlere bağlanarak bu faktörlerin etkilerini inhibe etmektedir. Heparin ve düşük ağırlıklı derivelerinin retina pigment epiteli ve sklera fibroblastlarında proliferasyon ve kontraksiyonu inhibe ettiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. (96,97). Kombine katarakt-glokom cerrahilerinde heparin kaplı İOL kullanılan ve kullanılmayan hastalar karşılaştırıldığında, uzun dönemde GİB kontrolünün heparin kaplı İOL implante edilen olgularda daha iyi olduğu bildirilmiştir(98).

1.2.5.5.Sitokin/Büyüme Faktörü Üzerinden Etki Eden Ajanlar:

Sitokin ve büyüme faktörü adı verilen pek çok küçük protein, aköz hümörden blebe hücre akışını stimüle etmekte ve yara yeri iyileşmesinde önemli rol almaktadır. (92). Skar gelişiminde en güçlü faktörün TGF- β olduğu gösterilmiştir(99). Buradan yola çıkılarak TGF- β 'nın etkisinin nötralize edilmesi ile glokom cerrahisi sonrası uygun yara yeri iyileşmesi sağlanabileceği düşünülerek bu konuyla ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Suramin büyüme faktör reseptörlerine bağlanarak etki gösteren antiparazitik bir ilaçtır. Aynı zamanda tip 1 ve 3 kollajen sentezini inhibe eder. Hayvan ve insan çalışmalarında trabekülektomi başarısını, Mitomisin-C (MMC) ile benzer etkinlikte arttırdığı izlenmiştir.(100, 101). Bununla beraber, Suramin uygulamasında MMC'de görülen yan etkilerin görülmemesi önemli bir avantajdır. Tranilast bir antralik asit derivesi olup histamin, lökotrien, interlökin ve TGF- β salınımını inhibe ederek antienflamatuar etki sağlamakta, aynı zamanda fibroblast proliferasyonu ve kollajen sentezini de baskılamaktadır. Postoperatif topikal kullanımının cerrahi başarıyı arttırdığı yapılan çeşitli çalışmalarda gözlenmiştir.(102). Çeşitli çalışmalar sonucunda

TGF-β'nin üç izoformu olduğu gösterilmiş olup, TGF-β2'nin hem en güçlü, hem de aköz konsantrasyonu en yüksek olan izoform olduğu bilinmektedir. İnsan tenon fibroblastları üzerinde güçlü stimulan etkisi ve glokomlu hastalarda aköz TGF-β2 düzeyini arttığı göz önünde bulundurularak, bu faktöre spesifik ve afinitesi yüksek bir ajan olan insan anti-TGF-β2 monoklonal antikoru (CAT 152, lerderlimumab) geliştirilmiştir.(103). TGF-β2'nin, in vitro çalışmalarda insan tenon fibroblast migrasyonu, proliferasyonu ve kontraksiyonunu etkin şekilde inhibe ettiği gözlenmiştir. İn vivo; çalışmalarda ise trabekülektomi sonrasında TGF-β2'nin subkonjonktival uygulanması ile bleb ömrünün uzadığı ve bleb morfolojisinin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Diğer antifibrotik ajanlarda gözlenen kistik, avasküler bleb formasyonununun CAT 152 'de görülmemesi nedeniyle bu ajan yara yeri modülasyonunda ümit vaat etmektedir.(104). İn vitro şartlarda interferon gama'nın fibroblastlardaki TGF-β1 reseptör ekspresyonunu ve interferon alfa-2b'nin de fibroblastlardaki EGF reseptör ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir.(105,106) İnterferonların antifibrotik ajanlara olan üstünlüğü henüz gösterilmemiş olup, halen bu konuda çalışmalar devam etmektedir.(107). Yara yeri iyileşmesinin geç dönemlerinde predominant olan immün hücreler, T lenfositlerdir. Siklosporinler, T lenfositleri selektif ve geri gönüşümlü olarak inhibe etmektedirler. İmmünsüpresif ve antienflamatuar özelliklere sahip olması ve de diğer antienflamatuar ajanlar gibi, lenste ve GİB'ında olumsuz etkilerinin olmaması; siklosporinlerin glokom cerrahisi sonrası kullanılabilirliğini gündeme getirmiştir. İntraoperatif MMC ile siklosporin A'nın etkisi kontrol grubuna ile karşılaştırıldığında siklosporinin A'nın GİB düşüşü ve de bleb ömrünün uzamasına; kontrol grubuna göre herhangi bir katkısının olmadığı izlenmiştir.(108). Yine aynı çalışmada topikal siklosporin damlanın ek bir katkı sağlamadığı; hatta MMC ile trabekülektomi yapılan gruba cerrahi başarıyı azalttığı belirtilmiştir. Siklosporin kullanımı konusunda net bir sonuca varılamamış gibi görünse de; bu ajanın enflamatuar yanıtın fazla olabileceği özellikle kronik konjontivitli, skar gelişimi açısından yüksek riskli ve yoğun steroid tedavisi uygulanamayacak gözlerde alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği söylenmektedir.

1.2.5.6.Amion zarı transplantasyonu:

Memeli embriyosu ekstraembriyonik dokulardan köken alan sıvı dolu bir kese içinde bulunmaktadır. Miyadında hamilelikte fötal membranlar iki ana tabakadan oluşmaktadır. Korion, dıştaki tabaka olup maternal hücrelerle temastadır ve kesenin dış görünüşünü

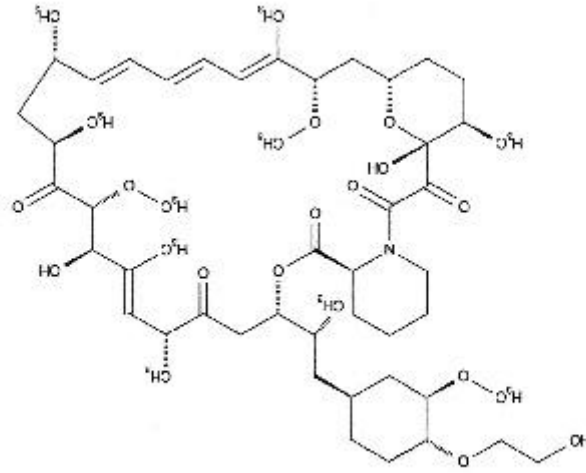
oluşturmaktadır. Bu tabaka villüsleri olmayan ve mezenkimal dokunun sıkıştırılmış trofoblastik dokusunu içeren bir tabakadır (109). Amnion zarı, içteki tabaka olup büyük miktarlarda kollagen içeren mezenkimin altında uzanan tabakaya sıkıca yapışmış olan, ektodermden derive tek katlı kolumnar hücre tabakasından oluşmaktadır. Amniyon zarı amnion sıvısı ile temastadır (109). Amniyon hücrelerin apikal yüzeyi çok sayıda mikrovillus içermektedir. Tabanda hücre çıkıntıları veya pediseller podosit şeklinde bazal membranın içine uzamaktadır. Bazal hücre prosesleri bazal membrana hemidesmozomlarla yapışmıştır. Bazal membran substansı, kısmen amorf, kısmen mikrofibrilerdir. Sitoplazma çok sayıda pinositik veziküller, sisternal endoplazmik retikulum içeren bol sayıda organeller ve golgi aperiadından oluşmaktadır. Nükleusun nükleer membranın yaptığı çentiklerle çok düzensiz bir konfigrasyonu vardır.

Nükleolus çok geniştir ve nükleoler aktiviteyi destekleyen homojenitededir. Epitelin ultrastrüktürü amniyonun özelleşmiş fonksiyonları olduğunu desteklemektedir. Bu epitel, epitelium örtüsü olarak, aktif bir sekretuar epitelium olarak, yoğun intrasellüler ve transsellüler transport için özelleşmiştir (109). Bazal membran, epitelyum hücrelerinin migrasyonunu kolaylaştırmakta, bazal epitelyal hücrelerin adezyonunu kuvvetlendirmekte, epitel diferansiyasyonunu kolaylaştırmakta ve epitelyal apoptozisi önlemektedir (110). Transplante edilmiş bazal membran sağlayan amniyon zarı, epitelizasyonun kolaylaştırılması için sağlıklı ve uygun bir madde olarak etki göstermektedir. Ayrıca amniyon zarı FGF- β , HGF ve TGF- β gibi epitelizasyonu uyarabilen çeşitli büyüme faktörleri üretmektedir. (111). Amniyon zarının antifibrotik etkisinin bir kaç faktörle ilgisi vardır. Yara iyileşmesinde fibroblastik aktivasyondan sorumlu olan TGF- β sinyalinin azalmasını indüklediği gösterilmiştir (112). Doku, cerrahi planlama veya diğer tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi için yeterli zamanı sağlayacak olan bir kaç ay süresince -80°C de saklanabilir; ancak kriyoprezervasyonunun büyüme faktörlerinde azalmayla sonuçlandığı bildirilmiştir (111). Dokunun postoperatif enfeksiyon riskini azaltan antimikrobiyal özelliklere sahip olduğuna inanılmaktadır (113). Amnion zarının antifibrotik aktivitesi (112) ve hücre migrasyonunu ve büyümesini kolaylaştıran aktivitesi ortaya konulmuştur.

1.2.6. Everolimus:

Rapamisin, diğer adıyla sirolimus, 1975 yılında Paskalya adasında bulunan toprak numunesinden elde edilen *Streptomyces hygroscopicus* adlı bakteri ailesinden izole edilmiş bir peptiddir (114,115) Everolimus Rapamycin ailesinden immunsupresan bir makrolittir .

Everolimus (*RAD*, [40-*O*-[2-hydroxyethyl]-rapamycin], *Certican*®, *SDZ RAD*, *RAD001*) ile ilgili olarak kemoterapiden, organ transplant rejeksiyonuna; kardiyak cerrahide uygulanan stentlerin açık tutulmasından, kornea yanıkları tedavisine pek çok alanda değişik denemeler yapılmış ve pek çoğunda da olumlu sonuçlar alınmıştır. Yapısal formülü şekil 1’ de gösterilmektedir. Everolimusun romatoid artrit ve inflamatuvar barsak hastalığında antikanser ajan olarak kullanımı da denenmiştir (116).



Sekil 1: Everolimus yapısal formülü

Diğer immunsupresan ilaçlardan farklı etki mekanizması ve az sayıdaki yan etkisiyle tıp dünyasında kısa surede popülerlik kazanmış bu ajanla ilgili geniş çalışmalar halen devam etmektedir.

Etkisini T hücrelerine spesifik interlökinler (IL-2 ve IL-5) tarafından yönlendirilen, antijen etkisiyle aktive olmuş T hücrelerinin çoğalmasını ve dolayısıyla da klonlanmasını inhibe ederek gösterir. Everolimus, söz konusu T hücre büyüme faktörlerinin kendi reseptörlerine bağlanmasıyla harekete geçen ve normal olarak hücre çoğalmasına neden olan bir hücre içi sinyal yolunu inhibe etmektedir. Bu sinyalin everolimus tarafından bloke edilmesi T hücre proliferasyonunun hücre siklusunun G1 evresinde durmasıyla sonuçlanır.

Moleküler ve hücresel düzeyde, everolimus sitoplazmadaki FRAP (key regulating protein, FKbinding protein 12, rapamycin associated protein, m TOR [mammalian target of rapamycin]) olarak isimlendirilen anahtar düzenleyici proteinin fonksiyonunu bloke ederek büyüme faktörü stimülasyonuna bağlı hücresel proliferasyonu, hücre siklusunu durdurur. mTOR hücre büyümesi, proliferasyonu, angiogenesis, otofaji ve hücre metabolizması olmak üzere birçok hücre içi olayı yöneten son derece önemli bir proteindir. Yapılan yeni çalışmalarda m TOR'un kanser, diyabet, obesite, kardiyovasküler ve nörolojik birçok hastalıkla ilgili olduğu düşünülmektedir (117).

mTOR bu anahtar basamaklarda protein translasyonu üzerine etkiyerek son yıllarda saptanan ajanın diğer bir hedefi de TGF- β reseptörü olup, burada da inhibisyon etkisi gösterir (118).

İmmüsupresan olarak kullanılan diğer benzer ajanlar siklosporin ve FK-506, kalsinorine bağlanıp kalsiyum metabolizması üzerine etkiyerek aktivite gösterirler. Bu nedenle, hücre siklusu bu ajanların kullanımı halinde G0 fazından G1 fazına geçiş sürecinde duraklar.

Ancak kalsinorin aktivitesinin immun sistemin dışındaki hücrelerde de inhibisyona uğraması nedeniyle, oldukça geniş bir yelpazede görülen yan etkiler kullanımlarını sınırlandırmıştır. Everolimus selektif olarak T hücre siklusuna müdahale ettiğinden benzer yan etkiler bu ajanın kullanımında görülmez. Rapamisin yalnızca aktive olmuş hücreler üzerine etkidiğinden, immun sistemin geri kalan hücreleri fonksiyonlarını devam ettirirler ve enfeksiyonlarla savaşmayı sürdürürler. Bunun esas sebebi everolimusun hücre siklusuna girmiş hücreleri sentez fazına girmeden hemen önce inhibe etmesi ve esas fonksiyonunu proliferasyon üzerine göstermesidir (119).

Everolimusun diğer kimyasal ve fiziksel özellikleri aşağıda özetlenmiştir;

Kimyasal ismi: (1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23R,24E,28E,30S,32S,35R)-1,18-dihidroxy-12-(1R)-2-[(1S,3R,4R)-4-(2-hidroxyethoxy-15,17,21,23,29,35-hexamethyl-11,36-dioxo-4-azatricyclo[3.0.1.0^{4,9} hexatriaconta-16,24,26,28-tetraene-2,3,10,14,20-pentaone

Moleküler formülü: C₅₃H₈₃NO₁₄

Moleküler ağırlık: 958.2

Fiziksel formu: Sarıya bakan beyaz pudra şeklindedir.

Oral dozdan 1-2 saat sonra kandaki konsantrasyonu ölçülür. Çözünabilir tabletlerin biyoyararlanım oranı 0.90'dır. Büyük bölümü (%80) dışkıda, yalnızca küçük bir bölümü (%5) idrarda atılmaktadır. Kullanıma bağlı lökopeni, hiperkolesterolemi, hiperlipidemi sık görülen yan etkilerdir. Bunların dışında immüsupresiv tedavinin derecesine ve tedavisine bağlı

olarak trombositopeni, anemi, koagülopati, karın ağrısı, ishal, bulantı, kusma akne gibi yan etkilere yol açabilir (116).

Everolimus, paclitaxel ve sirulimus gibi koroner stentlerin kaplanması için kullanılan bir ajandır.

Everolimus kaplı stentler implantasyon sonrası koroner damarlarda oluşan doku proliferasyonunu ve restenozu azaltırlar (120, 121). Bu stentler 2006'da Avrupa ve Asya Pasifikde kullanılmaya başlanmış olup, Amerikada kullanımını 2007'de (FDA onayı) onaylanmıştır.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışmada deneklere uygulanan cerrahi işlemler, sakrifikasyon işlemi, immunfloresan mikroskopik preparatların hazırlanması Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıbbi Araştırma Birimi'nde (DETAB) yapılmıştır. İmmunfloresan, histopatolojik değerlendirmeler ve görüntüleme işlemleri Kocaeli Üniversitesi KÖGEM Birimi katkıları ile gerçekleştirilmiştir .

Ağırlıkları ortalama 2000-28000 gram olan 10-12 haftalık 30 adet yeni zellanda albino tavşanın tek gözü kullanıldı. Çalışma süresince denekler Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıbbi Araştırma Birimi'nde uygun beslenme şartlarında ve özel kafeslerde tutuldu. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun izni ile çalışma gerçekleştirildi.

Tavşanlar her bir grupta 10 denek olacak şekilde randomize 3 gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki tavşanların tek gözlerine standart ameliyat hazırlığı, anestezi ve cerrahi teknik uygulandı.

Gruplar:

1. grup (everolimus grubu): Trabekülektomi yapılan deneklere cerrahi esnasında 30 ng/ml 3 dakika everolimus uygulanan ve 28. günde enükleasyon yapılan grup

2.grup (MMC grubu): Trabekülektomi yapılan deneklere cerrahi esnasında 0.2 mg/ml 3 dakika mitomisin-C uygulanan ve 28. günde enükleasyon yapılan grup.

3. grup (Sham grubu): Trabekülektomi yapılan fakat cerrahi sırasında herhangi bir antimetabolit uygulanmayan ve 28. günde enükleasyon yapılan grup

2.1.Fibroblast hücre kültüründe Everolimus uygun dozun bulunması:

2.1.1.Hücrelerin Hazırlanması

Çalışma için insan yenidoğan sünnet derisinden elde edilmiş fibroblastlar kullanılmıştır. Fibroblastlar %10 FBS ve %0.2 Primocin içeren L-DMEM besiyerinde çoğaltılmış, %80-90 konfluensiye ulaşan hücreler tripsin ile kaldırılarak sayılmış ve aynı besiyerinde resüspanse edilmiştir. Hücreler kuyucuk başına 12.500 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu kültür kaplarının belirli kuyucuklarına ekilmiştir. Kaptaki kuyucukların bazılarında ise hücre konmadan sadece besiyeri eklenmiştir. Kabın en dış kuyucuklarına ise PBS konmuştur.

2.1.2. Deney Aşaması

96 kuyucuklu kültür kabındaki hücrelerin üzerine artan konsantrasyonlarda Everolimus (10, 20, 30 ve 40 ng) içeren medyumlar 150' er ul hacimde eklenmiştir. Bir sütündeki kuyucuklara hiç Everolimus konmayarak kontrol grubu olarak ayrılmış, sadece deney besiyeri eklenmiştir. Her kontrol ve deney grubu için 10 kuyucuk kullanılmıştır.

Hücreler ilaç ile muamele edildikten sonra 72 saat süresince kültüre edilmiştir. Bu süre içerisinde mikroskopta incelenen hücrelerin canlılıklarını koruduğu gözlenmiştir. Deneyin 24. ve 72. saatlerinde hücre canlılık testi için WST-1 ((4-(3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio)-1,3-benzene disulfonate) testi kullanıldı. WST maddesi hücre üretme ortamına 100 µl hücre /kuyucuk olacak şekilde eklendi. WST içeren kuyucuklar 3.5 saat sonra 420-480 nm referans aralığında mikropleyt okuyucu (VersaMax™ Tunable Microplate Reader/Molecular Devices Corporation, USA) kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar Mikrosoft Excel grafiksel olarak değerlendirildi.

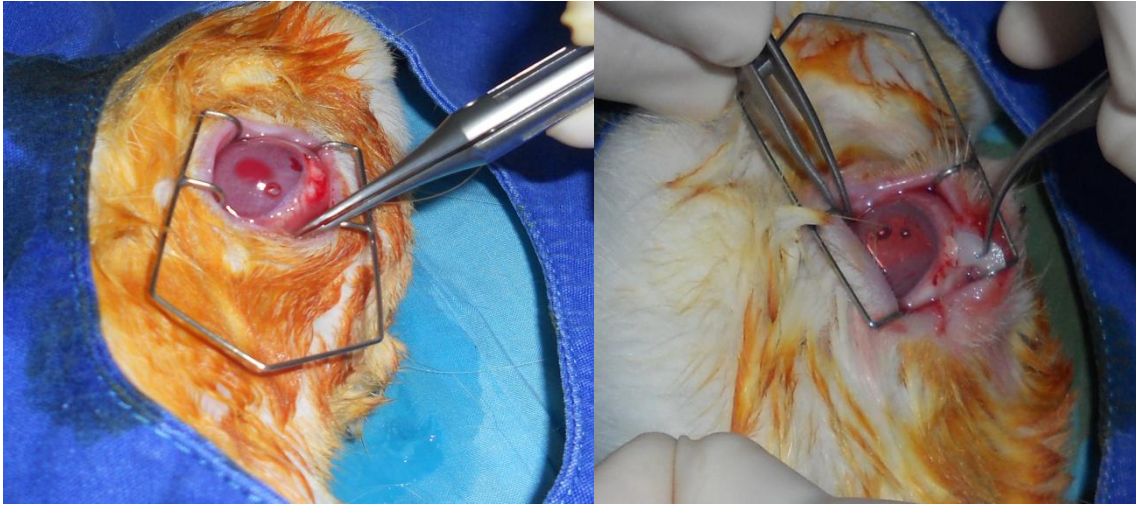
2. 2. Anestezi Tekniği:

Anestezi ve analjezi uygulamasında intramusküler 50 miligram/kilogram ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) ile 6 miligram/kilogram ksilazinhidroklorid (Rompun, Bayer, Türkiye) kombinasyonu kullanıldı. İşlem öncesi deneklerin gözlerine % 0.5'lik proparakain hidroklorid damla (Alcaine, Alcon, Türkiye) damlatıldı.

2. 3.Cerrahi Teknik:

Denekler anestezi uygulandıktan sonra ameliyat masasına alındı. Cerrahi işlem operasyon mikroskobu (Topcon OMS 75 Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Göz çevresi % 10'luk povidon iyod ile silindi. Üzeri steril örtü ile örtülerek uygun bleferosta yerleştirildi. Üst kadrandan limbus tabanlı konjonktival fleb oluşturuldu.Künt uçlu makas yardımı ile konjonktival disksiyon yapıldı. Ardından limbusun 1 mm gerisinden 4x4 mm'lik, yaklaşık ½ sklera kalınlığında, dörtgen şekilli, limbus tabanlı skleral flep oluşturuldu.. Skleral flep kornea

üzerine devirildikten sonra 15° bıçakla 2x1 mm'lik korneoskleral blok sınırları belirlendi . Medial ve lateral kenarları 15° bıçakla ön-arka yönde insize edilerek korneoskleral blok tabanından kesilerek çıkarıldı. Bu safhanın ardından, iris bir forseps ile iris köküne yakın bir yerden tutularak açıklıktan dışarı doğru çekilerek makas ile iridektomi yapıldı (Şekil 2A). Dörtgen şekilli skleral fleb köşelerine iki adet 10/0 naylon suture konularak kapatıldı. Konjonktival flebin kapatılması 8/0 vicryl ile yapıldı. Konjonktivanın kapatılması öncesinde 1. gruba konjonktiva ve sklera arasına 30 ng/ml everolimus emdirilmiş sponge 3 dakika uygulandı, ardından 200ml BSS ile yıkandı. 2. Gruba konjonktiva ve sklera arasına 0.2 mg/ml Mitomisin-C emdirilmiş sponge 3 dakika uygulandı ve 200ml BSS ile yıkandı (Şekil 2B), 3.gruba ise herhangi bir antiproliferatif tedavi uygulanmadan konjonktiva kapatıldı. Cerrahi sonrası tüm cerrahi uygulanan gözlere Tobradex® pomad sürüldü. 1 hafta boyunca günde 4 kere olmak üzere tobramisin damla damlatıldı.



A

B

Şekil 2 :A: Cerrahi sırasında periferik iridektominin uygulanması, **B:** Sklera ile konjonktiva arasına Mitomisin-C emdirilmiş sponge uygulanması

2.4.İntraoküler basınç ölçümü:

Cerrahi uygulanan gözlerin cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1,3,5,7,10,14,21,28. günlerde Tono-pen XL aplanasyon tonometresi yardımı ile göziçi basınçları ölçüldü. İşlem öncesi gözlere % 0.5'lik proparakain hidroklorid damla (Alcaine®, Alcon,Türkiye) damlatıldı. Tavşanların başları sabitlendikten sonra cihazın uç kısmının sonuç gösterene kadar santral korneaya dik bir şekilde teması sağlandı. Daha sonra değerler kaydedildi. Her bir ölçümde 3 denemenin ortalaması alındı .

2.5. Biomikroskopik muayene:

El biomikroskopu (Portable slit lamp, Reichert, Japan) ile cerrahi sonrası 1,3,5,7,10,14,21,28. günlerde cerrahi uygulanan gözlerin muayenesi yapıldı. Gözler ; filtran blebin morfolojisi , ön kamarada flare ve hifema, katarakt ve olabilecek diğer komplikasyonlar açısından incelendi. Eleve ve kistik blebler fonksiyone bleb, düz blebler afonksiyone bleb olarak değerlendirildi.

2.6. Mikroskopik İncelemeler

2.6.1.Histopatolojik İnceleme:

Deneklere postoperatif 28.gününde Pentobarbital 100 mg/kg intraperitoneal uygulanarak ötenazi yapıldı ve gözler enükle edildi. Enükle edilen gözlerin blep bölgeleri konjonktiva, tenon ve sklerayı içerecek şekilde eksize edilerek histopatolojik inceleme için parafin blokları hazırlandı. Bu amaçla, alınan doku örnekleri %10'luk nötralformalin ile tespit edildikten sonra rutin takip işlemine alındı. Parafin bloklardan elde edilen dört mikron kalınlığındaki kesitler Hematoxilen-Eosin ile boyandı. Daha sonra kesitler ışık mikroskopunda (Olympus BX-50) X400 büyütmede incelendi. Elde edilen parafin kesitlere aynı zamanda PCNA, TGF-beta1, MMP-2 ve MMP-9 için immünohistokimyasal boyamalar gerçekleştirildi. Her denekten 5 er adet kesite ise apoptoz tayini için TUNEL boyaması gerçekleştirildi.

2.6.2. Apoptoz tayini için TUNEL

Apoptozisin belirlenmesi amacı ile TUNEL (terminal deoxynucleotidyltransferase mediated dUTP nick end labeling) tekniğinden yararlanılmıştır. Elde edilen parafin kesitlerde The ApopTag Fluorescein Direct In Situ Apoptosis Detection Kit (S7160) kullanılarak immunboyama yapılmıştır.

2.6.3. İmmunhistokimyasal İşaretleme (İHC)

İmmunohistokimyasal çalışmalarda, Ultravision Detection System Large Volume Anti-Polyvalent, HRP (RTU) ve ABC Staining System (for use goat primary antibodies) immunohistokimya kitleri kullanılarak gerçekleştirildi. Parafin kesitler deparafinizasyon işleminden sonra düdüklü tencerede antijen retrieval işlemi için 30-45 dk citrate buffer içerisinde kaynatıldı. Parafin kesitlerde antijen retrievaldan sonra uygun dilüsyonlarda hazırlanan primer antikorlarla 1 saat inkübasyondan sonra immunohistokimyasal kit prosedürü aynen uygulanıp son aşamada AEC kromojenle (AEC (RED) Substrat Kit) enzim kompleksi görünür hale getirildi, Hematoxylin, Gill's Formulation 2 ile çekirdek zıt boyaması gerçekleştirilip kurutulan preparatlar Crystal Mounting Medium ile kapatılıp Leica DMI 4000 Microsystems ışık mikroskobunda analiz edilip görüntülendi (Negatif kontroller için, aynı yöntem uygulanmış fakat primer antikor yerine PBS kullanılmıştır).

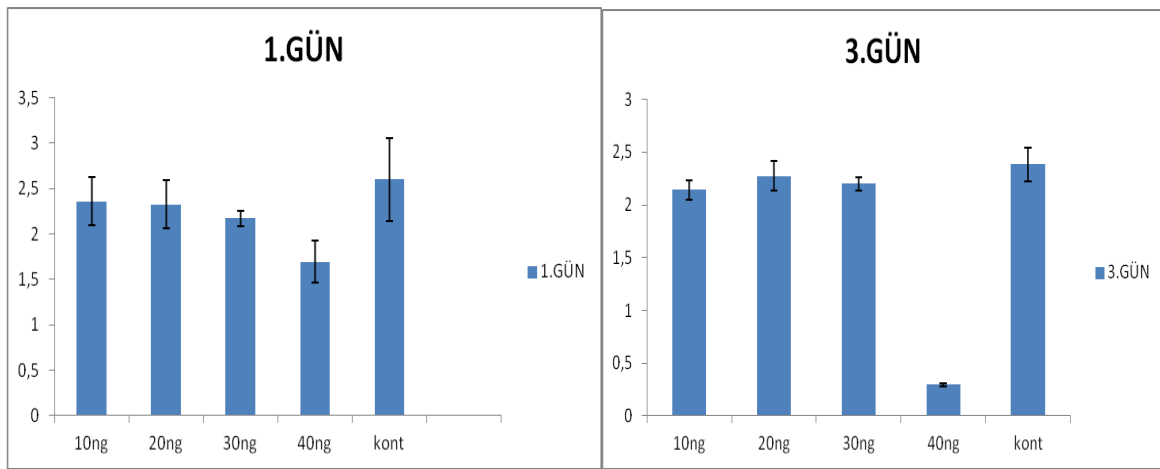
2.7. İstatistiksel analiz:

Sonuçların istatistiksel analizleri SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı ile yapılmıştır. Veriler eşli t-testi ve çoklu analizler için Newman-Keuls metodu ile test edilmişlerdir. Her deney en az üç kez tekrar edilmiştir. Deney ve kontrol grupları arasındaki fark $p < 0,05$ olduğunda anlamlı ve $p < 0,01$ olduğunda oldukça anlamlı olarak ifade edilmiştir. Bleplerin alan, vaskülarite ve yükseklik özellikleri nonparametrik testlerle analiz edilmiştir (Mann-Whitney U testi, Kruskal-Wallis testi). Filtran bleplerin yaşam sürelerinin değerlendirilmesi için Kaplan-Meier analiz yöntemi kullanılmış olup deney ve kontrol grupları arasındaki fark $p < 0,05$ ise anlamlı kabul edilmiştir.

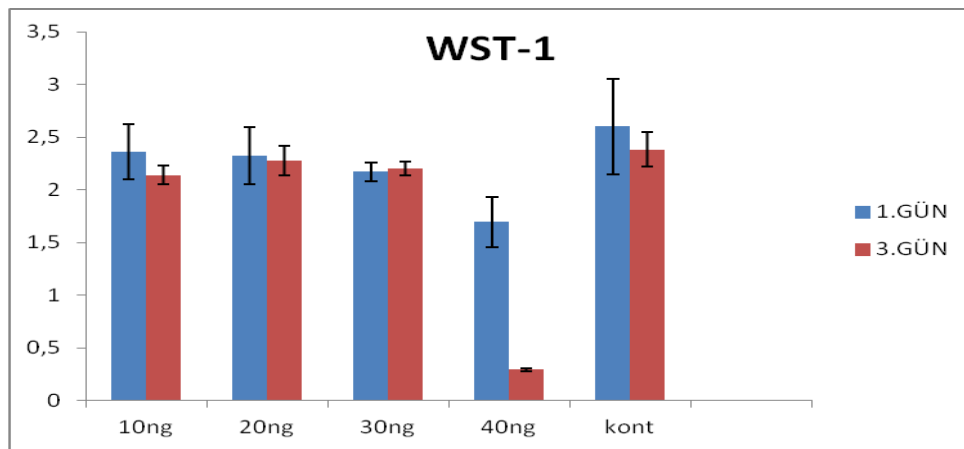
3.BULGULAR:

3.1. Fibroblast hücre kültüründe Everolimus uygun dozun bulunması:

Fibroblast kültürlerinde 4 farklı dozda ilaç uygulandıktan sonra 24. saatte gerçekleştirilen WST-1 deneyi sonucunda hücre çoğalmasının en fazla şekilde 40 ng/ml dozunda olduğu saptanmıştır ($p=0,000466$). 72. saatte ise diğer dozlarla karşılaştırıldığında bu baskılanmanın daha belirgin olduğu saptanmıştır (Şekil 3). Hücre kültür çalışmalarımızda 40 ng/ml dozu letal doz olarak saptandığından in vivo deneylerde sub-letal doz olan 30 ng/ml uygulanmıştır.



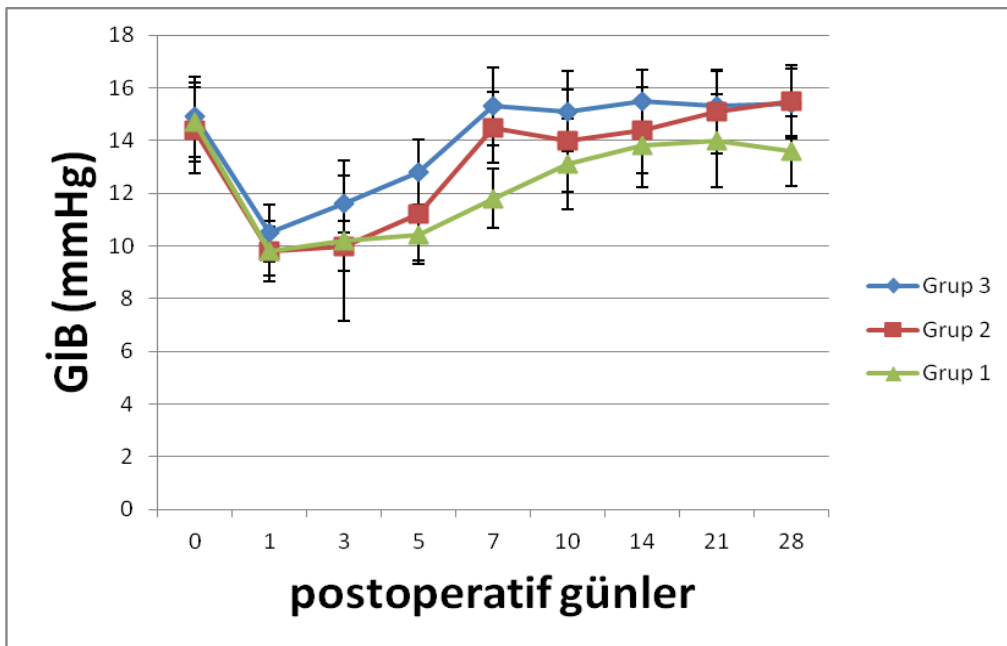
Şekil 3: *In vitro* şartlarda fibroblast hücrelerinin everolimus ile muamele edilmesi sonrasında 24. ve 72. saatlerde hücre çoğalım düzeyleri izlenmektedir.



Şekil 4: *In vitro* şartlarda fibroblast hücrelerinin everolimus ile muamele edilmesi sonrasında 24. ve 72. saatlerde hücre çoğalım düzeylerinin sonuçları karşılaştırmalı olarak izlenmektedir.

3.2.Postoperatif Göz İçi Basıncı Değişimleri:

Postoperatif dönemde 28 gün boyunca herbir gruptaki ortalama GİB değişimleri şekil 5’de gösterilmiştir. Cerrahi sonrası 1. günde üç grupta da göz içi basınçlarında önemli düşüşler oldu ve üç gruptaki ortalama GİB benzerdi, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. 3. günde 3. grupta ortalama GİB daki yükselme 1 ve 2. gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p=0,038$). 1 ve 2. Grup arasında ise anlamlı fark yoktu ($p=0,498$). 5. günde de yine 3. günde olduğu gibi sham grubundaki GİB ortalamasındaki yükselme diğer iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksekken ($p=0,029$), grup 1 ve 2 arasında anlamlı farklılık yoktu ($p=0,88$). 7. günde 3. gruptaki ort. göz içi basıncı değerleri hızlı bir yükselme ile preop. ortalama GİB değerlerine ulaştı. Yine 2. Grupta da hızlı bir yükselme oldu 1.grupta ort. GİB in hala düşük değerleri koruduğu ve bu düşüklüğün diğer gruplar ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0,001$). 10.günde 1. Grupta ort. GİB in artış gösterdiği görüldü, değerler 2. grupla karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmazken ($p=0,905$), 3. grupla karşılaştırıldığında hala anlamlı farklılık mevcuttu ($p=0.042$). 1. grubun ortalama GİB nin 28. güne kadar düşük değerlerini koruduğu ve preoperatif değerlerden düşük olduğu gözlenirken, 2. ve 3. Grubun 10.günden önce ort. GİB değerlerinin preoperatif seviyelere ulaştığı görüldü.



Şekil 5. Postoperatif dönemde 28 gün boyunca gruptaki ortalama GİB değişimlerini gösteren grafik.

3.3.Klinik değerlendirme ve komplikasyonlar:

Postoperatif 1. günde her üç gruptaki tavşanlarda da ön kamarada minimal derecede flare mevcuttu ve 3 gün içinde aşamalı olarak tüm gözlerde geriledi. Grup 1'den 1 tavşan, Grup 3'ten 2 tavşanda 1. günde hifema olduğu tespit edilmiştir. Grup 1'deki hayvanın gözünde oluşan hifema 5. günde resorbe olurken, sham grubundaki gözlerde oluşan hifema 14. günde tamamen resorbe oldu. Hiçbir gözde endoftalmi, blep sızdırması, katarakt ya da başka herhangi bir komplikasyon saptanmamıştır.

Blepler 1.,3.,7.,14.ve 28. günlerde alan, yükseklik ve vaskülarite açısından incelendiklerinde ise grup1 ve grup 2 arasında blep alanı açısından 1. gün anlamlı fark tespit edilmemiş olup ($p=0.290$), diğer tüm günlerde grup 1'de istatistiksel olarak anlamlı oranda blep alanı geniş bulunmuştur (3.,7.,14.ve 28. gün sırası ile $p=0.02$, $p=0.015$, $p=0.001$, $p=0.001$). Grup 1 ile grup 3 kıyaslandığında yine tüm günlerde aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$). Grup2 ile grup3 blep alanı açısından kıyaslandıklarında ise 1. ve 3. gün fark istatistiksel olarak anlamsız bulunurken($p=0.058$, $p=0.051$), diğer günlerde grup 2 de blep alanı istatistiksel olarak anlamlı geniş bulunmuştur (7.,14.ve 28. gün sırası ile $p=0.001$, $p=0.015$, $p=0.014$).

Blepler yükseklik açısından değerlendirildiğinde ise grup1 ile grup2 kıyaslandığında tüm günlerde grup1'deki blep yükseklikleri grup 2'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (1.,3.,7.,14.ve 28. gün sırası ile $p=0.028$, $p=0.019$, $p=0.021$, $p=0.001$, $p=0.001$). Grup1 ile grup3 karşılaştırıldığında ise yine tüm günlerde grup1'deki blep yükseklikleri grup3'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (1.,3.,7.,14.ve 28. gün sırası ile $p=0.028$, $p=0.019$, $p=0.021$, $p=0.001$, $p=0.001$). Grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında ise 1., 3., 28. Günlerde fark istatistiksel olarak anlamsız çıkarken ($p=0.181$, $p=0.165$, $p=0.317$) 7. ve 14. günlerde grup 2 deki blep yükseklikleri istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p=0.001$, $p=0.008$).

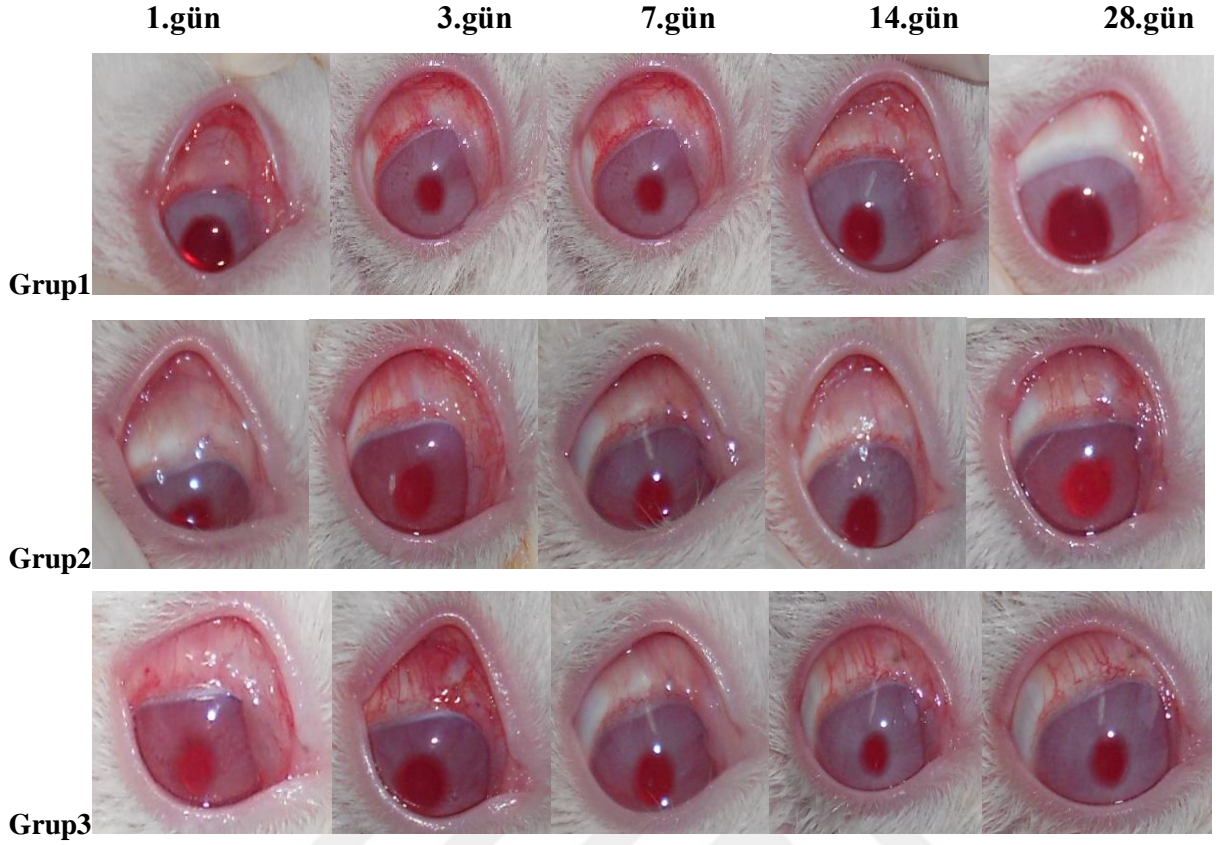
Blepler vaskülarizasyon açısından değerlendirildiklerinde ise grup1 ve grup 2 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$) . Grup1 ve grup 3 karşılaştırıldıklarında ise 1. ve 3. gün farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunurken ($p=0.558$, $p=0.302$) diğer günlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede 1.grupta vaskülarizasyonun düşük olduğu görüldü (7.,14.ve 28. gün sırası ile $p=0.002$, $p=0.001$, $p=0.003$). Grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında ise yine 1. ve 3. gün farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunurken ($p=0.671$, $p=0.644$) diğer günlerde istatistiksel olarak anlamlı derecede 1.grupta

vaskülarizasyonun düşük olduğu görüldü (7.,14.ve 28. gün sırası ile $p=0.017$, $p=0.014$, $p=0.004$)

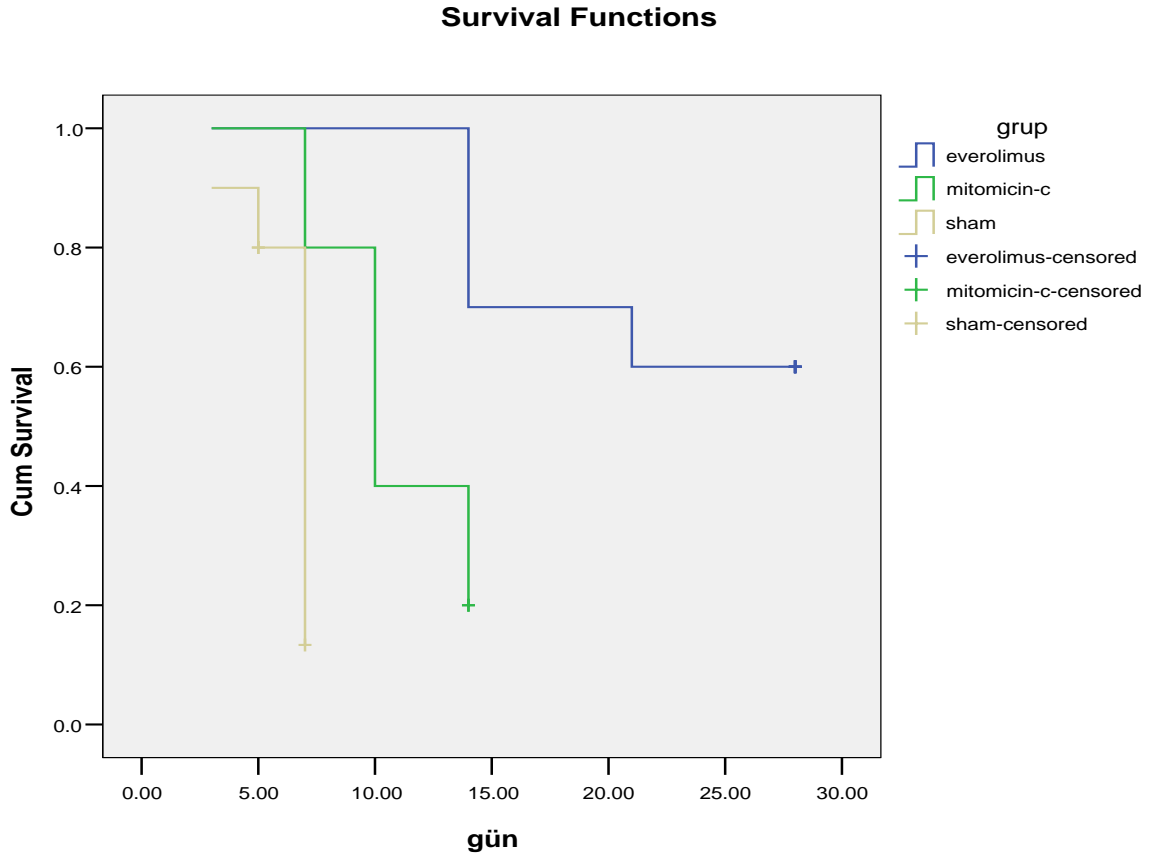
3.4. Postoperatif filtran blebler ve sağkalm süreleri:

Filtran blebler değerlendirildiğinde her üç grupta bleblerin ilk gün eleve ve çalışır oldukları görüldü. Yedinci güne kadar üç grupta da bleblerin kistik görüntüsü devam ederken Grup 3'de 7. günden itibaren bleblerin düzleşmeye başladığı ve afonksiyone hal aldığı görüldü (ortalama blep yaşam süresi 7.2 ± 4.2). Grup 2'de bleblerin eleve görünümüleri 14. günde kaybolurken (ort. blep ömrü 14.2 ± 1.3), Grup1'deki çoğu gözde bulunan filtran blep eleve görünümünü 28. günde hala korumaktaydı (ort. 24.9 ± 2.6) (şekil 6, şekil 7).

Kaplan-Meier analiz yöntemi ile grup 1 ile grup 2 arasında ($p<0.05$) ve grup 1 ile grup 3 arasında ($p<0.05$) blep yaşam süreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilirken, grup 2 ile grup 3 arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)



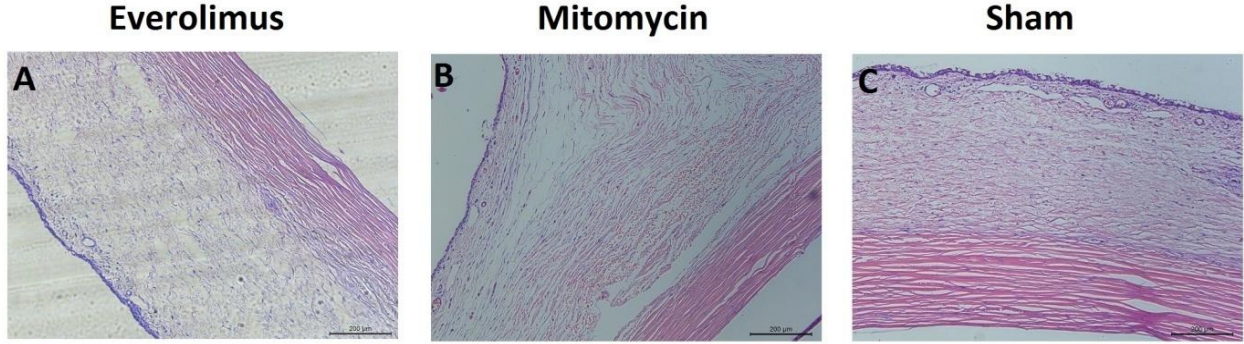
Şekil 6: Filtran bleblerinin postoperatif morfolojik değişimleri. Grup 1’de 28.günde hala blebin eleve görüntüsü devam ederken, grup 2’de 14.günden itibaren, grup 3’de 7. günden itibaren bleblerin düzleşmeye başladığı görülüyor.



Şekil 7 :Kaplan-Meier methodu ile her bir gruptaki filtran bleplerin yaşam sürelerinin GİB'e göre analizi (n=10).

3.5.Histopatolojik değerlendirme:

Histolojik incelemede; gözler fibroblast hipertrofisi ve yeni kollojen lif proliferasyonu açısından değerlendirildi. Her bir gruptaki gözlerden alınan kesitlerde konjonktiva epitelinin intakt olduğu görüldü. Sham grubunda fibroblast ve kollojen yoğunluğunun en fazla olduğu saptandı (Şekil 8C). Mitomisin-C grubunda fibroblast ve kollojen yoğunluğunun azaldığı (Şekil 8B) en az yoğunluğun ise everolimus grubunda olduğu tespit edildi (Şekil 8A). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında fibroblast yoğunluğu açısından Everolimus grubu ile sham grubu arasındaki fark ($p<0,05$) ve MMC grubu arasındaki fark ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (tablo 1).



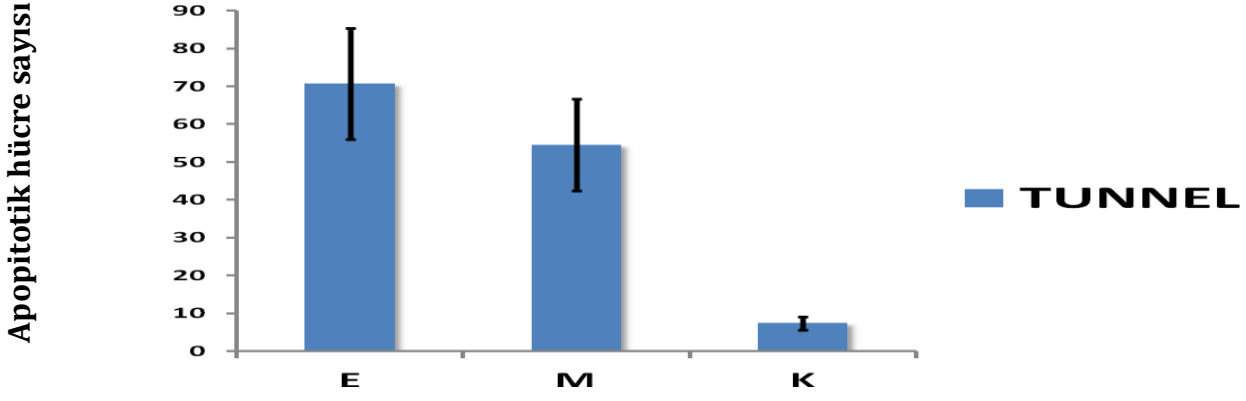
Şekil 8: Everolimus, MMC ve sham grubuna ait deney hayvanlarının cerrahi bölge doku örneklerinin Hematoksilen–eosin ile boyanmış histolojik kesitleri izlenmektedir. Tüm preparatlarda konjonktiva epiteli ve sklera bütünlüğü korunmuştur. Everolimus grubunda (A) lamina propria tabakasının hücresel yoğunluğunun MMC (B) ve Sham (C) grubuna oranla belirgin şekilde azaldığı izlenmektedir.

Tablo1: Gruplardaki fibroblast sayılarının ortalama ve standart deviasyon değerleri

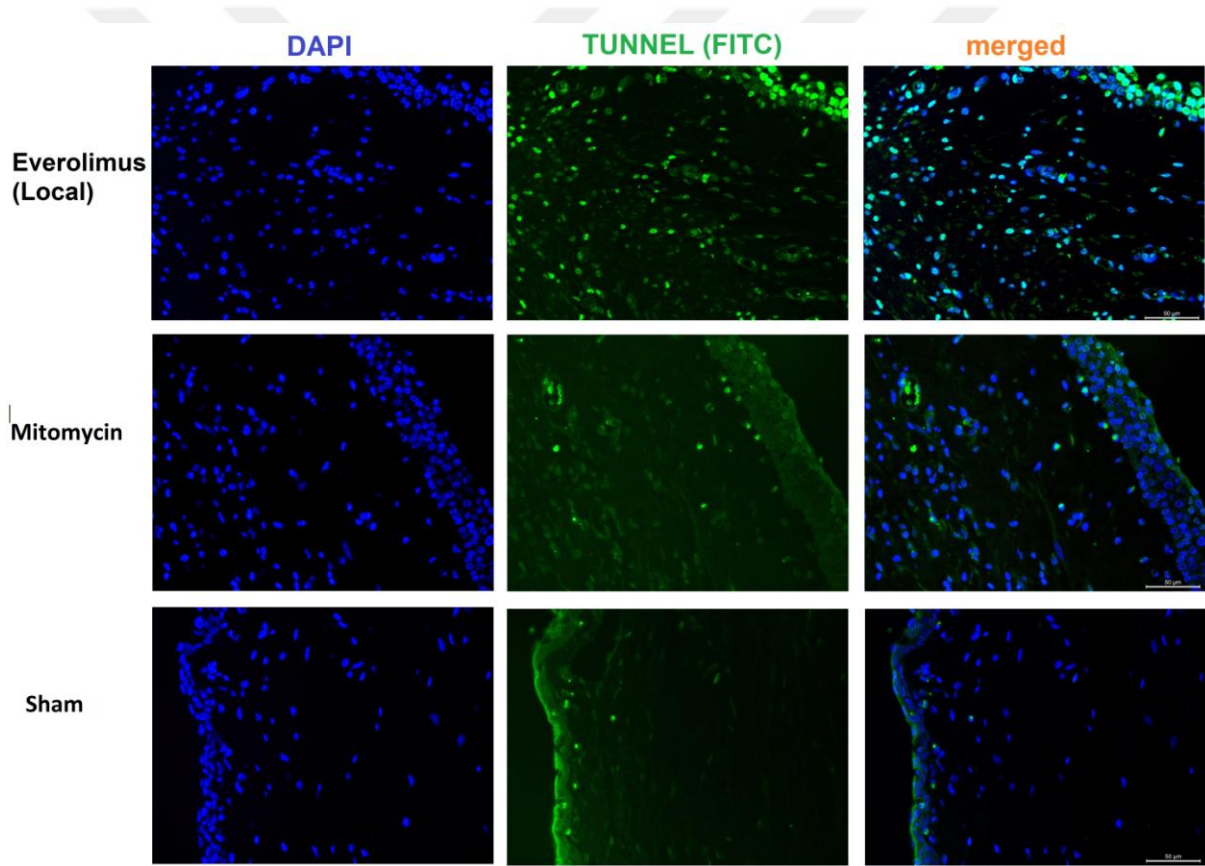
	Everolimus grubu	Mitomisin-C grubu	Sham grubu
Fibroblast m ±SD	28.7±5.32	43.5±10.47	76.4±11.42

3.6. Apoptoz tayini

Apoptotik hücre tayini TUNEL yöntemiyle gerçekleştirildi ve sonuçlar Şekil 9 ve 10'da gösterilmiştir. Apoptotik hücre oranları diğer gruplarla karşılaştırıldığında belirgin şekilde en yüksek oranda Everolimus grubunda saptanmıştır. Bununla birlikte, apoptoza giden hücre oranı Everolimus ($p=0,000583$) ve MMC grubu ($p=0,000829$) grubuyla karşılaştırıldığında Sham grubunda anlamlı şekilde düşüktü. MMC grubunda Everolimus grubuna göre daha az apoptotik hücre gözlenmesinde rağmen iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0,0952$).



Şekil 9: TUNEL yöntemiyle yapılan immünboyama sonrası belirlenen apoptotik hücre sayılarının gruplara göre dağılımı. Everolimus ve MMC gruplarında sham grubuna göre anlamlı oranda fazla apoptotik hücre gözlenmiştir ($p < 0,05$).

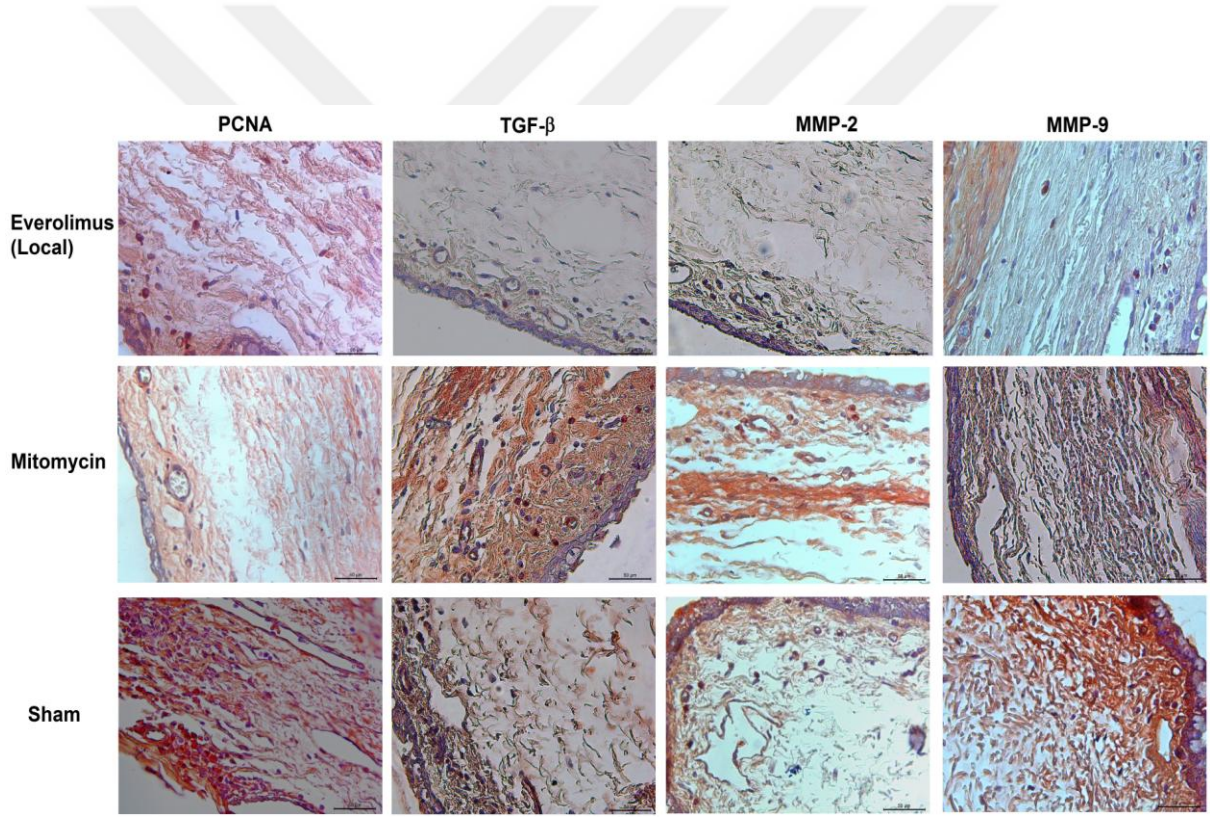


Şekil 10: TUNEL yöntemi ile apoptotik hücrelerin her bir gruptaki immunofloresans mikroskopik görüntüleri. TUNEL pozitif hücrelerin (FITC ile işaretlenmiş) çekirdekleri yeşil renk işaret vermekte ve pozitifliği göstermektedir. Everolimus grubunda apoptotik hücre oranlarının belirgin şekilde artmış olduğu izlenmektedir.

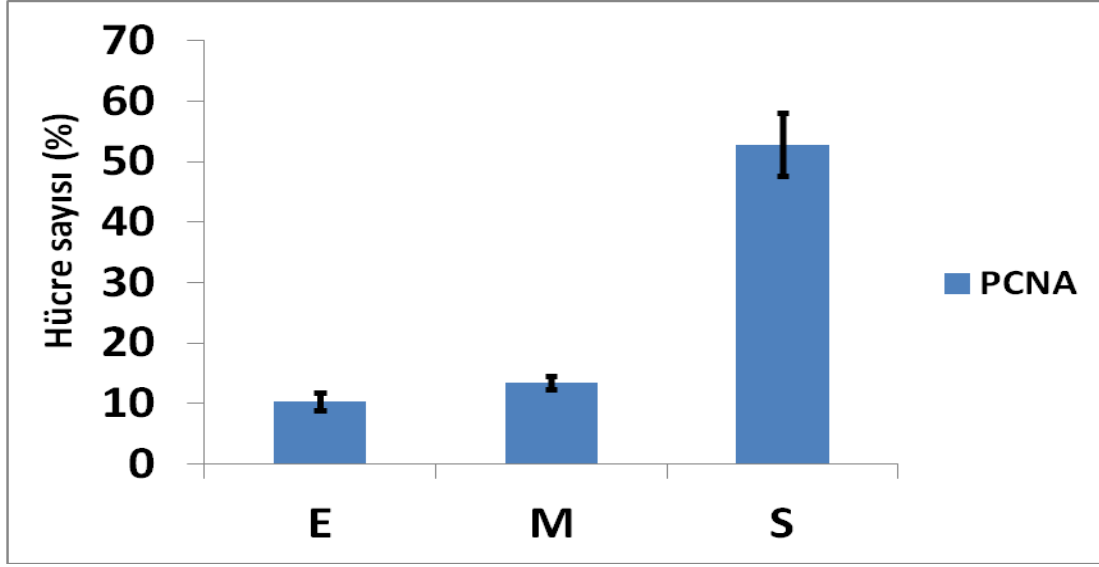
3.7. İmmünohistokimyasal değerlendirme:

3.7.1. PCNA:

Hücre çoğalmı belirteci olan PCNA immunboyaması sonuçları Şekil 11 ve 12’de görülmektedir. Yapılan hücre sayımı sonuçlarımıza göre, PCNA pozitif hücre oranını Sham grubunda daha fazla olduğu saptanmıştır. Başka bir deyişle, PCNA pozitif hücrelerin everolimus ($p=0,024906$) ve MMC ($p=0,030177$) gruplarında Sham grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edilmiştir. Everolimus ile MMC grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p=0,037218$) saptanmıştır. Everolimus grubunda MMC grubuna göre daha az PCNA pozitif hücre gözlenmiştir.



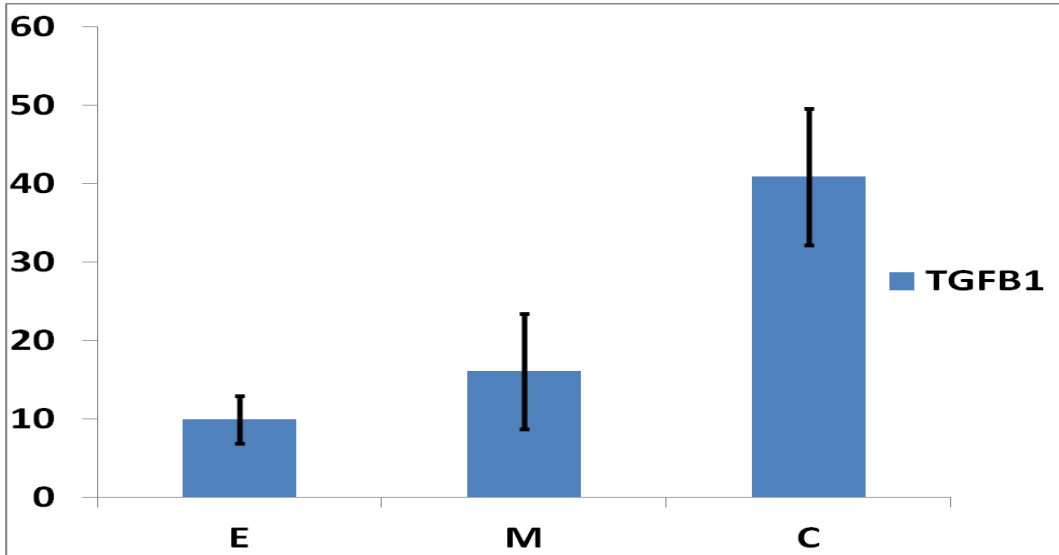
Şekil 11: Tüm deney gruplarına ait parafin kesitlerine PCNA, TGF-β, MMP-2 ve MMP-9 için uygulanmış immunboyama sonrası ışık mikroskopik görüntüleri izlenmektedir. Sham grubuna göre deney gruplarında fibroblastların gözle görülür oranda azaldığı görülmektedir($p<0,05$).



Şekil 12: PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik. Everolimus ve Mitomisin-C tedavi gruplarında PCNA eksprese eden hücre oranları Sham grubuna oranla belirgin şekilde azalmıştır ($p<0.05$).

3.7.2. TGF- β 1:

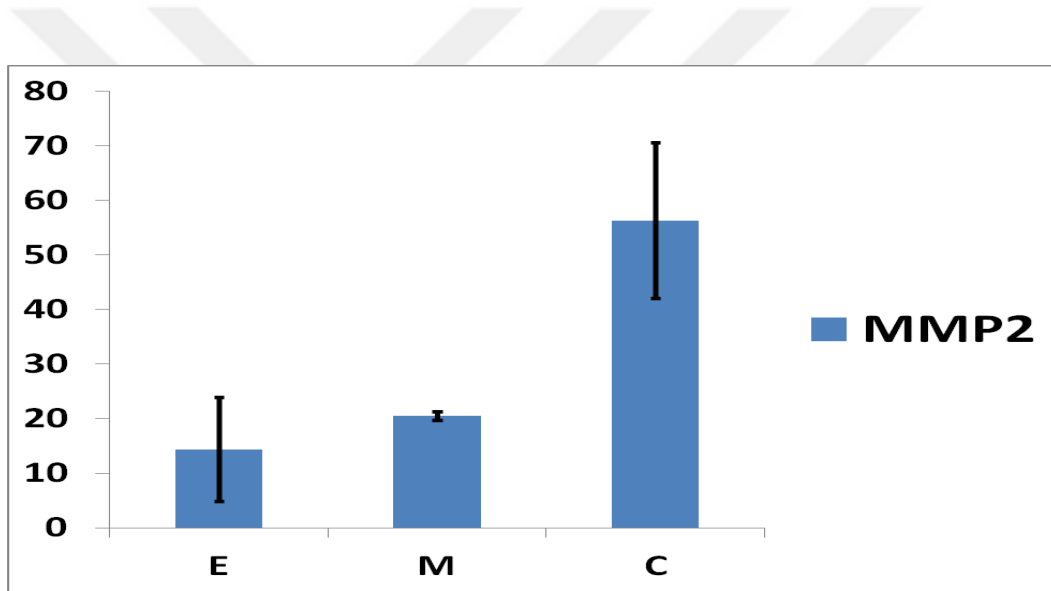
Hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında etkisi olduğu düşünülen Transforming growth faktör beta 1 (TGF- β 1) immün boyaması sonucunda Sham grubunda, Everolimus ($p=0,01677$) ve MMC ($p=0,020484$) gruplarına göre oldukça yüksek oranda TGF-B1 pozitifliği olduğu belirlenmiştir (Şekil 11 ve 13). Everolimus grubunda boyanma yoğunluğunun en az olduğu fakat MMC grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p= 0,286002$) (Şekil 13).



Şekil 13: TGF β 1 (transforming growth factor, beta 1) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik. Everolimus ve Mitomisin-C tedavi gruplarında TGF-B1 eksprese eden hücre oranları Sham grubuna oranla belirgin şekilde azalmıştır ($p<0.05$).

3.7.3.MMP-2:

Fibroblast hücrelerinin yoğunluğunu belirlemek amacıyla yaptığımız matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) immünboyaması sonucunda Sham grubunda belirgin oranda yüksek olan pozitif hücre yoğunluğunun Everolimus ve MMC gruplarında azaldığı saptanmıştır (Şekil 11 ve 14). Sham grubuna göre Everolimus ($p=0,017902$) ve MMC ($p=0,04883$) grupları arasındaki istatistiksel analizler ile bu farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Everolimus grubunda pozitif hücre yoğunluğunun MMC grubuna göre daha az olduğu görülmüş fakat bu gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz sonucu anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,380893$) (Şekil 14).

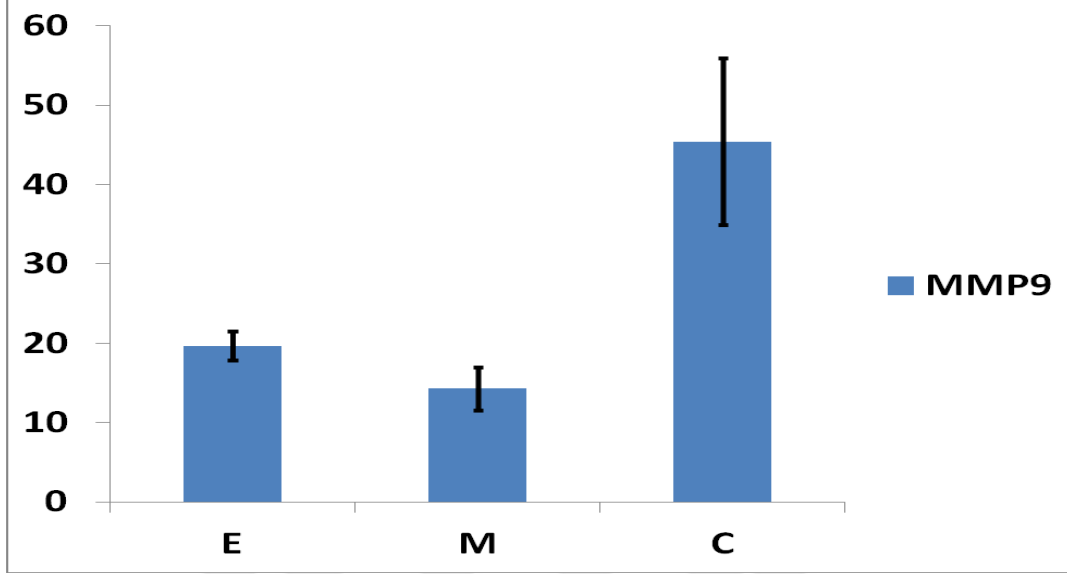


Şekil 14: MMP2 (matrix metalloproteinase-2) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik. Everolimus ve Mitomisin-C tedavi gruplarında MMP-2 eksprese eden hücre oranları Sham grubuna oranla belirgin şekilde azalmıştır ($p<0.05$).

3.7.4.MMP-9:

Fibroblast hücrelerinin yoğunluğunu belirlemek için anti-matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) antikorunu ile gerçekleştirdiğimiz immünboyama sonuçlarına göre Sham grubunda pozitif hücre yoğunluğunun Everolimus ve MMC gruplarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. Sham grubuna göre Everolimus ($p=0,024906$) ve MMC ($p=0,030177$) grupları arasındaki istatistiksel analizler ile farkın anlamlı olduğu belirlenmiştir. Mitomisin-C grubunda pozitif hücre yoğunluğunun Everolimus grubuna göre daha az olduğu görülmüş (Şekil 15) fakat bu

gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz sonucu anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0,054183).



Şekil 15: MMP9 (matrix metalloproteinase-9) eksprese eden hücre oranlarını gösteren grafik. Everolimus ve Mitomisin C tedavi gruplarında MMP9 eksprese eden hücre oranları Sham grubuna oranla belirgin şekilde azalmıştır (p<0.05).

4.TARTIŞMA:

Glokom dünyada körlük nedenleri arasında katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra 3. sırada yer almaktadır (2). Bu hastalık sinsice ilerleyip görme keskinliği ve görme alanını etkileyene kadar hastalar tarafından farkedilemediğinden tanı ve tedavinin önemi daha da artmaktadır. Buna bağlı olarak hastalığın tanısı konulduğu andan itibaren medikal veya cerrahi tedavi en kısa sürede uygulanmalıdır. Glokomun neden olduğu körlüğün tedavi ile geri dönmemesi ve GİB kontrolünün en azından şimdilik optik sinir hasarını durdurabilecek tek yöntem olması nedeniyle glokomlu hastalarda GİB'in düşürülerek görme alanının korunması büyük önem kazanmaktadır. Glokom tedavisinin amacı en az komplikasyon veya yan etki ile görme fonksiyonlarını korumak ve GİB'i optik disk ve görme alanı hasarını durduracak noktaya düşürmek olmalıdır. Primer açık açılı glokomlu hastalarda seçilecek tedavi medikal tedavi, lazer tedavisi, filtran cerrahi veya bunların kombinasyonlarını içerir. Glokom hastalarındaki ilerleyici glokomatöz optik sinir hasarını medikal tedaviyle önlemek her zaman için mümkün olmamaktadır. Ayrıca bu hastalarda uzun süre ve belki de ömür boyu ilaç kullanma zorunluluğu ekonomik maliyetin yanı sıra ilaca bağımlı olmanın zorluklarını da ortaya çıkarmaktadır. Tedavinin uzunluğu göz önüne alındığında hastaların ilaç tedavisine uyumu zorlaşmakta, özellikle hastalığın önemini kavrayamayan hastalarda ilaçların düzenli kullanımını sorun olmaktadır. Ayrıca tıbbi tedavide tek ilaç kullananlar çoğunlukta olsa dahi çoklu ilaç tedavisinin uygulanma zorlukları açıktır. İlaç tedavisi glokomda her ne kadar ilk seçenek olsa da hasta uyumu, eşlik eden sistemik hastalıklar, ilaç etkileşimleri ve yan etkileri bu tedavinin başarısını etkilemektedir. Çok düşük miktarda bir hedef GİB değeri gerekliyse ve ilaçla buna ulaşamıyorsa cerrahi tedavi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. İlaç tedavisinin çok önemli bir başka dezavantajı da topikal ilaç kullanımının ileride planlanacak bir cerrahinin başarısızlık olasılığını arttırma riskidir. Uzun süreli medikal tedavinin cerrahi başarısızlık oranını arttırmasının nedeni açık olmamakla birlikte, topikal glokom tedavisinin sonucu olarak artmış konjonktival ve episkleral fibroblast ve enflamatuar hücre sayılarının etkili olabileceği düşünülmektedir (47). Postoperatif subkonjonktival fibrozisin fistülizan cerrahi yetmezliğinin nedenlerinden biri olabileceği bilinmektedir (122). Aktive fibroblastlar cerrahi uyarıya aşırı bir cevap verebilir ve postoperatif fibrozisin daha büyük derecelerde ortaya çıkmasına yol açabilir. Glokom filtrasyon cerrahisinin glokom tedavisinde birinci seçenek olarak kullanımı her ne kadar yaygın değilse de, erken dönemde yapılan komplikasyonsuz bir filtran cerrahi iyi bir GİB kontrolü sağlarken, ilaçla tedavinin zorluklarından da hastayı kurtarabilir. Yapılan çalışmalarda başarılı bir filtran cerrahinin görmenin korunması ve

GİB'in düşürülmesinde medikal veya laserle tedavi seçeneklerine üstünlük sağladığı bildirilmektedir. Diğer yandan, erken cerrahi hastanın ömür boyu medikal tedavi ile korunması mümkün olan görmesini aniden azaltarak hiç istenmeyen bir sonuca da neden olabilir (123).

Filtran cerrahi hastaların yaklaşık %80'inde başarılı olmaktadır (124). GFC medikal veya laser tedavisiyle kontrol altına alınamayan GİB'de ve ilerleyici optik sinir hasarında primer cerrahi prosedürdür. Ancak filtran cerrahi uygulamalarının bir kısmında başarı azalmaktadır. GFC'de başarısızlığa yol açan ana neden cerrahi travma sonrası doğal bir olay olan hızlı yara iyileşmesi ve skar oluşumudur. Filtran cerrahide amaç ön kamara ile subkonjonktival aralık arasında aköz hümörün drenajını sağlayacak olan kontrollü bir fistül oluşturmaktır. Ancak bu fistülün yara iyileşmesi reaksiyonları sonucu oluşan skar dokusu nedeniyle nonfonksiyonel hale gelmesi söz konusudur (4).

Günümüzde trabekülektomi ameliyatı ne kadar az travmatik olursa olsun hızlı iyileşme cevabına yatkın olan hastalarda fistül bölgesinde skar oluşumu ve fistülün nonfonksiyel hale gelmesi riski devam etmektedir. Risk gruplarında preoperatif, peroperatif ve postoperatif çeşitli uygulamalarla skar oluşumu azaltılmaktadır. İyileşme ve skar dokusu oluşumu çeşitli safhalarda yönlendirilebilmesine rağmen çalışmalar iyileşme sürecinin en önemli elemanları olan fibroblastlar üzerine yoğunlaşmıştır. Filtrasyon cerrahisi özellikle kollagen yapımı nedeniyle başarısızlıkla sonuçlandığından yara yeri iyileşmesinin kontrol edilmesinde fibroblast fonksiyonunun inhibe edilmesi çok önemli faktördür (4, 6, 7). Kortikosteroidler, nonsteroid antiinflamatuvarlar, beta irradyasyon, plazminojen aktivatörleri, kollagen çapraz bağları önleyen beta aminopropionitril, D-penisilamin, antiproliferatif (antineoplastik) etkili olan bleomisin, mitomisin, 5-FU, sitozin arabinozot, doksorubusin, taksol, flaurat, immunomodülatör etkili olan siklosporin GFC'de yara iyileşmesini düzenlemek amacıyla kullanılan başlıca ajanlardır. Aynı amaçla, çeşitli çalışmalarda migrasyonu inhibe eden ilaçlardan kolşisin, sitokalazin-b, nokodazol, vinkristin, vinblastin, antiproliferatif ajanlardan radyasyon, klorambusil, 5-fluorodeoksiüridin, metotreksat, gama interferon, antiinflamatuvar/immunosüpressif ajanlardan difenhidramin yara iyileşmesinde etkili olan fibroblast inhibitörleri olarak kullanılmıştır (6). Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlardan diklofenak, flurbiprofen ve indometazin iyileşme cevabını baskılamak amacıyla kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda insan tenon fibroblastlarını inhibe etmede en etkili non-steroid antiinflamatuvar ajanın diklofenak olduğu belirtilmektedir (5, 74). Hücrelerin mikrotübül hareketini engelleyerek fibroblast çoğalması ve proliferasyonunu inhibe eden kolşisin, taksol, vinkristin, vinblastin üzerine olan çalışmalar deneysel düzeydedir, bu ilaçlar sitolojik yapıyı yıkarak skar

oluşumunu azaltmaktadır (7). Beta-aminopropionitril, lizil oksidaz inhibisyonuyla yara yerinde kollagen çapraz bağlanmasını bloke ederek gerginlik kuvvetini azaltmaktadır. Penisilamin lizin türevi aldehitlerle kollagen olgunlaşmasını, kollagenin sentezini ve hücre dışına salınmasını engeller. Ancak bu ilaçlarla ilgili çalışmalar devam etmektedir (4). Sitozin arabinozid insan ve hayvan fibroblast kültürlerinde fibroblast çoğalmasını 5-FU' e göre 10 kat daha fazla inhibe etmektedir (4). Bleomisin, daunorubisin ve doksorubisin insan doku kültürlerinde ve hayvanlarda GFC' nde kullanılmıştır. Herchler'in yaptığı bir çalışmada bleomisin ve 5-FU intraoperatif olarak uygulanmış ve etkileri karşılaştırılmış, sonuçta bleomisin grubunda daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir (135). Mitramisin, subkonjunktival veya retinal kanamalara neden olabileceğinden doku kültürlerinde çalışılmıştır ancak gözde kullanım alanı yoktur (135). Siklosporin ile ilgili bir çalışmada ise ilacın etkisi MMC ile karşılaştırılmış, cerrahi sırasında çıkarılan skleral bloğun elektron mikroskopik incelemeleri yapılmış, çalışma sonucunda GİB'de düşme ve kullanılan ilaç sayısında azalma yönünden MMC ve siklosporin ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda siklosporinin trabekülektomi sonrası antifibrotik etkisi olduğu ve bu etkisi apoptozis sonucu fibrotik dejenerasyon yapıcı etkisiyle açıklanmıştır (136). Cerrahi sırasında tek doz siklosporin A uygulaması komplike sekonder glokom ve komplike olmayan PAAG olgularında yardımcı tedavi yöntemi olarak bildirilmiştir (137). Yara iyileşmesini engellemek amacıyla kullanılmakta olan rekombinant doku plazminojen aktivatörü (rtPA) pıhtıya spesifik fibrinolitik aktivitesi olan bir serin proteazıdır. Günümüzde rtPA, kan ve fibrin pıhtılarını eritmede ve/veya pars plana vitrektomi, katarakt ve glokom cerrahisi sonrasında membranların eritilmesinde başarıyla kullanılmaktadır (39, 138, 139). Glokom cerrahisinden sonra rtPA sklerostomiye tıkayan veya konjonktivanın altındaki kanama veya fibrin pıhtılarını eritmek için parasentez yapılarak veya subkonjunktival olarak verilebilir. Etkisi hızlı olmakta ve 3 saat içinde etkisi görülmektedir. Glokom cerrahisinden sonra en sık görülen komplikasyonlardan olan hifemada ilacın 6-12.5 mikrogramlık dozlarda etkili olduğu ve hifema riskinin azaldığı bildirilmiştir (48). Glokom cerrahisinde rtPA kullanılan intrakapsüler katarakt ekstraksiyonu+trabekülektomi ameliyatlarının %57'sinde, trabekülektomi ameliyatlarının %100'ünde ve glokom implant cerrahisi uygulanan olguların %75'inde filtrasyon artışı saptanmıştır (39). Antiviral aktiviteli bir sitokin olan gama interferon yara iyileşmesi ve fibrozisin önlenmesinde etkili bir inhibitördür ve tenon kapsülü fibroblastlarının kollagen üretimini RNA sentezi aşamasında inhibe etmektedir. Kollagen sentezini selektif olarak inhibe ettiği ve kollagen dışı protein sentezi, çoğalması ve canlılığı

üzerine etki etmediğinden antimetabolitler ve steroidler gibi komplikasyonları yoktur. Ancak kullanımıyla ilgili çalışmalar devam etmektedir (140).

Beta irradyasyon başlangıçta rekurren pterjiumda tedaviye ek olarak (141) ve daha sonraları başarısız GFC'ni önlemek amacıyla kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda sınırlı başarı kaydedilebilmiştir (142, 143). Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise suramin, yeni bir farmakolojik yaklaşım olarak glokom cerrahisinde cerrahi sırasında bir kez ve sonrasında günde dört kez uygulanmıştır. İlacın in vivo modelde oküler yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin hedef hücreler üzerine etkisini büyük ölçüde engellediği ve antimetabolitlerin kullanıldığı olgularda görülen bir kaç hafif yan etkisi olduğu bildirilmiştir (144).

Anti VEGF'ler de GFC'de kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bevacizumab'ın operasyon sonrası bleb kenarına 1,25 ml enjeksiyonunun fibrozisi engellediği görülmüştür (145). Kortikosteroidler GFC'den sonra rutin olarak kullanılmaktadır. Kortikosteroidler fosfolipaz A2'i inhibe ederek enflamatuar mediatörlerin sentezini engellemektedir. Ayrıca yüksek dozlarda fibroblast çoğalmasını baskılamaktadır. Yapılan çalışmalarda steroidlerin lipoksijenaz ve siklooksijenaz yollarını bloke ederek vasküler geçirgenlikte azalma, kemotaksiste, granulosit ve mast hücre degranülasyonunda inhibisyon yaptığı, fibrin oluşumunu engellediği gösterilmiştir(146).

Glokom filtrasyon cerrahisinde MMC 0.1-0.4 mg/ml arasındaki değişken konsantrasyonlarda uygulanmaktadır (85, 86). İlacın sklerayla tenon arasına uygulanması önerilmektedir. Glokom filtrasyon cerrahisinde farklı uygulama süresi (147) ve farklı dozlarda (85, 86, 147) başarı oranı değişmektedir. Palmer, skleral fleb altına 5 dk. süreyle 0.2 mg/ml MMC uyguladığı 33 yüksek riskli hastada ortalama 15.6 aylık takip sonrasında %84'lük başarı elde etmiş ve herhangi bir komplikasyon gözlememiştir (85). Skuta ve ark. cerrahi prognozunun kötü olacağı düşünülen olgularda MMC ile 5-FU'yi karşılaştırmış ve 6 aylık takip peryodu sonrasında MMC grubunda GİB'de daha fazla düşme olduğunu ve 5-FU grubunda karşılaşılan korneal epitelyal toksisiteye MMC grubunda hiç rastlanmadığını bildirmişlerdir (86). Tavşan ve maymunlarda yapılan deneysel çalışmalarda ise hiposellüler bleb kaviteleri gözlenmiş ancak siliyer cisim ve retinada değişiklikler ve skleral incelme izlenmemiştir (58). Mitomisin-C uygulanması sonrası histopatolojik olarak; fibroblastlarda nekroz, atrofi ve azalma, sklera alt tabakalarındaki hücrelerde dejenerasyon izlenmiş ancak hücre aktiviteleri, kollajen ve ara madde yapısında değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca sklera orta tabakalarında hücresel inaktivasyon ve kollajende disorganizasyon, sklera yüzeyinde fibriller, ara madde ve bunları sentezleyen hücrelerde azalma, kollajen molekülleri arasındaki proteoglikan çapraz bağlarında kayıp izlenmiştir (4, 7, 87).

Bizim çalışmamızda glokom filtran cerrahisinde yara yerinde skar oluşumunu engellemek için MMC ile everolimus kıyaslandı. Everolimus Paskalya adasında bulunan toprak numunesinden elde edilen *Streptomyces hygroscopicus* adlı bakteri ailesinden izole edilmiş bir peptit olan rapamisin ailesinden aktif immunsupresif ve antiproliferatif bir makrolittir (114,115). Everolimus ile ilgili kemoterapiden, organ transplant rejeksiyonuna; kardiak cerrahide uygulanan stentlerin açık tutulmasından, kornea yanıkları ve üveit tedavisine pek çok alanda değişik denemeler yapılmış ve pek çoğunda da olumlu sonuçlar alınmıştır. Etkisini T hücrelerine spesifik interlökinler (IL-2 ve IL-5) tarafından yönlendirilen, antijen etkisiyle aktive olmuş T hücrelerinin çoğalmasını ve dolayısıyla da klonlanmasını inhibe ederek gösterir. Everolimus hücre içinde hücre büyümesi, proliferasyon, anjiogenesis, otofaji ve metabolizma gibi birçok fonksiyonda anahtar rol oynayan mTOR proteinini inhibe ederek etki eder ve hücre siklusunu G₁ evresinde durdurur (117,125).

Son yıllarda Everolimus'un göz hastalıklarında kullanımı ile ilgili çalışmalar giderek yaygınlaşmaktadır. Özellikle everolimusun retinal hastalıklarla ilgili etkilerine yönelik fazla sayıda çalışma mevcuttur. Blumenkranz ve ark.nın yaptıkları çalışmada diabetik maküler ödemi olan hastalarda İntravitreal ve subkonjonktival rapamisin uygulanım sonrası 180 güne kadar süren fonksiyonel ve anatomik düzelme bildirilmektedir ve ciddi oküler veya sistemik yan etkiye rastlanmamıştır (126). Wong WT ve ark.nın yaptıkları çalışmada retinada coğrafik atrofileri bulunan hastalara 24 ay boyunca 3 ayda bir tekrarlayan dozlarda subkonjonktival sirolimus uygulanmış.24 ay sonunda çalışma grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında Sirolimus grubunda anatomik ve fonksiyonel açıdan kontrol grubuna üstünlük saptanmazken sirolimusun gözde iyi tolere edilebilir bir ilaç olduğu görülmüştür (127). Kolosova ve ark. ise ratlarda hızlandırılmış yaşlanmayla oluşturulan yaşa bağlı maküla dejenerasyonuna benzer retinopati modelinde Rapamisinin etkisi incelenmiş. Ratlara ilaç oral yoldan verilmiş. Sonuçlarda Rapamisinin doza bağlı bir şekilde retinopatinin insidans ve şiddetini azalttığı gösterilmiştir. Özellikle retinada ganglion hücrelerindeki yıkımı engellemesi önemli bir başarı olarak değerlendirilmiş, kontrol grubunda ise ilaç retinada herhangi bir yan etki oluşturmamıştır. Sonuçta veriler ele alındığında Rapamisinin retinopatinin tedavisi ve önlenmesinde potansiyel bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (128). Mudumba ve ark. nın çalışmasında intravitreal Sirolimus enjeksiyonunun etkinlik ve tolerabilitesi incelenmiş, ilacın etkilerinin doza bağlı olduğu ve sistemik dolaşıma geçen dozun sistemik immunsupresyon için gerekli olan dozun altında olduğu tespit edilmiş (129). Manzano ve ark.nın yaptıkları çalışmada ise tavşanlarda intravitreal Rapamisinin toksisitesi değerlendirilmiş. ERG sonuçları 20 mikrogramda normal iken, histolojik sonuçlar tüm gruplarda hiçbir retinal toksisite

olmadığını göstermiş (130). Dejneka ve ark.nın yaptıkları çalışmada farelerde sistemik rapamisinin retinal ve koroidal neovaskularizasyonu inhibe edici etkisi değerlendirilmiş. Sonuçta Rapamisinin büyük ölçüde retinal ve koroidal neovaskularizasyonu baskıladığı gösterilmiş olup, tedavi edilen ve edilmeyen retina gruplarında immunohistokimyasal boyamalarda VEGF proteini ve reseptör düzeylerinde anlamlı bir azalma saptanmamıştır (131).

Rapamisinin korneal hastalıklar üzerine etkisi ile ilgili de yapılan birçok çalışma mevcuttur. Örneğin Shin ve ark.nın yaptıkları çalışmada farelerde alkali yanığa bağlı kornea hasarına karşı Rapamisinin koruyucu etkisi araştırılmış. Bir grup fareye topikal ve intraperitoneal Rapamisin uygulanırken, diğer grup kontrol kabul edilmiş. Kimyasal yanığa bağlı hasardan 4 hafta sonra korneal neovaskularizasyon ve korneal opasite skoru Rapamisin grubunda daha düşük bulunmuş. Hasardan iki hafta sonra korneal IL-6 düzeyleri ve kimyasal yanıktan 4 hafta sonra korneal TGF- β 1 düzeyleri kontrol grubuna göre Rapamisin ile tedavi edilen grupta çok daha düşük bulunmuş (132). Zapata ve ark.nın yaptıkları çalışmada farelerde oluşan herpetik stromal keratit modelinde topikal Rapamisinin etkisi değerlendirilmiş. Hayvanlar dört gruba ayrılmış. Birinci grup deksametazon, ikinci grup Siklosporin, üçüncü grup Rapamisin ile tedavi edilirken dördüncü grup kontrol olarak kabul edilmiş. Sonuçta enfeksiyon sonrası 10. günde sadece Rapamisin grubunda anjiojenik gelişmede önemli baskılanma varken, 14. günde tüm tedavi gruplarında kontrol grubuna göre baskılanma saptanmış (133). Shin ve ark.ı yaptıkları çalışmada ise insan korneal endotel hücre kültüründe oluşturulan oksidatif stresde Rapamisinin koruyucu etkisini göstermişlerdir (134). Stanojlovic ve ark.nın yaptıkları çalışmada ise Rapamisinin tek başına veya siklosporin ile kombine şekilde kullanımının korneal allogreft modelinde immun düzenleyici etkisi analiz edilmiş. Sonuç olarak; rapamisinin monoterapi olarak greft reddini geciktirmede etkili olduğu fakat siklosporin ile kombine kullanıldığında ise T hücrelerindeki IFN-gama'nın gelişimini engelleyerek etkinin çok daha güçlü olduğu görülmüş (135). Chatel ve ark.nın çalışmasında ise rejeksiyon riski yüksek hastalarda yapılan penetran keratoplastide Sirolimus'un Mikofenolat mofetil ile kombine kullanımının etkinlik ve güvenilirliğini değerlendirmişler. Bu kombinasyonun korneal transplantasyonda greft ömrünün uzamasında etkili olduğu tespit edilmiş, yüksek riskli hastaların hepsinde olmasa da büyük kısmında iyi tolere edilebilir olduğu görülmüş (136). Kwon ve ark.nın çalışmasında ise korneal alkali yanık modelinde oluşan korneal neovaskularizasyonda ve insan umblikal ven endotel hücrelerinde Rapamisin'in proliferasyon ve migrasyona olan etkisi incelenmiş. Sonuç olarak, in vitro modelde insan umblikal ven endotel hücrelerinde migrasyonu inhibe ettiği dozda

sitotoksositeye ve apoptozise yol açmadığı görülürken, *invivo* çalışmada da Rapamisin'in proinflatuar sitokinleri inhibe ederek korneal neovaskularizasyonu baskıladığı görülmüş bu nedenle Rapamisin'in korneal hastalıkların tedavisinde anjiyojenik düzenleyici olarak kullanılabilceği sonucuna varılmış (137).

Everolimusun glokom filtran cerrahisinde antiproliferatif olarak kullanımı ile ilgili literatürde tek bir çalışma mevcuttur. Yan ve ark.nın yaptıkları bu çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde tavşanlara uygulanan glokom filtran cerrahisinde skar oluşumunu engellemeye yönelik Sirolimus kullanılmıştır. Bu çalışmada hayvanlar dört gruba ayrılmış, bir gruba Sirolimus sürekli salınım film tedavisi kullanılırken, ikinci gruba Sirolimus emdirilmiş sponge uygulanmış, üçüncü gruba ilaçsız film kullanılırken dördüncü gruba herhangi bir tedavi verilmemiş (138). Bizim çalışmamızın bu çalışmadan üstün olduğu taraf hayvan gruplarından birine Everolimus verilirken diğerine günümüzde pratikte glokom filtran cerrahisinde en çok tercih edilen antiproliferatif ajan olan MMC'nin kullanılmasıdır. Böylece etkili bir antiproliferatif olduğunu yapılan çalışmalardan gördüğümüz Everolimusun günümüzde en çok tercih edilen antiproliferatif ajan olan MMC'den daha etkin olup olmadığını görme olanağı sağlamıştır. Bu çalışmada yara yerindeki en iyi antiproliferatif etki sirolimus sürekli salınım film tedavi grubunda görülürken, Sirolimus emdirilmiş sponge tedavisi ikinci sırada yer almıştır. Sirolimus emdirilmiş sponge tedavisinde 30 ng/ml Sirolimus kullanılmıştır. Sirolimus'un fibroblast proliferasyonunu baskılamada etkin dozu ile ilgili literatürde bir çalışma mevcuttur. Salas-Prato ve ark.nın bu çalışmasında rutin trabekülektomi yada katarakt cerrahisi uygulanan hastalardan alınan tenon örneklerinden fibroblast kültür yeri oluşturulmuş. Daha sonra bu kültür yerine 0,1-100 ng/ml arası çeşitli konsantrasyonlarda Sirolimus eklenmiştir.iki gün sonra hücreler incelendiğinde hiçbir konsantrasyonda sitotoksik etkinin olmadığı, en etkin antiproliferatif dozun 30 ng/ml olduğu tespit edilmiş (139). Bizim çalışmamızda cerrahi öncesi etkin dozu bulabilmek amacı ile fibroblast kültür yeri oluşturuldu ve kültür yerine 10 ng/ml, 20 ng/ml, 30 ng/ml ve 40 ng/ml Everolimus eklendi. İlk gün 10 ve 20 ng/ml dozlarının yarattığı fibroblast baskılanması birbirine yakınken 30 ng/ml bu dozlardan biraz daha fazla baskılanma yarattığı ama en etkin antiproliferatif etkinin 40 ng/ml de olduğu görüldü. Fakat üçüncü günde 30 ng/ml'nin 10 ng/ml ve 20 ng/ml'e göre anlamlı bir baskılanma yaptığı görülürken, 40 ng/ml'nin çok ileri baskılanma yaptığı görüldü. Bu sonuca bakarak en etkin proliferasyon baskılama dozunun 30 ng/ml olduğu, 40 ng/ml'nin letal doz olduğu sonucuna varıldı. Bu sonuca bağlı olarak cerrahi sırasında blep bölgesine 30 ng/ml dozunda everolimus emdirilmiş sponge uygulandı.

Yan ve ark.nın yaptıkları çalışmada postoperatif göz içi basınçları birinci günde bütün gruplarda düşük , ilaçsız gruplarda GİB 3. günde hızla yükselmeye başlarken, Sirolimus emdirilmiş sponge uygulanan grupta 5. günde göz içi basıncı yükselmeye başlayıp preop değerlere 10. Günde ulaşmış, Sirolimus sürekli salınım film tedavisi uygulanan grup ise 28. günde hala düşük göz içi basıncı değerlerini korumuş(138). Bizim çalışmamızda ise literatürdeki çalışmaya benzer şekilde ilk gün üç grupta da göz içi basıncında belirgin bir düşüş olduğu görüldü. Kontrol grubunda GİB 3. günde hızlı bir artış gösterirken, bu artış MMC grubunda 7. günde başladı. Everolimus grubunda ise GİB değerleri preoperatif seviyeden daha düşük değerleri 28. güne kadar korudu.

Yine literatürdeki çalışmada gözler postoperatif komplikasyon açısından değerlendirildiğinde postoperatif 1.günde tüm gruplarda hafif derecede ön kamarada flare olduğu bu durumun 3.günde geçtiği görülmüş. Bunun dışında Sirolimus emdirilmiş sponge uygulanan grupta 1 gözde ciddi ödem ve bir gözde hifema, kontrol grubunda bir gözde hifema görülmüş. Hifemalar 5. günde gerilerken, ödem 3.günde gerilemiş. Bunların dışında endoftalmi, blep sızdırması, katarakt gibi herhangi başka komplikasyonlara rastlanmamış. Bizim çalışmamızda ise postoperatif tüm gözlerde literatürdeki çalışmada olduğu gibi ilk gün hafif derecede ön kamarada flare mevcuttu ve bu durum 3.günde geriledi. Everolimus grubundan 1 göz, kontrol grubundan 2 gözde hifema oluştu. Everolimus grubundaki 5. Günde rezorbe olurken kontrol grubundakiler 14.günde rezorbe oldu. Ve yine bizim çalışmamızda da endoftalmi, blep sızdırması, katarakt gibi herhangi başka komplikasyonlara rastlanmadı.Bu veriler ışığında literatürdeki diğer çalışmalarla beraber değerlendirdiğinde Everolimus'un gözde kullanımının gayet güvenilir olduğunu söyleyebiliriz. Postoperatif görülen tek komplikasyon olan hifemanın da kontrol grubunda da oluşmasından da anlaşılacağı üzere cerrahi teknikle alakalı olabileceğini düşünmekteyiz. Her ne kadar çalışmamızda MMC'e bağlı komplikasyona rastlamamış olsak da literatürde varolan yayınlardan anlaşılacağı üzere MMC yüksek başarı oranı olmasına ve glokom filtrasyon cerrahisinde yoğun kullanılmasına rağmen cerrahi prognozu kötü olan her olguda kullanılması mümkün değildir, ayrıca MMC insanlar için en karsinojenik 10 maddeden biridir. (140). Mitomisin-C'nin, kornea ve konjonktivaya temasla doku hasarı ve nekroz, ön kamaraya sızıntı olursa endotelde toksik etki, korneal ülser, epitele toksik etki, siliyer cisim toksisitesi ile hipotoni, blebte sızıntı, skleral incelme ve perforasyon ve endoftalmi (78, 88, 89) gibi ciddi komplikasyonları olduğu bilinmektedir. Halbuki Everolimus ile ilgili, çalışmamızda da literatürdeki diğer çalışmalarda da herhangi bir ciddi yan etki bildirilmemiştir. Bu da Everolimus'un bu konuda da Mitomisin-C'e üstünlüğünü göstermektedir. Filtran blepler değerlendirildiğinde ise Yan ve ark.nın yaptıkları bu çalışmada ilk gün tüm gruplarda diffüz

çalışan bir blep olduğu görülmüş.İlaçsız gruplarda bleplerinin ortalama ömrü 3 gün olarak tespit edilmiş. Sirolimus emdirilmiş sponge tedavisi uygulanan grupta blep ömrü ortalama 7 gün iken Sirolimus sürekli salınım film tedavisi uygulanan grupta 28.günde bile bleplerin çoğu tavşanda hala çalışır vaziyette oldukları görülmüş(138). Bizim çalışmamızda da literatürdeki çalışmaya benzer şekilde postoperatif 1. gün tüm gruplardaki tavşanların blepleri eleve ve çalışır haldeydi. Sham grubunda bleplerin düzleşmesi 7. Günde başlarken, MMC grubunda 14. günden itibaren blepler düzleşmeye ve afonksiyone olmaya başladı. Everolimus grubunda ise 28.günde hala bleplerin çoğu eleve görünümünü tam olarak kaybetmemişlerdi. Yine literatürdeki çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda da hematoksilen-eosin ile yapılan histopatolojik incelemede en düşük fibroblast proliferasyonu Everolimus grubunda olduğu görüldü, onu MMC tedavisi verilen grup takip etmekteydi, en fazla proliferasyon ise sham grubunda tespit edildi.

TUNEL yöntemi DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar (141). Apoptotik parçalanma sonucu DNA uçları, DNA polimeraz veya Klenow fragmenti kullanılarak işaretlenebilmektedir. Ancak terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak yapılan işaretleme göreceli olarak daha duyarlı bir yöntem olarak bulunmuştur. Bu yöntem “TdT-dUTP nick-end-labelling” sözcüklerinin kısaltılması olan “TUNEL” yöntemi adıyla anılmaktadır. Yan ve ark.nın çalışmasında ilk defa tavşan modelinde filtrasyon sahasında Sirolimus’un apoptotik etkisi TUNEL yöntemi ile gösterilmiştir (138). Bizim çalışmamızda da TUNEL yöntemi ile filtrasyon sahasında en fazla apoptozisin Everolimus grubunda olduğu, bunu MMC grubunun takip ettiği gösterilmiştir.Bu iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmazken iki grubun sham grubu ile arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

PCNA(Proliferative cell nuclear antigen)nın fibroblast hücre proliferasyon prensibinde önemli rol oynadığı ve mid-G1 fazını ifade ettiği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (142). Yan ve ark.nın yaptıkları çalışmada Sirolimus ile tedavi edilen grupta PCNA ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (138). Bizim çalışmamızda da Everolimus grubunda PCNA ekspresyonunun en düşük olduğu gösterilmiştir. MMC ve sham grubu ile karşılaştırıldığında bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur.

Matriks Metalloproteinazlar ekstrasellüler matriksin en az bir komponentini proteoliz edebilen 21 den fazla üyesi olan çinko bağımlı endopeptidaz ailesidir. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve migrasyonu gibi aktivitelerde etkili karmaşık ve dinamik bir oluşumdur. Tümü proenzim olarak fibroblastlar, osteoblastlar, kondrositler endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller gibi çeşitli bağ doku hücresinden salgılanır. Bu enzimler doku

yeniden yapılanması morfogenez yara iyileşmesi ve normal gelişimsel süreç gibi fizyolojik olaylarda önemli rol oynarlar (143). Heimberger ve ark. çalışmalarında Rapamisin'in MMP-2 ve MMP-9'u bloke ederek glioma invazyonunu suprese ettiğini göstermişlerdir. Rapamisin endotel hücrelerinden MMP-2 ve MMP-9'un salınımını inhibe ettiği ve bu yolla anjiogenezisi engellediği gösterilmiştir (144). Glokom filtran cerrahisinde MMP inhibisyonu subkonjonktival skar oluşumunu engellemektedir (145). MMP'ların özellikle MMP2'nin glokom filtran cerrahisinde yara yeri iyileşmesinde önemli rol oynadığı ve cerrahi sonrası terapötik müdahale açısından önemli bir hedef temsil ettiği düşünülmektedir (146). Bizim çalışmamızda da MMP-2 ve MMP-9 immünohistokimyasal boyanmaları değerlendirildi ve en az boyanmanın Everolimus grubunda olduğu fakat MMC ile aralarındaki farkın istatistiksel anlam taşımadığı tespit edildi.

TGF- β makrofajlar, lenfositler, platelet hücreleri ve fibroblastlar tarafından salınan en önemli profibrojenik sitokinlerden biridir ve konjonktival yara iyileşmesinde potent bir profibrojenik ajandır. Anjiogenezisi stimule ettiği gibi insan tenon fibroblast proliferasyonunu, migrasyonunu ve kollojen üretimini de indüklemektedir. Ayrıca diğer makrofaj ve fibroblastlar üzerinde kemoatraktan etki gösterebilmektedir (148). Arslan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, tavşanlara uygulanan glokom filtran cerrahisinde Mitomisin-C, Takrolimus ve Ocreotidin yara yerinde TGF- β 'ı azalttığını göstermişlerdir (147). Milani ve ark.nın Rapamisin'in fotorefraktif keratektomi sonrası korneada myofibroblast proliferasyonunu inhibe ettiğini ve korneal skar oluşumunu azalttığını gösterdikleri çalışmalarında ise Rapamisin'in korneada TGF- β ile indüklenen kollojen konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (149). Bizim çalışmamızda ise cerrahi skar bölgesinde en az TGF- β 1 seviyesinin Everolimus grubunda olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık MMC grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, bu iki grup sham grubu ile karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

5.SONUÇ:

Sonuç olarak everolimus hem immun supresyon yapıcı etkisiyle hem de fibroblast aktivasyonunu engelleyerek yara yeri iyileşmesini geciktirebilir. Everolimus'un etkinliği histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak Mitomisin-C verilen gruptan daha etkili bulunmuştur. Glokom filtrasyon cerrahisinde günümüzde kullanılmakta olan anti-metabolitlerin ciddi yan etkileri göz önüne alındığında Everolimus daha güvenli ve etkili alternatif bir ilaç olabilir. Ancak tavşan ve insan gözleri arasındaki mevcut farklılıklardan dolayı ilaç uygulamaları arasında farklı sonuçlar elde edilebileceği ve bu yöntemleri karşılaştıran geniş klinik çalışmaların bulunmayışı nedeniyle Everolimus'un klinikte glokom cerrahisinde rutin olarak kullanılması henüz mümkün değildir. Bunun için daha kapsamlı in vivo ve in vitro çalışmalar gerekmektedir.

6.ÖZET

TAVŞANLARDA UYGULANAN GLOKOM FİLTRAN CERRAHİSİNDE EVEROLİMUS UYGULAMASININ SKAR OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN MİTOMİSİN-C İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ

Amaç: Medikal tedavi ile kontrol altına alınamayan glokom olgularında kullanılan yöntem cerrahi tedavidir. Glokom filtran cerrahisinde başarı şansını azaltan en önemli faktör olan skar gelişimini engellemek amacı ile çeşitli anti-proliferatif ajanlar kullanılmaktadır. Son zamanlarda, Everolimus organ transplantasyonunda rejeksiyonu engellemek amacı ile kullanılan ve daha birçok alanda çalışmaları yapılan yeni ve başarılı bir antiproliferatif ajandır. Bu çalışmada, glokom filtran cerrahisinde Everolimus'un yara yerinde skar oluşumu üzerinde etkilerinin Mitomisin-C tedavisiyle karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlandı.

Method: Tavşanlar (n=30) randomize 3 gruba ayrıldı ve sağ gözlerine trabekülektomi cerrahisi uygulandı. Grup 1'deki hayvanlara cerrahi sırasında yara yerine Everolimus emdirilmiş sponge uygulandı. Grup 2'ye ise MMC emdirilmiş sponge uygulandı. Grup 3'e cerrahi sürecinde tedavi uygulanmadı. Cerrahi sonrası 28 gün boyunca, gözlerin intraoküler basınçları ölçüldü, blebteki morfolojik değişiklikler gözlemlendi ve biomikroskopik muayeneleri yapılarak oluşabilecek postoperatif komplikasyonlar açısından değerlendirildi. 28. günde tavşanların opere edilen gözleri enükle edildi. Gözlerin histolojik incelemesinde fibroblast hipertrofisi ve yeni kollojen lif proliferasyonu açısından değerlendirildi. Ayrıca, immunohistokimyasal olarak TGF - β 1 (proinflamatuvar sitokin), , metaloproteinazlar (MMP-2, MMP-9) ve bir hücre proliferasyon belirteci olan PCNA ekspresyonları araştırıldı. Apoptoz için TUNEL yöntemi kullanıldı.

Sonuç: Everolimus'un cerrahide iyi tolere edilebilir bir ajan olduğu görüldü. Blep ömrünün Grup 1'de Grup 2'ye oranla anlamlı oranda daha uzun olduğu saptandı (p <0,05). Göz içi basıncındaki düşüşün Everolimus grubunda diğer gruplara göre anlamlı oranda daha uzun süreli olduğu tespit edildi (p <0,05). TGF - β 1, MMP-2, MMP-9 ve PCNA ekspresyonlarının Grup 1 de diğer gruplara oranla belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi. TUNEL+ hücrelerin Grup 1'de anlamlı şekilde arttığı saptandı.

Tartışma : Everolimus'un filtran glokom cerrahisinde fibroblast proliferasyonu baskılayarak skar oluşumunun önlenmesinde güvenilir ve efektif bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Everolimus, Glokom Filtran Cerrahi, Glokom, Yara Yeri İyileşmesi



7.ABSTRACT

ANTI-PROLIFERATION EFFECTS OF EVEROLIMUS AND COMPARATION WITH MITOMYCIN-C IN RABBIT GLAUCOMA FILTRATION SURGERY

Purpose:

It is known that wound healing affects success of glaucoma filtering surgery in negative way. Antimetabolites and antifibrotic agents were being used to modulate wound healing. Everolimus is a macrolide currently used as an immunomodulatory medication, an anti-tumor agent, or an anti-viral agent, featuring low toxicity and high efficiency. The purpose of this study is to investigate the effects of a Everolimus on the conjunctiva and scleral wound healing process after filtration surgery in rabbit eyes and it is comparison with Mitomycin-C.

Methods:

In this study, thirty female New Zeland Albino rabbits randomly subdivided into 3 equal groups. Limbal based trabeculectomy applied to three groups. Group I was consisted of rabbits in which trabeculectomy and intraoperative 30 ng/ml everolimus was applied under scleral and conjunctival flap for 3 minutes . Group II was consisted of rabbits in which 0.2 mg/ml mitomycin-C was applied for 3 minutes .And Group III was consisted of rabbits in which trabeculectomy without adjunctive treatment. All investigations involving rabbits, including IOP measurements, slit lamp examination. Operated eyes of rabbits was enucleated at end of 28th day of operation, on histopathological sections which were taken from bleb sites Hematoxylen-Eosin with fibroblasts and new collagen fibers were evaluated, additionally immunohistochemically TGF - β 1, MMP-2 and MMP-9 staining densities were evaluated. For apoptotic cells analysis, the terminal deoxynucleotidyl transferasemediated dUTP nick end labeling (TUNEL) method was used.

Results:

Everolimus were well tolerated in this surgery. Group I had the longest bleb survival time in comparison with other groups ($p < 0,05$). There were significant differences in IOP readings between Group I and other groups at the last follow-up ($p < 0.05$). Immunohistochemistry assay showed that staining density of TGF - β 1, MMP-2 and MMP-9 was lower in the Group I compared to other groups . TUNEL assay showed a significant increase in the number of apoptotic fibroblasts around the surgical area in Group I.

Conclusions:

Everolimus can inhibit inflammatory cell activity, impede fibroblast proliferation activity, and induce fibroblast apoptosis in the filtration surgery sites in rabbit. The results indicate a safe and effective treatment strategy in anti-scarring treatment in glaucoma surgery.

Key Words: Everolimus, Glaucoma Filtran Surgery, Glaucoma, Wound Healing



KAYNAKLAR:

1. Shields MB. Teextbook of Glaucoma 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins 1998;108-136.
2. Tielsch JM, Katz J, Sommer A. Racial variations inthe prevelance of primary open angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. 1991; 266: 369-374
3. Fellman RL. Trabeculectomy. ‘‘Ophthalmology’’ M Yanoff ve J S Duker (Editörler). Mosby, Barcelona.2004. Sayfa 1-10
4. Reder JE, Parrish RK. Update of adjunctive antimetabolities in glaucoma surgery. Ophthalmol Clin of North America.1991; 4: 861-888.
5. Turaçlı ME. Kombine glokom cerrahisinde fibroblast inhibitörlerinin kullanımı. Türkiye Klinikleri Oftalmoloji. 1997; 6: 280-290.
6. Khaw PT, Occeleston NL, Schutz G. Activation and suppression of fibroblast function. Eye. 1994; 8: 188-195.
7. Palmberg P. Combined cataract and glaucoma surgery with mitomycin. Ophthalmol Clin of North America. 1995; 8: 365-381.
8. Danesi R, Agen C, Benelli U, Di Paulo A, Nardini D. Inhibition of experimental angiogenesis by somatostatin analogue octreotide acetate (SMS 201-995). C Cancer Res. 1997; 3: 265-272.
9. Thompson JS, Nguyen B, Harty R F. Somatostatin analogue inhibits intestinal regeneration. Arch Surg. 1993; 128: 285-289.
10. Parmar H, Bogden A, Mollard M, de Rouge B, Phillips RH, Lightman SL. Somatostatin and somatostatin analogues in oncology. Cancer Treat Rev. 1989; 16: 95-115.
11. Cordeiro MF, Gay JA, Khaw PT. Human anti-transforming growth factorbeta 2 antibody: a new glaucoma antiscarring agent. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999; 40: 2225-2234.
12. Quigley HA. Number of people with glaucoma worldwide. Br J Ophthalmol. 1996; 80: 389-393
13. Klein B E, Klein R, Sponsel W E, et al. Prevalence of glaucoma. The Beaver Dam Eye Study. Ophthalmology. 1992; 99: 1499-1504
14. Turaçlı ME. Açık açılı glokomların epidemiyolojisi ve risk faktörleri. Türkiye Klinikleri Oftalmoloji. 2004: 13; 1-5
15. Mukesh BN, Mc Carty CA, Raitj L, Taylor HR. Five year incidence of open angle glaucoma, the visual impairment project glaucoma. Ophthalmology 2002;109:1047-1051.

16. Van Buskirk ME, Cioffi A G. Predicted outcome from hypotensive therapy for glaucomatous optic neuropathy. *Am J Ophthalmol.*1993; 116: 636-640.
17. Leydhecker W, Akiyama K, Neumann H G. Der intraokulare Druck gesunder menschlicher augen. *Klinik Monatsbl Augenheilkd* 1958; 133: 662-670
18. Armaly MF. On the distribution of appplanation pressure. I. Statical features and the effectof age, sex and family history of glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 1965; 73: 11-18
19. Hollows FC, Graham PA. Intraocular pressure, glaucoma and glaucoma suspects in a defined population. *Br J Ophthalmol.* 1966; 55: 570-586
20. Armaly MF, monstavicius BF, Sayegh R E. O cular pressure and aqueous outflow facility in siblings. *Arch Ophthalmol.* 1968; 80: 354-360.
21. Tielsch JM, Sommer A, Quigley HA, et al. Family history and risk of open angle glaucoma: the Baltimore Eye Survey. *Arch Ophthalmol.* 1994; 112: 69-73.
22. Stone EM, Fingert JH, Alward WML, et al. Identification of a gene that causes primery open angle glaucoma. *Science.* 1997; 275: 668-670
23. Perkins ES, Phelps CD. Open angle glaucoma, ocular hypertension, low tension glaucoma, and refraction. *Arch Ophthalmol.* 1982; 100: 1464-1467
24. Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, et al. The ocular hypertensive treatment study: baseline factor that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol.* 2002; 120: 714-720
25. Schulzer M, Drance SM, Carter CJ, et al. Biostatistical evidence for two distinct chronic open angle glaucoma populations. *Br J Ophthalmol.* 1990; 74: 196-200
26. Migdal C. Which therapy to use in glaucoma. ‘‘Ophthalmology’’ M Yanoff ve JS Duker (Editörler). Mosby, Barcelona.2004. Sayfa 1-4
27. Katz LJ. Argon laser tarbeculoplasty. *Annu Ophthalmic Laser Surg.* 1992; 1: 103-110
28. Parsley DE, Bradley JM, Samples JR, Van Buskirk EM, Acott TS. Early changes in matrix metalloproteinases and inhibitors after in vitro laser treatment to the trabecular meshwork. *Curr Eye Res.* 1995; 14: 537-544
29. Spaeth GL, Baez KA. Argon laser trabeculoplasty controls one third of progressive, uncontrolled, open angle glaucoma for five years *Arch Ophthalmol.*1992; 110: 491-494
30. Sugar HS. Experimental trabeculectomy in glaucoma. *Am J Ophthalmol.* 1961; 51: 623-627
31. Jay JL. Rational choice of therapy in primary open-angle glaucoma. *Eye.* 1992; 6: 243-247.

32. Jay JL, Murray SB. Early trabeculectomy versus conventional management in primary open-angle glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 1988; 72: 881-889.
33. Lavin MJ, Wormald RPL, Migdal CS, Hitchings RA. The influence of prior therapy on the success of trabeculectomy. *Arch Ophthalmol.* 1990; 108: 1543-1548.
34. Watson PG, Grierson I. The place of trabeculectomy in the treatment of glaucoma. *Ophthalmology.* 1981; 88: 175-196
35. Prata JA, Minckler DS, Koda R T. Effects of external irrigation on mitomycin C concentration in rabbit aqueous and vitreous humor. *J Glaucoma.* 1995; 4: 32-35
36. Doyle JW, Smith MF. Complications of glaucoma surgery and their management. "Ophthalmology" M Yanoff ve J S Duker (Editörler). Mosby, Barcelona. 2004; Sayfa 1-6
37. Riley SF, Lima FL, Smith TJ, Simmons RJ. Using donor sclera to create a flap in glaucoma filtering procedures. *Ophthalmic Surg.* 1994; 25: 117-118.
38. Bellows AR, Chylack LT, Epstein DL, et al. Intraoperative choroidal effusion during glaucoma surgery in patients with elevated episcleral venous pressure. *Arch Ophthalmol.* 1979; 97: 493-497.
39. Lundy DC, Sidoti P, Winarko T, et al. Intracameral tissue plasminogen activator after glaucoma surgery: indications, effectiveness and complications. *Ophthalmology.* 1996; 103: 269-273.
40. Smith MF, Doyle JW. Use of oversized bandage soft contact lenses in the management of early hypotony following filtration surgery. *Ophthalmic Surg Las.* 1996; 27: 417-421.
41. Osher RH, Cionni RJ, Cohen JS. Re-forming the flat anterior chamber with Healon. *J Cataract Refractive Surg.* 1996; 22: 411-415
42. Asrani SG, Wilensky JT. Management of bleb leaks after glaucoma filtering surgery. Use of autologous fibrin tissue glue as an alternative. *Ophthalmology.* 1996; 103: 294-298.
43. Beckman RL, Solinski SJ, Greff LJ, Oates DC, Smith TJ, Simmons RJ. Bandage contact lens augmentation of 5-fluorouracil treatment in glaucoma filtering surgery. *Ophthalmic Surg.* 1991; 22: 563-564.
44. Lynch MG, Roesch M, Brown RH. Remodeling filtering blebs with the neodymium: YAG laser. *Ophthalmology.* 1996; 103: 1700-1705. 60
45. Wise JB. Treatment of chronic postfiltration hypotony by intrableb injection of autologous blood. *Arch Ophthalmol.* 1993; 111: 827-830
46. Duker JS, Schuman JS. Successful surgical treatment of hypotony maculopathy following trabeculectomy with topical mitomycin C. *Ophthalmic Surg.* 1994; 25: 463-465

47. Sherwood MB, Grierson I, Milar L, Hitchings RA. Long-term morphologic effects of antiglaucoma drugs on the conjunctiva and Tenon's Capsule in glaucoma patients. *Ophthalmology*.1989; 96: 327-335.
48. Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA. Adverse effects of topical antiglaucoma medication. *Arch Ophthalmol*. 1994; 112: 1446-1454
49. Gressel MG, Heuer DK, Parrish RK. II. Trabeculectomy in young patients. *Ophthalmology*. 1984; 91: 1242.
50. Jampel HD, Jabs DA, Quigley HA. Trabeculectomy with 5-fluorouracil for adult inflammatory glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 1990; 109: 168-173.
51. Herschler J, Litinsky SM, Shaffer RN, et al. Surgical treatment of glaucoma in the aphakic patient. "Current Concepts in Cataract Surgery" J M Emery (Editör). Selected Proceedings of the Fifth Biennial Cataract Surgical Congress.
52. Herschler J. The inhibitory factor in aqueous humor. *Vision Res*. 1981; 21: 163
53. Kolker AE, Hetherington J Jr. Becker-Shaffer's Diagnosis and therapy of the Glaucomas, ed 5. CV Mosby, St. Louis. 1983;509.
54. Boucek RJ. Factors affecting wound healing. *Otolaryngol Clin North Am*. 1984; 17: 243.
55. Paul J. Lama, Robert DF. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol*.2003; 48: 314-345
56. Clark RAF, Colvin RB. Wound Repair. "Plasma Fibronectin: Structure and function" J McDonagh (Editör). Marcel Dekker, New York.1985
57. Turaçlı ME. Glokom cerrahisinde fibroblast inhibitörleri. *Türkiye Klinikleri Oftalmoloji*. 1994; 3: 142-147.
58. Costa VP, Spaeth GL, Eiferman RA, Orengo-Nania S. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic Surg*. 1993; 24: 152-170.
59. Jones, SM, Kazlauskas A. Connecting signaling and cell cycle progression in growth factor-stimulated cells. *Oncogene* 2000; 19: 5558-5567.
60. Schultz G, Khaw PT, Oxford K, MaCauley S, Van Setten G, Chegini N. Growth factors and ocular wound healing. *Eye* 1994; 8: 184-187
61. Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TP, Ward CW, Burgess AW. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res* 2003; 284: 31-53.
62. Ohashi Y, Motokura M, Kinoshita Y, Mano T, Watanabe H, Kinoshita S, et al. Presence of epidermal growth factor in human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1879-1882
63. Singh G, Foster CS. Epidermal growth factor in alkali-burned corneal epithelial wound healing. *Am J Ophthalmol* 1987; 103: 802-807.

- 64.** Dinbergs ID, Brown L, Edelman ER. Cellular response to transforming growth factor-beta1 and basic fibroblast growth factor depends on release kinetics and extracellular matrix interactions. *J Biol Chem* 1996; 271: 29822- 29829.
- 65.** Wilson SE, Schultz GS, Chegini N, Weng J, He YG. Epidermal growth factor, transforming growth factor alpha, transforming growth factor beta, acidic fibroblast growth factor, basic fibroblast growth factor, and interleukin- 1 proteins in the cornea. *Exp Eye Res* 1994; 59: 63-72.
- 66.** Imanishi J, Kamiyama K, Iguchi I, Kita M, Sotozono C, Kinoshita S. Growth factors: importance in wound healing and maintenance of transparency of the cornea. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19: 113-129.
- 67.** Honma Y, Nishida K, Sotozono C, Kinoshita S. Effect of transforming growth factor-beta1 and -beta2 on in vitro rabbit corneal epithelial cell proliferation promoted by epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, or hepatocyte growth factor. *Exp Eye Res* 1997; 65: 391-396
- 68.** Song QH, Klepeis VE, Nugent MA, Trinkaus-Randall. TGF-beta1 regulates TGF-beta1 and FGF-2 mRNA expression during fibroblast wound healing. *Mol Pathol* 2002; 55: 164-176.
- 69.** Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, Ambr_sio RJr, Hong JW, Lee J. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res* 2001; 20: 625-637.
- 70.** Grierson I, Heathcote L, Hiscott P, Hogg P, Briggs M, Hagan S. Hepatocyte growth factor/scatter factor in the eye. *Prog Retin Eye Res* 2000; 19: 779-802.
- 71.** Li D, Tseng SC. Differential regulation of keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor/scatter factor by different cytokines in human corneal and limbal fibroblasts. *J Cell Physiol* 1997; 172: 361-372.
- 72.** Jester JV, Huang J, Petroll WM, Cavanagh HD. TGF beta induced myofibroblast differentiation of rabbit keratocytes requires synergistic TGF beta, PDGF and integrin signaling. *Exp Eye Res* 2002; 75: 645-657.
- 73.** Henderson B C. 5-fluorouracil: ophthalmic use. *Ophthalmol Clin of North Am.*1989; 2: 131-139.
- 74.** Giangiacomo J, Dueker DK, Adelstein EH. The effect of preoperative subconjunctival triamcinolone administration on glaucoma filtration. I. Trabeculectomy following subconjunctival triancinolone. *Arch Ophthalmol.* 1986; 104: 838.

- 75.** Weinreb RN. Adjusting the dose of 5-Fluorouracil after filtration surgery to minimize side effects. *Ophthalmology*. 1987; 94: 564-570
- 76.** Wolner B, Liebmann J M, Sassani JW, et al. Late bleb-related endophthalmitis after trabeculectomy with adjunctive 5-Fluorouracil. *Ophthalmology*. 1991; 98: 1053-1060
- 77.** Caronia RM, Liebmann JM, Friedman R, et al. Trabeculectomy at the inferior limbus. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114:387-391
- 78.** Jampel HD. Antifibrosis drugs in filtration surgery. ‘‘Glaucoma: Decision Making in Therapy’’ M G Bucci (Editör). Springer-Verlag, Milano. 1996; 233-237.
- 79.** Suner IJ, Greenfield DS, Miller MP, et al. Hypotony maculopathy after filtering surgery with mitomycin C. _ncidence and treatment. *Ophthalmology discussion* 214-5 1997; 104: 207-214
- 80.** Chen CW. Enhanced intraocular pressure controlling effectiveness of trabeculectomy by lokal application of mitomycin-C. *Trans Asia-Pacif Acad Ophthalmol*. 1983; 9: 172.
- 81.** Tahery MM, Lee DA. Review: Pharmacologic control of wound healing in glaucoma filtration surgery. *J Ocular Pharmacol*. 1989; 5: 155.
- 82.** Yamamoto T, Varani J, Soong H. Effects of 5-fluorouracil and mitomycin C on cultured rabbit subconjunctival fibroblasts. *Ophthalmology*. 1990; 97: 1204.
- 83.** Pasquale LR, Thibault D, Dorman-Pease ME, Quigley HA, Jampel HD. Effect of topical mitomycin-C on glaucoma filtration surgery in monkeys. *Ophthalmology*. 1992; 99: 14-18.
- 84.** Ando H, Ido T, Kawai Y, Yamamoto T, Kitaxawa Y. Inhibition of corneal epithelial wound healing. *Ophthalmology*. 1992; 99: 1809-1814.
- 85.** Palmer SS. Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. *Ophthalmology*. 1991; 98: 317-321.
- 86.** Skuta GL, Beeson CC, Higginbotham EJ. _ntraoperative mitomycin versus postoperative 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology*. 1992; 99: 438-445.
- 87.** Turaçlı ME, Gündüz K, Aktan G, Sencer H. Trabeculectomy with mitomycin C: An electron microscopic and clinical study. *Int Ophthalmol*. 1996; 19: 337-346
- 88.** Greenfield DS, Suner IJ, Miller MP, Kangas TA, Palmberg PF, Flynn HW Jr. Endophthalmitis after filtering surgery with mitomycin. *Arch Ophthalmol*. 1996; 114: 943-949.
- 89.** Higginbotham EJ, Stevens RK, Musch DC, et al. Bleb-related endophthalmitis after trabeculectomy with mitomycin C. *Ophthalmology*. 1996; 103: 650-656.
- 90.** Soltau JB, Rothman RF, Budenz DL, et al. Risk factors for glaucoma filtering bleb infections. *Arch Ophthalmol*. 2000; 118; 338-342

- 91.** Donohue EK, Cioffi GA et al.: Glaucoma surgery; are there new perspectives in perioperative pharmacology? *Curr Opin Ophthalmol.* 1999;10:93-98.
- 92.** Baudouin C, Nordmann JP, Dennis P et al.: Efficacy of indomethacin 0.1% and flouromethalone 0.1% on conjunctival inflammation following chronic application of antiglaucomatous drugs. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2002;240:929-935.
- 93.** Smith MF, Doyle JW: Use of tissue plasminogen activator to revive blebs following intraocular surgery. *Arch Ophthalmol.* 2001;119: 09- 812.
- 94.** Rehfeldt K, Hoh H: Therapeutic and prophylactic application of TPA into the anterior chamber of the eye. *Ophthalmology.* 1999;96:587- 593.
- 95.** Zalta AH, Sweeney CP, Zalta AK et al.: Intracameral tissue plasminogen activator use in large series of eyes with valved glaucoma drainage implants. *Arch Ophthalmol.* 2002;120:487-493.
- 96.** Del Vecchio PJ, Bizios R, Holleran LA et al.: Inhibition of human scleral fibroblast proliferation with heparin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1988;29:1272-1276.
- 97.** Alvira G, Hartzer M, Blumenkranz M, Camacho H. Heparin, a possible new approach to treatment of proliferative vitreoretinopathy. In: Heimann K, Widemann P (eds), *Proliferative Vitreoretinopathy*, Heidelberg. 1989;268-271.
- 98.** Hugkulstone CF, Sadiq SA, Rubasingham AS et al.: The effect of heparin-coated intraocular lenses on intraocular pressure following combined trabeculectomy and cataract surgery. *Acta Ophthalmol Scand.* 1997;75:437-440.
- 99.** Jampel HD, Roche N, Stark WJ et al.: Transforming growth factor beta in human aqueous humor. *Curr Eye Research.* 1990;9:963-969.
- 100.** Mietz H, Chevas-Barrios P, Feldman RM et al.: Suramin inhibits wound healing following filtering procedures for glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 1998;82:816-820.
- 101.** Mietz H, Krieglstein GK: Suramin to enhance glaucoma filtering procedures: A clinical comparison with mitomycin. *Ophthalmic Surg Lasers.* 2001;32:358-369.
- 102.** Etsuo Chihara, Jin Dong, Ochiai H et al.: Effects of tranilast on filtering blebs: A pilot study. *J Glaucoma.* 2002;11:127-133.
- 103.** Tripathi RC, Li J, Chan WF et al.: Aqueous humor in glaucomatous eyes contains an increased levels of TGF-beta2. *Exp Eye Res.* 1994;59:723-727.
- 104.** Cordeiro MF, Gay JA, Khaw PT et al.: Human anti-transforming growth factor-beta2 antibody: a new glaucoma antiscarring agent. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:2225-2234
- 105.** Han B, Hu Y, Xiong X et al.: Inhibitory mechanism of interferon-gamma on human fibroblasts from tenon's capsule. *J Huazhong Uni Sci Technology Med Sci.* 2004;24:292-299.

- 106.**Xiong X, Du S, Lu Y et al.: A study of interferon alpha-2b as an accessory drug after glaucoma filtration surgery. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 1999;35:52-54.
- 107.**Gilliaes MC, Brooks AM, Young S et al.: A randomized phase 2 trial of interferon-2b versus 5-FU after trabeculectomy. *Australian and New Zealand Journal of Ophthalmology*. 1999;27:37.
- 108.**Frank A, Lattanzio JR, Mitrev PV et al.: Cyclosporin as an adjunct to glaucoma filtration surgery. *J Glaucoma*. 2005;14:441-447.
- 109.** Cunliffe IA, Rees RC, Rennie, IG. The effect of TGF-beta 1 and TGF-beta 2 on the proliferation of human Tenon's capsule fibroblasts in tissue culture. *Acta Ophthalmol Scand*. 1996; 74: 31-35
- 110.** Philip M, Rowley DA, Schreiber H. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 433-439.
- 111.** Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *Br J Ophthalmol*.1998; 82: 235-240.
- 112.** Tseng SCG, Li DQ, Ma X. Down-regulation of TGF- β 1, β 2, β 3, and TGG β receptor II expression in human corneal fibroblasts by amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998; 39: 428.
- 113.** Talmi YP, Sigler L, Inge E. Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta*. 1991; 12: 285-288.
- 114.** Pascual,J, Ioannis N, Boletis J M, et al. Everolimus (Certican) in renal transplantation: a review of clinical trial data, current usage, and future directions. *Transplantation Reviews* 2006;20:1-18.
- 115.** Eisen HJ, Tuzcu M, Dorent R, et al. Everolimus for the Prevention of Allograft Rejection and Vasculopathy in Cardiac-Transplant Recipients *N Engl J Med* 2003;349:847-858.
- 116.** Ali A, Hexham M, Panis C. Certican/ Everolimus investigators' Brochure 2006
- 117.** Tsang CK, Qi H, Liu LF. Targeting mamalian target of rapamycin (mTOR) for health and diseases.*Drug discov today* 2007;12:112-124
- 118.** Kasukabe T, Okabe-Kado J, Kato N, Sassa T, Honma Y; Effects of combined treatment with rapamycine and cotylenin A, a novel differentiation- inducing agent, on human breast carcinoma MCF-7 cells and xenografts; *Breast Cancer Res*. 2005; 7(6): R1097-110 (ISSN : 1465-542X)
- 119.** Seghal et al; Biochemistry of Rapamycin. *J. Antibiotics*; 1975;727-729

- 120.** Grube E, Sonoda S, Ikeno F, et al. Six and twelve- month results from first human experience using everolimus-eluting stents bioabsorbable polymer. *Circulation* 2004;109(18):2168-2171
- 121.** Tsuchiya Y, Lansky AJ, Costa RA, et al. Effect of everolimus-eluting stents in different vessel sizes. *Am J Cardiol* 2006;98(4):464-469
- 122.** Skuta GL, Parrish RK. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol.* 1987; 32: 149-170.
- 123.** Hattenhauer MG, Johnson DH, Ing HH, Herman DC, Hodge DO, Yawn BP, Butterfield LC, Gray DT. Probability of blindness from open-angle glaucoma. *Ophthalmology.* 1998; 105: 2099-2104.
- 124.** Migdal C, Hitchings R. The role of early surgery for open angle glaucoma. In: Caprioli J, ed. *Contemporary issues in glaucoma.* Ophthalmol Clin North Am. 1991; 4: 853-859.
- 125.** Hartford CM, Ratain MJ. Rapamycin: someting old, something new, sometimes borrowed and now renewed. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82:381-388.
- 126.** Blumenkranz MS, Dugel PU, Solley WA ve ark.: A randomized dose escalation trial of locally administered sirolimus to trat diabetic macular edema. 2008 Annual Meeting of the Association of Research in Vision and Ophthalmology, Fort Lauderdale, Florida. 2008;49.
- 127.** Wong WT, Dresner S, Forooghian F, Glaser T, Doss L, Zhou M, Cunningham D, Shimel K, Harrington M, Hammel K, Cukras CA, Ferris FL, Chew EY: Treatment of geographic atrophy with subconjunctival sirolimus: results of a phase I/II clinical trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Apr 26;54(4):2941-50. doi: 10.1167/iops.13-11650.
- 128.** Kolosova NG, Muraleva NA, Zhdankina AA, Stefanova NA, Fursova AZ, Blagosklonny MV. Prevention of age-related macular degeneration-like retinopathy by rapamycin in rats. *Am J Pathol.* 2012 Aug;181(2):472-7. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.04.018. Epub 2012 Jun 7.
- 129.** Mudumba S, Bezwada P, Takanaga H, Hosoi K, Tsuboi T, Ueda K, Kawazu K, Ali Y, Naor J. Tolerability and pharmacokinetics of intravitreal sirolimus. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2012 Oct;28(5):507-14. Epub 2012 Jun 4
- 130.** Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M, Chevez-Barrios P, Takahashi W. Testing intravitreal toxicity of rapamycin in rabbit eyes. *Arq Bras Oftalmol.* 2009 Jan-Feb;72(1):18-22.
- 131.** Dejneka NS, Kuroki AM, Fosnot J, Tang W, Tolentino MJ, Bennett J. Systemic rapamycin inhibits retinal and choroidal neovascularization in mice. *Mol Vis.* 2004 Dec 22;10:964-72.

- 132.** Shin YJ, Hyon JY, Choi WS, Yi K, Chung ES, Chung TY, Wee WR. Chemical Injury-Induced Corneal Opacity and Neovascularization Reduced by Rapamycin via TGF- β 1/ERK Pathways Regulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Jul 2;54(7):4452-8. doi: 10.1167/iovs.13-11684.
- 133.** Zapata G, Racca L, Tau J, Berra A. Topical use of rapamycin in herpetic stromal keratitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2012 Oct;20(5):354-9. doi: 10.3109/09273948.2012.709575
- 134.** Shin YJ, Cho DY, Chung TY, Han SB, Hyon JY, Wee WR. Rapamycin reduces reactive oxygen species in cultured human corneal endothelial cells. *Curr Eye Res.* 2011 Dec;36(12):1116-22. doi: 10.3109/02713683.2011.614372. Epub 2011 Oct 14.
- 135.** Stanojlovic S, Schlickeiser S, Appelt C, Vogt K, Schmitt-Knosalla I, Haase S, Ritter T, Sawitzki B, Pleyer U. Influence of combined treatment of low dose rapamycin and cyclosporin A on corneal allograft survival. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010 Oct;248(10):1447-56. doi: 10.1007/s00417-010-1420-z. Epub 2010 Jun 24.
- 136.** Chatel MA, Larkin DF. Sirolimus and mycophenolate as combination prophylaxis in corneal transplant recipients at high rejection risk. *Am J Ophthalmol.* 2010 Aug;150(2):179-84. doi: 10.1016/j.ajo.2010.03.010. Epub 2010 Jun 8.
- 137.** Kwon YS, Hong HS, Kim JC, Shin JS, Son Y. Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Feb;46(2):454-60.
- 138.** Yan ZC, Bai YJ, Tian Z, Hu HY, You XH, Lin JX, Liu SR, Zhuo YH, Luo RJ. Anti-proliferation effects of Sirolimus sustained delivery film in rabbit glaucoma filtration surgery. *Mol Vis.* 2011;17:2495-506. Epub 2011 Sep 27.
- 139.** Salas-Prato M, Assalian A, Mehdi AZ, Duperré J, Thompson P, Brazeau P. Inhibition by rapamycin of PDGF- and bFGF-induced human tenon fibroblast proliferation in vitro. *J Glaucoma.* 1996 Feb;5(1):54-9
- 140.** Yodaiken RE, Bennett D. OSHA work-practice guidelines for personnel dealing with cytotoxic (antineoplastic) drugs. *Am J Hosp Pharm.* 1986; 43: 1193-1204.
- 141.** Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson S A : Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol* 1992., 119: 493-501.

- 142.** Javier AF, Bata-Csorgo Z, Ellis CN, Kang S, Voorhees JJ, Cooper KD. Rapamycin (sirolimus) inhibits proliferating cell nuclear antigen expression and blocks cell cycle in the G1 phase in human keratinocyte stem cells. *J Clin Invest* 1997;99:2094-9.
- 143.** Sethi CS, Bailey TA, Luthert PJ, Chong NHV. Matrix metalloproteinase biology applied to vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 2000; 84:654-64.
- 144.** Hua Gao, Jingjing Zhang, Ting Liu, Weiyun Shi. Rapamycin prevents endothelial cell migration by inhibiting the endothelial-to-mesenchymal transition and matrix metalloproteinase-2 and -9: An in vitro study. *Molecular Vision* 2011; 17:3406-3414
- 145.** Wong, T.T., Mead, A.L., and Khaw, P.T. Matrix metalloproteinase inhibition modulates postoperative scarring after experimental glaucoma filtration surgery. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44:1097–1103, 2003
- 146.** Ichirou Shima, Shogo Katsuda, Yoshimichi Ueda, Nobuo Takahashi, Hiroshi Sasaki. Expression of Matrix Metalloproteinases in Wound Healing after Glaucoma Filtration Surgery in Rabbits. *Ophthalmic Res* 2007;39:315–324
- 147.** Arslan S, Aydemir O, Güler M, and Dağlı A. Modulation of Postoperative Scarring with Tacrolimus and Octreotide in Experimental Glaucoma Filtration Surgery. *Current Eye Research*, 37(3), 228–233, 2012
- 148.** Chang L, Crowston JG, Cordeiro MF, Akbar AN, Khaw PT. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol.* 2000;45:49–68.
- 149.** Milani BY, Milani FY, Park DW, Namavari A, Shah J, Amirjamshidi H, Ying H, Djalilian AR. Rapamycin inhibits the production of myofibroblasts and reduces corneal scarring after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Nov 13;54(12):7424-30

