

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**RATLARDA İNTRAKAMERAL SEFUROKSİM'İN KORNEADA
OKSİDATİF STRES VE APOPTOZİSE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ufuk ÖZKAN

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Ali AKAL

ŞANLIURFA

2015

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**RATLARDA İNTRAKAMERAL SEFUROKSİM'İN KORNEADA
OKSİDATİF STRES VE APOPTOZİSE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ufuk ÖZKAN

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Ali AKAL

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 14093 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2015

TEŞEKKÜR

Asistanlık süresi boyunca bilgi, beceri ve yeteneklerini bizlere sunan kıymetli hocalarım başta Anabilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Halit OĞUZ' a, tez yazımı süresince yardımını ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım sayın Yrd. Doç. Dr. Ali AKAL' a, Anabilim Dalının değerli öğretim üyeleri sayın Prof. Dr. Sevin SÖKER ÇAKMAK, Prof. Dr. Mustafa GÜZEY, Yrd. Doç. Dr. Tuğba GÖNCÜ ve Yrd. Doç. Dr. Fatih Mehmet ADIBELLİ' ye saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Aynı şartlarda beraber çalıştığımız, güzellikleri ve sıkıntıları paylaştığımız asistan arkadaşlarıma,

Beraber görev yaptığım tüm Göz Hastalıkları AD çalışanlarına,

Özellikle tezin her aşamasında bana yardımcı olan Biyokimya ve Patoloji AD 'nın tüm çalışanlarına; Prof. Dr. Nurten AKSOY, Öğretim Görevlisi Abdullah TAŐKIN ve Yrd. Doç. Dr. Sezen KOÇASLAN'a,

Asistanlığımız süresince her türlü idari işimize yardımcı olan başta Sayın Mehmet Murat ALKAN ve Sayın Tevrat ZERAY olmak üzere tüm Dekanlık personeline,

Eğitimim boyunca bana her türlü maddi ve manevi destek olan değerli annem, babam ve kardeşlerime,

Bana sabırla destek olan, her türlü ihtiyacımda yardımcı olan hayatıma renk katan sevgili eşim ve oğlum Ahmet Selim'e,

Teşekkürü borç bilirim.

Dr. Ufuk ÖZKAN

İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ŞEKİLLER DİZİN	V
RESİM LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
KISALTMALAR VE SİMGELER	VIII
ÖZET	X
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kornea	2
2.1.1. Epitel	3
2.1.2. Bowman Membranı	4
2.1.3. Stroma	5
2.1.4. Descemet Membranı	6
2.1.5. Endotel	6
2.1.6. Gözyaşı	9
2.1.7. Kornea Damarlanması	9
2.1.8. Kornea İnnervasyonu	9
2.1.9. Korneanın Kimyasal Özellikleri	10
2.1.10. Korneanın Fonksiyonları	10
2.2. Sefuroksim ve Gözdeki Kullanımı	10
2.3. Apoptozis	12
2.3.1. Apoptozisin morfolojisi	13
2.3.2. Apoptozisle nekroz arasındaki farklar	14

2.3.3. Apoptozis mekanizması	16
2.3.3.1. İnstrinsik yol	17
2.3.3.2. Ekstrinsik yol	18
2.4. Oksidatif Stress ve Antioksidan Sistem	18
2.4.1. Reaktif Oksijen Bileşikleri	20
2.4.2. Antioksidan Maddeler	21
2.4.3. Antioksidan Savunma Mekanizması	22
2.4.4. Antioksidan Enzimler	23
2.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)	24
2.6. Total Oksidatif Stres (TOS)	24
2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	25
2.8. Paraoksonaz	25
2.9. Oksidatif Durumu Saptamak İçin Bir Yöntem: Erel Yöntemi	25
3. MATERYAL VE METOD	26
3.1. Çalışma gruplarının oluşturulması	26
3.2. İntrakameral Enjeksiyon Modeli	26
3.3. TOS Düzeyi Ölçümü	27
3.4. TAS Düzeyi Ölçümü	27
3.5. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü	28
3.6. Paraoksonaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	28
3.7. Arilesteraz Aktivitesi Ölçümü	28
3.8. Kazpaz -3 ve Kazpaz -8 ile Boyanma	29
3.9. Yapılan İstatistiksel Analizler	29
4. BULGULAR	30
4.1. Oksidatif Stres ile İlgili Bulgular	30
4.2. Apoptozis ile ilgili bulgular	31
5. TARTIŞMA	36

6. SONUÇ

43

KAYNAKLAR

44

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil-1: Korneal tabakalar ve Epitel hücre tabakası	4
Şekil-2: Dua tabakası	6
Şekil-3: Apoptozis ile nekroz arasındaki farklar	16
Şekil-4: Apoptozis mekanizması	17
Şekil-5: Oksidatif stres oluşumu	19
Şekil-6: Serbestleşen oksijen moleküllerinin oluşturduğu radikaller	20
Şekil-7: Hücrenin antioksidan savunma mekanizması	22
Şekil-8: Antioksidan enzimler ve görevleri	24

RESİM LİSTESİ

SAYFA NO

Resim-1: Kornea endotel hücrelerinin speküler mikroskopik görünümü	7
Resim-2: Epidermiste apoptozis	14
Resim-3: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; negatif (A)	32
Resim-4: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; zayıf (B)	32
Resim-5: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; orta (C)	33
Resim-6: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; yoğun (D)	33
Resim-7: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; negatif (A)	34
Resim-8: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; zayıf (B)	34
Resim-9: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; orta (C)	35
Resim-10: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; yoğun (D)	35

TABLolar LİSTESİ**SAYFA NO**

Tablo-1: Apoptozis ile nekroz arasındaki farklar	15
Tablo-2: Apoptozis ve Genler	18
Tablo-3: Reaktif oksijen ürünleri	20
Tablo-4: Çalışma gruplarının özeti	27
Tablo-5: Serumda oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	30
Tablo-6: Kornea dokusu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	31
Tablo-7: İmmünohistokimyasal kaspaz-3 ve kaspaz-8 boyanma sonuçlarının Karşılaştırılması	32

KISALTMALAR ve SİMGELER

Apaf-1	: Apoptotik proteaz aktive eden faktör-1
ATP	: Adenozin Trifosfat
ATPaz	: Adenin trifosfataz
Ark.	: Arkadaşları
CAD	: Kaspaz aktive edici DNaz
CO₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
D	: Dioptri
Dak.	: Dakika
ESCRS	: European Society of Cataract and Refractive Surgeons (Avrupa Katarakt ve Refraktif Cerrahi Derneği)
G	: Gauge
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Glutasyon Disülfid
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
HOCl	: Hipokloröz Asit
IAF	: İnhibitör apoptotik faktör
K	: Potasyum
Mm	: Milimetre
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

O⁻²	: Süperoksit Anyonu
-OH	: Hidroksil Radikali
ONOO-	: Peroksinitrit
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
O₂	: Oksijen
PON	: Paraoksonaz
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre
µL	: Mikrolitre
ROOH	: Organik Hidroperoksit
ROOH	: Organik Hidroperoksit
RO- ve ROO-	: Alkoksi ve Peroksi Radikali
SMAC	: Second mitochondria-derived Activator of Caspase
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TNRF-1	: Tümör Nekrozis Reseptör Faktörü -1
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TOS	: Total Oksidatif Stres

ÖZET

Ratlarda intrakameral Sefuroksim'in korneada oksidatif stres ve apoptozise etkisinin araştırılması

Dr. Ufuk ÖZKAN

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Giriş: Dünyada ve ülkemizde katarakt cerrahisi yaygın olarak yapılmaktadır. Yaşam koşullarının iyileşmesi ve yaşlı insan nüfusunun giderek artması bu cerrahinin de artmasına sebep olmaktadır. Endoftalmi bu tür göz içi cerrahilerde görülen komplikasyonlardan biri olup, hem hasta için hem de hekim için üzücü bir tablodur. Endoftalminin önlenmesi için ameliyat öncesi ve sonrası bir takım önlemler alınmaktadır. Bu uygulamalardan birisi de operasyon sonunda intrakameral çeşitli antibiyotiklerin uygulanmasıdır. Sefuroksim bu antibiyotiklerden birisidir.

Amaç: Çalışmamızda ratlarda intrakameral uygulanan Sefuroksim'in korneada oksidatif stres ve apoptozise etkisi araştırıldı.

Materyal Metod: Deneysel olarak laboratuvar ortamında ratların gözlerine anestezi eşliğinde intrakameral 0.01 cc Sefuroksim (0.1 mg/ 0.01 ml) enjeksiyonu yapıldı. Sham grubuna herhangi bir cerrahi işlem yapılmadı. Blanced salt solution (BSS) kontrol grubuna ön kameraya 0.01 cc BSS verildi. Bir hafta sonra anestezi altında kornea dokuları ve kan örnekleri alındı. Kornea endotelinde caspase 3 ve 8 ile immunohistokimyasal yöntemle apoptozis araştırıldı. Kornea endotel dokusu ve serumda total oksidan seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS), oksidatif stres indeksi (OSİ) ve Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz seviyelerine bakıldı.

Bulgular: Serum örneklerinde, PON düzeyi açısından sham ile sefuroksim grupları arasında anlamlı bir fark bulundu ($P= 0.027$). TOS düzeyi açısından sefuroksim ile BSS grubu arasında anlamlı bir fark bulundu ($P= 0.023$).

Kornea dokusunda; TAS düzeyleri sefuroksim ile sham grupları arasında ($P< 0.001$) ve sefuroksim ile BSS grupları arasında anlamlı fark bulundu ($P< 0.001$). OSİ düzeyleri

sefuroksim ile BSS grupları arasında ($P= 0.001$) ve sefuroksim ile sham grupları arasında anlamlı fark bulundu ($P =0.026$).

Kaspaz-3 ve kaspaz-8 ile immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre; Sefuroksim BSS grubu ile kaspaz-3 aktivitesi yönünden anlamlı bir ilişkiye sahipken ($P= 0.007$), kaspaz-8 aktivitesi yönünden anlamlı fark tespit edilmedi ($P=0.541$). Sham ile BSS grupları arasında kaspaz-3 aktivitesi yönünden anlamlı bir ilişkiye sahipken ($P= 0.018$), kaspaz-8 aktivitesi yönünden fark tespit edilmedi ($P=0.623$).

Sonuç: Ratlarda gözlerin kornealarının immunohistokimyasal olarak incelenmesinde sefuroksim, sham ve BSS gruplarına göre apoptozisi artırmaktadır. BSS'nin, sham ve sefuroksim ile karşılaştırıldığında apoptozise karşı koruyucu olduğu görülmektedir. İntrakameral olarak bakterisidal etki için uygulanan sefuroksimin, kornea üzerinde oksidatif stresi artırıcı etkisi ve aynı zamanda apoptozis üzerine indükleyici etkisi bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Sefuroksim, Oksidatif stres faktörü, Apoptozis, Kaspaz-3, Kaspaz-8.

ABSTRACT

Intracameral cefuroxime in the cornea in rats to investigate the effects of oxidative stress and apoptosis

Ufuk ÖZKAN, MD

Specialty thesis, Department of Ophthalmology

Introduction: Cataract surgery in our country and around the world is widespread. Improvement of the living conditions and increase elder population leads to an increase in this surgery. Endophthalmitis is a sad statement for both doctor and the patient, is a complication that seen in this type of intraocular surgery. For the prevention of endophthalmitis, several measures are taken before and after surgery. At the end of surgery intraocular various antibiotic injection is one of these measures. Cefuroxime is one of these antibiotics.

Purpose: In our study, the effect of intracameral cefuroxime at the cornea in rats oxidative stress and apoptosis were investigated.

Materials and Methods: Experimentally accompanied by anesthesia intracameral cefuroxime 0.01 cc (0.1 mg / mL in 0.01) injection to rat eyes was performed in the laboratory. Sham group didn't undergo any surgical procedure. 0.01 cc of Balanced salt solution (BSS) was given to the front camera in the control group. A week later corneal tissue and blood samples were collected under anesthesia. Corneal endothelial apoptosis were investigated by caspase 3 and 8 immunohistochemical method. Corneal endothelial tissue and serum total oxidant status and oxidative stress (TOS), total antioxidant status (TAS), oxidative stress index (OSI), paraoxonase (PON) and arylesterase levels were measured.

Results: In serum samples, significant differences were found in terms of PON levels between groups with sham and cefuroxime (P= 0.027). In terms of TOS level a significant difference was found between the groups with BSS and cefuroxime (P= 0.023).

The corneal tissue; significant differences were found in terms of TAS levels between groups with sham and cefuroxime (P <0.001) and BSS and cefuroxime (P <0.001). In terms of

OSI levels significant differences were found between groups with BSS and cefuroxime ($P=0.001$) and groups with sham and cefuroxime ($P=0.026$).

According to caspase-3 and caspase-8 by immunohistochemical staining results; While Cefuroxime and BSS groups having a significant association in the direction of caspase-3 activity ($P=0.007$), whereas the direction of the caspase-8 activity was not detected difference between this two groups ($P=0.541$). While Sham and BSS groups having a significant association in the direction of caspase-3 activity ($P=0.018$), whereas the direction of caspase-8 activity was not detected the significant association between this two groups ($P=0.623$).

Conclusion: Immunohistochemical examination of the rat corneas, intracameral cefuroxime, increases apoptosis compared with the BSS and the sham group. BSS is seem to be protective against apoptosis compared with sham and cefuroxime. Intracameral cefuroxime, applied for the bactericidal effect, enhances effect of oxidative stress on the cornea and has also inducing apoptosis.

Key words: Cefuroxime, Oxidative stress factor, Apoptosis, Caspase 3, Caspase 8

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Katarakt cerrahisi göz cerrahileri arasında yaygın olarak yapılan bir cerrahidir. Gelecekte de önemini koruyacaktır. Bunun en önemli sebebi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşlı nüfusun giderek artmasıdır. Katarakt cerrahisi sonrası endoftalmi oluşması istenmeyen bir komplikasyondur. Postoperatif endoftalmi, oküler boşlukların göz içi cerrahi sonrası gelişen enfeksiyonudur. Oküler cerrahi sonrası endoftalmi insidansı; katarakt cerrahisi için %0.1, trabekülektomi için %0.15, keratoplasti için %0.2, sekonder göz içi lensi yerleştirilmesi için %0.3, dekolman cerrahisi için %0.02, vitrektomi için %0.15, şaşılık cerrahisi için ise %0.03 olarak bildirilmektedir (1). Endoftalmi riskini önlemek için operasyon öncesinde, sırasında ve sonrasında çeşitli antibiyotikler intravenöz, intrakameral ve damla formunda verilmektedir. Operasyon sırasında intrakameral olarak verilen antibiyotiklerden birisi de sefuroksimdir(2,3,4). Sefuroksim 2. Kuşak bir sefalosporindir. Konjunktiva ve kirpik florasin da sıklıkla rastlanılan gram pozitif kokların büyük çoğunluğuna etkindir (Enterokoklar ve metisilin dirençli stafilokoklar hariç). Gram negatif bakterilerden özellikle Escherichia coli, Proteus türü ve Klebsiella türü bakterilere etkindir. Yapılan çalışmalarda intrakameral verilen sefuroksim postoperatif endoftalmi oranında ciddi bir azalma sağlamıştır (5). Komplike katarakt cerrahisinde kullanılan aşırı doz sefuroksim hemorajik retinal enfarkta neden olduğu bildirilmiştir (5). Sefuroksim kullanımının daha fazla yaygınlaşmasının önündeki en büyük engel dilüsyon sırasında hatalara neden olabileceği düşünülerek direkt intrakameral vermeye hazır bir preparatın olmayışıdır. Bu preparatın hazırlanışı esnasında eğer uygun konsantrasyon dozunda ayarlanamaz ise intrakameral kullanımda göz içinde çeşitli reaksiyonların olduğu toksik anterior segment sendromuna (TASS) yol açabilir. Gözün ön segment cerrahilerinde ön kamaraya verilen BSS (Balanced salt solution=dengeli tuz solüsyonu), viskoelastikler ve çeşitli antibiyotikler kornea endotelini etkilemektedir (6).

Bizim yaptığımız literatür araştırmasına göre kornea endoteli üzerinde sefuroksimin apoptoz ve oksidatif stres faktörlerine olan etkisinin birlikte araştırıldığı çalışmaya rastlamadık. Bu etkileri araştırmak için insan kornea dokusuüzerinde çalışma yapılamadığı için ratların kornea dokusunda çalışmayı planladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Kornea

Kornea göz küresinin ön kısmında yer alan ve göz küresinin dış tabakasının ön 1/6'sını oluşturan ve çevresinde sklera ile devam eden şeffaf bir dokudur. Arka yüzden bakıldığında yuvarlak, ön yüzden bakıldığında oval görünümündedir. Embriyolojik olarak nöroektoderm ve mezenşim dokularından köken almaktadır. İlk olarak intrauterin hayatın 8. haftasında yüzey ektoderminden kornea epiteli ve Descemet membranı gelişmektedir. Sonrasında nöroektoderminden endotel oluşmaktadır. Beşinci ayda mezenşim dokusu göç eder ve kornea stromasını oluşturur. Stromanın ön yüzeyine yerleşmiş olan keratositler Bowman membranını oluştururlar. Kornea tabakalarından epitel ektoderm kökenli, diğer katlar mezenşim kökenlidir (7,8).

Kornea, skleraya saat camı gibi yerleşmiş konveks bir yapıdır. Ön yüzünün eğriliği tüm korneada simetrik olmayıp, nazal perifer temporal perifer göre daha düzdür. +43dioptri (D)'lik kırma gücü olan kornea optik görevinin yanında gözü dış ortama karşı koruyucu olarak da görev yapar (9).

Korneanın kalınlığı santralde ortalama 520 μ , periferde 650 μ 'dur. Erişkinde yatay çapı 12.6 mm, dikey çapı 11.7 mm, ön eğrilik yarıçapı 7.8 mm, arka eğrilik yarıçapı 6.8 mm' dir(9). Korneanın kırma gücü ön yüzeyde +48 D, arka yüzeyde -5 D olmak üzere total +43 D'dir. Gözün total kırıcılığının % 74'ünü kornea sağlar. Yenidoğan döneminde dikey çap 10 mm ve kırıcılık gücü +51 D'dir. Bir yaşında erişkindeki değerlere ulaşır. Kornea gelişimi 6 yaşa kadar devam etmektedir. Kornea histolojik olarak ve önden arkaya doğru 5 ayrı tabakadan oluşur (10).

1. Epitel
2. Bowman membranı
3. Stroma
4. Descemet membranı
5. Endotel

2.1.1.Epitel

Yenilenme özelliğine sahip olan korneanın epitel tabakası kırıcılığın büyük bölümünden sorumludur. Kornea epiteli 40-50 µm kalınlığında korneanın 1/10'unu oluşturan 5-7 tabaka hücreden meydana gelir. Çok katlı, keratinize olmayan ve sekresyon yapmayan bir yapıdır. İnsan vücudundaki en iyi düzenlenmiş epitelidir. Epitelin dış yüzü gözyaşı film tabakası ile örtülüdür. Gözyaşı film tabakası dışta lipid, ortada aköz ve en içte müsin olan üç tabakadan oluşur.

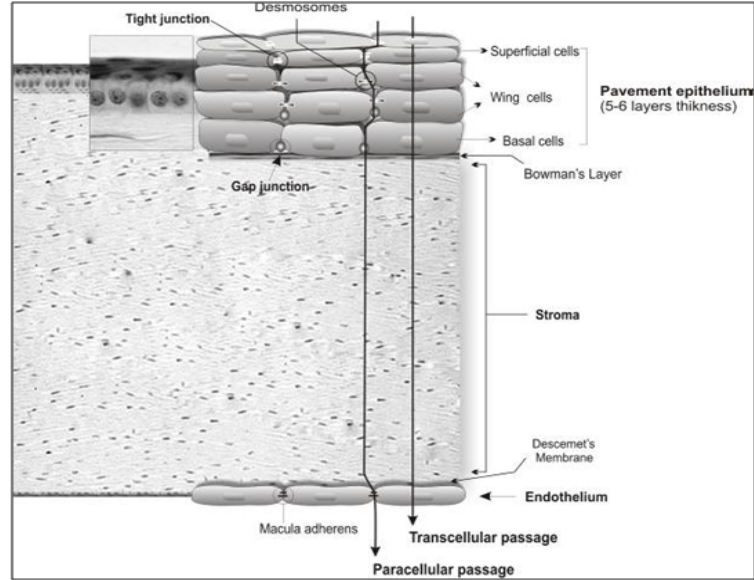
Kornea epiteli gözyaşı filminin de katkısıyla mükemmel bir optik yüzey oluşturur. Kornea epiteli 3 tip hücreden oluşmuştur.

1-Bazal hücreler: Bu hücreler epitel katının 1/2'sini oluştururlar ve mitoz yeteneğine sahiptirler. Kaynağı limbus epitelidir. Bazal hücreler tek katlı silindirik yapıdadırlar. Bazal membrana hemidesmozomlarla, çevrelerindeki hücelere ise desmozomlarla bağlanmışlardır.

2-Kanatsız hücreler: Kanat benzeri uzantıları olan poligonal yapıda 2-3 sıra hücreden oluşmuşlardır. Birbirleri ile sıkı bağlantıları vardır.

3-Yüzeyel hücreler: 1-2 katlı yassı hücrelerden oluşur. Speküler mikroskopi ile bu hücrelerin genellikle 6 kenarlı, ancak farklı şekil ve büyüklükte poligonal hücreler olduğu gösterilmiştir. Dış yüzeyinde gözyaşının müsin tabakasının bağlanmasını arttıracak şekilde mikrovillus ve mikropikalar bulunmaktadır. Sadece yüzeyel hücreler arasında bulunan ve hücreyi tamamen çevreleyen zonula okludensler, komşu hücre membranlarının gerçek anastomozlarıdır; bunlar sayesinde korneal yüzey mikroorganizmalara, suya ve elektrolitlere geçirgenliği çok az olan semi-permeabl bir membran gibi davranır. Kornea epitel hücreleri yaşlanınca değişime uğrarlar dökülme veya apoptozis ile uzaklaştırılırlar. Sadece bazal hücreler mitoz yeteneğine sahiptir. Limbustaki bazal epitele yerleşmiş olan kök hücreleri bazal hücrelerin sürekli çoğalmasını, merkeze ve yüzeye doğru hücrelerin ilerlemesini ve yüzeyel tabaka oluşumunu sağlarlar (9). Yüzeyel hücreler olgunlaştıkça mikrovilluslar ile kaplanır ve daha sonra dökülürler. Bu süreç 7-14 gün kadardır.

Korneada en fazla glukoz ve oksijen gereksinimi olan epitel tabakasıdır. Glukoz ihtiyacı ön kamara sıvısından ve difüzyonla limbal damarlardan sağlanırken, oksijen ihtiyacı ise kapaklar kapalı iken konjonktival damarlardan, kapaklar açıkken gözyaşı yoluyla atmosferden sağlanır.



Şekil-1:Korneal tabakalar ve Epitel hücre tabakası

2.1.2.Bowman Membranı

Kornea stroması ile epitel arasında yer alır. Korneaperiferinde daha kalın olmak üzere 8-12 µm kalınlığındaki bu tabaka rastgele dizilmiş kollajen fibrillerden oluşmuştur. Sinir aksonları sonlanmaları dışında asellüler bir yapıdır. Tip I, III ve V kollejen ile bunların arasını dolduran tip VI kollajen flamanları ve proteoglikanlardan oluşmuştur. Tip VII kollejenden oluşan çapa fibrilleri de Bowman membranından geçerler ve hemen bu tabakanın altında bulunan çapa plaklarında sonlanırlar. Embriyonel hayatta stromanın ön yüzeyine yerleşmiş olan keratositler tarafından oluşturulur. Epitel bazal membranı Bowman tabakasına düzensiz liflerle sıkıca tutunur. Epiteldeki patolojilerin stromaya yayılmasını önleyen önemli bir bariyerdir. Kendini onarma yeteneği olmadığından hasarlanması skar oluşumuna neden olur.

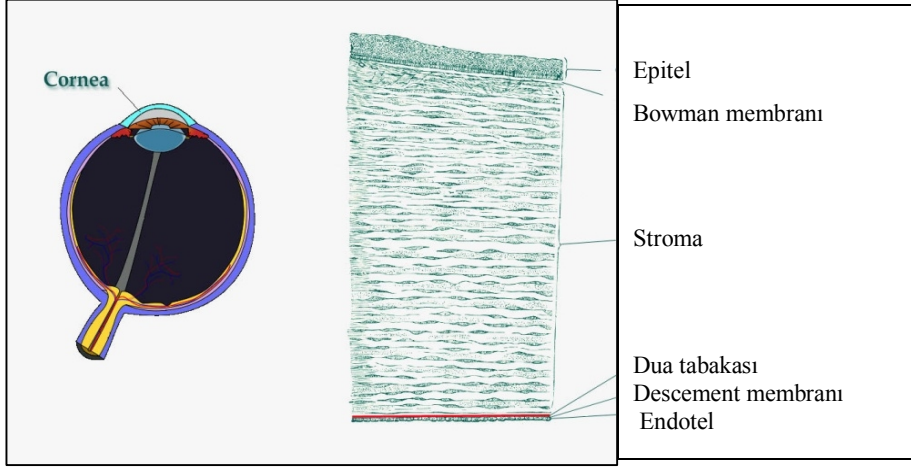
2.1.3.Stroma

Korneal kalınlığın %90'ını oluşturur. Yaklaşık 500 µm kalınlığındadır ve % 78'i sudan oluşur. Keratositler, kollajen fibriller ve ekstrasellüler matriksten oluşur. Keratositler stromanın ana hücreleridir. Yassı ve uzun olup tüm korneada yaygın olarak bulunurlar. Kollajen ve mukoprotein sentezinden sorumludurlar. Yaralanmalarda fibrositlere dönüşürler. Sitoplazmaların da bulunan glikojen granülleri damarsız korneanın enerji deposunu oluşturur.

Kollajen lifler ekstrasellüler matriks içinde ađ şeklinde dizilmiş haldedirler. Birbirlerine paralel, eşit uzaklıkta, düzenli bir yerleşim gösterirler. Fibrillerin dizilişindeki anormallik kornea saydamlığını etkiler. Stromanın su içeriği de saydamlıkta önemlidir. Kornea, stromasında bulunan keratan sülfat, kondroitin sülfat gibi glikozaminoglikanların osmotik etkisiyle su tutabilir. Korneanın hidrasyonu Na-K ATPaz gibi enzimlerce kontrol edilen endotel pompasının fonksiyonu ile sağlanır. Negatif yüklü glikozaminoglikanlar birbirini iterek germe basıncına neden olurlar. Ekstrasellüler matriks tip I, V, VI kollajenler, lumikan ve dekorin adlı proteoglikanları içerir.

Dua tabakası

İngiltere'nin Nottingham Üniversitesi'nde yapılan çalışmalar ile korneada daha önce varlığı bilinmeyen yeni bir tabaka keşfedildi. Profesör Harminder Dua tarafından keşfedildiği için Dua tabakası olarak adlandırıldı. Yeni keşfedilen Dua tabakası, kornea stroması ile Desme membranı arasında bulunuyor. Kalınlığı sadece 15 µm (0,015 milimetre) olmasına karşın son derece dayanıklı olan Dua tabakası 1,5-2 barlık basınca direnç gösterebiliyor. Kornea grefti ve nakli ameliyatlarından çok daha iyi sonuçlar alınabileceği düşünülüyor (11).



Şekil-2: Dua tabakası

2.1.4.Descemet Membranı

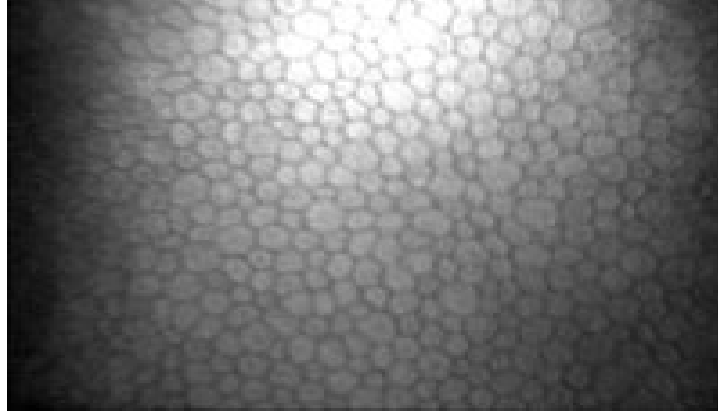
Stroma ile endotel arasında uzanan bazal laminadır. 10 µm kalınlıkta olup yaşlandıkça kalınlığı artar. İnce kollajen fibrillerden oluşur. Descemet membranı endotel hücrelerinden sentezlenir. Gebeliğin 4. ayında sentezi başlayan ve önde yer alan bantlı bölge ile yaşam boyunca endotel tarafından sentezlenen arkada yer alan bantsız bölge olmak üzere 2 tabakadan oluşur. Descemet membranı proteolitik enzimlere karşı direnci oldukça yüksek bir yapıdır; buna karşılık stromaya gevşek tutunduğu için stromadan kolaylıkla ayrılabilir. Aralarındaki tek bağlantı, stromadan descemete uzanan ve elektron mikroskopisinde görülebilen, bir mikrondan daha ince fibrillerden ibarettir.

Kornea endotelinin yapısal hasarları Descemet membranının yapısında da değişikliklere yol açar. Descemet membranı limbusta sonlanır ve iridokorneal açıda Schwalbe hattını oluşturur.

2.1.5.Endotel

Korneanın arka yüzünde yer alan endotel tek sıra halinde dizilmiş yaklaşık 400 000 adet poligonal hücreden oluşmuştur. Endotel tabakasının kalınlığı doğumda 10 mikrondur. Endotel hücreleri yaşlanma ile yassılaşır ve erişkinde 5 µm kalınlığına ulaşır (Resim 1). İntrauterin

hayatta korneanın en iç tabakası nöral krestden köken alan tek katlı küboid hücrelerle kaplanmıştır. Hücreler önceki konumlarına göre daha düzleşirler ve bu hücre tabakasının önünde zaman içerisinde descemet membranını meydana getirecek homojen aselüler bir tabaka oluşur. Daha sonra endotel hücreleri trabeküler ağın hücreleri ile birleşirler ve tüm kornea arka yüzeyini kaplayan bir hücre tabakası haline gelirler. Descemet membranı da Schwalbe hattında trabeküler kolonla birleşir.



Resim-1:Kornea endotel hücrelerinin speküler mikroskopik görünümü

Genç erişkinde kornea endotel hücresi 5 μm yüksekliğinde ve 18-20 μm genişliğindedir. Endotel hücreleri, büyük nükleusları çok sayıda mitokondri ve diğer organelleri içeren stoplazmalarıyla metabolik olarak aktif hücrelerdir. Endotel hücresinin arka yüzü, uzunluğu 0,5 μm ile 0,6 μm arasında olan mikrovilluslarla kaplıdır. Bazı hücrelerde ise oligosiliyalar bulunur. Bu endotel hücrelerinin kenarları arasında gap junction ve tight junctionlar bulunur. Endotel hücrelerinin dış tabakalarında Na-K ATPaz pompaları yer alır. Endotel tabakası ile descemet membranı arasında ise hemidezmozomlar yer alır.

Endotel tabakası hümör aközün stroma içine geçişine karşı bir bariyer oluşturur, ayrıca stromadaki mevcut birikmiş suyun dışarı pompalanmasını sağlar. Saydam bir kornea ancak sağlıklı bir endotel tabakası ile mümkündür. Çeşitli nedenlerle endotel kaybı meydana geldiğinde ve bu kayıp kritik oranda meydana gelirse, kornea normal su oranını koruyamaz ve geri dönüşümsüz olarak şişer, saydamlığı bozularak matlaşır böylece kırıcı özelliğini kaybeder. Hoffer ve arkadaşları endotel hücre sayısının 300/mm² nin altına düşerse korneal dekompanasyon gelişeceğini, hücre sayısı 300-500 arasında ise dekompanasyon riskinin

yüksek olduğunu bildirmişlerdir (12). Bir yüzeyi termodinamik olarak kapatabilmek için en uygun şekil altıgendir. Endotel hücreleri mozaik paterni (arı kovanı) sayesinde bariyer fonksiyonlarını en iyi şekilde yerine getirirler. Hekzagonal şekil ile her bir hücrenin çevre alanını en aza indirmiş ve birim alandaki pompa sayısını arttırılmış olur. Stromadan net sıvı çıkışı göreceli olarak hipoozmotik olan stromadan hipertonic hümör aköze doğru olur. Bu hareket herhangi bir enerji gerektirmez. Ozmotik farkı oluşturan hücre içi karbonik anhidraz ve membrana bağlı Na-K ATPaz iyon taşıma sistemlerinin çalışabilmesi için ise enerji gereksinimi vardır. Gerekli enerjiyi glikozdan ve hücrelerinde depolanmış olan glikojenden sağlar. Bu sistemler ile akım stromadan aköze doğru sağlanır. Endotelin bariyer fonksiyonu bir dereceye kadar geçirgen olması ve ozmotik farkı oluşturacak şekilde iyon akımına izin vermesi açısından özgündür.

Yenidoğanda kornea endotel hücre yoğunluğu 3500-4000/mm² olup hücre yoğunluğu yaşlanma ile birlikte azalma gösterir. Doğum sonrası endotel hücre yoğunluğunda ilk hızlı düşüş hayatın birinci yılında olur ve korneanın sürekli büyümesi karşısında total endotel hücre sayısı sabit kalırken endotel hücreleri hipertrofi gösterir. Yirmili yaşlarda endotel kaybı sonucu hücre yoğunluğunda daha az oranda azalma meydana gelir ve bundan sonra yaşlılık döneminde bu düşüş kademeli olarak sürer. 20 yaşından sonra hücre yoğunluğunda ortalama azalma yıllık olarak %0.52 civarında seyreder. Hücre yoğunluğu 3000-4000 hücre/mm² den 2600 hücre/mm² düzeyine iner. Kornea yüzey topografisi de yaşla birlikte değişmektedir ve endotelde altıgen hücrelerin oranı azalarak %75'den %65'e iner (13). Endotel hücrelerinin yenilenme yeteneği yoktur. Endotel hücreleri gelişen hasarlara migrasyon ve hipertrofi ile yanıt verirler. Küçük travmalar da endotel hücreleri sadece kendi hacmini artırır yani hipertrofiye uğrar. Hücredeki bu değişikliklerin hücre içi mikroflamanlara bağlı olduğu düşünülmektedir(14). Travma, hipoksi, hiperglisemi, çeşitli ilaçlar, ozmolarite veya cerrahi gibi nedenlerle kornea endotelinde hasar meydana geldiğinde de hasarın tamiri için komşu endotel hücrelerin bu alanlara migrasyonu gerçekleşir. Bu olay hücre sitoplazması içinde bulunan f-aktin molekülü tarafından meydana getirilir. Bu sırada hücreler daha yassı bir hal alırlar. Bu şekilde, hücre büyüklüğünde artış oluşur. Hasarlı bölgelerde hücreler uzamıştır ve on veya daha fazla kenarlı dev hücreler gözlenir. Endotel hücreleri arasındaki boşluk artar ve hücreler daha geçirgen bir duruma gelirler. Hücreler hasarlı bölgede toplandığı zaman diğer hücrelere bu yeni katılan hücrelerin teması ile migrasyon işlevi son bulur. Buna temas inhibisyonu adı verilir. Ortalama endotel hücre alanındaki artış ve

buna bağlı hücre yoğunluğundaki azalma kalıcıdır. Endotelin yeniden yapılanmasının mekanizmasının yüzey gerilim enerjisi ile bağlantılı olabileceği de bildirilmektedir (13).

2.1.6.Gözyaşı

Sağlıklı bir epitel için önemli bir tabakadır. Kornea ve konjonktiva epiteli için nemlendirme özelliğinin yanısıra düzgün bir optik yüzey sağlaması ve kırıcılık özelliğinin bulunması bakımından önemlidir. Yaklaşık 7 µm kalınlığındaki gözyaşı film tabakası kornea için gerekli besin ve oksijeni sağlar. Gözyaşı üretimi 1,2 µL/dak'dır. Drenajın büyük kısmı nazolakrimal kanal yolu ile küçük kısmı ise oküler yüzeyden buharlaşma ile olmaktadır (9). Göz kırıldığında kalınlaşır ve ikinci kırpma hareketine kadar giderek inceler. Ayrıca içerdiği laktoferrin, lizozim, betalizin ve immunglobülinler sayesinde bakterisitik etkiye sahiptir.

Gözyaşı filmi 3 tabakadan oluşur; dıştan içe doğru lipid, aköz ve müsin tabakasıdır (15).

2.1.7.Kornea Damarlanması

Kornea avasküler bir dokudur (9). Limbusta epitel altında ön silyer damarların episkleral dallarından gelen damarlar arklar şeklinde yüzeyel marjinal pleksusu oluşturur. Korneanın lenfatik drenajı da yoktur. Limbus epiteli altında lenfatik aę mevcuttur.

2.1.8.Kornea İnnervasyonu

Kornea zengin sinirsel ağa sahiptir. Hem trigeminustan gelen duyu inervasyonu, hem de superior servikal gangliondan gelen adrenerjik sempatik inervasyonu alır. N. Trigemini'un oftalmik dalından gelen arka silyer sinirler, ön ve arka dala ayrılarak korneaya girmektedirler. Miyelinlerini limbusta yitiren bu dallar daha sonra kornea yüzeyine doğru ilerler, Bowman membranının altında bir subepiteliyal pleksus oluşturduktan sonra bu tabakayı delerek önüne geçerler. Bu lifler daha sonra epitel hücreleri arasında, tüm tabakaları içeren zengin bir aę oluşturacak şekilde yayılırlar (9). Endotel seviyesinde sinir lifi yoktur.

2.1.9.Korneanın Kimyasal Özellikleri

Kornea içeriğinin %78'ini oluşturan madde sudur. Sudan sonra en çok protein bulunur. Albumin, globulin gibi plazma proteinlerini de içerir. Bunun yanında bol miktarda kollajen lifler, mukopolisakkaritler, laktik asit, pirüvik asit, askorbik asit, glutatyon ve lipid içerir.

2.1.10.Korneanın Fonksiyonları

Şeffaf ve avasküler bir yapı olan kornea göze gelen ışınların kırılmasını sağlar. Korneal saydamlığın devamı için stromadaki kollajen demetlerin paralelliği çok önemlidir. Kollajen liflerinin dizilimindeki bozulma korneanın saydamlığını kaybetmesine yol açarak göze gelen ışığın dağılmasına ve görme keskinliğinde azalmaya neden olur.

Korneanın su içeriğinin değişmesi de saydamlığının bozulmasına sebep olur. Su miktarının ayarlanmasında içerdiği glikozaminoglikanlar önemli rol oynar. Ayrıca endotel fonksiyonlarının normal olması, gözyaşı ve aköz hümörün osmotik yükü ve göz içi basıncı korneal su içeriğinin sabit tutulmasında önemlidir.

Korneanın önemli bir fonksiyonu da oksijen, glikoz ve ilaçların göz içine geçişinde rol oynamasıdır. Kornea lipit-sıvı-lipit yapıda olduğundan ilaçlar için önemli bir bariyerdir. Hidrofilik yapıdaki stromadan suda eriyen maddeler daha kolay geçer.

2.2.Sefuroksim ve Gözdeki Kullanımı

Sefuroksim oral ve parenteral kullanılabilen 2. kuşak sefalosporin grubu bir antibiyotiktir. Beta-laktamaz üreten mikroorganizmalar, sefuroksime karşı dirençlidir. Bakterisidal etkilerini hücre duvar sentezini inhibe ederek ve otolitik enzimleri aktive ederek yaparlar. Sefuroksim sodyum, beyazımsı-açık sarı renkte bir tozdur. Çözücü (enjeksiyonluk su) ile çözüldükten sonra çözücü hacmine göre gri-beyaz süspansiyon veya sarımsı bir çözelti verir.

Beta laktamaz üreten mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı oluşturduğu direnç, bakterinin dış membran geçirgenliğinin azalması, bakterideki penisilin bağlayan proteinlerin antibiyotiğe karşı ilgilerinin azalması, antibiyotiğin bakterinin oluşturduğu beta laktamaz enzimi

tarafından parçalanması ve antibiyotiğin hücre dışına pompalanması sonucunda ortaya çıkmaktadır. Klinikte beta laktam antibiyotiklere karşı direnç gelişmesinden sorumlu mekanizmalar içinde en önemlisi antibiyotiğin bakterinin ürettiği beta laktamaz enzimleri tarafından hidrolize edilmesi sonucunda aktivitesini yitmesidir (16).

Antibiyotiğin hücre dışına pompalanmasına bağlı direnç hidrofilik yan zincirleri nedeniyle sefalosporinlere karşı az görülse de daha çok tetrasiklinler, kloramfenikol ve kinolonlar için tarif edilen mekanizmaların başında gelmektedir (16).

Sefuroksim diğer 2. kuşak sefalosporinlere göre daha geniş etki aralığına sahiptir. Pseudomonas türleri, metisiline dirençli Staphylococcus aureus, metisiline dirençli Staphylococcus epidermidis gibi bazı suşlara karşı etkili değildir (16).

Etkili olduğu mikroorganizmalar;

Gram-negatif aeroblar: Citrobacter türleri, Enterobacter türleri, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Haemophilus parainfluenzae, Klebsiella türleri, Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Morganella morgani, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Proteus mirabilis, Providencia rettgeri, Salmonella türleri ve Shigella türleri.

Gram-pozitif aeroblar: Staphylococcus aureus (metisiline dirençli olmayan), Staphylococcus epidermidis (metisiline dirençli olmayan), Streptococcus pneumoniae ve Streptococcus pyogenes.

Anaeroblar: Grampozitif ve gramnegatif kokuslar (Peptococcus ve Peptostreptococcus türleri dahil); gram-pozitif basiller (Clostridium türleri dahil); ve gram-negatif basillere (Bacteroides ve Fusobacterium türleri dahil) karşı etkilidir.

Ağızdan uygulama için aksetil formu ön ilaç olarak geliştirilmiştir. Gastrointestinal sistemden emilir ve ester formundan ayrılarak sistemik dolaşıma girer. Ağızdan uygulamada biyoyararlanımı yemekten sonra %40-50; gece alındığında % 30'dur. Ağızdan 250 mgr aldıktan yaklaşık 2 saat sonra en yüksek serum seviyeleri ölçülmüştür(6,3±0,4 µg/ml).

Intramusküler 1gr uygulamadan 1 saat sonra 32,2-39,1 µg/ml aralığında bulunmuştur. Serum yarılanma ömrü yaklaşık 70 dakikadır. Sefuroksim metabolize olmaz ve glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla uzaklaştırılır. Aköz hümörde 1.5gr dozdan sonra en yüksek 1,6 µg/ml konsantrasyonda saptanmıştır (17).

Sefuroksimin, 3 saat arayla 1.5gr intramusküler 2 doz uygulamadan 1saat sonra hümör aközdeki konsantrasyonu 4,1±1,98 µg/ml olarak bulunmuştur (18).

Sefuroksim 500 mg tablet olarak alındıktan 3-8 saat sonra aközden alınan örneklerde sonuç ortalama 0,48±0,13 µg/ml olarak bulunmuştur (19).

Tavşan gözlerinde konjonktiva altına verdiği sefuroksimin ön kamaraya geçişinin iyi fakat vitreusa geçişinin zayıf olduğunu saptamışlardır. Ayrıca vitreusa verilen sefuroksimin 24 saate kadar etkin konsantrasyonda kaldığını bulmuşlar. Elektroretinografi çalışmalarında uygulamadan sonraki 55. günde retinada toksik değişiklik saptanmamıştır (20).

Sefuroksimin intrakameral 1mg/0.1ml dozda verildikten 30 saniye sonra konsantrasyon 2742mg/l, 1 saat sonra 756 mg/l olarak saptanmıştır. Bu miktarlar mikroorganizmaların MİK90 değerinden kat kat yüksektir. Sefuroksimin 7.42 pH değeri ve 311 mOsm/kg osmolalitesiyle göz içi dokulara uygun olduğu bildirilmiştir (21,22, 23).

2.3.Apoptozis

Her hücre doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis). Hücre ölümünün iki tipi vardır, bunlar apoptozis ve nekrozdur (24,25). Apoptozis; gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden ölümüdür. Apoptozis ve mitozis dokuda sürekli bir denge halindedir. Bazı hücreler yıllarca yaşarken bazıları sadece birkaç saat yaşarlar. Deri, gastrointestinal sistem ve immün sistem gibi pek çok dokuda devamlılık apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlıdır (26). Programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı, fizyolojik hücre ölümü apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir (27,28,29). Hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin keşfiyle başlamış ve ilk olarak

nekroz tanımlanmıştır. 1972 yılında, iskemiye maruz kalan dokunun etrafında nekrozdan daha farklı hücre ölümü gösterilmiş ve buna, ağaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelen “apoptozis” adı verilmiştir (26). Yunancada apoptozis, apo (= ayrı) ve ptosis (= düşen) kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşmuştur.

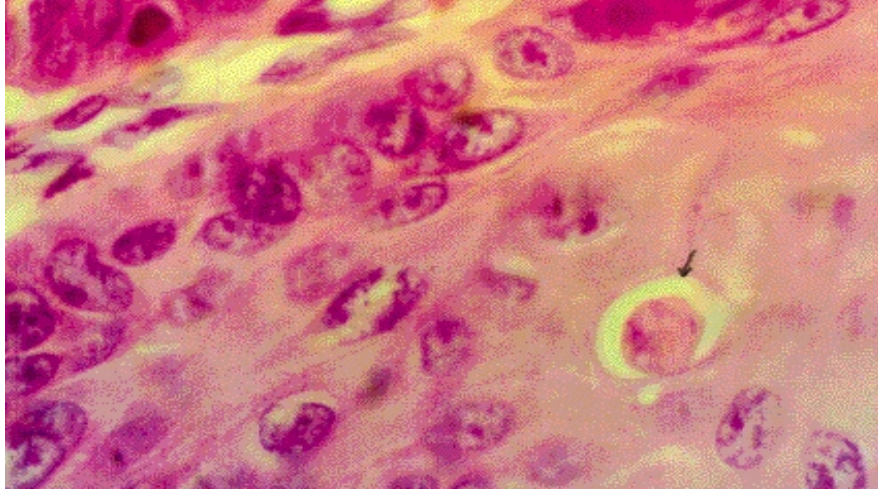
Wyllie, 1980 yılında deneysel apoptozisi, glukokortikoidlere maruz bırakılan olgunlaşmamış timus hücrelerinde gerçekleştirmiş ve apoptotik hücre DNA'sının elektroforetik jel ayrımını yaparak, hücrede DNA bütünlüğünün kalmadığını, apoptotik hücre için karakteristik olan merdiven tarzında DNA bantlarının oluştuğunu göstermiştir (30). 1993 yılında Cohen ve arkadaşları yüksek dozda kullanılan steroidlerin timus hücreleri üzerine etkilerini incelemiş ve timus hücrelerinde direkt olarak apoptozis gerçekleşmediği, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturulmasından sonra, hücreleri apoptozise yönlendirdiğini bildirmişlerdir (31). Böylece bu çalışma ile apoptozisin genler tarafından kontrol edilen programlı bir hücre ölümü olduğu ortaya çıkmıştır (32).

2.3.1. Apoptozisin morfolojisi

Ana morfolojik olay, nükleusun kondensasyonu ve daha sonra parçalara ayrılmasıdır. Kromatin, normalde mikst kondens bir yapıda olup daha diffüz görünümündedir. Apoptoziste süperkondens bir hal alarak nükleus zarı altında kresentik görünüm oluşur. Floresan boyamada DNA boncuklanmalar şeklinde görülür, bunun nedeni DNA'nın endonükleaz ile oldukça özgül şekilde internükleozomal bölgelerden 180-200 bp (baz çifti) büyüklüğünde parçalara ayrılmasıdır (33). İmmün elektroforez yapıldığında “ladder patern” olarak isimlendirilen merdiven şeklinde bir görünüm oluşur (34). Normalde bir hücrede birbirini takip eden 7 kırılma onarılırken, apoptoziste yaklaşık 300 000 kırılma meydana gelir ve hücre bu onarımı yapamaz.

Apoptozisin başlangıcında hücreler birleşme bölgelerinden ayrılır, özelleşmiş yüzey organellerini kaybeder ve belirgin şekilde büzülür, birkaç dakikada hacimlerinin 1/3'ünü kaybederler. Bu görünüm, muhtemelen plazma membranında bulunan iyon kanalları ve pompalarında aktivasyonun bozulmasına bağlıdır. Apoptotik hücrelerin bulunduğu dokulardan elde edilen kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde, hücreler, etrafında açık bir halo ile görülmektedir (Resim 2).

Daha sonra plazma membranında tomurcuklanmalar oluşur ve hücre, sitoplazma ile çevrilmiş kromatin parçalarından oluşan apoptotik cisimciklere parçalanır (35).



Resim-2: Epidermiste apoptozis

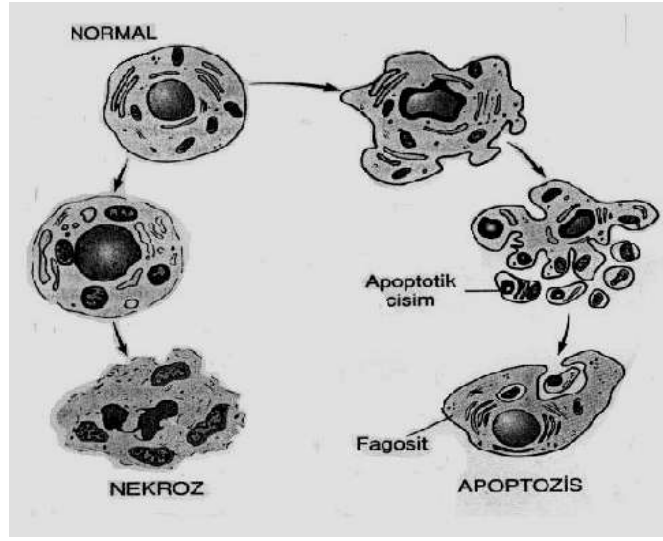
Apoptotik hücreler komşu hücreler ve makrofajlar tarafından tanınır ve fagosite edilir. Apoptotik hücrelerin tanınması ve sağlam hücrelerden ayrılması plazma membranındaki değişikliklerle olur. Normalde hücre membranının iç tabakasında olan fosfatidil serin, aminofosfolipid transferaz enzimiyle membranın dış yaprağına göç eder. Fagositik hücrelerin vitronektin, lektin özelliğindeki reseptörleri fosfatidil serin ile bağlanır ve fagositozu uyarır(26).

2.3.2. Apoptozisle nekroz arasındaki farklar

Apoptozisi anlamak için nekroz ile karşılaştırmak önemlidir. Nekrozis fizyolojik bir ölüm şekli olmamasına rağmen apoptozis hem fizyolojik hem de patolojik şartlar altında meydana gelebilir. Diğer bir ifadeyle apoptozis hem sağlıkta hem de hastalıkta karşımıza çıkmaktadır. Apoptozis morfolojik olarak özgündür. Nekrozisde hücre içine aşırı sıvı girmesi sonucu hücre şişerken (cell swelling), apoptotik hücre tam tersine küçülür (cell shrinkage). Nekrozisde kromatin paterni hemen hemen normal hücredeki görüntüye benzerdir ama apoptotik hücrenin kromatini nükleus membranının çevresinde toplanır (chromatin aggregation) ve kondanse (chromatin condensation) olur. Nekrotik hücrenin plazma membranı bütünlüğünü kaybeder ve hücre içinden dışına hücre içi materyallerinin çıkışı gerçekleşir (Şekil 3). Oysa apoptotik hücre membranı intaktır ve üzerinde küçük cepekler (membrane blebs) oluşur (36) (Tablo1).

Tablo-1: Apoptozis ile nekroz arasındaki farklar

Özellik	Nekroz	Apoptozis
Yol açan nedenler	İskemi Hipertermi Hipoksi Viral enfeksiyon Toksik maddelerin yüksek konsantrasyonları Şiddetli oksidatif stress	Büyüme faktörü eksikliği Hücre yaşlanması, HIV Kanser ilaçları, radyasyon Yüksek doz glukokortikoid Fas veya TNRF-1 reseptörlerinin aktivasyonu Sitotoksik T lenfositler Çok şiddetli olmayan oksidatif stress
Morfolojik özellikler	Hücre membranı bütünlüğünün kaybı Kromatin “flocculation”u Hücre şişmesi Organellerin disintegrasyonu Endoplazmik retikulumun dilatasyonu Büyük vakuollerin oluşumu Hücre lizisi	İntakt hücre membranı fakat membranda “bleb”lerin oluşumu Kromatinin nükleer membran civarında toplanması ve yoğunlaşması, hücre küçülmesi Organellerde disintegrasyon yok Hücrenin intakt mitokondri, ribozom, nükleus parçaları ve diğer organelleri içeren membranla kaplı apoptotik cisimciklere parçalanması
Biyokimyasal özellikler	Bozulmuş iyon hemostazisi ATP gerekmez (pasif süreç) +4 °C’ de gerçekleşebilir DNA rastgele parçalanır (agaroz jel elektroforezinde “smear” görüntüsü) Postlitik DNA fragmentasyonu (ölümün geç safhasında)	Kontrollü, bazı aktivasyonların ve enzimatik basamakların olması ATP gereklidir (aktif süreç) +4 °C’ de gerçekleşmez DNA internukleozomal alanlarda 180 kb çiftinin katları olacak şekilde kırılır mono ve oligonukleozomlara ayrılır (merdiven patterni) Prelitik DNA fragmentasyonu
Diğer özellikler	Hücreler gruplar halinde ölür Fizyolojik olmayan (patolojik) etkiler sonucu gerçekleşir Lizozomal enzimler salınır İnflamasyona neden olur	Hücreler tek tek veya birkaçı birarada ölür Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir Komşu hücreler veya makrofajlar tarafından fagosite edilirler İnflamasyon görülmez



Şekil-3: Apoptozis ile nekroz arasındaki farklar

2.3.3. Apoptozis mekanizması

Apoptoz iki yolla gerçekleşir (Şekil 4);

I- İntrinsik (Mitokondriyal) yol

II- Ekstrinsik yol

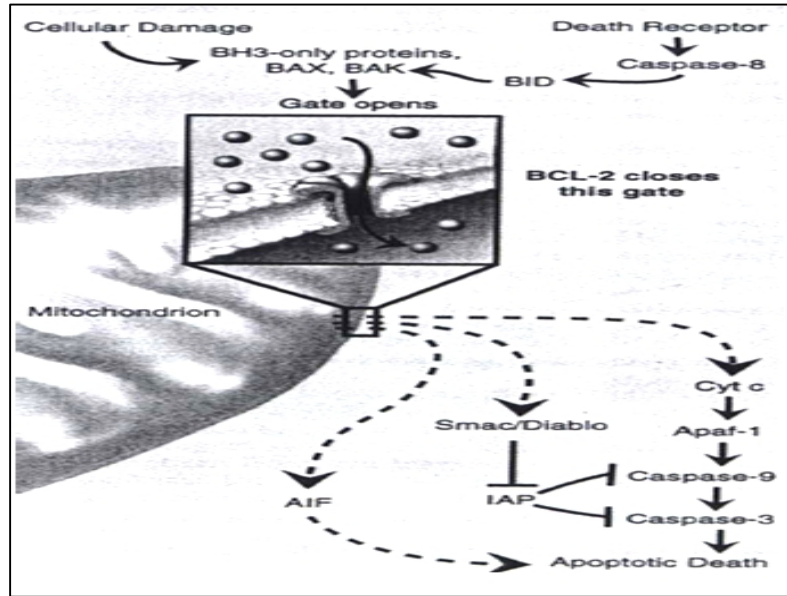
a- Direkt mekanizma

b- Dolaylı mekanizma

Apoptozu tetikleyen hücre içi sinyaller; DNA hasarı, hücre içi Ca^{++} düzeyi artışı, pH azalışı, metabolik ve/veya hücre siklus bozuklukları ve hipoksidir. Hücre dışı sinyaller ise büyüme ve üreme faktörlerinin yetersizliği, ölümreseptörlerinin aktivasyonu (FAS – FAS ligand aracılığı ile apoptoz, TNF aracılığı ile apoptoz), sitotoksik T lenfosit ve dış etkenler (iskemi, toksinler, UV, kemoterapötik ilaçlar, radyasyon)'dir. Her 2 sinyal yolunda da kaspazlar görev almaktadır. Hücre içi sinyaller intrinsik apoptoz yolunu devreye sokarken, hücre dışı sinyaller ekstrinsik yol ile apoptozu indükler (37,38,39).

2.3.3.1. İnstrinsik yol

Hücre içi sinyallerle apoptotik uyarı alınmasından sonra proapoptotik proteinlerden Bid; bir antiapoptotik protein olan Bcl-2'yi inaktive eder, Bax ve Bak'ı aktifleştirir. Aktifleşen Bax ve Bak mitokondri membranında por oluşumunu indükleyip zar potansiyelini değiştirir (40). Böylelikle mitokondri membranındaki porlardan sitokrom-c, Second mitochondria-derived Activator of Caspase (SMAC), Endonukleaz-G (Endo-G), Ca⁺⁺ ve AIF (Apoptozindükleyici faktör) salınımını uyarır. Sitokrom-C, oksidatif fosforilasyon içinelektron taşıyıcı. SMAC, İnhibitör apoptotik faktör (IAF)'ü inhibe eder ve apoptozu hızlandırır. IAF'nin ortamda bulunması ise kaspaz-3 ve kaspaz-8 aktivasyonunu engeller. IAF, çekirdeğe transloke olur ve parçalara ayırır. ENDO-G de DNA'yı parçalar. Mitokondriyal porlardan salınan sitokrom-c, Apoptotik proteaz aktive eden faktör-1 (Apaf-1) ve ATP'nin katılmasıyla sitozolde Apoptozom denen bir kompleks oluşturur (41,42,43). Apoptozom kaspaz-9'u keserek aktifleştirir. Kaspaz-9 da prokaspaz-3'ü aktif kaspaz-3 haline getirir. Aktif kaspaz-3 de İnaktif kaspaz aktive edici DNaz (ICAD)'i inaktifleştirerek Kaspaz aktive edici DNaz (CAD)'ı serbestleştirir. CAD ise çekirdekte kromatin yoğunlaşmasına ve DNA'nın nukleozomal alt birimler halinde fragmente olmasına neden olur (39,41,44).



Şekil-4: Apoptozis mekanizması

2.3.3.2.Ekstrinsik yol

Hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerine (Fas, TNRF, DR5) ölüm sinyallerinin (FasL, TNF-alfa, TRAIL) bağlanmasıyla reseptörler trimerik yapı kazanır. Bu şekilde trimerik yapı kazanan reseptör; adaptör molekülleri ve prokaspazla birleşerek Death inducing signaling complex (DISC) adı verilen yapıyı oluşturur. Bu birleşmeden sonra inaktif durumdaki prokaspaz-8'in uzun ve kısa kolları kesilerek aktif kaspaz-8'in oluşması sağlanır. Aktif kaspaz-8 doğrudan ve dolaylı olmak üzere 2 yolla kaspaz-3'ü aktive eder. Ya direkt kaspaz-8 kaspaz-3'ü aktive eder ya da Bid'i keserek dolaylı olarak intrinsik mekanizmada kaspaz-9'u aktive ettikten sonra kaspaz-3'ü aktive eder. Her 2 yolla da aktive olan kaspaz-3 yine CAD aktivasyonu ile DNA fragmentasyonuna neden olur(40,41, 45).

Organizmada apoptozisi uyaran ve engelleyen çok sayıda gen bulunmaktadır (46) (Tablo 2).

Tablo-2: Apoptozis ve Genler

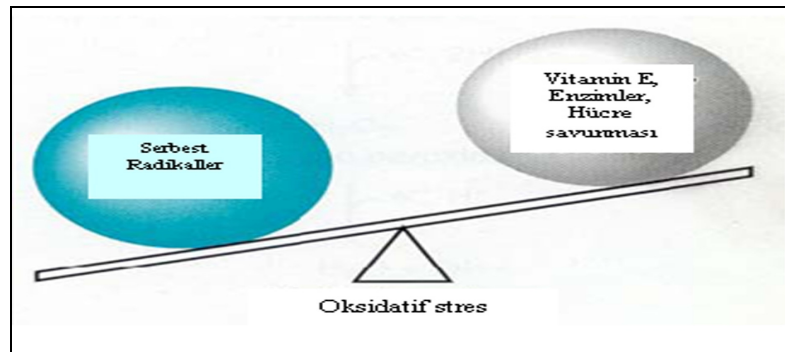
Apoptozisi baskılayan genler	Apoptozisi indükleyen genler
<ul style="list-style-type: none">• Bcl-2 grubundan; BHRL-1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1• c-abl geni• ras onkogeni• çözünebilir fas• p35• A20	<ul style="list-style-type: none">• Bcl-2 grubundan; Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik, Hrk1• c-myc• p53, p21• fas (CD95/APO1) FADD/MORT, RIP, FAST• interlekin dönüştürücü enzim benzeri proteinler (İCE)• LOH (MTS1/CDK41)

2.4.Oksidatif Stress ve Antioksidan Sistem

Tüm canlılar için önemli bir element olan oksijen; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin temel yapı taşlarını oluşturur (47). Bu nedenle oksijen hayatın devam ettirilmesi için önemli bir moleküldür. Ancak oksijenin vücutta kullanımı sırasında serbest radikaller olarak bilinen ve lipit, protein ve DNA gibi hücrenin hayati bileşenlerine hasar veren son derece reaktif ara metabolitler oluşmaktadır (48,49).

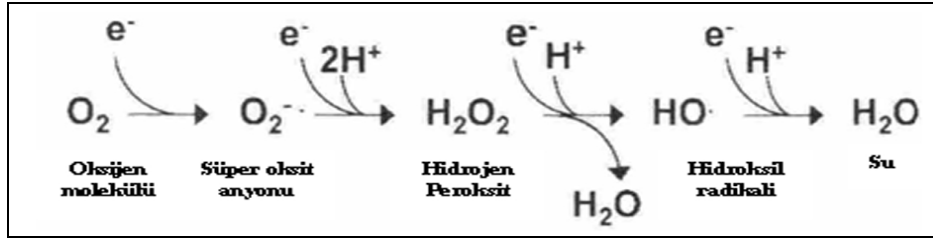
Organizmada en aktif radikal üreticiler fagositik hücrelerdir. Membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler, DNA, doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri gibi oksitlenebilen tüm hücre elemanları radikaller için çekici hedeflerdir (50). Vücutta metabolizma sonucu oluşan bu reaktif metabolitleri ortadan kaldırmak ve hasar oluşumunu engellemek için çeşitli savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar genel olarak antioksidan sistem olarak adlandırılır. Zaman zaman oksidan moleküller, belirli düzeyin üstüne çıkarak reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu durduramamakta ve antioksidatif defans mekanizma dengesini bozmaktadır (Şekil 5) (51,52).

Tüm metabolik aktivitelerde serbest radikaller oluşabilmektedirler. Vücuda dışarıdan verilen pek çok ilaç oksidatif strese neden olabilmektedir. Serbest radikaller veya oksidanlar, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, stabil olmayan reaktif atom, iyon veya moleküllerdir (53). Bilindiği gibi organizmada enerji açığa çıkması, metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucuyla oluşmaktadır. Aktarılma esnasında elektron transfer zincirinden sızan elektronların oluşturduğu oksiradikaller (Şekil 6) hücrelerde bütünlük ve geçirgenlik bozuklukları oluşturmaktadır (48).



Şekil-5: Oksidatif stres oluşumu

Oksidatif stres insanlarda çeşitli hastalıkların gelişiminden ve yaşlanmadan sorumlu tutulmaktadır. Bu hastalıklar arasında çeşitli kanserler, kalp ve damar hastalıkları (ateroskleroz, kalp yetmezliği, miyokard infarktüsü), Parkinson ve Alzheimer sayılabilir. Ancak reaktif oksijen bileşikleri immün sistemde patojenlere karşı savunma yolağında yararlıdır (54,55).



Şekil-6: Serbestleşen oksijen moleküllerinin oluşturduğu radikaller

2.4.1.Reaktif Oksijen Bileşikleri

Vücutta oksijenin kullanımını sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen ürünleri özetle **Hata!**
Başvuru kaynağı bulunamadı.3’de gösterilmiştir (54,56).

Tablo-3: Reaktif oksijen ürünleri

Maddenin Adı	Formülü	Açıklama
Süperoksit Anyonu	O_2^-	Elektron transport sisteminde veya otoksidasyonla oluşur. O_2 'nin bir elektron kaybetmiş formudur. Kendiliğinden veya enzimatik olarak H_2O_2 'ye dönüşür. Hidroksil radikalının öncülüdür. Genellikle reaktif değildir.
Hidrojen Peroksit	H_2O_2	İki elektron kaybetmiş formdur. Süperoksit anyonundan veya direkt olarak oksijenden oluşur. Yağda çözünür ve membranları geçebilir.
Hidroksil Radikali	-OH	Üç elektron kaybetmiş formdur. Fenton reaksiyonu sonrası oluşur. Son derece reaktiftir. Çoğu hücre bileşeni ile etkileşime girebilir.
Organik Hidroperoksit	ROOH	Reaktif oksijen moleküllerinin lipid ve nükleik asitler gibi hücre elemanlarıyla oluşturduğu bileşik
Alkoksi ve Peroksi Radikali	RO- ve ROO-	Oksijen merkezli organik radikal

Hipokloröz Asit	HOCl	Miyeloperoksidaz tarafından hidrojen peroksitten oluşturulur. Yağda çözünür ve membranları geçebilir. Tiyol, amino gibi protein gruplarını ve metiyonin okside edebilir.
Peroksinitrit	ONOO-	Oksijen – nitrojen serbest radikalidir. HOCl gibi özellikleri vardır. Proton alarak peroksinitröz asidi o da nitrojen dioksit ve hidroksil radikalini oluşturur.

2.4.2. Antioksidan Maddeler

Oksidantlara karşı vücudun ürettiği veya dışardan besin olarak alıp kullandığı oksidatif stresi azaltan maddeler antioksidan maddelerdir. Organizma gerek iç (sindirim, solunum, hastalık, yaralanma vb.) ve gerekse dış (çevresel faktörler) etkenlerin uyarılarıyla sürekli oksidantlara maruz kalmaktadır. Oluşan oksidant moleküller hücrelere ve dokulara saldırarak zarara neden olur (57). Organizmada, reaktif oksijen radikallerine ve diğer prooksidantlara karşı, düşük molekül ağırlıklı serbest radikal gidericiler ve antioksidan enzimler mevcuttur. Reaktif oksijen türlerine karşı hücre içi ve hücre dışı enzim ve nonenzim (enzim olmayan) savunma mekanizmasına antioksidan savunma sistemi denilmektedir (58,59).

Glutasyon (GSH) vücudun kendi ürettiği antioksidan maddedir. Hücreyi serbest radikallerin ve peroksitlerin hasarından korur. İçerdiği tiyol gruplarının indirgeyici özelliği vardır. Elektron vericisi olarak davranıp sitoplazmik proteinlerdeki disülfid bağlarını sisteme indirger, bu sırada okside formu olan glutasyon disülfide (GSSG) dönüşür. GSSG da GSH redüktaz tarafından tekrar kullanılmak üzere glutayona dönüştürülür (60,61).

Diyetle alınan vitaminlerden A vitamini, Beta karoten (C vitamini) ve E vitamini ile eser elementlerden demir, bakır, krom, selenyum, vanadyum ve kobaltın da antioksidan özellikleri vardır (54).

2.4.3. Antioksidan Savunma Mekanizması

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanların zararlarını önlerler (52).

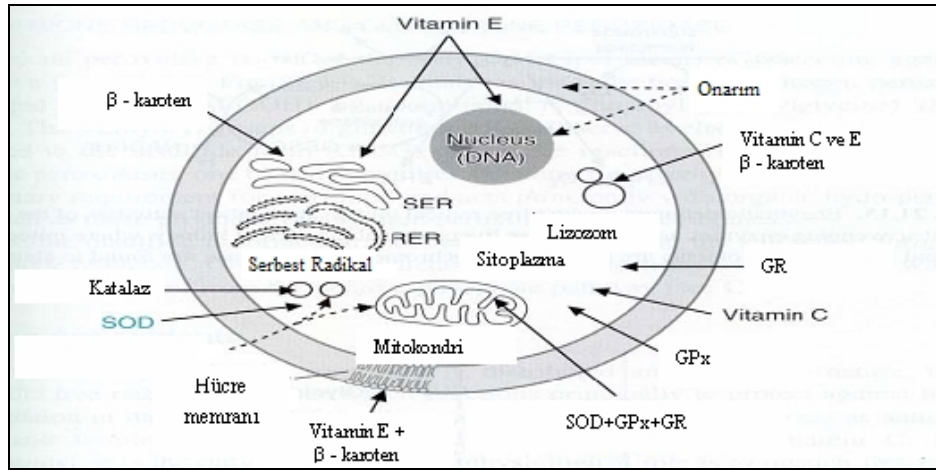
1. Temizleme etkisi: Enzimler tarafından oksidan molekülleri zayıf hale getirilmesi ve oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alıp lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilmeleri,

2. Baskılama etkisi: Oksidanlara bir hidrojen molekülü verilerek hidroksil radikali yapısında yer alan hidrojen atomları ile bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyip peroksidasyonun başlamasını önleyebilmeleri,

3. Onarma etkisi: Serbest radikallerin oluşturduğu hasarları onarabilmeleri,

4. Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen bu etki hemoglobin, seruplazmin ve E vitamini tarafında yapılır. Zincir kırıcı antioksidanlar arasında fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olan α - tokoferoller yer almaktadır.

Hücresinin antioksidan savunma mekanizması Şekil 7’de görülmektedir (62).



Şekil-7: Hücresinin antioksidan savunma mekanizması

2.4.4. Antioksidan Enzimler

Oksidanları azaltmaya ve hücreleri onlara karşı koruyan antioksidan özelliği olan enzimler vardır. Özellikleri aşağıda belirtilmiştir. Şematik olarak enzimlerin görev yaptığı basamaklar Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.8'de gösterilmiştir.

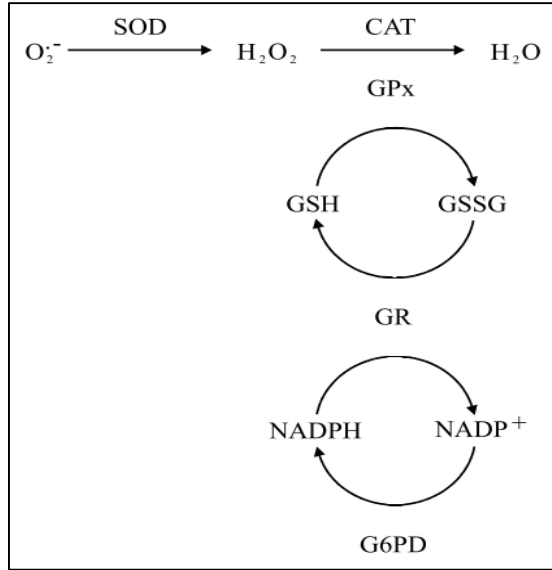
Süperoksit Dismutaz: Süperoksit bileşimini oksijen ve hidrojen peroksite ayırır. İnsanda sitoplazmada, mitokondride ve hücre dışı bulunan üç türü vardır (63).

GSH Peroksidaz: Lipid hidroperoksitlerini indirgeme ve hidrojen peroksiti suya çevirme özellikleri vardır. Reaksiyon sonucunda monomer yapıdaki GSH, GSH disülfide dönüşür.

Katalaz: Hidrojen peroksiti su ve oksijene parçalar. En hızlı çalışan enzimlerden biridir. Tek bir katalaz molekülü saniyede milyonlarca hidrojen peroksit parçalar (64).

GSH Redüktaz: Okside GSH'ı NADPH kullanarak monomerik GSH'a dönüştürerek döngüyü tamamlar (61,65).

Hem Oksijenaz: Hem'in biliverdine dönüşümünde rol alır (66).



Şekil-8: Antioksidan enzimler ve görevleri

2.5.Total Antioksidan Seviye (TAS)

Organizmada endojen ve eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller oksidatif strese neden olur. Kan, serbest radikallerin antioksidan sistem tarafından temizlenmesinde önemlidir. Kan antioksidanları vücudun tamamına taşır (67). Serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin gibi zincir kırıcı antioksidanlarda plazmada bulunmaktadır. Ürik asit, albümin ve askorbik asit plazmadaki total antioksidan seviyenin % 85'inden fazlasını oluşturur. Antioksidanlar plazmada kendi aralarında etkileşim içindedirler. Bu şekilde tek başlarına gösterdikleri etkiden daha fazla etki gösterebilmektedirler. Glutatyonun askorbatı, askorbatın da α - tokoferölü yeniden aktifleştirmesi buna örnektir. Total antioksidan durumun belirlenmesi antioksidanların tek tek ölçülerek belirlenmesinden daha değerlidir (57,68).

2.6.Total Oksidatif Stres (TOS)

Oksidan ve antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulmasına oksidatif stres denir. Oksidatif stresin total değeri Total Oksidatif Stres (TOS) olarak ifade edilir. Bu durum aşırı oluşan reaktif oksijen radikalleri veya antioksidan tampon sisteminin yetersizliği sonucu oluşur. Reaktif oksijen radikalleri hücrenin DNA, lipit ve protein benzeri moleküllerine zarar verir (57,68).

2.7.Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total oksidanların seviyelerinin, total antioksidanların seviyelerine bölünmesiyle elde edilir. Değerin yüksek olması oksidatif stresin artığını gösterir (57,68).

2.8.Paraoksonaz

Paraoksonaz (PON) gen ailesi, insanlarda 7. kromozomun uzun kolunda lokalize olan ve birbirine komşu PON1, PON2 ve PON3 adlı genleri içermektedir. PON-1, hem paraoksonaz hem de arilesteraz aktivitesine sahip kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır. Başlıca karaciğerde sentezlenip dolaşıma salınan serum PON-1 enzimi, organofosfatlar, arilesterler ve laktonlar dahil bir çok substrat üzerine hidrolitik etkiye sahip bir proteindir (69). PON-1'in, hücre membranları ve lipoproteinler üzerine serbest radikallerin yol açtığı lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan etki gösterdiği gözlenmiştir (70).

2.9.Oksidatif Durumun Saptanması: Erel Yöntemi

Özcan Erel tarafından tanımlanmış oksidatif stresi saptamak için kurgulanmış bir laboratuvar yöntemidir. 2004 yılında total antioksidan kapasiteyi kolorimetrik olarak ölçen "Total Antioksidan Seviye (TAS)" olarak adlandırılan sistemi, 2005 yılında da reaktif oksijen ürünlerinin total değerini veren "Total Oksidan Seviye (TOS)" sistemini yayınlamıştır (71,72). Her iki sistem de alternatiflerine göre kolay, ucuz, duyarlı, güvenilir ve tam otomatik ölçüm yapan sistemlerdir ve birçok çalışmada beraber kullanılmıştır (73-74).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri uygulama ve araştırma merkezi (DÜSAM)'da gerçekleştirildi. Etik kurul onayı Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyle Yerele Etik Kurulu (DÜHADEK)'dan (11.02.2014 tarihli ve 2014/05 protokol numaralı) alınarak başlatılan çalışmada deney hayvanları DÜSAM'dan sağlandı.

3.1. Çalışma gruplarının oluşturulması

Çalışmamızda ağırlıkları 180-240 gr arasında olan erkek erişkin Wistar-albino rat kullanıldı. Sham, Balanced Salt Solution = dengeli tuz solüsyonu (BSS) ve ilaç gruplarının her birinde denek sayısı n:10 olarak belirlendi (Tablo 4). Toplam rat sayısı 30 olarak planlandı. Tüm ratlar deney süresinde bir hafta boyunca aynı laboratuvar ortamında tutuldular. Ratlar 12 saat gece ve 12 saat gündüz siklusünde oda sıcaklığında ve standart kafeslerde en fazla beşerli gruplar halinde tutuldular. Ratlar deney süresince şebeke suyu ve standart rat yemi ile beslendi ve standart oda sıcaklığı sağlandı.

3.2. İntrakameral Enjeksiyon Modeli

Cerrahi işlemler için steril cerrahi aletler kullanıldı. Ratların anestezisinde Ketamin ve Xylazine kombine kullanıldı. Ketamin (87 mg/kg) (Ketalar ®, Pfizer ilaçları Ltd. Şirketi, İstanbul, Türkiye) 0.87 cc olarak ve Xylazine (13 mg/kg) (Rompun-%2 Bayer) 0.13 cc dozlarındaki karışım hazırlandı. Kilograma uygun olarak (yaklaşık 0.33 cc) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi sağlandı (72). Anestezi, ratlar ağrıya yanıtızsız olacak ve deney sırasında spontan solunumlarına devam edecek şekilde ayarlandı ve gerektiğinde ek doz verildi. Ratların gözleri korneoskleral forceps ile tespit edilip saat 12.00 yönünde 30 G' luk iğne ile limbusta teğet olarak ön kamaraya girilerek tedavi grubuna 0.01 cc Sefuroksim (0,1 mg/ 0.01 ml) ve kontrol grubuna 0.01cc BSS verildi. Ön kamaraya ilaç ve BSS verilmesi esnasında rat gözünün bütünlüğü korundu. Sham grubuna işlem yapılmadı. 2. Gün BSS grubuna ait ratlardan birisinin kafeste ölü olarak bulunduğu tespit edildi. Enjeksiyondan 7 gün sonra aynı anestezi madde ve

dozlarıyla uygulanan anestezi altında ratların histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için kornea dokusunun tamamı alındı. Anestezi altında anatomik yapıya uygun olarak batın açıldı ve vena cava inferiordan kan örneği alındı. Daha sonra tüm ratlara dekapitasyon uygulandı. Örneklerin biyokimyasal ve histopatolojik incelemesi, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Patoloji laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Kornea endotelinde kaspaz 3 ve 8 ile immunohistokimyasal yöntem ile apoptosis araştırıldı. Kornea endotel dokusu ve kan örneğinde oksidatif stres faktörlerinden total oksidan seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS), oksidatif stres indeksi (OSİ), Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz seviyelerine bakıldı.

Tablo-4: Çalışma gruplarının özeti

Gruplar	Rat sayısı	Tedavi protokolu
Grup 1 (Sham)	10	Ön kamaraya işlem yapılmadı
Grup 2 (BSS)	9	Ön kamaraya 0.01cc BSS
Grup 3 (Sefuroksim)	10	Ön kamaraya 0.01 cc Sefuroksim (0.1 mg/ 0.01 ml)

3.3. TOS Düzeyi Ölçümü

Örneklerin TOS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/ L olarak ifade edildi (72).

3.4. TAS Düzeyi Ölçümü

Örneklerin TAS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikal antioksidan moleküllerin total konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (71).

3.5. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSI), Total Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Total Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin OSI hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (75,76). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSI} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}} \times 100$$

3.6. Paraoksonaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

HDL-Kolesterole bağlı lipofilik, hidrofobik yapıli antioksidan bir enzim olan PON aktivitesi ticari Rel Assay marka kit kullanılarak ölçüldü. Yöntemde PON enzimi paraoxon (*O,O*-diethyl-*O*-*p*-nitrophenylphosphate), substratını hidroliz ederek renkli *p*-nitrophenol ürününün oluşmasına yol açar. Oluşan ürünün absorbansı 412 nm de kinetik modda izlenerek enzim aktivitesi U/L olarak ifade edilir (77).

3.7. Arilesteraz Aktivitesi Ölçümü

Antioksidan bir enzim olan PON enziminin arilesteraz aktivitesi de ticari Rel Assay marka kit kullanılarak ölçüldü. Bu test, örneğin içerdiği enzim tarafından fenilasetat substratından enzimatik aktiviteyle açığa çıkarılan fenolün, kolorimetrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (78). Sonuçlar enzim aktivitesi çok yüksek düzeylerde olduğu için kU/L olarak ifade edilir.

3.8.Kazpaz-3 ve Kazpaz-8 ile Boyanma

Kornea dokuları % 10 formaldehit ile fikse edildi. Parafin bloklardan alınan 4 mm kesitler kaspaz -3 ve kaspaz -8 ile standart yöntemle boyandı. Tonsillerdoku kontrol olarak kullanıldı ve tüm örnekler ışık mikroskobu (Olympus BX51TF Olympus Corp., Tokyo, Japonya) yardımıyla değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyanma yarı kantitatif olarak aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir: - ; negatif boyanma, + ; Zayıf boyanma, ++ ; Orta boyanma ve +++ şiddetli boyanma

3.9.Yapılan İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS 11,5 sürümü (SPSS Inc. Chicago USA) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar median (maksimum- minimum değer) olarak verildi. İstatistiksel analizde nonparametrik test olan ANOVA testi uygulandı. Gruplara arasındaki karşılaştırma için Bonferoni analizi yapıldı. Kazpaz 3 ve 8 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılmasında χ^2 testi ile yapıldı. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmamızda ağırlıkları 180-240 gr arasında olan erkek erişkin Wistar-albino rat kullanıldı. Sham, BSS ve ilaç gruplarının her birinde denek sayısı n:10 olarak belirlendi. Toplam rat sayısı 30 olarak planlandı. BSS grubundan bir adet rat ikinci gün kafesinde ölü olarak bulundu. Çalışmamız 10 adet sham, 9 adet BSS ve 10 adet sefuroksim grubu ile tamamlandı.

4.1.Oksidatif Stres ile İlgili Bulgular

Oksidatif stres parametreleri ile ilgili olarak deney gruplarında Erel yöntemi ile TAS, TOS değeri çalışıldı OSİ değeri hesaplandı, PON ve Arilesteraz düzeylerine bakıldı. Sonuçlar tablo halinde gösterildi (Tablo 5,6).

Serum örneklerinde; TAS, OSİ ve Arilesteraz gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark yoktu. PON düzeyi açısından sham ile sefuroksim grupları arasında anlamlı bir fark bulundu (P= 0.027). TOS düzeyi açısından sefuroksim ile BSS grubu arasındaki fark anlamlıydı(P= 0.023).

Kornea dokusunda; TOS, PON ve Arilesteraz gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark yoktu. TAS düzeyleri sefuroksim ile sham grupları arasında (P< 0.001) ve sefuroksim ile BSS grupları arasında (P< 0.001) anlamlı fark bulundu. BSS ve sham grupları arasında TAS düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu. OSİ düzeyleri sefuroksim ile BSS grupları arasında (P= 0.001) ve sefuroksim ile sham grupları arasında (P =0.026) anlamlı fark bulundu.

Tablo-5:Serumda oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Gruplar	Sham grubu (n =10)	BSS grubu (n = 9)	Sefuroksim grubu (n= 10)	P
TAS(mmolTrolox@equiv /L)	0.96 (0.83- 1.08)	1.02 (0.86- 1.17)	0.93 (0.77- 1.11)	0.210
TOS(mmol H ₂ O ₂ equiv/L)	22.24(12.53- 26.56)	25.19(18.43- 37.27) ^{c*}	16.94 (14.45-26.64)	0.026
OSİ(Arbitrary Unit)	2.31 (1.46- 3.16)	2.53 (1.78- 3.18)	2.03 (1.52- 2.40)	0.070
PON(ünite/litre U/L)	112.23(70.63- 144.50) ^{b*}	99.79(76.46- 108.22)	90.07 (76.92- 110.81)	0.024
Arilesteraz (U/L)	136.50 (83.56- 175.06)	120.41(96.66- 132.70)	115.45(88.81- 135.27)	0.132

TAS; Total antioksidan seviye, **TOS;** Total oksidan seviye, **OSI;** Oksidatif stres indeksi, **PON;** Paraoksonaz ve Arilesteraz

Tablo-6: Kornea dokusu oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

Gruplar	Sham grubu (n =10)	BSS grubu(n = 9)	Sefuroksim grubu (n= 10)	<i>p</i>
TAS(mmolTrolox®equiv/L)	0.06 (0.05-0.10) ^{b***}	0.04 (0.02-0.16) ^{c***}	0.19 (0.12- 0.47)	<0.001
TOS(mmol H ₂ O ₂ equiv/L)	8.19 (7.05- 10.25)	7.34 (5.92- 10.19)	8.67 (6.56-10.86)	0.140
OSİ(Arbitrary Unit)	12.20 (7.19- 15.73) ^{b*}	14.88(4.10-32.87) ^{c**}	4.13 (2.30- 7.78)	0.001
PON(ünite/litre U/L)	3.86 (2.01-5.61)	3.54 (0.57-6.26)	4.24 (1.86- 7.76)	0.453
Arilesteraz (U/L)	5.24 (1.94-6.02)	2.81 (2.15- 4.80)	3.08 (1.10- 10.49)	0.397

TAS; Total antioksidan seviye, **TOS;**Total oksidan seviye, **OSİ;**Oksidatif stres indeksi, **PON;** Paraoksonaz ve Arilesteraz.

*: P<0.050

** : P<0.010

***: P<0.001

- Sham grubu ile BSS grubu arasında anlamlı fark vardır.
- Sefuroksim ile Sham grubu grubu arasında anlamlı fark vardır.
- Sefuroksim grubu ile BSS grubu arasında anlamlı fark vardır.

4.2 Apoptozis ile İlgili Bulgular

Kornea endotelinin incelenmesinde; Kaspaz-3 ve kaspaz-8 ile immünohistokimyasal boyama sonuçlarına göre; Sefuroksim BSS grubu ile kaspaz-3 aktivitesi yönünden anlamlı bir ilişkiye sahipken (P= 0.007), kaspaz-8 aktivitesi yönünden fark tespit edilmedi (P=0.541).

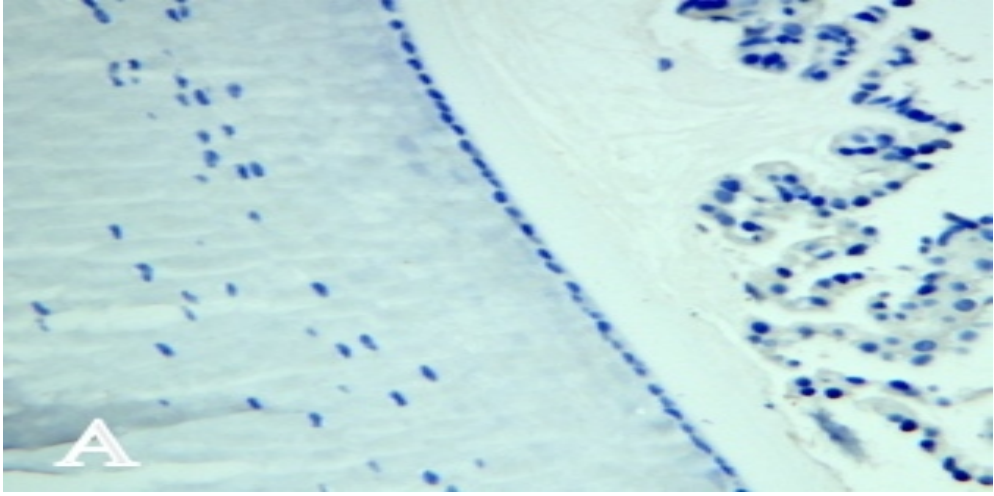
Sefuroksimin sham grubu ile kaspaz-3 (P= 0.270) ve kaspaz-8 (P= 0.494) aktivitesi yönündende fark tespit edilemedi (Tablo 7, Resim 3-10).

Sham ile BSS grupları arasında kaspaz-3 aktivitesi yönünden anlamlı bir ilişkiye sahipken (P= 0.018), kaspaz-8 aktivitesi yönünden fark tespit edilmedi (P=0.623).

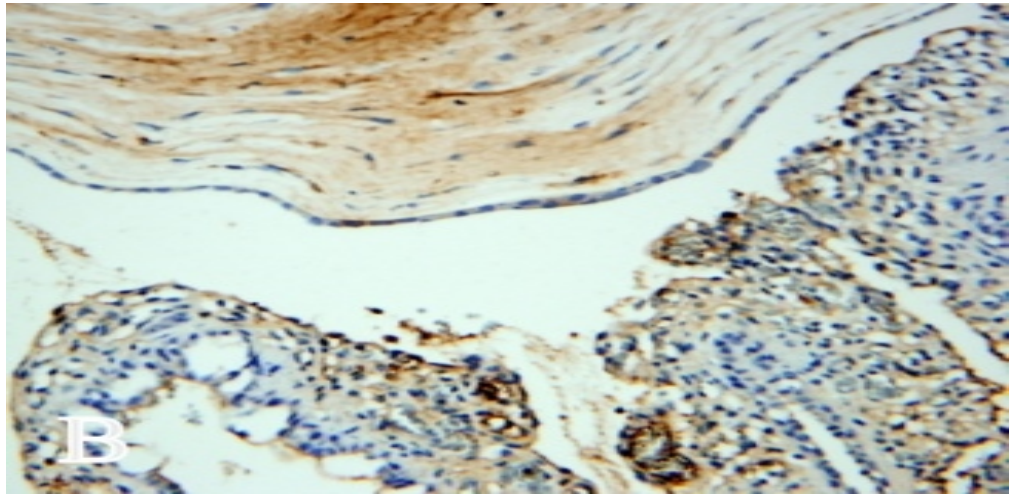
Tablo-7:İmmünohistokimyasal kaspaz-3 ve kaspaz-8 boyanma sonuçlarının karşılaştırılması

Kaspaz -3	-	+	++	+++	Kaspaz -8	-	+	++	+++
Sham grubu	5	5	0	0	4	4	1	1	
BSS grubu	6	0	3	0	2	3	3	1	
Sefuroksim grubu	2	7	1	0	2	6	2	0	

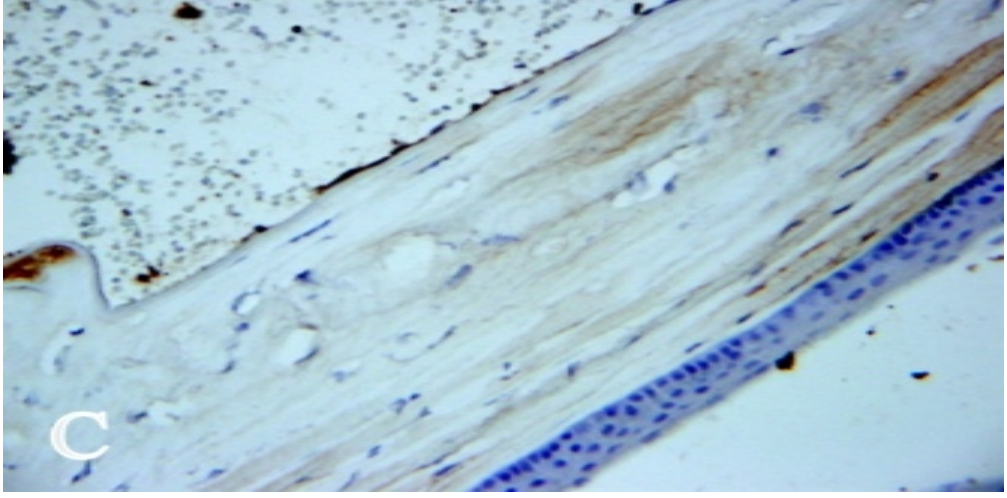
(-) : Negatif boyanma, (+) : Zayıf boyanma, (++) : Orta boyanma, (+++) : Yoğun boyanma



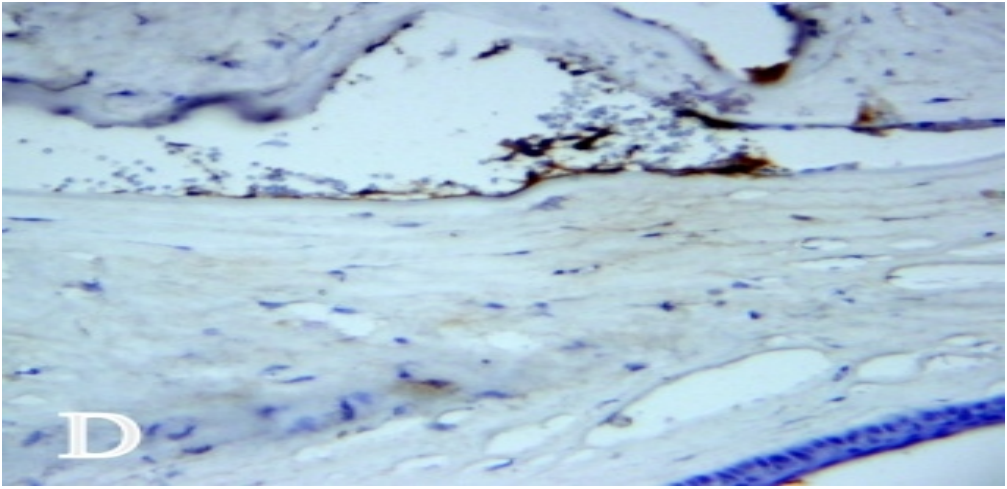
Resim-3: Kornea endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; negatif (A),



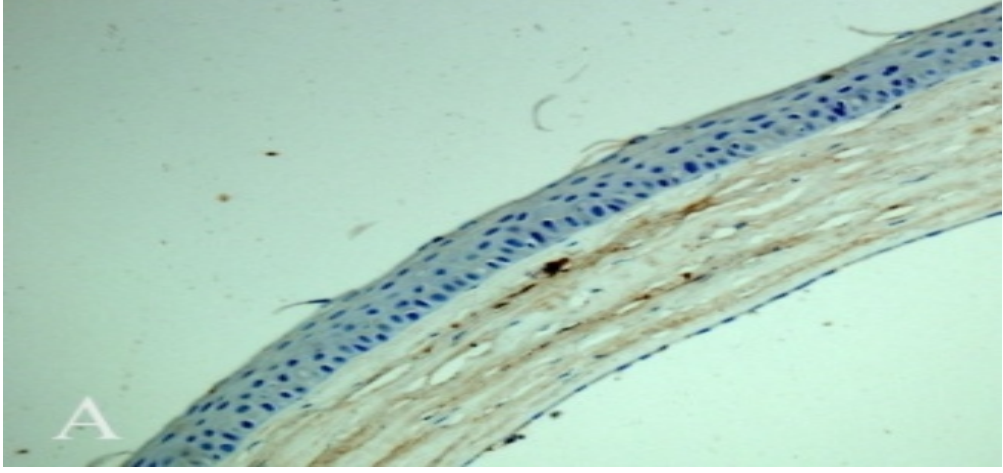
Resim-4: Kornea endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; zayıf (B)



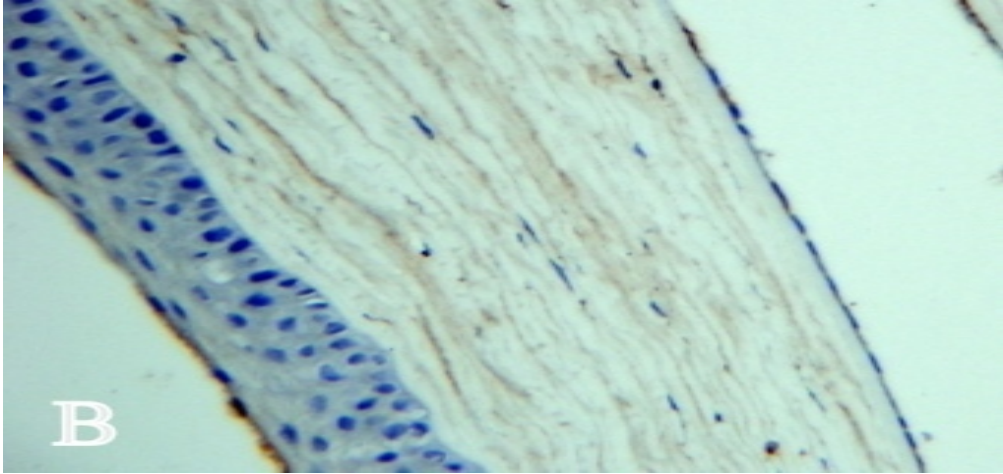
Resim-5: Kornea endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; orta (C)



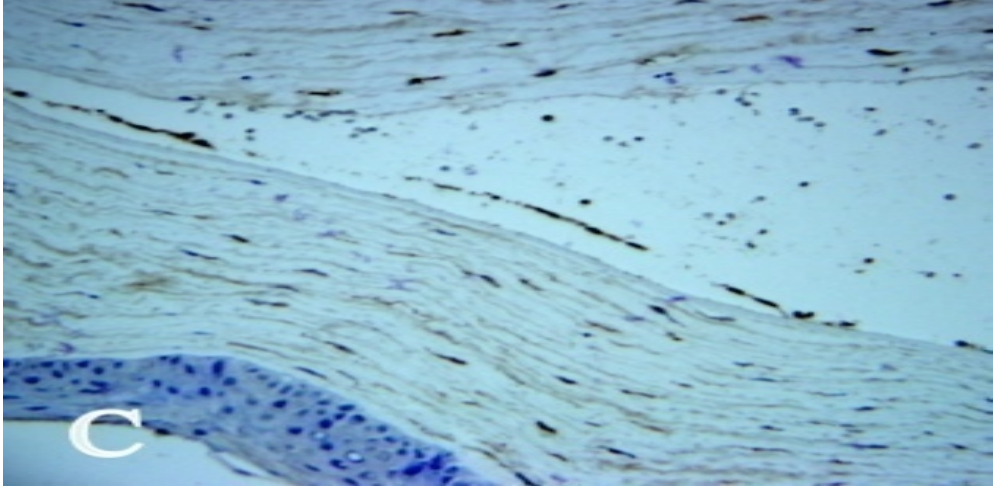
Resim-6:Kornea endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-3 boyama; yoğun (D)



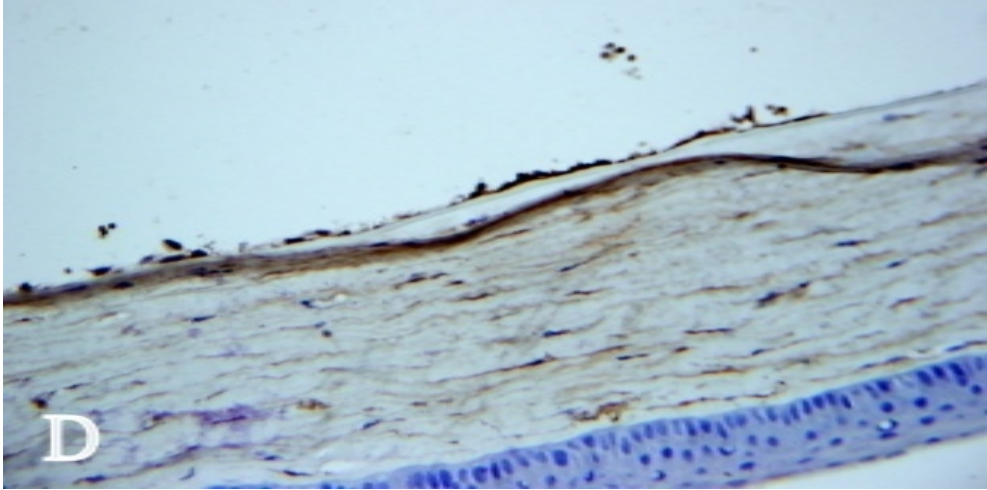
Resim-7: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; negatif (A)



Resim-8: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; zayıf (B)



Resim-9: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; orta (C)



Resim-10: Endotel hücrelerinin immünohistokimyasal kaspaz-8 boyama; yoğun (D)

5.TARTIŞMA

Sefuroksim intraoküler cerrahide endoftalmi profilaksisi için uygulanmaktadır. Sefuroksim kullanımı ile ilgili bazı komplikasyonlarla ilgili yayınlardan dolayı, sefuroksimin kornea ve kanda oksidatif stres ve apoptozis üzerine olan etkilerini araştırmak için deneysel çalışma planladık. İnsan kornea dokusu üzerinde yapılamadığı için bu çalışmayı deney hayvanlarında yaptık. Deney hayvanı olarak kullanılan ratların kornea dokularının immunohistokimyasal olarak incelemesinde; I) Sefuroksim ile BSS grubları arasındaki karşılaştırmada, kaspaz 8 aktive olmazken kaspaz 3 aktive olmakta ve apoptozis indüklenmektedir. II) BSS ile sham grubunun kaspaz 3 aktivitesi karşılaştırıldığında, BSS'in apoptozise karşı koruyucu rolünün olabileceği desteklenmektedir. Kaspaz 8 aktivitesi yönünden iki grup arasında anlamlı fark yoktur. III) Sefuroksim ve sham grubu arasında Kaspaz 3 ve 8 aktiviteleri arasında anlamlı fark yoktur.

Serumda oksidatif stresin araştırılmasında; IV) Her ne kadar BSS ile sefuroksim arasında TOS yönünden bakıldığında anlamlı sonuç bulunsa da, OSİ yönünden anlamlı farklılık olmaması TOS'un negatif etkilerinin TAS tarafından nötralize edildiğini düşündürmektedir. Kullanılan ilaçların serumda oksidatif stres üzerinde etkisinin olmadığını göstermektedir.

Korneanın biyokimyasal olarak oksidatif stres düzeyinin incelenmesinde; V) TAS düzeylerinde sefuroksim ile sham grubu arasında anlamlı farklılık mevcuttur. Bu farklılık sefuroksimin oksidatif stresi arttırması şeklinde olmaktadır. VI) TAS düzeylerinde sefuroksim ile BSS grubu arasında karşılaştırıldığında, sefuroksimin oksidatif stresi arttırdığı bulunmuştur. Bu bize BSS'in, korneada apoptoza karşı koruyucu rolü olduğunu göstermektedir. VII) OSİ'de sefuroksim ile sham grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada, sefuroksimin oksidatif stresi artırıcı rolünü göstermektedir. VIII) OSİ'de sefuroksim ile BSS grubu arasındaki istatistiksel karşılaştırmada, BSS'in oksidatif strese karşı koruyucu rolünü göstermektedir.

Oksijen; hidrojen, karbon, nitrojen ve kükürt ile birlikte organik moleküllerin temel yapı taşlarını oluşturur (47). Oksijen hayatın devam ettirilmesi için önemli bir moleküldür. Ancak oksijenin vücutta kullanımı sırasında serbest radikaller olarak bilinen ve lipid, protein ve DNA gibi hücrenin hayati bileşenlerine hasar veren son derece reaktif ara metabolitler oluşmaktadır

(48,49). Organizmada en aktif radikal üreticiler fagositik hücrelerdir. Membranı oluşturan fosfolipitler, glikolipitler, gliseritler, DNA, doymamış yağ asitleri ve membran proteinleri gibi oksitlenebilen tüm hücre elemanları radikaller için çekici hedefleri oluştururlar (50). Vücutta metabolizma sonucu oluşan bu reaktif metabolitleri ortadan kaldırmak ve hasar oluşumunu engellemek için antioksidan sistem olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları vardır. Zaman zaman oksidan moleküller, belirli düzeyin üstüne çıkarak reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu durduramamakta ve antioksidatif defans mekanizma dengesini bozmaktadır (51,52).

Organizmada enerji açığa çıkması, metabolik süreçlerde ortaya çıkan serbest elektronların bir sistemden diğerine aktarılmasının sonucunda oluşmaktadır. Bu esnada elektron transfer zincirinden sızan elektronların oluşturduğu oksiradikaller hücrelerde bütünlük ve geçirgenlik bozuklukları oluşturmakta ve organizmaya zarar vermektedir (48).

Sefuroksimin kornea endotel hücreler üzerine ve serumda oksidatif stres üzerine etkisi ile ilgili literatür çalışması yoktu. Fakat oksidatif stres ile ilgili yapılan göz çalışmalarında; Shin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada insan kornea endotel hücre kültürü çalışmasında, Clusterin (apolipoprotein J) 'nin oksidatif strese bağlı hücre ölümüne karşı koruyucu olabileceği ifade edilmektedir (79). Wistar ratlar üzerinde yapılan deneysel *Aspergillus flavus* ile oluşturulan fungal keratitte, oksidatif stresin artmış olduğu vurgulanmıştır (80). Başka bir çalışmada, kornea lokalizasyonu ve işlevi nedeniyle, güneş ışığı ve atmosferik oksijene maruz kaldığından dolayı oksidatif stres düzeyinde artma meydana gelmektedir. Keratokonus ve Fuchs'un endotelial distrofinin patolojisinde oksidatif stresin önemli rolü olduğu bu çalışmada vurgulanmıştır (81). Bizim çalışmamızda ratlarda intrakameral olarak verilen sefuroksim, serumda oksidatif stres düzeyini etkilemezken korneada oksidatif stresi artırmaktadır.

Oksidatif stres, apoptozisi indükleyen faktörlerden birisidir. Apoptozis, gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı olarak ölümüdür. Deri, gastrointestinal sistem ve immün sistem gibi pek çok dokuda devamlılık apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlıdır (26).

Wyllie, 1980 yılında deneysel apoptozisi, glukokortikoidlere maruz bırakılan olgunlaşmamış timus hücrelerinde gerçekleştirmiş ve apoptotik hücre DNA'sının elektroforetik jel ayrımını yaparak, hücrede DNA bütünlüğünün kalmadığını, apoptotik hücre için karakteristik olan merdiven tarzında DNA bantlarının oluştuğunu göstermiştir (30).

1993 yılında Cohen ve arkadaşları yüksek dozda kullanılan steroidlerin timus hücreleri üzerine etkilerini incelemiş ve timus hücrelerinde direkt olarak apoptozisin gerçekleşmediği, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturulmasından sonra, hücreleri apoptozise yönlendirdiğini bildirmişlerdir (31). Böylece bu çalışma ile apoptozisin genler tarafından kontrol edilen programlı bir hücre ölümü olduğu ortaya çıkmıştır (32).

Sefuroksimin kornea endotel hücreleri üzerine apoptotik etkisi ile ilgili araştırdığımız kadarıyla literatür çalışmasına rastlamadık. Fakat apoptozis ile ilgili yapılan göz çalışmalarında; L-karnitin ile insan korneal epitel hücrelerinde apoptozisle ilgili olarak yapılan çalışmada, L-karnitin hiperosmotik stres altındaki insan kornea hücrelerinin hacmini düzenleyici ve hiperosmotik strese bağlı apoptozisi azaltabileceği belirtilmiştir (82). Domuz kornea endotel hücre kültüründe yapılan çalışmada, mitomisin'in indüklediği hücre apoptozis, kaspaz-8 ve kaspaz-9 aracılığıyla olduğu gösterilmiştir. Bunun da, mitokondriyal düzenleme yolları ile p53-bağımlı ve p21-bağımlı sinyal iletim yollarının üzerinden olabileceği vurgulanmıştır (83). Lipid peroksidasyonu ve apoptozis ile ilgili olarak endotel hücreleri üzerinde vitamin takviyesinin direkt etkisini test etmek için, in vitro bir modelin sunulduğu başka bir çalışmada, kornea endotel hücrelerinin antioksidan vitaminlerin kullanımı ile serbest radikal hasarında anlamlı azalma olduğu, lipid peroksidasyonu ve buna bağlı apoptozis oluşumunu engellediği gösterilmiştir (84).

Göz içi cerrahilerinin korkutan sonucu olan endoftalmi hastalara intravitreal enjeksiyon ve bazen de vitrektomi gerekebilmektedir. Endoftalmi gözün görme kaybına neden olabilmektedir. Bundan dolayı cerrahlar endoftalmi sebeplerini tespit etmede ve önlemede farklı çalışmalar ve uygulamalar yapmışlardır.

20.yy başlarında (1910), katarakt operasyonları sonrası endoftalmi insidansı %10 olarak saptanmıştır. Ekstra-kapsüler katarakt ekstraksiyonu (EKKE) tekniğinin geliştirilmesi ve sterilite koşullarının gelişmesi ile (1970-1990), enfeksiyon oranları Avrupa'da %0.12 ve ABD'de %0.072'ye düşmüştür. Öte yandan, fakoemülsifikasyon tekniği ve saydam korneal kesinin

kullanılmasından bu yana, fakoemülsifikasyon ile ilgili retrospektif veri oranları % 0.1 ve 0.5 düzeylerine ulaşmıştır (85).

Oküler cerrahi sonrası enfeksiyona sebep olan mikroorganizmalar, genellikle kapak veya konjonktiva florasından kaynaklandığı bilinmektedir. Aynı zamanda havadan bulaşma, bozulmuş göz içi solüsyonlar, intraoküler lensler, ameliyat cihaz veya setlerinin kullanımından ya da personelden kaynaklanabilmektedir (86). Endoftalmiyi önlemede asepsi ve antisepsi kurallarına uymanın yanısıra povidon iyot kullanmanın ve çağdaş cerrahi tekniklerinin uygulanması önemlidir. Bunlara ilaveten antibiyotiklerin de cerrahinin her evresinde uygulanması ile olumlu sonuçlar elde edilmesi bu konudaki çalışmalarını arttırmıştır (20).

Operasyon öncesinde % 5' lik povidon iyodin kullanılması, göz yüzeyindeki bakteri sayısını azaltarak endoftalmi riskini ciddi olarak azaltan ispatlanmış bir yöntemdir (87).

Topikal olarak antibiyotiklerin kullanılması endoftalminin insidansını azaltabileceği üzerine öne sürülen düşüncelerden birisidir. Fakat fikir birliğine varılamamış tartışmalı konulardan olup, antimikrobik ilaçlara direnç gelişmesine neden olan uygulama yöntemidir (88).

Aaberg ve ark. yapmış oldukları bir çalışmada, endoftalmi görülen olguların yaklaşık olarak % 40'ı ameliyat öncesi topikal antibiyotik ve %85'i ise perioperatif antibiyotik kullanan olgulardı. İzole edilen organizmaların genellikle profilaksi için kullanılan antibiyotiklere hassas oldukları tespit edilmiştir (89).

Wallin ve ark. sütürsüz olarak yapılan katarakt cerrahisinde yara yeri problemini araştırdıkları geniş retrospektif kohort çalışmasını kendi merkezlerinde yürütmüşlerdir. Cerrahi komplikasyonların yanında yara yeri açıklığının, ameliyat sonrası endoftalmisi ile çok güçlü bir ilişkisinin olduğunu bildirmişlerdir (90).

BSS irigasyon solüsyonuna antibiyotik eklenmesi bir diğer kullanılan yöntemdir. 0.1 ml (4 mg) gentamisin 500 ml BSS şişesine ilave edilerek 8µg/ml konsantrasyon sağlanılarak cerrahide kullanılabilir. Fakat deneysel çalışmalar irigasyon solüsyonlarının içine konularak verilen antibiyotiklerin farmakodinamik ve farmakokinetik verilerine bakıldığında, çoğunun yeterli

etkinlik gösteremeyecek seviyelerde olduğu ve bakterisidal etki göstermek için göz içinde yeterli süre kalamadıklarını ve hızla elimine olduklarını göstermektedir (91,92,93).

Cerrahi sırasında kullanılan irrigasyon sıvılarıyla, ön kamerada ameliyat öncesi proflaktik antibiyotikler ile sağlanmış olan göz içi antibiyotik seviyesinin hızlıca dilüe olması kaçınılmazdır. Bundan dolayı intrakameral antibiyotik uygulaması nisbeten daha sık olarak kullanılmaktadır (94,95).

Proflaktik antibiyotik kullanımının amacı ameliyat sırasında ortamda bulunan mikroorganizmaların endoftalmi oluşturmalarını önlemektir. İntrakameral antibiyotik uygulaması hasta için, yüksek göz içi biyoyararlanım ve ameliyat sonunda etkili göz içi konsantrasyon sağlamaktadır (96).

Ön kamaraya cerrahi sonunda antibiyotik verilmesinde vankomisin ilk denenen antibiyotiktir (97). Daha sonra sefuroksimin vankomisine oranla daha kullanışlı ve etkili olduğu gösterilmiştir (96). Son zamanlarda ise moksifloksasin güncelliğini korumaktadır (98).

Vankomisin uygulamasının kistoid maküla ödemini arttırdığı bildirilmiştir (93). Gram negatif mikroorganizmalara etkili olmaması vankomisinin zayıf yönüdür. Vankomisinin kullanımına karşı en büyük kaygı artan ilaç direncinden kaynaklanmaktadır. Vankomisin tipik olarak hayatı tehdit eden veya diğer antimikrobik tedavilere karşı direnç gösteren bakteriyel enfeksiyonlar da kullanılır. Amerikan Hastalıkları Engelleme ve Kontrol Merkezi vankomisine karşı artan direncin bilincinde olarak uyarıda bulunmuş ve katarakt ameliyatlarında vankomisin kullanılmamasını tavsiye etmiştir (99).

Yakın zamanda sefuroksim antibiyotik olarak kullanılmaya ve önerilmeye başlanmıştır (100,101). Sefuroksim beta laktam grubu 2. kuşak bir sefalosporindir. Vankomisinden daha az gram pozitif etkinlik sağlarken aynı zamanda gram negatif etkinlik de sağlar. Sefuroksim zaman bağımlı, yavaş etkili ve bakteriöldürücü bir antibiyotiktir. Metisiline dirençli S.aureus, Psödomonas ve Enterokoklara karşı etkisizdir (17).

Yu Wai Man ve ark. (101) yaptıkları geriye dönük çalışmada yıllar içerisinde antibiyotik kullanımının değişimine göre endoftalmi oranlarını bildirmiştir. Konjonktiva altına sefuroksim uyguladıkları yıllarda 19425 hastada 27 (%0.13), antibiyotik uygulanmayan 6 aylık dönemde 427 hastada 7 (%1.6), ön kamaraya sefuroksim verilen zamanda 17318 hastada 8 (%0.046) ve ESCRS çalışmasına katılıp herhangi bir grupta olan 1649 hastada 4 (%0.24) endoftalmi görülmüştür. Önkamaraya sefuroksim verilmesinin ardından endoftalmi görülme sıklığının konjonktiva altına sefuroksim verilenlere oranla 3 kat azaldığını bildirmiştir.

Montan ve ark. (95) yaptıkları çalışmada 32180 hastanın ön kamarasına 1mg/0,1 ml sefuroksim vermiş ve 20 endoftalmiye (%0.06) rastlamıştır. Kültürde üremesi olan 13 örnekten 12 sinin sefuroksime dirençli olduğu bildirmiştir. Montan ve ark. (102) yaptıkları başka bir çalışmada ön kamaraya sefuroksimin uygulandığı 45 kontrol hastası, ilaç uygulanan 45 hastanın kornea endotel sayısı, ön kamara hücre yoğunluğuna ve kistoid maküla ödemi gelişimine bakmışlardır. Ameliyat sonrası kontrol grubuyla aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Yapılan çalışmalarda katarakt cerrahisi sonrası ön kamaraya sefuroksim verilen grupla kontrol grubu arasında maküla kalınlıklarında ve kistoid maküla ödemi gelişiminde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (95,103).

Demirel ve ark. (104) yaptıkları çalışmada intrakameral sefuroksim uygulanması sonrası tavşan kornealarında elektron mikroskopi düzeyinde histolojik değişikliklere rastlanmamıştır. Daha önce Montan ve arkadaşlarının yapmış oldukları benzer çalışmada ilacın güvenilirliği; speküler mikroskopi ile endotel sayısı ölçümü, laser flare fotometre ile aköz protein konsantrasyonu ölçümü (kan aköz bariyerini değerlendirmek amacı ile), görme düzeyi ve klinik olarak kistoid maküler ödem değerlendirilmesi şeklinde değerlendirilmiş ve sonuçta ilacın uygulanmadığı kontrol grubu ile ilaç uygulanan grup arasında fark saptanmamıştır (102). Bizim deneysel çalışmamızda serumda oksidatif stres düzeyinde kontrol grupları ile anlamlı farklılığa rastlanılmamıştır.

Sefuroksimin stafilokoklarla yapılmış bakterisid etkisi üzerine yapılan çalışmada, sefuroksim 3 saatte 1log hücre öldürmüştür (örn. 106'dan 105'e düşüş). Moksifloksasin ise 2 saatten az sürede 3 log (>%99.9) bakteri öldürmüştür. Sefuroksim yüksek dozda olsa bile zaman

bağımlıdır. Bu sonuç sefuroksim verilmesine karşı endoftalmi gelişen olgular için bir açıklama olabilir (105,106).

Yoeruek ve ark. (107) yaptıkları çalışmada, kültür ortamında insan kornea endoteli üzerinde sefuroksim ve vankomisin sitotoksik ve apoptotik özelliklerini karşılaştırılmış. Doza bağımlı bir toksisite gösterilmiş, güvenlik aralıklarının dar olduğu ve daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılmasının geri dönüşümsüz hücre ölümüne neden olabileceği bildirilmiştir.

Tavşan gözlerinde yapılan bir çalışmada kornea endotel hücrelerinin toksik ajanlara karşı çok duyarlı olduğu gösterilmiştir. İntrakameral kullanılan sefuroksimin hazırlanırken doz ayarlamasının uygun yapılmasının önemi belirtilmiştir (108).

Akal ve ark. (109) yaptıkları intrakameral moksifloksasilin kullanılan çalışmada, ratlara uygulanan intrakameral moksifloksasinin, kornea endotelinde ve serumda oksidatif stresi artırdığı ve apoptozisi aktive ettiği bildirilmiştir. Araştırdığımız kadarıyla literatür de intrakameral sefuroksimin, oksidatif stres ve apoptozis üzerine etkileri ile ilgili çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda intrakameral sefuroksim, kornea endotel hücrelerinde apoptotik aktiviteyi ve oksidatif stresi artırmaktadır. Ayrıca çalışmamızda esas konumuzla ilgili olmamasına rağmen BSS'in kornea endotel hücreleri üzerinde apoptozise karşı koruyucu rolünün olabileceği yönünde sonuçlar elde ettik. İntraoküler cerrahilerde BSS kullanımı endotel hücrelerinde apoptozisi azaltıcı etkisinden dolayı mutlaka kullanılmasının gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, intrakameral olarak bakterisidal etki için uygulanan sefuroksim, kornea üzerinde oksidatif stresi artırıcı etkisi ve aynı zamanda apoptozis üzerine indükleyici etkisi tespit edilmiştir.

6.SONUÇ

İntrakameral sefuroksim uygulanan deney hayvanlarının kornealarının immunohistokimyasal olarak incelenmesinde sefuroksim, sham ve BSS gruplarına göre apoptozisi artırmaktadır. BSS'in, sham ve sefuroksim ile karşılaştırıldığında apoptozise karşı koruyucu olduğu görülmektedir.

Deney hayvanlarının serumlarında, OSİ yönünden fark olmadığı için, intrakameral ilaç kullanımının serumda oksidatif stres üzerine farklılık oluşturmadığını göstermektedir.

İntrakameral olarak bakterisidal etki için uygulanan sefuroksim, kornea üzerinde oksidatif stresi artırıcı etkisi ve aynı zamanda apoptozis üzerine indükleyici etkisi bulunmaktadır.

Bu ilacın gözde kullanımı ile ilgili fazla sayıda hayvan kullanılan, başka ilaçlarla karşılaştırmalı çalışmaların yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- 1- Özçetin H, Kaynak S. Vitreoretinal Cerrahi. Türk Oftalmoloji Derneği Eğitim Yayınları No: 3, 1.baskı, Bölüm XIV Endoftalimde Klinik Tanı ve Tedavi Yöntemleri, İstanbul, Scala Basım yayım 2005; 325-401
- 2- Barry P. Adoption of intracameral antibiotic prophylaxis of endophthalmitis following cataract surgery: Update on the ESCRS Endophthalmitis Study. J Cataract Refract Surg. 2014 Jan;40(1):138-42.
- 3- Olavi P. Ocular toxicity in cataract surgery because of inaccurate preparation and erroneous use of 50mg/ml intracameral cefuroxime. Acta Ophthalmol. 2012 Mar;90(2):1534-5.
- 4- Lam PT, Young AL, Cheng LL, Tam PM, Lee VY. Randomized controlled trial on the safety of intracameral cephalosporins in cataract surgery. Clin Ophthalmol. 2010 Dec 8;4: 1499-504.
- 5- Çiftçi S, Çiftçi L, Dağ U. Hemorrhagic retinal infarction due to inadvertent overdose of cefuroxime in cases of complicated cataract surgery: retrospective case series. Am J Ophthalmol. 2014 Feb; 157(2): 421-5.
- 6- Mather R, Karenchak LM, Romanowski EG, Kowalski RP. Fourth generation fluoroquinolones: new weapons in the Arsenal of ophthalmic antibiotics. Am J Ophthalmol 2002;133:463-6
- 7- Bengisu Ü. Göz Hastalıkları,. Ankara, Palme Yayın Dağıtım Pazarlama 1998; 4baskı: 69-70.
- 8- Cibis GW, Abdel- Latif AA, Bron AJ, Tripathi RC, Chalam KV, Tripathi BJ, Wiggs J.: Fundamentals and Principles of Ophtalmology, 2.section, American Academy of Ophtalmology, Taylor Fran, USA, 2004; 150.
- 9- Türk Oftalmoloji Derneği Eğitim Yayınları No:11, Kornea, 2009;13-9.
- 10-Myron Yanoff- Jay S. Duker. Ophtalmology. Ming X. Wang, Carol L. Karp, Robert P. Selkin, Dimitri T. Azar. Mosby Edition. 2009; (Chapter 5): 1-12
- 11-Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). Ophthalmology. 2013 Sep;120(9):1778-85.
- 12-Hoffer KJ, Kraff MC. Normal endothelial cell count range. Ophthalmology 1980; 87:861-5.
- 13-Tuft SJ, Coster DJ. The corneal endothelium. Eye 1990; 4:389-424.

- 14-**Honda H, Ogita Y, Higuchi S et al. Cell movements in a living mammalian tissue: Long term observations of individual cell in wounded endothelia of cats. *J Morphol* 1982; 174:25-39.
- 15-**Duane's Clinical Ophthalmology. Gross Anatomy Cornea and Sklera. Philadelphia. CD-ROM Edition Lippincott William and Wilkins. Folio co,2002; Vol 2. (Chapter 4); 109: 1834-7
- 16-**Li XZ, Ma D, Livermore DM, Nikaido H. Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: Active efflux as a contributing factor to betalactamresistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 1742-52.
- 17-**Queener SF, Webber AJ. Beta lactam antibiotics for clinical use 1986;10:307-8.
- 18-**Guerra R, Casu L, Giola L, Rizzu D, Cappuccinelli P. Penetration of parenteral cefuroxime into the human aqueous humor: *Arzneimittelforschung*. 1981;31(5):861- 3.
- 19-**Gh1a M, Lotti R, Traverso C. Penetration of cefuroxime axetil into human aqueous humor 1997;211(4):229-31.
- 20-**Koul S, Philipson A, Philipson B T, Kock E, Nylén P, Intraocular levels of cefuroxime in uninflamed rabbit eyes. *Acta Ophthalmol* 1990Aug; 68 : 455-65.
- 21-**Gonnering R, Edelhauser HF, Van Horn DL and Durant W. The Ph tolerance of rabbit and human corneal endothelium. *Investigative Ophthalmol Vis Sci* 1979; 18: 373-90.
- 22-**Edelhauser H F, Hanneken A M, Pederson H J, Van Horn D L Osmotic tolerance of rabbit and human corneal endothelium. *Archives of ophthalmology* 1981;99(7):1281-7.
- 23-**Kelkar A, Kelkar J, Amuaku W, Kelkar U, Shaikh A. How to prevent endophthalmitis in cataract surgeries. *Indian J Ophthalmol*. 2008;56:403-7.
- 24-**Ameisen J S. The origin of programmed cell death. *Science* 1996; 272: 1278-9.
- 25-**Thompson C B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
- 26-**Cohen JJ. Apoptosis. To be or not to be. *Postgraduate Syllabus (AAAA- I)* 1998;1:1-19.
- 27-**Bellamy C O, Malcomson R D, Harrison D J, Wyllie A H. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Cancer Biology* 1995; 6: 3-16.
- 28-**Majno G, Torisl A. Apoptosis oncosis and necrosis. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.
- 29-**Schwartzman R A, Cidloski J A. Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Reviews* 1993; 14: 133-44.
- 30-**Wyllie A H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555- 6.

- 31- Cohen J J. Apoptosis: The physiological pathway of cell death. *Hosp Pract* 1993; 15: 35-43.
- 32- Cohen J J. Apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 126-30.
- 33-Narula J, Kharbanda S, Khaw BA. Apoptosis and the Heart. *Chest* 1997;112:1358-62.
- 34-Gavrieli Y, Sherman Y, Sasson SAB. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Cell Biology* 1992;119: 493-501.
- 35-Wyllie AH. What is apoptosis? *Histopathology*. 1986; 10: 995-8.
- 36-Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis. *Pathology Annual* 1982;17:229-59.
- 37-Daniel NN, Korsmeyer SJ, Cell death: critical control points. *Cell*2004;116:205-19.
- 38-Kroemer G, Galluzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev*. 2007; 87: 99-163.
- 39-Smaili S, Hsu Y et al. Mitochondria in Ca²⁺ signaling and apoptosis. *J. Bioener and Biomem*.2000; 32(1):35-46.
- 40-Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E. et al: Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 2004; 52(6): 821-31.
- 41- Adams JM, Cory S. Life or death decions by the Bcl-2 family. *Trends. Biochem Sci*2001; 26: 61-6.
- 42-Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 390-7.
- 43-Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000;69: 217-45.
- 44-Palmer AM, Greengrass PM, Cavalla D. The role of mitochondria in apoptosis. *Drug News & Perspectives*, 2000; 13(6): 378-84.
- 45-Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanism in Fas mediated apoptosis. *Cell Signal* 2003;15: 983-92.
- 46-Öktem S, Özhan M H, Özol D Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2001; 2 (1): 91-5.
- 47-Sun T, Hu C. Antioxidant activites of buckweat extracts. *Food Chemistry*. 2005; 90: 743-9.
- 48-Fang Y.Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 2002; 18: 872-9.

- 49-Gök V, Kayacıer A, Telli R. Hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı doğal antioksidanlar. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi. 2006; 2: 35-40.
- 50-Fernandes A, Cromorty D, Albercht C, Jonson C. The antioxidant potential of sutherlandia frutescens. Journal of Ethnopharmacology. 2004; 95: 1-5.
- 51-Ricciarelli R, Argellati F, Pronzato M, Donenicotti C. Vitamin E and neurodegenerative diseases. Molecular Aspects of Medicine. 2007; 27: 591-606.
- 52-Wang Y, Chien Y, Pan T.. Effect of dietary supplementation of caretenoids on survival, growth, pigmentation, and antioxidant capacity of characins, *Hypssobrycon callistus*. Aquaculture. 2006; 261: 641-8.
- 53-Choi W, Benzic F, Collins A, Hannigon M, Strain J. Vitamin C and E: Acut interactive effects on biomarkers of antioxidant defance and oxidative stres. Mutation Research. 2004; 551: 109-17.
- 54-Kim JW, No JK, Ikeno Y, Yu BP, Choi JS, Yokozawa T, Chung HY. Age-related changes in redox status of rat serum. Arch Gerontol Geriat 2002; 34: 9-17.
- 55-Kılçksız S, Demirel C. Oksidatif stres, radyasyona bağlı hasar ve radyokoruyucu olarak N-asetil-sistein'in potansiyel rolü. Türk Onkoloji Dergisi. 2008;23(4):200-7.
- 56-Lakari E. Expression of Oxidant and Antioxidant Enzymes in Human Lung and Diseases. Oulu; 2002; 117:132-142.
- 57-Erel O. A noval automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem. 2004; 37: 112-9.
- 58-Ritola O, Livingstone D.R, Peters L.D, Lind P.S. Antioksidant processes are affected in juvenile rinbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to ozone and oxygen-supersaturated water. Aquaculture. 2002; 210: 1-19.
- 59-McLean J.A, Karadas F, Surai P.F, McDevitt R.M, Speake B.K. Lipid-soluble and water-soluble antioxidant activities of the avian intestinal mucosa at different sites along the intestinal tract. Comparative Biochemistry and Physiology. 2005; 141:366-72.
- 60-Yamamoto Y. Role of active oxygn species and antioxidants in photoaging. Journal of Dermatological Science, 2001; 27: 1-4.
- 61-Konukoğlu D, Akçay T. Glutatyon metabolizması ve klinik önemi. T Klin Tıp Bilimleri. 1995;15:214-8.
- 62-Jhonsson G. Antioxidant intake, plasma, antioxidants and oxidative stres in a randomized, controlled, parellel, mediterranean dietary intervention study on patients with rheumatoid arthritis. Nutrition Journal. 2003; 2(5): 81-90.

- 63-**Ceballos L, Triver JM, Nicole A. Age correlated modifications of copper- zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *J Clin Chem.* 1992; 36:66-70.
- 64-**Zamocky M, Koller F. Understanding the structure and function of catalases: clues from molecular evolution and in vitro mutagenesis. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 1999; 72: 19-66.
- 65-**M.F.C.M Knapen, Zusterzeel P.L.M, Peters W.H.M, Steegers E.A.P. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 1999; 82: 171-84.
- 66-**Zuckerbraun BS, Biliar TR. Heme oxygenase-1. A cellular Hercules. *Hepatology* 2003; 37: 742-3.
- 67-**Yao JK, Reddy R, McElhinny LG. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1998; 32: 1-8.
- 68-**Ghiselli A. Serafini M. Natella F. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000; 29: 1106-14.
- 69-**Rosenblat M, Karry R, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) is a more potent antioxidant and stimulant of macrophage cholesterol efflux, when present in HDL than in lipoprotein-deficient serum: relevance to diabetes. *Atherosclerosis* 2006; 187: 74-81.
- 70-**Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Vignini A, Curatola G. Copper-induced oxidative damage on astrocytes: protective effect exerted by human high density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1635: 48-54.
- 71-**Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry.* 2004 Apr; 37(4):277-85.
- 72-**Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry.* 2005 Dec; 38(12):1103-11.
- 73-**Yılmaz N, Vural H, Eren Z. Tip 2 Diabetik Hastalarda Diabet Süresinin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi. *Türkiye Tıp Dergisi* 2000; 7(1): 37-39.
- 74-**Kaya, H , Sogut, O , Gokdemir, MT, Albayrak, L, Taskin, A. The role of oxidative status in initial evaluation of paediatric patients with graded traumatic brain injury. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine.* Hong Kong College of Emergency Medicine; 2013 Haz 1; 20(4):225-6.

- 75-**Aycicek A, Erel O, Kocyigit A Increased oxidative stres in infants exposed o passive smoking. *Eur J Pediatr* 2005;164:775–8.
- 76-**Aycicek A., Varma M., Ahmet K., Abdurrahim K., Erel O.. Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in placental tissue. *Eur J Pediatr.* 2011 May;170(5):645-51.
- 77-**Eckerson HW, Wyte CM, La D, et al. The human serum paraoxonase/ arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983; 35:1126-38.
- 78-**Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (E.C.3.1.1.2.) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1992; 30: 391–5.
- 79-** Shin YJ, Kim JH, Seo JM, Lee SM, Hyon JY, Yu YS, Wee WR. Protective effect of clusterin on oxidative stress-induced cell death of human corneal endothelial cells. *Mol Vis.* 2009 Dec 16; 15: 2789-95.
- 80-**Leema G, Muralidharan AR, Annadurai T, Kaliampurthy J, Geraldine P, Thomas PA. Oxidative stress in experimental rodent corneas infected with aflatoxigenic a nonaflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Cornea.* 2013 Jun; 32(6): 867-74.
- 81-**Wojcik KA, Kaminska A, Blasiak J, Szaflik J, Szaflik JP. Oxidative stress in the pathogenesis of keratoconus and Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Int J Mol Sci.* 2013 Sep 23;14(9): 294-308.
- 82-**Khandekar N, Willcox MD, Shih S, Simmons P, Vehige J, Garrett Q. Decrease in hyperosmotic stress-induced corneal epithelial cell apoptosis by L-carnitine. *Mol Vis.* 2013 Sep 19;19: 1945-56.
- 83-**Wu KY, Wang HZ, Hong SJ. Mechanism of mitomycin-induced apoptosis in cultured corneal endothelial cells. *Mol Vis.* 2008 Sep 15;14: 1705-12.
- 84-**Serbecic N, Beutelspacher SC. Vitamins inhibit oxidant-induced apoptosis of corneal endothelial cells. *Jpn J Ophthalmol.* 2005 Sep-Oct; 49(5): 355-62.
- 85-**Taban M, Behrens A, Newcomb RL et al. Acute endohthalmitis following cataract surgery. A systematic review of the literature. *Arch ophtalmol* 2005; 123: 613-20.
- 86-**Jack J. Kanski. *Acute Bacterial Endophthalmitis.* *Clinical Ophthalmology* Sixth Ed. 2007;12: 354-9.
- 87-**Apt L. Isenberg Sj. Yoshimori R et al. Chemical preparation of the eye in ophthalmic surgery: part III. Effect of povidone- iodine on the conjonktiva 1984; 102:728-9.

- 88-**Forster RK. Abboth RL. Gelender H: Management of infectious endophthalmitis. *Ophthalmology* 1980; 87: 313-9.
- 89-**Ayberg TM. Flynn H. Pflugferder S et al. Nosocomial acute-onset postoperative endophthalmitis survey. A 10- years review of incidence and outcomes. *Ophthalmology* 1998; 105:1004-10.
- 90-**Wallin T, Parker J, Jin Y et al. Cohort study of 27 cases of endophthalmitis at a single institution. *J Cataract Refract Surg* 2005; 31: 735-41.
- 91-**Alfonso EC. Flynn HW Jr: Controversies in endophthalmitis prevention. The risk for emerging resistance to vancomycin. *Arch Ophthalmol* 1995; 113:1369-70.
- 92-**Gritz DC. Cevallos AV. Smolin G et al. Antibiotic supplementation intraocular irrigating solution. An in vitro model of antibacterial action. *Ophthalmology* 1996; 103:1204-9.
- 93-**Axer-Siegel R, Stiebel-Kalish H, Rosenblatt I, et al. Cystoid macular edema after cataract surgery with intraocular vancomycin. *Ophthalmology* 1999; 106:1660-4.
- 94-**Schmitz S, Dick B, Krummenauer F, Pfeiffer N: Endophthalmitis in cataract surgery. Results of a German survey. *Ophthalmol* 1999; 106:1869-77.
- 95-**Masket S: Preventing, diagnosing and treating endophthalmitis. *J Cataract Refract Surg* 1998; 24: 725-6.
- 96-**Montan PG, Wejde G, Koranyi G, Rylander M: Prophylactic intracameral cefuroxime: Efficacy in preventing endophthalmitis after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28(6): 977-981.
- 97-**Gimbel HV, Sun R, Debroff BM, Yang H: Anterior chamber fluid cultures following phacoemulsification and posterior chamber lens implantation. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996; 27: 121-7.
- 98-**Lane SS, Osher RH, Masket S, Belani S. Evaluation of the safety of prophylactic intracameral moxifloxacin in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*.2008 Sep;34(9):1451-9.
- 99-**Centers for Disease Control. Staphylococcus aureus resistant to vancomycin in United States, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51: 565-7.
- 100-** Endophthalmitis Study Group, European Society of Cataract and Refractive Surgeons. Prophylaxis of postoperative endophthalmitis following cataract surgery: results of the ESCRS multicenter study and identification of risk factors. *J Cataract and Refract Surg* 2007;33: 978-88.

- 101-** Yu-Wai-Man P, Morgan SJ, Hildreth AJ, Steel DH, Allen D. Efficacy of intracameral and subconjunctival cefuroxime in preventing endophthalmitis after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2008 Mar;34(3):447-51.
- 102-** Montan PG(1), Wejde G, Setterquist H, Rylander M, Zetterström C: Prophylactic intracameral cefuroxime. Evaluation of safety and kinetics in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2002 Jun; 28 (6): 982-987.
- 103-** Gupta MS, McKee HD, Saldana M, Stewart OG. Macular thickness after cataract surgery with intracameral cefuroxime. *J Cataract Refract Surg.* 2005;31: 1163-6.
- 104-** Demirel S, Atilla H, Köse Sargın A, Can B. İntrakamaral Sefazol ve Sefuroksim Uygulamasının Tavşan Korneaları Üzerine Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi. *MN Oftalmoloji Mart 2010; 17 (1): 67-70*
- 105-** Contreras JE, Kowalski RP, Mah FS, Thompson P. Does cefuroxime provide better in vitro susceptibility than the 4th generation fluoroquinolones and cefazolin Paper presented at: The OMIG Meeting Las Vegas, NV2006 November 10; 134.
- 106-** O'Brien TP, Arshinoff SA, Mah FS. Perspectives on antibiotics for postoperative endophthalmitis prophylaxis: potential role of moxifloxacin. *J Cataract Refract Surg.* 2007 Oct;33(10):1790-1800.
- 107-** Yoeruek E, Spitzer MS, Saygili O, Tatar O, Biedermann T, Yoeruek E, Bartz-Schmidt KU, Szurman P. Comparison of in vitro safety profiles of vancomycin and cefuroxime on human corneal endothelial cells for intracameral use. *J Cataract Refract Surg.* 2008 Dec;34(12):2139-45.
- 108-** Ozlem TY, Necati DM, Fatma YM, Gülsen Y, Ayşe NB, Firdevs O. Are cefuroxime and vancomycin really safe on the corneal endothelial cells? *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010 Mar;248(3):415-20.
- 109-** Akal A, Ulas T, Goncu T, Guldur ME, Kocarlan S, Taskin A, Savik E, Ozkan U, Karakas EY, Koksall M, Aksoy N. Does moxifloxacin alter oxidant status in the cornea? An experimental study. *Cutan Ocul Toxicol.* 2014 Jun; 25: 1-5.