



**T.C**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TAVŞANLARDA İNTRAVİTREAL NEPAFENAK ENJEKSİYONUNUN RETİNA  
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

**(UZMANLIK TEZİ)**

**Dr.Yaşar ÖLMEZ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Yrd.Doç.Dr. Tevfik OĞUREL**

**KIRIKKALE-2017**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında klinik ve cerrahi tecrübelerini esirgemedен paylaşan, ufkumuzu genişleten ve bizlere örnek olan Anabilim Dalı Başkanımız, değerli hocam Doç. Dr. Zafer Onaran'a, bütün çalışmalarımда bana koşulsuz destek olan ve motive eden değerli tez danışmanım Yrd.Doç.Dr Tevfik Oğurel'e, mesleki ve insani olarak çok şey öğrendiğim değerli hocalarım Doç. Dr. Nurgül Örnek'e, Doç.Dr Erhan Yumuşak'a, Yrd.Doç.Dr Nesrin Büyüktortop Gökçınar'a, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Veterinerlik Fakóltesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ođuz Kul'a, tezime verdikleri destek için teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince çok şey paylaştığım değerli tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimizde çalışan hemşirelere ve personellerimize teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca attığım her adımda arkamda duran ve beni destekleyen babam Hidayet Ölmez, annem Esmá Ölmez ve kardeşlerim Muzaffer Ölmez, Cemile Ölmez'e; hayatı paylaştığım değerli eşim Haticenur Ölmez'e en derin sevgilerimi sunarım.

Dr. Yaşar Ölmez

Aralık 2017, Kırıkkale

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	2
İÇİNDEKİLER.....	3
KISALTMALAR.....	4
TABLO LİSTESİ.....	5
RESİM LİSTESİ .....	6
ŞEKİL LİSTESİ.....	7
ÖZET.....	8
ABSTRACT.....	9
GİRİŞ VE AMAÇ.....	10
GENEL BİLGİLER.....	11
GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
BULGULAR.....	50
TARTIŞMA.....	60
KAYNAKLAR.....	64

## KISALTMALAR

**ACTH** : Adrenokortikotropik Hormon

**BCVA** : En İyi Düzeltilmiş Görme Keskinliği

**BSS** : Dengeli tuz solüsyonu

**Cmaks**: Plazma doruk konsantrasyonu

**COX** : Siklooksijenaz

**DRP** : Diyabetik retinopati

**ERG** : Elektoretinografi

**FFA** : Fundus Fluorosein Anjiografi

**GFAP**: Glial fibriller asidik protein

**GİB**: Göziçi basıncı

**ILM**: İnternal Limitan Membran

**KMÖ**: Kistoid makuler ödem

**MKK**: Merkezi korneal kalınlık

**NSAİİ** : Non-steroid antiinflamatuvar ilaç

**PG** : Prostaglandin

**RPE** : Retina pigment epiteli

**SPSS** : Statistical Packages for the Social Science

**TdT**: Terminal deoksinükleotidil transferaz

**TUNEL**: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP Nick and Labelling

**VEGF** : Vasküler endotelial büyüme faktörü

**YBMD** : Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

## TABLO LİSTESİ

**Tablo 1:** Gruplarda bulunan tavşan sayısı ve ötenazi zamanı

**Tablo 2:** Gruplar arası GİB değerleri

**Tablo 3:** Gruplar arası MKK değerleri

**Tablo 4:** Tüm gruplarda çalışmaya dahil olan gözlerin TUNEL boyanma yüzdeleri

## RESİM LİSTESİ

**Resim-1:** Tavşanların takiplerinin yapıldığı kafesler

**Resim-2:** İntravitreal enjeksiyon yapılmak üzere hazırlanan ilaçlar

**Resim-3:** Takiplerde doğum yapması nedeniyle çaişma dışı bırakılan tavşan

**Resim-4A-4B:** Tavşanların göziçi basınç (3A) ve kornea kalınlık ölçümlerinin (3B) yapılışı

**Resim-5A-5B :**Gözlerin povidon iyotla temizlenmesi(5A) ve delikli örtünün örtülmesi(5B)

**Resim-6:** Kornea ve konjonktivanın povidon iyot ile enjeksiyon öncesi yıkanması

**Resim-7:** İntravitreal enjeksiyon yöntemi

**Resim-8A-8B:** Anestezi ve sakrifikasyonda kullanılan ilaçlar(8A) ile intramüsküler ilaç uygulaması esnası ve sonrası (8B)

**Resim-9A-9B:**Enüklüe edilen göz(9A) ve %4 lük formaldehit solüsyonunda fiksasyon(9B)

**Resim-10:**Enjeksiyon sonrası katarakt gözlenen tavşan

**Resim-11:**Travmatik iatrojen katarakt gelişen tavşan

**Resim-12:** Tüm gruplara ait 1. hafta Hematoksilen/Eozin boyanma paterni

**Resim-13:** Tüm gruplara ait 1. ay Hematoksilen/Eozin boyanma paterni

**Resim-14:** Tüm gruplara ait 1. hafta TUNEL boyanma paterni

**Resim-15:** Tüm gruplara ait 1. ay TUNEL boyanma paterni

## ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil-1:** Retinanın histolojik kesiti
- Şekil-2:** Retinanın topografik yapısı
- Şekil-3:** Makula anatomisi
- Şekil-4:** Fovea histolojik kesiti
- Şekil-5:** Retinanın vasküler yapıları
- Şekil-6:** İdeal intravitreal enjeksiyon iğnesi pozisyonu
- Şekil-7:** Lökotrien ve Prostaglandinlerin oluşum basamakları
- Şekil-8:** Araşidonik asit metabolizmasında siklooksijenaz enzim yolağı
- Şekil-9:**NSAİİ'lerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması
- Şekil-10:**Nepafenak'ın kimyasal yapısı

## ÖZET

**Amaç:** Non steroid antiinflamatuvar ilaç (NSAİİ) olan Nepafenak'ın intravitreal yoldan uygulanmasının oküler dokular üzerine olan etkisinin araştırılması.

**Materyal-Metod:** 14 tavşanın 14 gözü kontrol grubu olmak üzere toplam 41 tavşanın 41 gözü kullanılmış ve nepafenak'ın oküler etkileri araştırılmıştır. Kontrol grubuna dengeli tuz solüsyonu, ilaç gruplarına ise sırasıyla 0,1 mg ve 0,05 mg nepafenak injeksiyonu yapılmıştır. İlaç injeksiyonu sonrası ortaya çıkan oküler etkileri değerlendirmek için biyomikroskopi, indirekt oftalmoskopi, tonometri (Tono-pen) ve pakimetriyi (Reichert) içeren klinik muayene yöntemleri, ışık mikroskopisini içeren histopatolojik değerlendirme yöntemi ve Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP Nick and Labelling(TUNEL) yöntemleri uygulanmıştır. Tüm gözlere enjeksiyonlar yapılmış ve tüm bu değerlendirme yöntemleri, enjeksiyondan önce ve enjeksiyondan sonra sırasıyla 1.hafta ve 1.ayda uygulanmıştır.

**Bulgular :** Biyomikroskopi, indirekt oftalmoskopi, tonometri ve pakimetriyi içeren klinik muayene yöntemleri ile ciddi bir toksisiteye rastlanmamıştır. Bu yöntemlerle izlenen tek komplikasyon katarakttır. Toplamda 2 gözde ortaya çıkan travmatik kataraktlar hariç tutulunca toplamda 1.haftada ilaç yapılan grupta 6 gözde katarakt ortaya çıkmıştır ve 1.ay kontrolde gerilemiştir. Histopatolojik incelemede hiç bir grupta retina toksisitesi saptanmamıştır. TUNEL yönteminde apoptotik index ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç enjeksiyonu yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

**Sonuç:** Nepafenak'ın intravitreal uygulaması sonrasında katarakt gelişimi dışında herhangi bir toksik bulguya rastlanmamıştır. Bu çalışma verilerine göre antiinflamatuvar etkili diğer ilaçlardan fayda sağlandığı çeşitli ön ve arka segment oküler patolojilerinde intravitreal NSAİİ uygulamaları da ilave veya alternatif seçenek olarak düşünülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar(NSAİİ), intravitreal NSAİİ injeksiyonu, oküler toksisite, nepafenak, katarakt



## ABSTRACT

**Aim:** To investigate the effects of nepafenak, which is a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID), on the ocular tissues by intravitreal administration.

**Material-Method:** A total 41 eyes of 41 rabbits, including 14 eyes of 14 rabbits as control group were used and the effects of nepafenak was investigated. In the control group, the balanced salt solution, in drug groups 0,1mg and 0.05 mg nepafenak injection were performed, respectively. Clinical examination methods including biomicroscopy, indirect ophthalmoscopy tonometry (Tono-pen) and pachymetry (Reichert), histopathological evaluation method including light microscopy and terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick and labelling (TUNEL) methods were used to evaluate ocular effects after drug injection. The drug was injected the all eyes and all these evaluation methods were applied before and after the injection 1<sup>st</sup> week and 1<sup>st</sup> month respectively.

**Results:** No serious ocular effects was observed with clinical examination methods including biomicroscopy, indirect ophthalmoscopy, tonometry and pachymetry. The only complication observed with these methods was cataract. With the exception of traumatic cataracts in 2 eyes in total, cataracts appeared in 6 eyes in the first week of drug administration and decreased in 1 month control. In histopathological examination, no retinal toxicity was detected in any group. There was no statistically significant difference between the control group and drug injected groups in the apoptotic index measurements in the TUNEL method ( $p > 0,05$ )

**Conclusion:** Nepafenac did not show any toxic symptoms except cataract development after intravitreal application. Intravitreal NSAIDs applications in various anterior and posterior segment ocular pathologies, which are beneficial to other anti-inflammatory effective drugs according to this study data may also be considered as an additional or an alternative option.

**Keywords:** Non-steroidal antiinflammatory drugs(NSAID), intravitreal NSAID injection, ocular toxicity, nepafenac, cataract

## GİRİŞ

Diyabetik retinopati ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu başta olmak üzere, pek çok sebebe bağlı makula ödeminin patogeneğinde inflamatuvar süreçlerin yer aldığı güncel bilimsel verilerle kanıtlanmış ve kabul edilmiş bir bilgidir (1-4).

Bu bilgiler ışığında, son yıllarda diyabetik maküla ödemi azaltmak ve görme yeteneğini güçlendirmek için günümüzde bu hastalıklar için intravitreal yoldan steroid grubu antiinflamatuvar ilaçlar çok sık olarak kullanılmaktadır. Steroid grubu bu ilaçların antiinflamatuvar etkinliğinin güçlü olmasının yanında göz içi basıncında yükselme ve katarakt oluşumu gibi birçok hastada kullanımını sınırlayan yan etkileri bulunmaktadır (5-6-7).

Diğer taraftan antiinflamatuvar özellikleri olan nonsteroid antiinflamatuvarların (NSAİİ) intravitreal yoldan kullanımına ilişkin literatürde yeterli bilgi bulunmamaktadır ve bu alan, henüz yeterince üzerinde çalışma yapılmamış, bilgi eksikliği bulunan bir alandır. Oysa bu ilaç grubunun da en azından teorik olarak istenen antiinflamatuvar etkinliği temin etmesi mümkündür ve topikal kullanımlarının oküler yan etkilerinden yola çıkarak yan etki potansiyeli steroidlere kıyasla daha azdır.

Nepafenak nonsteroidal antiinflamatuvar ve analjezik bir ön ilaçtır. Ayrıca Nepafenak ın topikal kullanımının diyabetik hastalarda katarakt cerrahisi ile ilişkili postoperatif psodafakik kistoid maküler ödem(KMÖ) riskinin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir(8-9).

Bu sebeple, çalışmamızda esas olarak NSAİİ olan nepafenakın intravitreal yoldan uygulanmasının sağlıklı oküler dokular üzerinde herhangi bir toksik etki yapıp yapmadığını araştırmayı planladık.

## GENEL BİLGİLER

### Retina Embriyolojisi

Ön beyinin nöroektoderminden farklılaşan optik kadeh ikiye ayrılarak dış kısım ince pigment epiteline, iç kısım kalın nöral retinaya farklılaşır.

Optik kadehin dış tabakası, küçük pigment granülleri ile karakterizedir ve bu yapı retinanın pigment tabakasını meydana getirir. Pigment epitelinde melanin ilk kez 33. günde oluşur.

Optik kadehin iç tabakalarının gelişimi daha karışık bir güzergah izler. Pars optika retina olarak bilinen posterior 4/5 lik bölgeden ve daha önce oluşup kapanmış olan boşluğu çevreleyen intraretinal boşluğa yakın kısımdan kon ve rodler gelişir. Bu fotoreseptif tabakaya ek iç ve dış nükleer tabaka ve ganglion hücre tabakalarından meydana gelen manto tabakası gelişir. Yüzeyde daha derin tabakalardaki sinir hücrelerinin aksonlarının oluşturduğu fibröz bir tabaka meydana gelir. Bu tabaka sinir lifleri tabakası olarak adlandırılır.

Optik kadehin 1/5 lik tabakası retinanın görmeyen kısmı pars seka retina olarak gelişir. Pars seka retina ince olup tek bir hücre kalınlığında bir tabakadır. Pars seka retina, pars iridika retina ve pars siliyaris retina olmak üzere iki kısımdan meydana gelmiştir. İç ve dış sınırlayıcı membran 9. haftada oluşur. Gestasyonun 5. haftasında, nöral retinanın hücreli bağlantılarının büyük çoğunluğu şekillenir. Gözün retinasının iki tabakasında sinaplar oluşurken, bu sinapslara ait hücre çekirdekleri ise üç tabakada gözlemlenir. Fotoreseptör hücrelerinin oluşumu, her hücrenin görme pigmentlerini içeren plazma membranının kıvrımlı yapısından oluşan dış segmentlerin farklılaşmasıyla başlar. Dış segmentlerin oluşumu devam ederken, gözler, gestasyonun 7 ayında ışığa hassas hale gelmeye başlarlar.

Retinanın tüm tabakaları fetal yaşamın 8. ayında gözlemlenir. Anatomik anlamda makula doğumdan sonra 6. aya kadar oluşumunu tamamlamaktadır(10).

### Retina Anatomisi

Retina kelimesi, Latince 'rete' kelimesinden gelmektedir. Rete kelimesinin Türkçe anlamı 'ağ'dır(11). Retina tabakası, gözün en iç nöral tabakası olup koroid ve vitreus arasında

yerleşim göstermektedir. Ora serratada 0,1 mm, ekvatorunda 0,2 mm, optik sinir yakınında 0,5 mm kalınlığı olan ince saydam bir dokudur. İç yüzeyi vitreus ile temas halindedir. Dış yüzeyi retina pigment epitelinden (RPE) retina içi mesafe denilen potansiyel bir boşlukla ayrılmıştır. Periferde sensoriyel retina ora serrataya kadar uzanır ve pars plana pigmentsiz silier epiteli ile devamlılık gösterir (12).

Retina, komşu pigment epiteli ve altındaki skleranın şeklini alsa bile pigment epiteline sadece iki bölgede, optik disk ve ora serratada sıkı yapışıklık gösterir. Diğer bölgelerde yapışıklık nispeten daha zayıftır.

Retina embriyolojik olarak nöroektodermden köken alır (13) ve histolojik olarak incelendiğinde 10 tabakadan oluştuğu görülür (**Şekil 1**).

İçten dışa doğru bu tabakalar şu şekildedir:

1-İç limitan membran

2-Sinir lifleri tabakası

3-Ganglion hücreleri tabakası

4-İç pleksiform tabaka

5-İç nükleer tabaka

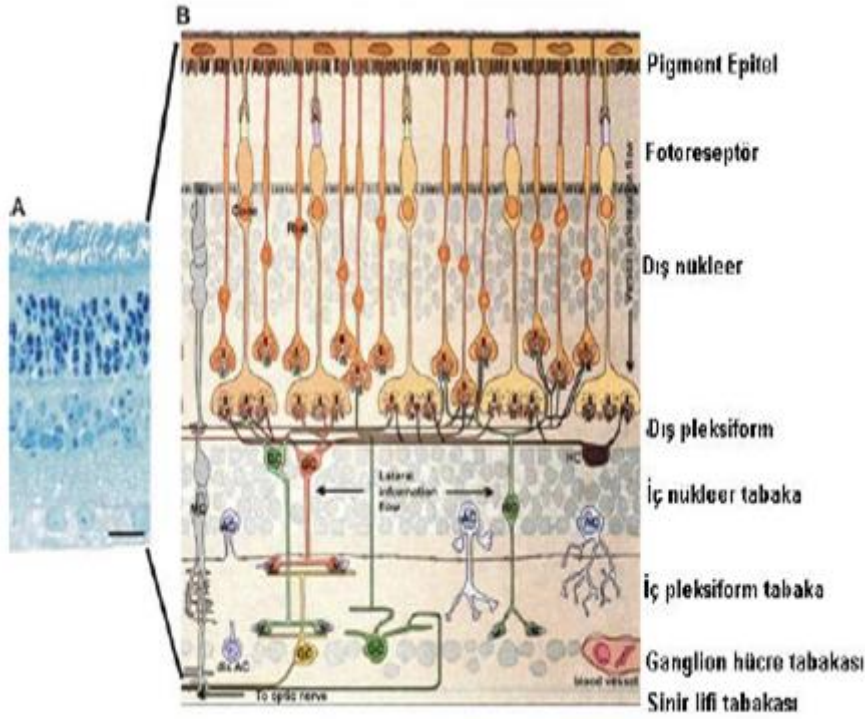
6-Dış pleksiform tabaka

7-Dış nükleer tabaka

8-Dış limitan membran

9-Fotoreseptör (Koni ve basiller)

10-Retina pigment epiteli.



**Şekil-1:**Retinanın histolojik yapısı

### İç Limitan Membran

Retina iç yüzeyinde yerleşen gerçek membrandır. İçten dışa lamina rara interna, lamina densa ve lamina rara eksterna olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (14). ILM'nin içeriğinde laminin, fibronektin, tip I ve IV kollagen bulunmaktadır. ILM'nin retinal kısmı Müller hücrelerinin ayaksız uzantıları ve bazal membranı tarafından, iç kısmı ise mukopolisakkarit ve vitreus fibrillerince şekillendirilir. İç kısımda ILM vitreusun hyaloid membranı ile komşuluk halindedir. Kalınlığı ve yerleşimi yaşla birlikte değişiklik göstermektedir. Kalınlığı vitre tabanında 50 nm civarında izlenirken ekvatora doğru gittikçe kalınlaşarak 306 nm'ye çıkar. En kalın olduğu bölge 1887 nm değeri ile perifoveal bölgedir. Foveolar bölgede ise 10-20 nm'dir. ILM büyük retinal damarlar üzerinde incelmekte ve yer yer kaybolmaktadır (15).

## **Sinir Lifleri Tabakası**

1,2 milyon dolayındaki gangliyon hücrelerinin aksonlarının demetler halinde biraraya gelerek sinir lifleri tabakasını oluşturur. Ayrıca retina arter ve venleri, astrositler, mikroglial hücreler ile oligodendrositler de bu tabakada yerleşim gösterirler.

## **Ganglion Hücre Tabakası**

Bu tabakayı üçüncü nöron olan gangliyon hücrelerinin gövdeleri oluşturur. Ganglion hücre tabakası foveolada bulunmaz. Gangliyonlar, bipolarlar gibi iki çeşittirler. Merkezdekiler küçüktür ve dendritleri konilerle sinaps yapan bipolar hücrelerle sinaps yapar. Periferidekiler ise daha büyüktürler ve birkaç bipolarla sinaps yaparlar. Gangliyon hücre aksonları retina iç yüzeyine paralel seyrederek optik sinir başından gözü terk ederler.

## **İç Pleksiform Tabaka**

İç pleksiform tabaka ikinci nöron bipolarlar ile üçüncü nöron gangliyonlar ve amakrin hücreleri arasındaki sinapsların bulunduğu bölgedir. Ganglion hücre tabakası gibi foveolada bulunmamaktadır.

## **İç Nükleer Tabaka**

İç nükleer tabaka ikinci nöron bipolar hücreleri, bağlantı hücreleri, amakrin ve yatay hücreler ile destek hücreleri olan Müller hücre çekirdeklerinin bulunduğu bölgedir.

## **Dış Pleksiform Tabaka**

Birinci nöron fotoreseptörler ile bipolar ve horizontal hücrelerin arasındaki sinapsların bulunduğu bölgedir. Normal retinada kalınlığı 2  $\mu$  olmasına rağmen, fovea çukurluğunun kenarında rod ve konuların aksonlarının daha uzun ve oblik olması sebebiyle daha kalın olmakla birlikte clivusta 50  $\mu$  kalınlığındadır. Bu bölgede bulunan dış pleksiform tabaka Henle tabakası olarak adlandırılır.

## **Dış Nükleer Tabaka**

Fotoreseptörlerin gövde ve nükleuslarının oluşturduğu tabakadır. Bu hücrelerin aksonları dış pleksiform tabakadaki horizontal ve bipolar hücreler ile sinaps yaparlar. Optik diskin nazalinde dış nükleer tabakada 8-9 nükleus dizisi içerir ve perifere gidildikçe azalır.

## **Dış Limitan Membran**

Dış limitan membran fotoreseptörlerin iç segmentleriyle Müller destek hücrelerinin dış uzantıları arasındaki zonula adherens tipi bağlantılar tarafından oluşmuştur. Gerçek bir zar değildir. Koni ve basillerin dış ve iç segmentlerinin arasından geçer. Periferik retinada bu membran RPE ile birleşip sona ermektedir.

## **Retina Pigment Epiteli (RPE)**

Tek sıralı, altıgen pigmente 4-6 milyon hücreden oluşur. Optik diskten ora serrataya kadar uzanım gösterir ve önde siliyer epitelin pigmentli katı olarak devam eder. Hücreler kesitlerde farklı şekildedir. Posterior polar bölgede dar ve uzun iken retina periferine doğru ise daha geniş, daha kısa ve sıklıkla multiple nükleusludur. Ora serratada düzgün küboidal hücrelerden oluşmuştur. Bazal membranları Bruch membranına sıkıca yapışık olup apexlerinde villöz uzantıları bulunmaktadır. Bu uzantılar mukoid bir ortamda koni ve basil dış segmentlerini çevreler.

Hücrelerin apeksleri hem zonüla okludens hem de zonüla adherenslerle sıkı sıkıya birbirine bağlıdır ve kan-retina bariyerinin oluşmasına katkıda bulunur(16).

Apikal sitoplazma ve mikrovillüslerde çok sayıda yuvarlak ve oval melanin granülleri bulunur. Yuvarlak/oval melanin granül oranı RPE'nde yaklaşık olarak birbirine eşit iken, siliyer cisim ve iris pigment epitelinde yuvarlak granüllerin üstünlüğü vardır. Üveal melanin granülleri primer olarak ovaldır ve RPE, siliyer cisim ve iris melanin granüllerinden daha küçüktür. Bu özellikten patolojik spesmenlerde doku ayırımında yararlanılmaktadır. RPE'ndeki melanin organizmada ilk ortaya çıkan (1.ayda) pigmenttir.

RPE hücrelerindeki bir diğer pigment lipofuksin granülleridir. Bu granüller santral maküler alanda daha yoğun olarak gözlenirler. FFA'da koroid floresansını engelleyerek bu alanın karanlık görülmesine neden olurlar.

RPE arkasındaki koroidin bruch zarına yapışıkır ancak önündeki sensoriyel retina ile anatomik bağlantısı bulunmamaktadır.

Başlıca fonksiyonları şunlardır:

1. Işığı absorbe etmek.
2. Subretinal boşluğu oluşturmak.
3. Koni ve basillerin dış segmentlerini fagositoz yoluyla uzaklaştırmak.
4. Retinol alımı ve taşınması.
5. Skar dokusunu iyileştirmek ve oluşturmak(16).
6. Ekstrasellüler matriks sentezi.
7. Dış kan-retina bariyerini oluşturmak.
8. Atrofi ve hiperplazi yoluyla hastalıklara cevap vermek (17).
9. Dış retinanın beslenme ihtiyacını karşılamak.

### **Fotoreseptörler**

Koni ve basil olarak isimlendirilen iki çeşit fotoreseptör hücre grubu bulunmaktadır (18). Her bir fotoreseptörün iç ve dış olmak üzere iki segmenti bulunur. Tüm fotoreseptörlerin %95'ini basiller oluşturmaktadır. Silindir şeklinde dış segmentleri vardır ve karanlığa yüksek duyarlılığa sahiptirler.



Koniler daha büyüktür ve dış nükleer tabakanın en üst sırasında yer alırlar. Fotoreseptörlerin %5' ini oluşturur(19,20). Aydınlıkta yüksek görme keskinliği ve renk görmeden sorumludurlar. Koniler tüm retina boyunca eşit dağılım gösterirken en yoğun buldukları bölge foveadır ve bu bölgede mm<sup>2</sup>'de yaklaşık 200 bin adet bulunur. Toplam sayıları 120 milyon olan basiller foveada hiç bulunmaz ve periferde doğru gittikçe sayıları hızla artar.

### **Horizontal hücreler**

Basil ve konilerin terminal genişlemelerinin yakınlarında yer alan multipolar hücrelerdir. Bir adet uzun ve çok sayıda kısa uzantıları retina yüzeyine paralel uzanım gösterir. Görme stimulusunun düzenlenmesinde ve horizontal iletide rol oynadıkları bilinmektedir.

### **Bipolar hücreler**

Bipolar hücreler fotoreseptörler ile iç retina arasında sinyal iletiminde görev alırlar (21).

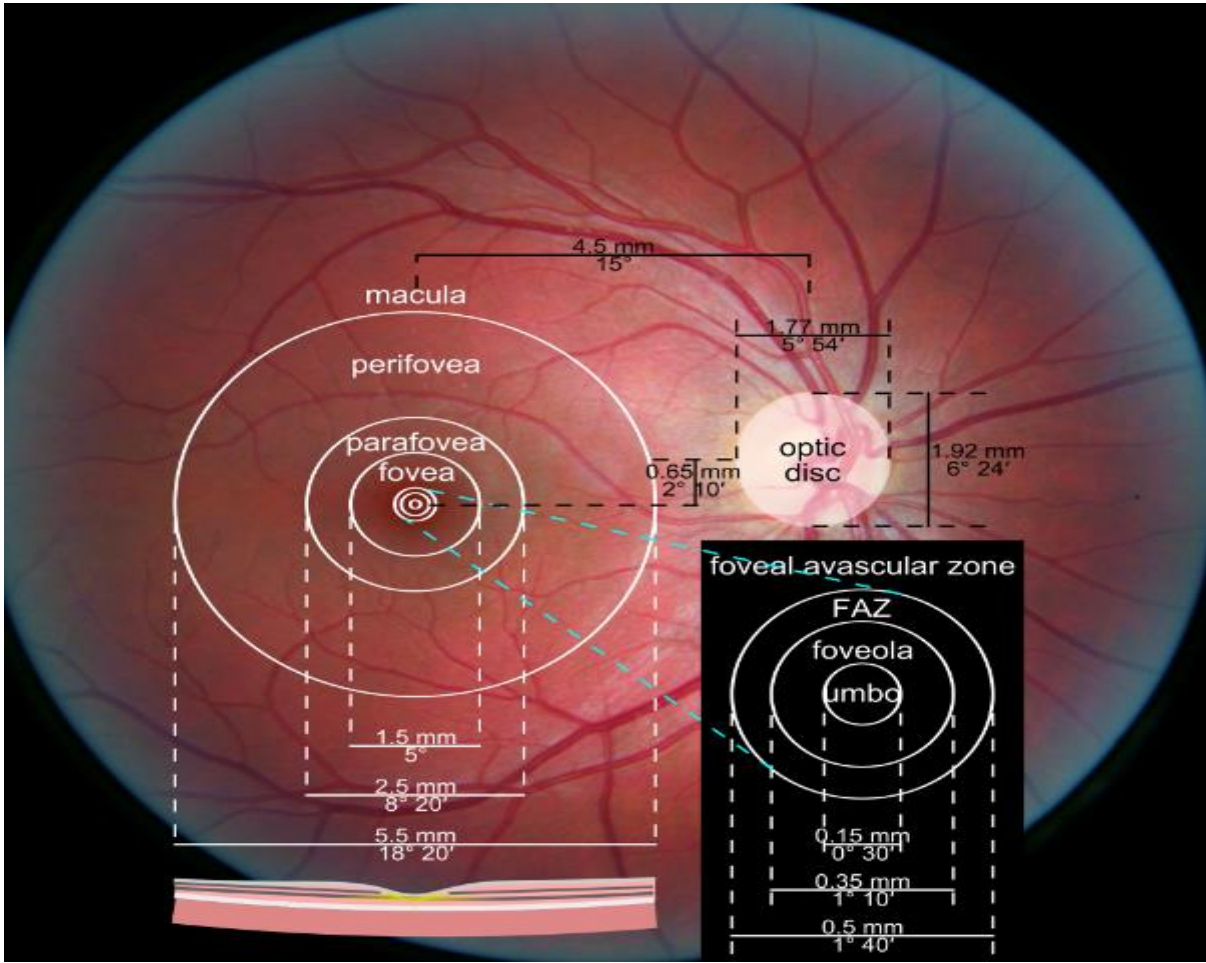
### **Amakrin hücreler**

Genellikle inhibisyon yapan hücrelerdir. Esas olarak iç nükleer tabakanın iç sıralarında yerleşmişlerdir (20).

### **Ganglion hücreler**

Retina sinyalinin çıkış yaptığı nöronlardır. Bipolar hücrelerden sinyal alırlar. Aksonları retinanın vitreus yüzeyi boyunca uzanır ve optik siniri oluşturmak üzere birleşirler (20).

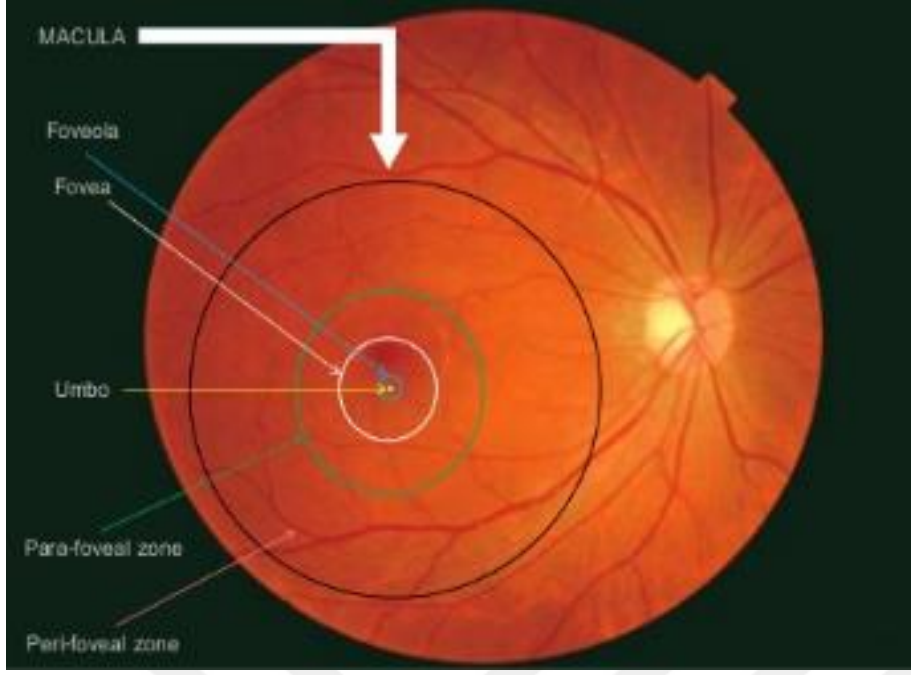
## Retinanın Topografik Yapısı(Şekil-2)



Şekil-2: Retinanın Topografik Yapısı

### Maküla Anatomisi

Maküla bölgesi, histolojik olarak gangliyon hücre tabakasında en az iki nükleus tabakası içeren bölge şeklinde isimlendirilir. Temporal vasküler arkadlar sınır olarak kabul edildiğinden makulanın çapı yaklaşık 5.5 mm'dir. Topografik olarak makula 4 kısımdan meydana gelir (Şekil-3) (22).



**Şekil-3:**Makulanın anatomisi

### **Fovea**

Fovea optik sinir başı merkezinden 4.0mm temporal ve 0.8mm aşağısında yaklaşık 1.5 mm çaplı bir çukurluk olarak izlenir. Bu çukurluğa bu bölgede retina hücrelerinin kaybolup sadece fotoreseptörlerin bulunmasının sebep olduğu kanıtlanmıştır(Şekil- 4).Foveanın derinliği kişiden kişiye değişiklik göstermekle birlikte, ortalama 0,25 mm'dir.

Foveada sinir lifi tabakası, ganglion hücre tabakası ve iç pleksiform tabakası bulunmamaktadır. Foveal çukurluğun merkezindeki fotoreseptör tabakasında yalnızca koniler bulunmaktadır. Buradaki koniler yüksek görme keskinliğinden sorumludurlar. Burada yerleşim gösteren konilerin dış segmentleri 2 mikron genişlikte, 45 mikron uzunluktadır ve yüksek rezolüsyon amacıyla çok sıkı dizilim gösterirler. İç nükleer hücre tabakası lateral olarak yer değiştirmiştir ve böylece dış pleksiform tabakadaki fotoreseptör aksonları horizontal ve bipolar hücrelerle sinaps yapmak üzere radyal bir seyir gösterir. Buradaki kalın radyal akson tabakası henle lifleri tabakası olarak adlandırılır ve aksonlar merkezi 100 mikronluk alan dışına çıkmadıkça bipolar hücrelerle sinaps yapmazlar. Bu anatomik özellikler sebebiyle ışık saçılımı en aza indirgenmiştir. Rodlar uzun ve ince dış segmentleri ile foveal

duvarın eğiminde yerleşim gösterirler. Fovea santralindeki rodların olmadığı alan 350-600  $\mu$  çapındadır.

### **Foveola**

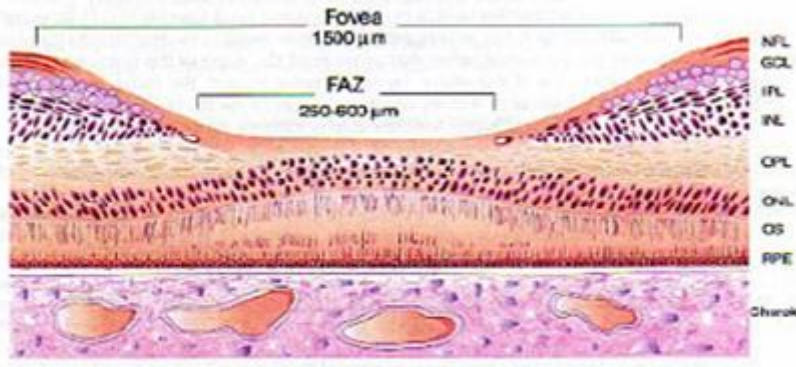
Foveola fovea merkezine yerleşmiş 350 mikron çaplı ve 150  $\mu$  kalınlığında, sadece konilerin bulunduğu fovea çukurluğudur. Avasküler foveola kapillerlerin oluşturduğu bir halka ile çevrelenir. Bu damarlar iç nükleer tabaka seviyesindedir ve 250–600  $\mu$  genişliğindeki avasküler zonu meydana getirirler. Foveola merkezinde çapı yaklaşık 150–200  $\mu$  olan ve en keskin görmeyi sağlayan bölge umbo olarak adlandırılır.

### **Parafovea**

Parafovea foveayı çevreleyen, 0,5 mm genişliğindeki bölgedir. İç retina tabakasında, özellikle iç nükleer ve gangliyon hücre tabakasında hücre artışı ile karakterize bir alandır. Retinanın bu bölgesinde tabakalar regülerdir. Parafovea bipolar ve ganglion hücrelerinin en yoğun olarak bulunduğu bölgedir. Hücreler bu bölgenin periferinde sayı bakımından azalma gösterir. Koni-rod oranı 1:1 'dir.

### **Perifovea**

Makula bölgesinin periferik zonudur. Perifovea 1,5 mm genişliğindedir ve dış sınırı fovea merkezinden 2,75 mm uzaktadır. Burada her 100 mikronda ortalama 12 koni ve komsu koniler arasında iki rod hücresi yerleşim gösterir.



**Şekil-4:**Fovea histolojik kesiti

### **Periferik Retina**

Periferik retina yakın perifer ve uzak perifer olarak iki bölgeye ayrılır.

### **Ekvator**

Arka kutup ile ora serrata arasında kalan bölgedir. Yaklaşık 3mm genişliğindedir. Burada karanlık adaptasyonu sağlayan basiller çoğunluktadır(23). Vorteks venleri ekvatorunda, saat 1, 5, 7 ve 11 kadrantları hizasında yerleşim gösterirler. Gözün çevresi ekvatorunda 72 mm ora serratada ise 60 mm dir.

### **Ora serrata**

Ora serrata çok tabakalı nöral retinanın sonlandığı ve siliyer cisimin tek tabakalı pigment epitel ile birleştiği alandır. Bu bölge inceliği, damarlanma eksikliği, vitreus tabanı ve zonül lifleri ile olan yakın ilişkisi sebebiyle farklı anatomik özellik arzeder (24). Ora serratada fotoreseptör hücreleri bulunmamaktadır. Bu bölgede RPE siliyer cisim epiteline, Bruch membranı pigment epitel bazal membranına, müller hücresi pigmentsiz epitele, iç limitans membran ise pigmentsiz epitelin bazal membranına dönüşür. Sensoryel retina pigment epitel ile birleşir ve retina altı sıvının pars planaya geçişi böylece önlenmiş olur.

## **Pars plana**

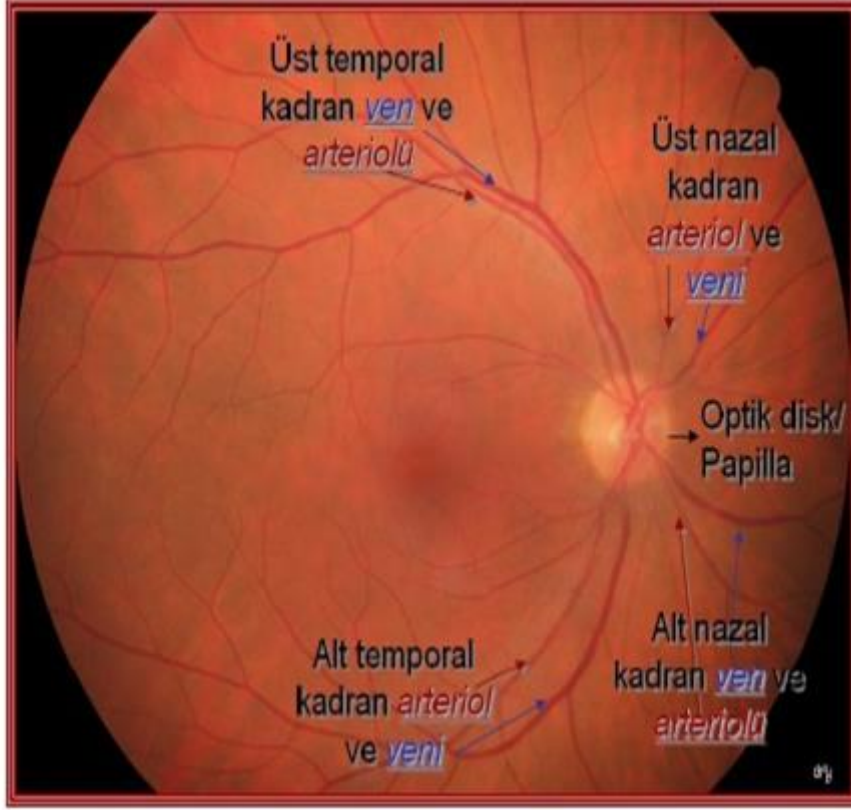
Retinanın ora serratası ile siliyer cismin pars pilikatası arasındaki bölgedir. Siliyer cisim pars pilikata ve pars plana olarak iki kısımdan oluşur. Pars pilikata iris kökünden arkaya doğru uzanan yaklaşık 2,5 mm'lik alandır. Pars plana globun temporal ve nazal yarılarında farklı genişliklerde çepeçevre uzanır. Nazalde yaklaşık 3mm, temporalde ise yaklaşık 4,5 mm genişliktedir.

## **Retinanın Kan Dolaşımı**

Dış retina tabakalarının beslenmesi koryokapillaristen diffüzyon ve aktif transport ile sağlanır. Retinanın iç 2/3 kısmı ise internal karotis arterin bir dalı olan oftalmik arterden köken alan santral retinal arter tarafından beslenmektedir. Santral retinal arter retinaya optik sinirden girmekte, önce üst ve alt dala sonra da her bir dal nazal ve temporal olmak üzere dört ana dala ayrılmaktadır. Bu dallar da ikiye ayrılarak arteriollerini oluşturmaktadır. Nazal dallar ora serrataya doğru düz seyretme eğilimi gözsterirken temporal dallar makulayı çevrelemektedir. Bu damarlar sinir lifi tabakasında yerleşim gösterir. Retinada iki adet kapiller ağ mevcuttur. Yüzeysel kapiller ağ sinir lifi tabakasında, derin kapiller ağ ise iç nükleer tabaka içinde yerleşim gösterirler. Fovea merkezinde yaklaşık 500 mikron çapında bir alanda vasküler yapılar izlenmez. Bu bölge 'Foveal avasküler bölge' olarak isimlendirilir. Retinal damarların duvarında tek sıra halinde dizilim gösteren ve zonula okludens tipi sıkı bağlantılar içeren endotel hücreleri bulunmaktadır. Bu zonula sıkı bağlantılar iç kan-retina bariyerini oluşturur. Bu yapının çevresinde perisit hücreleri yerleşmiştir. Perisit hücreleri kontraktıl özellikleri sayesinde retinal dolaşımın düzenlenmesinde görev alırlar. Toplumun %15-20 kadarında koroidal sistemden köken alan ve makulayı besleyen silioretinal arter de izlenmektedir. Retinaya arteriyel sistemle gelen kan tek bir santral retinal ven yoluyla uzaklaştırılmaktadır (**Şekil 5**).

Koroid sırası ile; en dışta geniş çaplı koroidal damarları içeren Haller tabakası, ortada orta çaplı koroidal damarları içeren Sattler tabakası ve en içte fenestrasyonlu kapillerlerce oluşturulan koryokapillaris tabakası olmak üzere üç tabakadan meydana gelmektedir. Retinanın dış pleksiform tabaka, fotoreseptörler ve RPE'den oluşan kısmı koryokapillaristen diffüzyon ve aktif transportla beslenmektedir. Koryokapillaris'e ulaşan kan ardından toplayıcı venüllere geçmekte ve bunlar birleşerek dört kadradaki dört adet ampullayı oluşturmakta,

bunlarda vorteks venlerine dönüşerek superior oftalmik vene drene olmaktadır. İnternal karotis arterin dalı olan oftalmik arterden ayrılan kısa posterior silier arterler de koroidin beslenmesinde rol alırlar.



**Şekil-5:**Retinanın vasküler yapıları

## İNTRAVİTREAL ENJEKSİYONLAR

### Tarihçe

Günümüz pratiğinde intravitreal ilaç uygulamaları retina ve vitreusun çeşitli hastalıklarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu konuda çalışmalar ilk olarak 1960'lı yıllarda öncelikle retinal yırtıkların tedavisinde intravitreal gaz enjeksiyonu uygulamaları ile başlamış (25) ve bunu intravitreal hyalüronik asit enjeksiyonu izlemiştir(26). 1970'li yıllarda hemorajilerin kolay rezolüsyonunu sağlamak amacı ile hava ve çeşitli enzim preparatları (ürokinaz vs.) uygulanmış ve kısmen başarı sağlanmıştır (27, 28). Ancak bu yıllardaki çalışmalar incelendiğinde intravitreal enjeksiyon yöntemi ile tedavi edilmeye çalışılan hastaların büyük çoğunluğunda tedaviye cevapsız endoftalmiler geliştiği ve çalışmaların daha çok bu alanlarda yoğunlaştığı görülmektedir.

1980-1995 yılları arasındaki dönemde intravitreal tedavilerde kullanılan ajanların (antibiyotikler, steroidler, antimetabolitler, povidon iyodin) retina ve optik disk üzerindeki toksik etkilerinin deneysel çalışmaları ön plana çıkmış ve doz çalışmalarına yönelme olmuştur (29-41). Özellikle intravitreal enjeksiyonlar ile ilgili deneysel bir hayvan çalışmasında triamsinolonun preretinal neovaskülarizasyonu azalttığı ve makula ödemi üzerindeki olumlu etkisi olduğu kanıtlandıktan sonra intravitreal enjeksiyonlarda hızlı bir artış gözlenmiştir (42).

İntravitreal steroid enjeksiyonları uzun süredir proliferatif, ödematöz, neovasküler ve inflamatuvar nedenli birçok göz hastalığında iç kan-retina bariyerini stabilize edici özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir (43-49). Triamsinolon makula ödeminde başarı ile uygulanmaya başladıktan sonra başka bir mediatör olan vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) vasküler geçirgenlik üzerindeki etkileri gösterilmiş (50) ve buna yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (51-53). Günümüzde VEGF inhibitörleri oftalmoloji kliniklerinde birçok farklı endikasyonda yoğun bir biçimde başarı ile uygulanmaktadır.

İlaçların intravitreal yolla uygulanması sistemik toksik etkilerden korunarak yüksek göz içi ilaç konsantrasyonlarının sağlanmasında oldukça faydalı bir yöntemdir (50).



Bu yaygın kullanım çeşitli komplikasyonları da beraberinde getirmektedir. Endoftalmi, üveit, vitreus hemorajisi, retina yırtığı ve dekolmanı, göz içi basıncında yükselme, vitreus inkarserasyonu ve lens hasarı karşılaşılan komplikasyonlardan bazılarıdır(51-55).

## **İntravitreal Enjeksiyon Komplikasyonları**

### **Endoftalmi**

Son yıllarda kliniklerde uygulanan intravitreal enjeksiyon sayısındaki artış sebebiyle intravitreal enjeksiyon sonrası gelişen endoftalmiler klinik olarak önem kazanmıştır (53-56).

Enjeksiyon sonrası ilaç içerisindeki prezervanlara bağlı olarak ortaya çıkan akut inflamasyonu endoftalmiden ayırmak önem arz etmektedir. İki durumu ayırmada hastanın semptomları belirleyici rol oynar. Ağrı ve konjonktival enjeksiyonun olmaması, şikayetlerin çok erken dönemde meydana gelmesi akut inflamasyon lehine bulgular olarak yorumlanır (57-59). Moshfegh ve ark. (60) ile McCannel ve ark. (61) intravitreal enjeksiyon sonrası oluşan kültür pozitif endoftalmilerde en sık sebebin koagülaz negatif stafilokoklar ve streptokoklar olduğunu bildirmişlerdir. Streptokok türleri enjeksiyon sonrası endoftalmilerde katarakt cerrahisi sonrası endoftalmileri ile kıyaslandığında 3 kat daha fazla görülmektedir. Enjeksiyon başına endoftalmi riski %0,025 ile %2 arasında (62, 63) değişiklik göstermekle birlikte bir hastanın düzenli olarak enjeksiyon olduğu hesaba katıldığında kümülatif risk göz ardı edilemeyecek kadar büyüktür.

İntravitreal enjeksiyon sonrası oluşan endoftalmileri önlemek amacı ile birçok önlem alınmaktadır. İşlem öncesi hazırlık, işlem sırasındaki antisepsi, işlemin yapıldığı ortamın koşulları başlıca faktörlerdir. Ancak işlem öncesi ve sonrası antibiyotik kullanımı hala aktif araştırma konularındandır.

## **Göz İçi Basınç Artışı**

İntravitreal enjeksiyonlar sonrasında GİB değerlerinin 5.dakikada 70-80 mmHg'a kadar çıkabildiği bildirilmiştir (62). Bu artış triamsinolon dışındaki ilaçlarda çoğunlukla 30. dakikada normal değerlere iner (63-65). Ancak intravitreal enjeksiyonların uzamış GİB'e sebep olabildiği bildirilmiştir (66). Bunların içinde en çok bilinen ve en sık uzamış GİB artışına neden olan ajan triamsinolon asetonid'dir (67, 68).

GİB artışı fakiklerde ve glokom öyküsü olan hastalarda daha uzun sürmektedir (69). Yapılan çalışmalarda intravitreal ranibizumab veya bevacizumab sonrası kalıcı göz içi basınç artışının görülme oranı %2,5 ile %6 arasında değiştiği gösterilmiştir (70). Bakri ve ark. (71) yaptığı bir çalışmada iki ve daha fazla intravitreal ranibizumab yapılan hastaların aylık takiplerinde enjeksiyon sonrası ölçülen GİB'nin enjeksiyon öncesine göre 6 mmHg daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Buna göre yapılan enjeksiyonun sayısı, kullanılan ajan, hastanın lens durumu, glokom öyküsü, enjeksiyon öncesi GİB değerinin yüksek olması gibi faktörler göz içi basıncını artıran risk faktörleri olarak sayılabilir. Bu nedenle intravitreal enjeksiyon öncesinde mutlaka GİB ölçümü yapılması önerilmektedir (72).

## **Lens ve Kapsül Hasarı**

İntravitreal enjeksiyon esnasında karşılaşılabilecek bir diğer önemli sorun ise lensin ve arka kapsülün travmasıdır. Lens ve arka kapsül travmasını takiben sırası ile lens proteinlerinin ortama dağılmasına bağlı olarak inflamatuvar yanıt ve sonrasında travmatik katarakt gözlenir. Meyer CH ve ark. (73) bu durumun endoftalmi kadar sık ve korkulan bir komplikasyon olmadığını bildirmişlerdir. Ancak Khalifa ve ark. (74) daha önce intravitreal enjeksiyon yapılmış kişilerde katarakt cerrahisi öncesinde hastaların mutlaka bu açıdan değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

## **Retina Yırtığı ve Dekolmanı**

Nadir görülen bir komplikasyondur (75). VISION çalışmasında (76), 7545 enjeksiyonun 6' sında (enjeksiyon başına %0,08) retina dekolmanı görülmüştür. ANCHOR (77) ve MARINA (78) çalışmalarında dekolman oranı enjeksiyon başına %0,01 olarak bildirilmiştir.

## **Steril Endoftalmi**

İntravitreal triamsinolon enjeksiyonu sonrasında steril inflamatuvar endoftalmi gelişebilir. Ön kamara ve ön vitreusta reaksiyon ve görme azalması olmasına rağmen bu bulgulara ağrı genellikle eşlik etmemektedir (79). Non enfeksiyöz endoftalmi enjeksiyon sonrası %0,5-9,7 oranında görülebilmektedir (80,81-84). Bu reaksiyon enjeksiyon sonrası 1-3. günlerde başlar. Bazı gözlerde steril endoftalmi triamsinolonun prezervan maddesine karşı inflamatuvar bir reaksiyon olarak ortaya çıkabilir (85).

## **Ön Kamara Reaksiyonu**

Ön kamara reaksiyonu, enjeksiyona veya ilacın hazırlanışına bağlı olarak ortaya çıkabilir. Anti-VEGF ilaç çalışmalarında üveit açısından kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmuştur (86,87,88). Bevacizumab sonrası da ön kamara reaksiyonu bildirilmiştir (89,90).

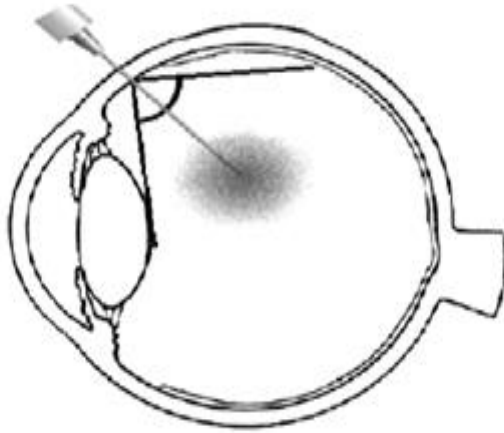
## **İntravitreal Enjeksiyon Tekniği**

### **İşlem Öncesi Hazırlık**

İşlem öncesinde hastanın GİB ölçülmeli ve oküler bir enfeksiyon açısından hastalar mutlaka detaylı muayeneye tabi tutulmalıdır. GİB yüksekliği durumunda eğer enjeksiyonun aciliyeti yok ise uygun antiglokomatoz ajan başlanarak enjeksiyon ertelenmelidir. Oküler enfeksiyon varlığında uygun antibiyoterapi başlanarak yine enjeksiyonu ertelemek gereklidir.

Uygun hastalarda işlemin yaklaşık 30-45 dakika öncesinde tropikamid %1, fenilefrin %2,5 yada siklopentolat %1 ile dilatasyon sağlanır. Proparakain HCl %0.5 ile topikal anestezi sağlandıktan sonra % 5 povidon iyodür oküler yüzeye 2-3 damla şeklinde uygulanır.

Sırtüstü yatar pozisyonda %10 povidon iyodür perioküler cilt ve kirpiklere santralden periferik dairesel hareketler ile uygulanır. Aynı tarafta burun sırtı, nazolabial sulkus, üst dudak çizgisi ve yine aynı tarafta saç çizgisine kadar uygulama yapılır. Steril drape ile kirpikler drape altına gelecek şekilde uygun örtme yapılır. Anestezi için subkonjonktival anestezi günümüzde önerilmemektedir (91- 93). Glob sabitlenerek tercihen alt temporal yada üst temporal kadrandan limbusun 3-3.5 mm gerisinden 90 derece açı ile tünelsiz veya önce 45-60 derece ile girilip skleral tünelden 90 derece ile geçilerek tünelli bir biçimde vitreusa ulaşılır(**Şekil-6**). İşlem esnasında konuşmanın minimuma indirilmesi, maske takılması oral flora kontaminasyonunu engellemek açısından önem arzeder (94). İşlem sonrasında oküler yüzey %5 povidon iyodür ile tekrar temizlenir. Hastanın ışık algısının kaybolup kaybolmadığı sorgulanmalıdır. Işık hissi kaybolmuşsa cerrah göz içi basıncı düşürmeye yönelik bir girişimi aklında bulundurmalıdır.



**Şekil-6:**İdeal intravitreal enjeksiyonda iğne pozisyonu

## İNFLAMASYON VE ANTI-İNFLAMATUAR İLAÇLAR

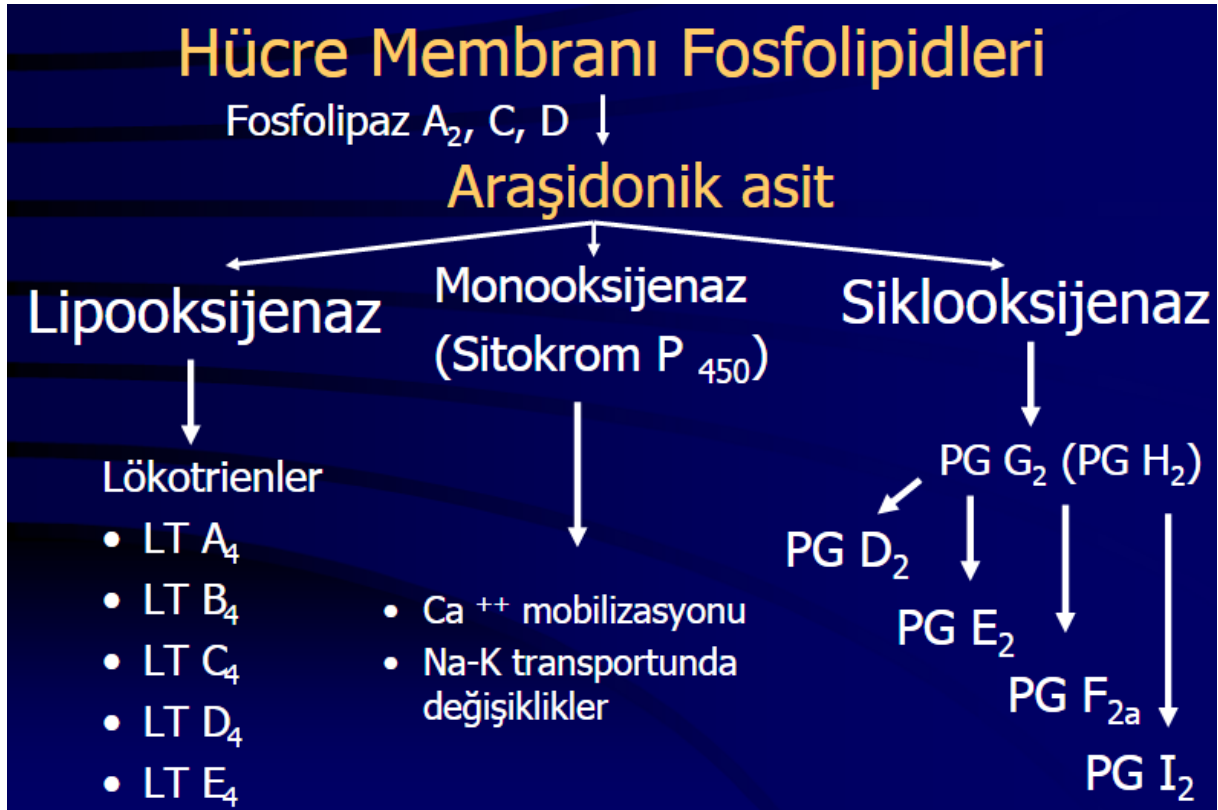
İnflamasyon; enfeksiyon, fiziksel, kimyasal ve diğer etkenlerin neden olduğu doku hasarına karşı organizmada hücrel ve hümoral düzeyde oluşan fizyolojik bir cevaptır(95)(96).

İnflamasyon hem hücre zedelenmesini ortaya çıkaran nedeni yok etmek hem de hücrel zedelenme sonucu oluşan nekrotik hücreler ve dokuları ortamdaki uzaklaştırmak için gerekli koruyucu bir yanıttır. Bu sebeple inflamasyon onarım mekanizmaları ile içiçe girmiştir.

İltihabi cevap, zedelenmeye neden olan etkeni ortadan kaldırır veya izole eder. Bu sırada zedelenen dokunun yeniden iyileşmesi içinde bir dizi olayı başlatır. İnflamatuar hücrelerin aktive olması ve kimyasal mediatörlerin salgılanması neticesinde inflamatuvar yanıt kuvvetlendirilir (97).

Kimyasal mediatörler, araşidonik asid kaskadından sentezlenir. Fosfolipaz A2 enzimi yardımıyla hücre membran fosfolipidlerinden araşidonik asid elde edilir. Araşidonik asit oluştuktan sonra iki farklı yol izler. Siklooksijenaz yolu sonucunda prostaglandinler ve tromboksanlar oluşurken lipooksijenaz yoluyla eikosanoidler sentezlenir (99)(Şekil-7).

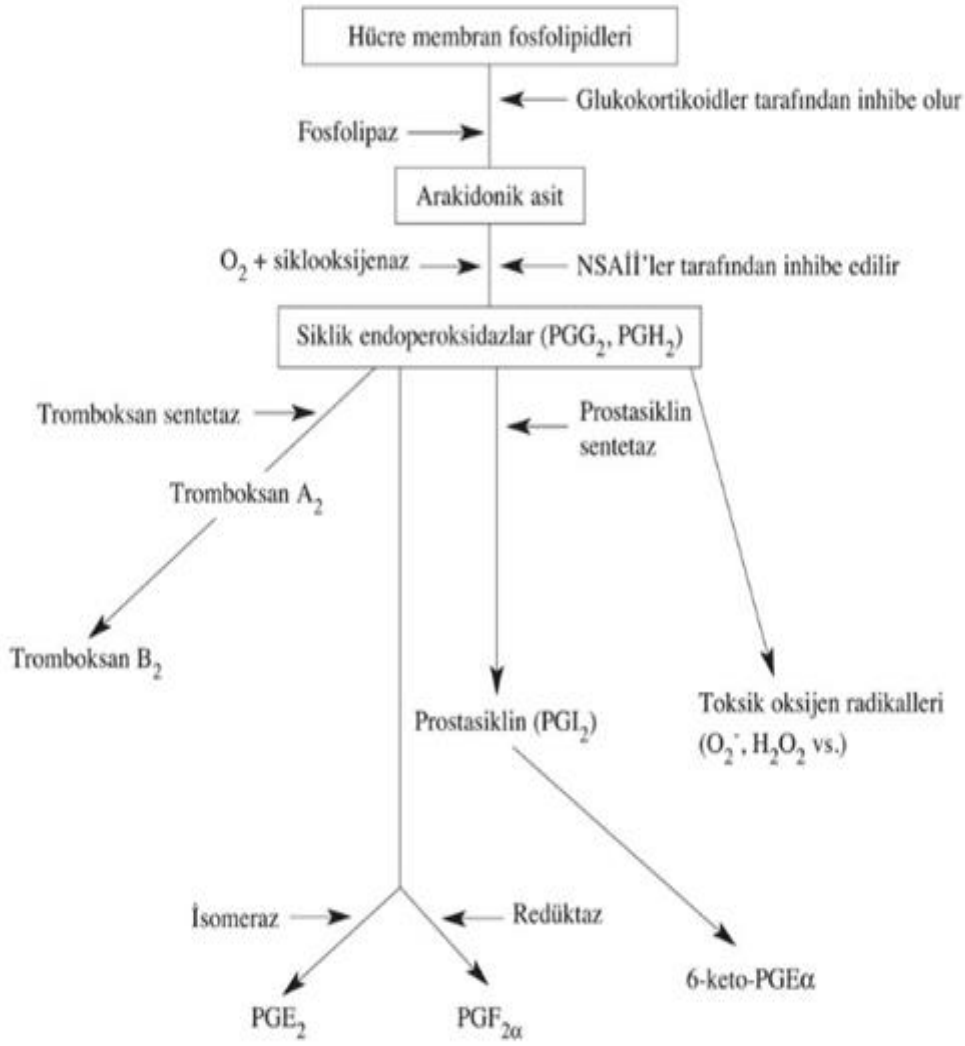
Prostaglandin (PG)lerin oküler etkileri üç basamakta özetlenebilir. Birincisi, intraokuler basınç değişimlerinde rol alırlar. PGE1 ve PGE2 kan aköz bariyerinde vazodilatasyon ve geçirgenlik artışına sebep olarak GİB'ni arttırlar. Bunlardan farklı olarak PGF2-alfa, uveaskleral dışı akımı arttırarak göz içi basıncını düşürür. İkinci olarak, iris düz kaslarını etkileyerek miyozise neden olur. Üçüncü olarak da kan aköz bariyerinde rol alan damarlarda vazodilatasyon ve geçirgenlik artışına neden olup aköz humörde protein konsantrasyonunu arttırlar (98).



**Şekil-7:** Lökotrien ve Prostaglandinlerin oluşum basamakları

Steroid ve NSAİİ, farmakolojik olarak inflamasyonu engellemek için kullanılan antiinflamatuvar ilaç gruplarıdır.

Kortikosteroidler güçlü antiinflamatuvar ilaçlardır. Etkilerini Fosfolipaz-A2 enzimini bloke ederek arşidonik asitten PG,tromboksan ve eikosanoid sentezini önleyerek; NSAİD ler ise siklooksijenaz (COX) enziminin farklı izoformlarını (COX-1,COX-2) bloke ederek gösterirler (99)(Şekil-8).



**Şekil-8:** Araşidonik asit metabolizmasında siklooksijenaz enzim yolağı

### **Steroidall antiinflamatuar ilaçlar ve oftalmolojide kullanım yerleri**

Kortikosteroidler özgül reseptörler ile birleşip bir kompleks oluşturduktan sonra bu oluşan reseptör-molekül bileşimi nükleusa girerek steroid responsif genlerle etkileşir, DNA transkripsiyonunu etkiler ve mRNA üretimini bozar. RNA sentezinin bozulması ise protein sentezi ve hücrenin fonksiyonunda değişikliklere sebep olur. Bu değişiklikler, inflamatuvar sitokinlerin ve diğer mediatörlerin daha az üretilmesine yol açar. Kortikosteroidler aynı zamanda arşidonik asitin salınımını sağlayan ve prostoglandin ile lökotrien sentaz yolağının ilk enzimi olan fosfolipaz A2'yi de inhibe eder.

Kortikosteroidlerin inflamatuvar oküler hastalıklarda kullanımı, Woods tarafından 1950 senesinde ACTH ve kortizon kullanımı ile başarılı sonuçlar bildirdiği bir vaka serisi ile yaygınlaşmıştır. Kortikosteroidler oftalmolojide sistemik (oral, intramuskuler veya intravenöz), periokuler (subkonjunktival, subtenon, retrobulber), intravitreal ve topikal olarak uygulanmaktadır(100).

Kortikosteroidlerin oftalmolojide sistemik olarak Graves oftalmopati, myastenia gravis, Stevens-Johnson Sendromu, allerjik konjunktivit, orbital psödotümör, üveitler (non enfeksiyöz olanlar ve malign olanlar), optik nörit, koroiditler, korneal allograft rejeksiyonu, Mooren ülseri, temporal arterit, sklerit, sikatrisyel pemfigoid ve sempatik oftalmiyi içeren bir çok endikasyonda kullanılmaktadır.

Topikal olarak kullanılan steroidler solüsyon, süspansiyon ve pomad şeklinde hazırlanmışlardır. Topikal olarak oftalmolojide steroidler şu endikasyonlarda kullanılır;

1. Konjunktiva, kornea, episklara ve skleranın inflamatuvar durumları
2. Anterior üveiti
3. Graft reddi
4. Kornea hasarı: Kimyasal, radyasyon, termal kornea hasarları
5. Kistoid makula ödemi

Steroid kullanımına bağlı olarak çeşitli enfeksiyonların aktivasyonu (viral, fungal, bakteriyel enfeksiyon), glokom, üveit, katarakt gelişimi, kornea stromasında kalsifikasyon, midriyazis ve ptozis gibi yan etkiler görülebilir.

### **Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar(NSAİİ) ve oftalmolojide kullanım yerleri**

NSAİİ'ler analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar özellikleri sebebiyle oftalmoloji kliniklerinde yaygın olarak kullanılan bir ilaç grubudur.



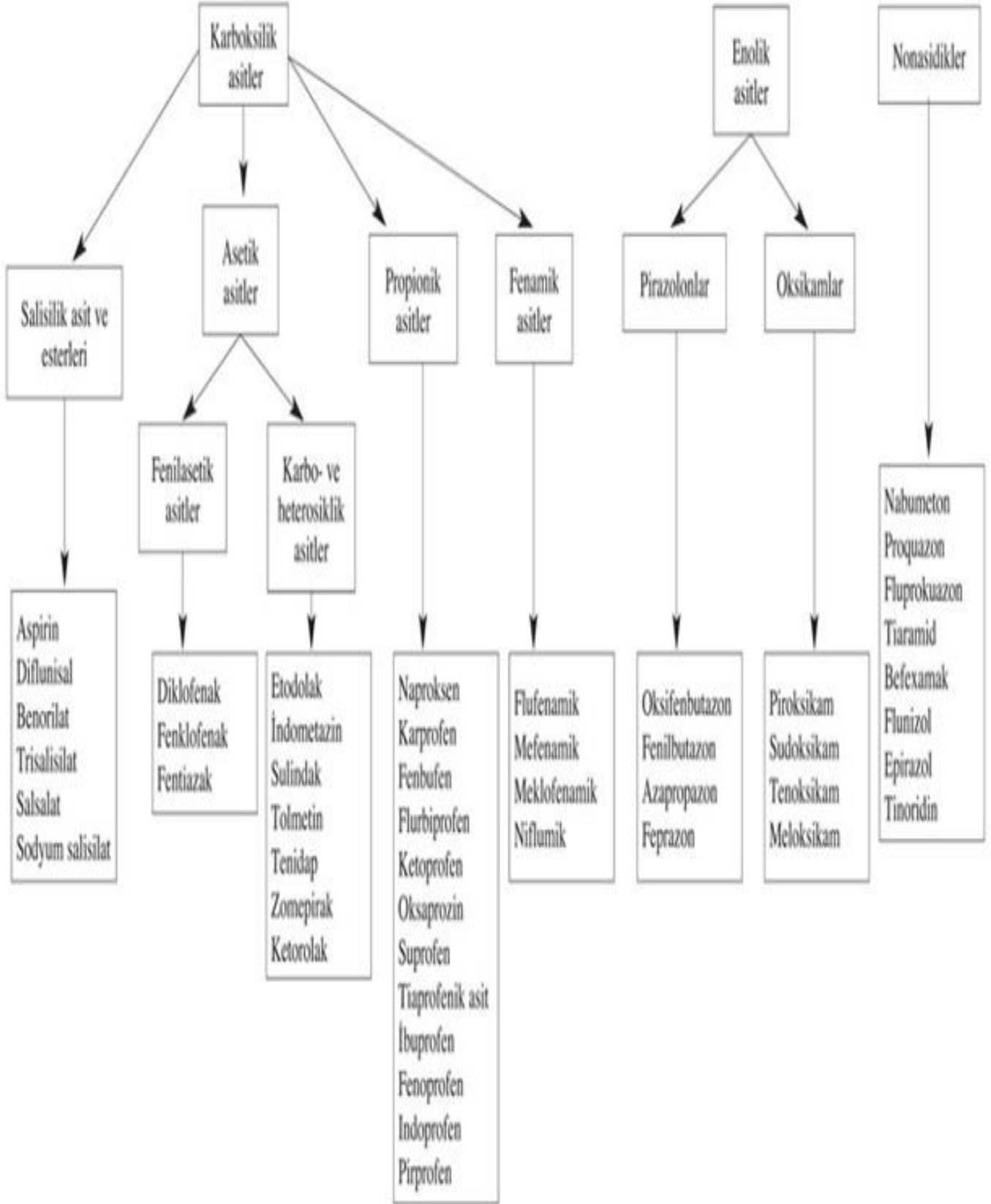
Topikal olarak NSAİİ'ler oftalmolojide şu endikasyonlarda kullanılırlar:

- 1-Kistoid makula ödeminin azaltılmasında,
- 2-Katarakt cerrahisi boyunca miyozis gelişmesinin inhibisyonunda
- 3-Alerjik konjunktivit ve keratit tedavisinde
- 4-Post operatif ağrının azaltılmasında (101).

### **NSAİİ'lerin etki mekanizması**

NSAİİ'ler araşidonik asitten prostaglandin sentezini sağlayan siklooksijenaz yolunu inhibe ederek etkilerini gösterirler (102). Siklooksijenaz (COX), araşidonik asitten inflamatuvar ve koruyucu prostaglandin (PGs) sentezini sağlayan önemli bir enzim grubudur. Bu enzimin üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlar COX-1, COX-2 ve COX-3'tür. COX-1 normal dokulardan salınır ve normal fizyolojik fonksiyonlar için gerekli olan prostaglandinlerin üretimini katalizler (103). COX-3, COX-1'in varyantı olup asetaminofen duyarlıdır ve tam olarak tanımlanmamıştır (104). COX-2 enzimi spesifik hücrelerden salınır ve inflamasyonda rolü olan prostaglandinlerin (PGE2 VE PGF2 gibi) sentezini katalizler (103). COX-2 ve katalizlediği prostaglandinler oküler dokularda vasküler permeabilitenin arttırılmasına ve kan aköz bariyerinin bozulmasına sebep olur. Koroid neovasküler membranı ve RPE'de COX-2 enzimi saptanmıştır (105). COX-2'nin ayrıca VEGF ve reseptörlerinin ekspresyonunu sağladığı da kanıtlanmıştır (101).

NSAİİ'ler siklooksijenaz enzimini inhibe eden bir ilaç grubudur. Oftalmolojide topikal kullanılan ilaç grupları sınırlı olup indol asetik asid, aril asetik asit, aril propionik asid ve enolik asid derivelerini kapsar(**Şekil-9**).

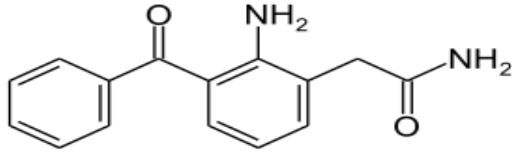


**Şekil-9:**NSAİİ'lerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması

## NEPAFENAK

### Etki mekanizması

Nepafenak nonsteroidal antiinflamatuvar ve analjezik bir ön ilaçtır(**Şekil-10**). Topikal oküler dozlamanın ardından, nepafenak korneaya penetre olur ve oküler doku hidrolazları ile non steroidal antiinflamatuvar bir ilaç olan amfenak'a dönüştürülür(106)(107). Hidrolitik çevrilmenin büyük kısmı dokunun kanlanma derecesine uygun olarak iris/siliyer cisim ve korneayı takiben retina/koroid'de olmaktadır. Amfenak; prostaglandin üretimi için gerekli bir enzim olan prostaglandin H sentaz'ın (siklooksijenaz) etkisini inhibe eder. Tavşanlarda, nepafenak'ın PGE<sub>2</sub> sentezinin baskılanması yanısıra kan-retina bariyerindeki bozulmayı inhibe ettiği gösterilmiştir(108)(109).



Nepafenak

IUPAC-név

2-amino-3-benzoil-benzolacetamid

**Şekil-10:**Nepafenak'ın kimyasal yapısı

### Farmakodinamik özellikleri

Ex vivo olarak; bir tek topikal oküler doz nepafenak'ın iris/siliyer cisimde (%85-%95) ve retina/ koroidde (%55) prostaglandin sentezini sırasıyla 6 ila 4 saate kadar inhibe ettiği gösterilmiştir.

## **Klinik etkileri**

### **1.Katarakt cerrahisi ile ilişkili postoperatif ağrı ve inflamasyonun önlenmesi**

Üç temel çalışmada katarakt cerrahisi geçiren hastalarda ameliyat sonrası ağrı ve inflamasyonun önlenmesi ve tedavisinde plasebo ve/veya ketorolak trometamol ile karşılaştırıldığında günde 3 doz nepafenak'ın etkinlik ve güvenilirliğini değerlendirmek için yapılmıştır. Bu çalışmalarda, tedavi ameliyattan bir gün önce başlamış, ameliyat günü ve ameliyat sonrası 2-4 haftaya kadar devam etmiştir.

Çift-kör randomize ve plasebo kontrollü iki çalışmada nepafenak' la tedavi edilen hastalarda erken postoperatif periyottan tedavinin sonuna dek plasebo ile tedavi edilmiş hastalardan anlamlı olarak daha az inflamasyon (aköz hücreler ve flare) ortaya çıkmıştır(110,111).

Çift-kör, randomize, plasebo ve aktif kontrollü bir çalışmada, nepafenak ile tedavi edilen hastalarda plasebo ile tedavi edilenlere nazaran anlamlı şekilde daha az inflamasyon bulunmuştur. Ayrıca nepafenak inflamasyonu ve oküler ağrıyı azaltmada ketorolak (5 mg/ml)'a üstün değildir, ama damlatmadan sonra ketorolakin daha yakıcı olması sebebiyle daha az rahatsız edicidir(112).

Nepafenak ile tedavi edilen hastaların anlamlı olarak daha yüksek bölümü plasebo grubuna göre katarakt cerrahisini takiben hiç oküler ağrı yaşamadıklarını belirtmişlerdir.

### **2.Diyabetik hastalarda katarakt cerrahisi ile ilişkili postoperatif maküler ödem riskinin azaltılması.**

Nepafenak 'ın katarakt cerrahisi ile ilişkili postoperatif maküler ödem riskinin azaltılması için güvenilirlik ve etkililiğini değerlendirmek üzere üç çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmalarda, tedavi ameliyattan bir gün önce başlamış, ameliyat günü ve ameliyat sonrası 90 güne kadar devam etmiştir(113).

Çift-kör, randomize, plasebo kontrollü diyabetik retinopati hastalarında yürütülen bu çalışmalardan birinde, maküler ödem gelişimi nepafenak ile tedavi edilen hastalar (%3.2) ile karşılaştırıldığında plasebo grubunda (%16.7) anlamlı olarak daha yüksektir. En iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde 5 harften daha fazla bir düşüş nepafenak grubunda %5.6, plasebo grubunda ise %11.5 iken en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinde 15 harflik düzelme, nepafenak grubunda %56.8, plasebo grubunda ise %41.9 olmuştur **p=0.019** (114).

## **Farmakokinetik özellikleri**

### **Emilim**

Nepafenak göz damlasının günde üç kez, iki göze uygulanmasını takiben nepafenak ve amfenak'ın düşük ama tayin edilebilir konsantrasyonları gönüllülerin çoğunda sırasıyla dozlamadan 2 ila 3 saat sonra gözlenmiştir. Oküler uygulamayı takiben ortalama kararlı hal Cmaks değeri (doz alındıktan sonra ulaşılan en yüksek ilaç düzeyi) nepafenak için  $0.310 \pm 0.104$  ng/ml ve amfenak için  $0.422 \pm 0.121$  ng/ml'dir.

### **Dağılım**

Amfenak'ın serum albumin proteinlerine karşı yüksek afinitesi vardır.

In vitro, sıçan albüminine ve insan albüminine bağlanması ile insan serumundaki yüzdesi sırasıyla %98.4, %95.4 ve %99.1'dir.

Sıçan çalışmaları radyoaktif olarak işaretlenmiş etkin madde ilintili maddeler 14C-nepafenak'ın tek ve çoklu oral dozlarını takiben vücutta yaygın bir dağılımı olduğunu göstermiştir.

### **Biyotransformasyon**

Nepafenak intraoküler hidrolazlar aracılığıyla ve nispeten hızlı bir biyoaktivasyon ile

amfenak'a dönüşür. Takiben amfenak büyük çapta glukuronid konjugat oluşumunu izleyen aromatik halka hidroksilasyonu dahil daha polar metabolitlere metabolize olur. p-glukuronidaz hidrolizinden önceki ve sonra ki radyokromatografik analizler göstermiştir ki amfenak hariç tüm metabolitler glukuronid konjugatları halindedir.

Amfenak plazmadaki majör metabolittir ve toplam plazma radyoaktivitesinin %13'ünü gösterir. İkinci en büyük plazma metaboliti 5-hidroksi nepafenak olarak tanımlanmıştır ve Cmaks'da toplam radyoaktivitenin yaklaşık %9'unu oluşturmaktadır.

### **Diğer tıbbi ürünlerle etkileşim**

Ne nepafenak ne de amfenak 300 ng/ml'ye kadar olan konsantrasyonlarda in vitro temel insan sitokromu P450'nin (CYP1 A2, 2C9, 2C19, 2E1 ve 3A4) metabolik aktivitelerinin hiç birini inhibe etmediği gösterilmiştir. Bu yüzden CYP aracılığı ile metabolize edilenler de dâhil olmak üzere, birlikte uygulanan tıbbi ürünlerle etkileşim beklenmez.

### **Eliminasyon**

<sup>14</sup>C-nepafenak'ın sağlıklı gönüllülere oral olarak uygulanmasından sonra; dozun yaklaşık %6'sı feçes ile atılırken yaklaşık %85'i olarak hesaplanan üriner atılım radyoaktif atılımların en büyük yolu olarak bulunmuştur. İdrarda nepafenak ve amfenak tayin edilememektedir(115).

25 katarakt hastasına tek doz nepafenak uygulanmasını takiben aköz hümör konsantrasyonları 15, 30, 45 ve 60 dakika ölçülmüştür. Maksimum aköz hümör konsantrasyonu 1 saat sonunda gözlenmiştir (nepafenak 177 ng/ml, amfenak 44,8 ng/ml). Bu bulgular hızlı bir korneal penetrasyona işaret etmektedir(116).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışmamız, bir NSAİİ olan Nepafenak'ın olası oküler ve retina üzerindeki etkilerini belirlemeyi hedefleyen, albino tavşanlar üzerinde yapılmış deneysel bir hayvan çalışmasıdır. Doza bağımlı etkilerin ortaya konulabilmesi amacıyla bu ilaç 2 farklı dozda kullanılmıştır. Ortaya çıkacak olası sonuçların klinik muayene ve histopatolojik değerlendirme ile belirliyelemek için temel klinik muayene yöntemleri olan biyomikroskopi (slit-lamp / kesit lambası), direkt oftalmoskopi, tonometri (Tono-Pen), pakimetri(Richert), temel histopatolojik muayene yöntemi olan ışık mikroskopisi yöntemleri ve terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP Nick and Labelling (TUNEL) yöntemi tercih edilmiş ve dokümanite edilebilen sonuçların birbirleriyle olası korelasyonunu belirlemek için klinik ve histopatolojik değerlendirmelerin sonuçları karşılaştırılmıştır.

Çalışma öncesinde Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan hayvan deneyi yapılabilmesi için gereken onay alınmıştır (2016/35).

Bu temel şablonla uyumlu olarak çalışmamızda, 2000-3000 gr ağırlığında 42 tane Yeni Zelanda albino tavşanının 42 gözü kullanıldı. Tavşanlar Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri ve Araştırma Laboratuvarı'nda hayvan başına düşen kafes alanı 2500 cm, sıcaklık 15-21 derece, havalandırma 5- 15 dakika/saat olarak ayarlandı. Çalışma sırasında su-yem kısıtlaması yapılmadı ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olacak şekilde ortam koşulları sağlandı (**Resim-1**).



**Resim-1:** Tavşanların takiplerinin yapıldığı kafesler

## İLAÇLARIN HAZIRLANMASI

**Nepafenak**, Nevanac(Alcon,Amerika Birleşik Devletleri) %0,1 oftalmik damladan hazırlanmıştır. 1 ml'lik insulin enjektörleri ile 28 adet 0.1 ml (0,1mg) nepafenak çekilmiş ve 14 tanesi deiyonize su ile seyreltilerek 0.05 mg içeren 0.1 mL'lik solüsyonlar elde edilmiştir (**Resim-2**).



**Resim-2** :İnvitreal enjeksiyon yapılmak üzere hazırlanan ilaçlar

## ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

42 dişi, genç erişkin, albino Yeni Zelanda tavşanı (2-3 kg) her bir grupta 14 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrılarak çalışmaya alındı. Çalışma sırasında su-yem kısıtlaması yapılmadı ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olacak şekilde ortam koşulları sağlandı.

Kontrol grubundaki 14 tavşanın sağ gözüne intravitreal 0,1ml BSS (Balanced Salt Solution) enjeksiyonu yapıldı.Enjeksiyon sonrası 1 hafta boyunca tavşanların enjeksiyon yapılan



gözlerine günde 5 kez moksifloksasin(Vigamox,Alcon,İstanbul) damlatıldı ve günlük olarak enjeksiyon yapılan gözlerin kızarıklık, akıntı gibi semptomlar yönünden takipleri yapıldı.

Grup 1'deki 14 tavşanın sağ gözüne intravitreal 0,1 mg (0.1 ml) Nepafenak (Nevanac, Alcon, ABD) enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon sonrası 1 hafta boyunca tavşanların enjeksiyon yapılan gözlerine günde 5 kez moksifloksasin (Vigamox,Alcon,İstanbul) damlatıldı ve günlük olarak enjeksiyon yapılan gözlerin kızarıklık, akıntı gibi semptomlar yönünden takipleri yapıldı.

Grup 2'deki 14 tavşanın yine sağ gözüne intravitreal 0,05 mg (0.1 ml) Nepafenak (Nevnanac, Alcon, ABD) enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon sonrası 1 hafta boyunca tavşanların enjeksiyon yapılan gözlerine günde 5 kez moksifloksasin (Vigamox,Alcon,İstanbul) damlatıldı ve günlük olarak enjeksiyon yapılan gözlerin kızarıklık, sulanma ,çapaklanma gibi semptomlar yönünden takipleri yapıldı.

Grup 1'deki bir hayvan takipleri sırasında doğum yapması sebebiyle çalışma dışı bırakıldı(**Resim-3**).



**Resim-3:**Takiplerde doğum yapması nedeniyle çalışma dışı bırakılan tavşan

Ardından sırasıyla kontrol, grup 1 ve grup 2'deki hayvanların yarısının 7. gün, diğer yarısının ise 30. gün ötenazi ile yaşamına son verildi. Grupların aynı gün intravitreal enjeksiyon yapılan sağ gözleri enükle edildi(**Tablo-2**).

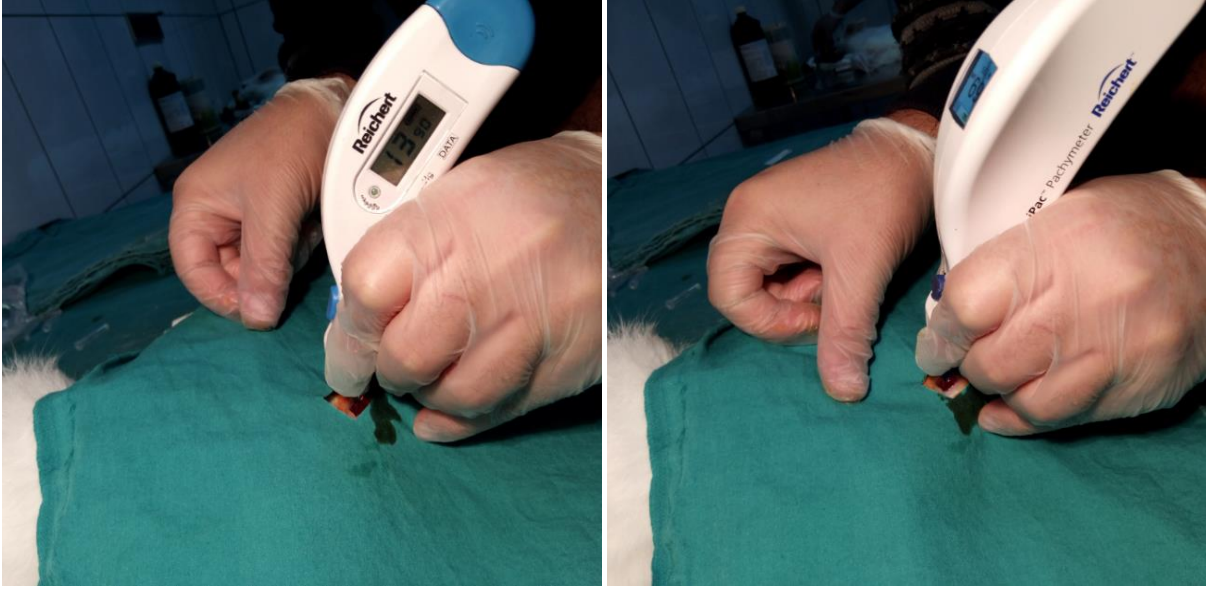
**Tablo-2:** Deney protokolünün uygulanışı

<b>GRUPLAR</b>	<b>0.gün</b>	<b>7.gün</b>	<b>30.gün</b>
<b>Kontrol-1(7 hayvan)</b>	IV-BSS	Örneklerin toplanması	x
<b>Kontrol-2(7 hayvan)</b>	IV-BSS	x	Örneklerin toplanması
<b>Grup1a(7 hayvan)</b>	IV-0,1N	Örneklerin toplanması	x
<b>Grup1b(6 hayvan)</b>	IV-0,1N	x	Örneklerin toplanması
<b>Grup2a(7 hayvan)</b>	IV-0,05N	Örneklerin toplanması	x
<b>Grup2b(7 hayvan)</b>	IV-0,05N	x	Örneklerin toplanması

IV: İntravitreal Enjeksiyon    **BSS:** Balanced Salt Solusyon    **N:** Nepafenak

## **KLİNİK MUAYENE YÖNTEMİ**

Tüm tavşanlar enjeksiyon öncesinde ve enjeksiyon yapıldıktan sonra sırasıyla 1. hafta ve 1. ayda henüz sakrifiye edilmeden, temel klinik muayene yöntemleri olan kesit-lambası (slitlamp) biomikroskopi, direkt oftalmoskopi, merkezi kornea kalınlığı(MKK) (pakimetri) ve GİB değerlendirmesi (Tono-pen) yapılmıştır. Enjeksiyon sonrası 1.haftada 41 tavşana (41 göz), 1.ayda 20 tavşana (20 göz)(21'i 1. Haftada sakrifiye edildi) yukarıda anlatılan bu muayeneler tekrarlanmıştır (**Resim-4A-4B**).

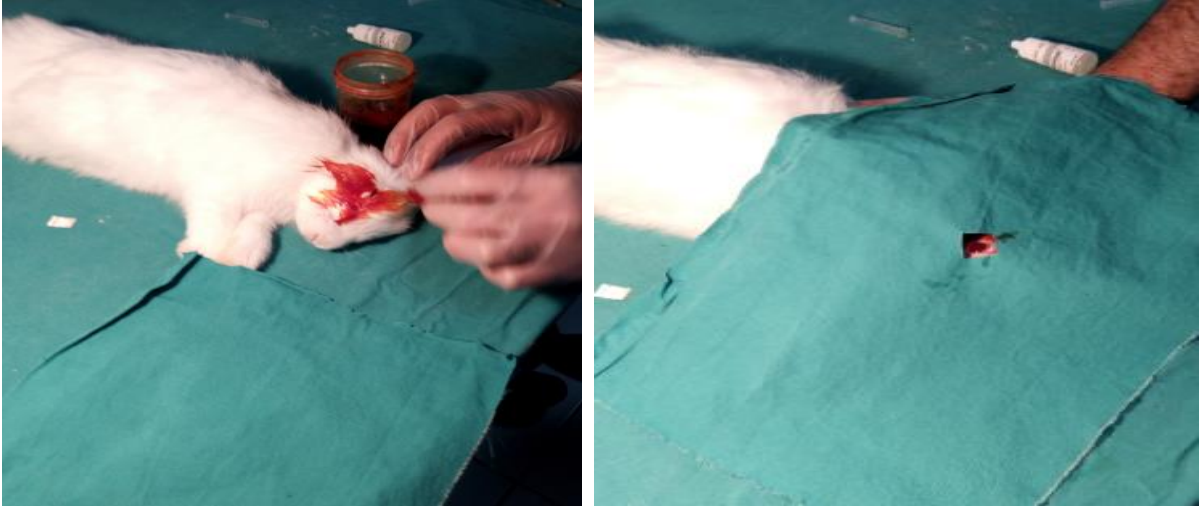


**Resim 4A-4B:** Tavşanların göziçi basınç (3A) ve kornea kalınlık ölçümlerinin (3B) yapılışı

## İNTRAVİTREAL ENJEKSİYON TEKNİĞİ

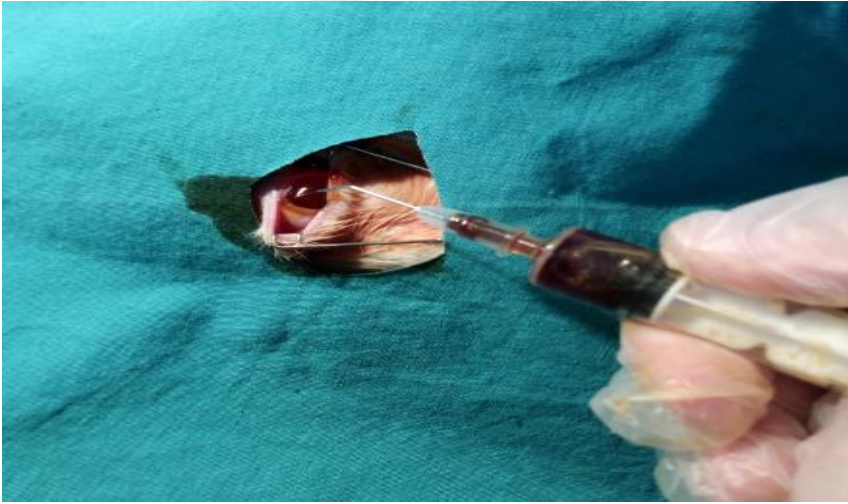
Enjeksiyon öncesinde kullanılacak tüm malzemeler steril şartlar altında açıldı ve enjeksiyon masası hazırlandı.

İntravitreal enjeksiyondan 15 dakika önce topikal olarak uygulanan 1 damla %2.5 fenilefrin (Mydfrin®, Alcon, A.B.D.) ve 1 damla %0.5 tropikamid (Tropamid®, Alcon, A.B.D.) ile pupilla dilatasyonu sağlandı. 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Ketalar®, Pfizer, A.B.D.) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun®, Bayer, Almanya) ile genel anestezi, %0.5 proparakain (Alcaine®, Alcon, A.B.D.) ile topikal anestezi uygulandı. Göz kapağı ve çevresinin dilüe povidon iyot ile temizliğinden sonra steril bir delikli örtü örtüldü ve steril bir blefarosta ile kapakların ekartasyonu yapıldı (**Resim-5A-5B**).



**Resim-5A-5B** : Gözlerin povidon iyotla temizlenmesi(5A) ve delikli örtünün örtülmesi(5B)

İntravitreal enjeksiyondan hemen önce dilüe %10'luk povidon iyodun 5 dakika boyunca kornea-konjonktiva yüzeyi ile teması sağlandıktan sonra %0.09'luk NaCl ile povidin iyot ortamdan uzaklaştırıldı (**Resim-6**).



**Resim-6**: Kornea ve konjonktivanın povidon iyot ile enjeksiyon öncesi yıkanması

Daha sonra hazırlanan BSS ve Nepafenak üst temporal kadrandan limbusun 3 mm gerisinden 30 gaujluk iğne ve insülin enjektörü ile vitreus içerisine enjekte edildi (**Resim-7**).



**Resim-7:** İntravitreal enjeksiyon yöntemi

Enjeksiyon sonrasında ilacın geriye kaçışını önlemek amacıyla steril bir kulak çubuğu yardımıyla iğne giriş bölgesine baskı uygulandı(**Resim-7**) .

Enjeksiyon sonrası örnekler toplanıncaya kadar 4x1 dozda, 1 hafta süreyle %0.5 moksifloksasin damla (Vigamox®, Alcon, A.B.D.) kullanılarak deney hayvanlarının gözü günlük olarak değerlendirildi.

## ÖTANAZİ YÖNTEMİ

İlaç gruplarının her biri (Grup 1,Grup 2) ve kontrol grubu için intravitreal ilaç enjeksiyonundan 1 hafta ve 1 ay sonra, ilaç gruplarının her birinden 14'er tavşan, intramuskuler yüksek doz ketamin hidroklorid(Ketalar®, Pfizer, A.B.D.) ve ksilazin hidroklorid(Rompun®, Bayer, Almanya) enjekte edilerek sakrifiye edildi. Böylelikle her bir ilaç grubu ve kontrol grubu için enjeksiyondan 1 hafta ve 1 ay sonraki histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesi amaçlandı. **Resim-8A-8B**'de anestezi ve sakrifikasyonda kullanılan ilaçlar ile intramusküler ilaç uygulaması esnası ve sonrası tavşanlar görülmektedir.



**Resim 8A-8B:** Anestezi ve sakrifikasyonda kullanılan ilaçlar(8A) ile intramüsküler ilaç uygulaması esnası ve sonrası tavşanlar(8B)

## HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME YÖNTEMİ

41 tavşana ait toplam 41 göz yukarıda belirtilen izlem süreleri sonunda yine yukarıda belirtilen yöntemle sakrifiye edildikten sonra gözler enükle edilip %4 formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi (**Resim-9A-9B**). Her iki gözden ön kamara, silier cisim, koroid ve retinadan geçen kesitler alındı ve her bir orgudan alınan kesitler rutin patolojik doku takip işlemlerinden geçirildikten sonra parafinle bloklandı. Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitler, hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Retina ve koroid tabakası ışık mikroskopu ile toksisite bulguları açısından incelendi. Retinada tabaka bozukluğu, degenerasyon, nekroz, fibrozis ve atrofi; konjonktivada iltihap, koroidde iltihap/ konjesyon varlığı değerlendirildi.



**Resim-9A-9B:**Enüklü edilen göz(9A) ve %4 lük formaldehit solusyonunda fikse edilmesi(9B)

### **Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü**

Kırıkkale Üniversitesi Merkez laboratuvarında, %4'lük formaldehit ile tespit edilen göz doku örnekleri 48 saat tespit edildikten sonra çeşme suyu altında yıkandı ve sırasıyla %50, %70, %80, %90, %96 ve absolu alkol serilerinde 2 saat bekletilerek dehidrasyon yapıldı. Dokular, sırasıyla ksilen, ksilen-parafin ve parafin istasyonlarında 2 saat bekletilerek parafin emdirildikten sonra yine parafin içerisinde bloklandı. Rotary mikrotomda 4-5 µm kalınlığında 5'er adet kesilen dokular trietoksiypropilaminsilan kaplı adeziv lamalar üzerine alınarak 45 °C'de etüv içerisinde bir saat süreyle tutuldu.

### **Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü**

Mikrotom (Leica, RM 2255) aracılığı ile alınan 5µ'lük parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 20'şer dakika üç değişim ksilole tabi tutuldu. Ardından dehidrasyon işlemi için %95'den %70'e azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 10 dakika akarsu altında yıkandı. 10 dakika hematoksilen (Surgipath, 01562E, Bretton, Cambridgeshire) ile boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika eozin (Surgipath, 01602,

Canada) boyası ile boyandı. Ardından sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilolde tutulduktan sonra entellan (Merck 1.07961.0100, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

## **TUNEL Yöntemi**

TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP Nick and Labelling) tekniği ilk defa 1992 yılında tanımlanmıştır. 'Nick end' nükleozomlar arasındaki DNA bölgelerinde endonükleaz aktivitesine bağlı olarak oluşan 3'-hidroksi gruplarını göstermektedir. Bu DNA fragmentasyonu apoptozisin bir karakteristiğidir. Tespitte dUTP'e bağlanan marker digoxigenindir. Terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) enzimi dUTPdigoxygenin taşıyan 3'hidroksi DNA ucunda (nick ends) polimerik bir kuyruk oluşturmaktadır. İşaretleme sonrası antidigoxygenin antikor-peroksidaz konjugatı markır ucunda digoxigenin molekülüne bağlanır ve diaminobenzidin eklenir. Digoxigenine bağlı peroksidaz yoğun kahverengi bir sinyal oluşturur. Apoptotik hücreler ve nükleusları kahverengi boyanır, diğer hücreler mavi-mor olarak gözlenir.

TUNEL pozitif hücreleri göstermek amacıyla Roche (Kat. No: 11684809910) kiti kullanıldı. 4-5 µm kalınlığındaki doku kesitlerinden parafinin uzaklaştırılması amacıyla, 60 °C de ısıtılan kesitler 3 seri ksilolde yıkandı ve absolu, % 96, %90, %70, %60 dereceli alkol ve iki seri distile suda rehidre edildikten sonra formolde tespit edilmiş ve parafine gömülmüş dokularda Tunel tekniğinin uygulanabilmesi için Tunel kit prosedürüne uygun şekilde 10 mm Tris/HCl ile pH 7.4-8 20µg/ml proteinaz K ile dokular enzimatik sindirime tabi tutuldu. İşaretleme aşamasında; Tunel apoptosis kit içerisinde bulunan TUNEL-enzim solüsyonundan her bir kesit için 5µl alınarak, 45 µl TUNEL-label solüsyonuyla karıştırılarak kullanılmaya kadar buz aküsü üzerinde bekletildi. Test edilecek herbir kesit üzerine hazırlanan karışımdan 50µl eklendi ve karanlık bir ortamda 37 °C, 60 dakika süreyle inkübe edildi. Fosfat buffer solüsyonunda 3 kez yıkandıktan sonra apoptosis sinyalinin varlığı yönünden floresan mikroskop altında kontrol edildi. POD converter ile ışık mikroskopik incelemeye uygun kromojen sinyallerinin görünebilmesi için "Sinyal değiştirme" işlemi gerçekleştirildi. Bu amaçla, kesitlerin etrafındaki fazla PBS silindikten sonra 50 µl converter POD eklendi ve 37 C'de 30 dakika inkübe edildi. Fosfat buffer solüsyonunda 3 kez yıkandıktan sonra her bir kesite 50-100 µl AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) kromojen- substrat karışımı eklendi ve renk



reaksiyonu gelişimi mikroskop altında kontrol edilerek sonlandırıldı. Mayer's hematoksilen ile karşıt boyama yapıldı ve pozitif reaksiyonlar ışık mikroskobu altında incelenerek mikrofotografları çekildi. Negatif kontrol için ayrılan kesitlere yalnızca TUNEL-label solusyonu uygulandı. Pozitif kontrol için ise, dokular 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1 mg/ml BSA içerisinde hazırlanan 3000 U/ml– 3 U/ml rekombinant DNase I ile 15-25°C' de 10 dakika inkübe edildi. Böylelikle, işaretleme prosedürü öncesinde kontrollü olarak apoptotik hücrelerdeki benzer DNA kırıkları oluşturuldu.

## **İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

### **İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiksel analiz için, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 20.0 for Windows (SPSS Inc, USA) adlı bilgisayar programı kullanıldı. TUNEL boyanma yüzdeleri değerlendirildi.

Tavşanların verileri için tanımlayıcı istatistiksel veriler olarak ortalama yüzde değerleri ve standart sapma kullanıldı.

Parametrik koşullar karşılanamadığından gruplar arasındaki fark parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

$p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### KLİNİK MUAYENE BULGULARI

#### Enjeksiyon Öncesi:

Tavşanların hiç birisinde ne kesit lambası ne de indirekt oftalmoskopi yöntemiyle anormal bir bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-2).

MKK ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-3).

#### Enjeksiyon Sonrası:

##### *1. hafta sonuçları*

#### Kontrol Grubu

Enjeksiyon yapılan toplam 14 tavşanın 14 gözünün hiç birisinde herhangi bir patoloji izlenmemiştir.

Göz dibi incelemesinde, tavşanların hiç birinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-2).

MKK ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-3).

### **0,1 mg Nepafenak Grubu(Grup 1)**

Enjeksiyon yapılan toplam 13 tavşandan, 4'ünün ilaç yapılan sağ gözünde, fundus değerlendirmesini bozmayacak düzeyde olan ve kırmızı refle altında görüntülenebilen katarakt gelişimi izlenmiştir(**Resim-10**).

Enjeksiyon sonrasında gelişen bu kataraktların 1.ay takiplerinde gidişatını değerlendirebilmek için 1. Haftada yapılan sakrifikasyon için katarakt gelişen bu tavşanlar tercih edilmemiştir.

Göz dibi incelemesinde, tavşanların hiç birinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir(**p>0,05**) (**Tablo-2**).

MKK ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir(**p>0,05**) (**Tablo-3**).



**Resim-10:**Enjeksiyon sonrası katarakt gözlenen tavşan

## 0,05 mg Nepafenak Grubu(Grup 2)

Enjeksiyon yapılan toplam 14 tavşandan 2'sinin ilaç yapılan sağ gözünde fundus değerlendirmesini kısmen bozan ve muayenede enjeksiyon iğnesinin travma hattının ayırt edilebildiği travmatik iyatrojenik katarakt saptanmıştır. Diğer kataraktlardan farklı olarak enjeksiyon alanına yani üst temporal alana lokalizeydi (**Resim-11**).

Yine enjeksiyon yapılan toplam 14 tavşandan, 2'sinin ilaç yapılan sağ gözünde, fundus değerlendirmesini bozmayacak düzeyde olan ancak kırmızı refle altında görüntülenebilen hafif düzeyde bir katarakt gelişimi izlenmiştir. Enjeksiyon sonrasında gelişen bu kataraktların 1.ay takiplerinde gidişatını değerlendirebilmek için 1 haftalık sakrifikasyon için katarakt gelişen bu tavşanlar tercih edilmemiştir.

Göz dibi incelemesinde, tavşanların hiç birinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (**Tablo-2**).

Kornea kalınlık ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (**Tablo-3**).



**Resim-11:**Travmatik iyatrojenik katarakt gelişen tavşan

## ***1. ay sonuçları***

### **Kontrol Grubu**

Enjeksiyon yapılan toplam 14 tavşanın 7 tanesi 1 haftalıkken sakrifiye edildiği için 1 aylık takipte kontrol grubunda 7 tane tavşan kalmıştı. Kalan 7 tavşanın 7 gözünün hiç birisinde herhangi bir patoloji izlenmemiştir.

Göz dibi incelemesinde, tavşanların hiç birinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-2).

MKK ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-3).

### **0,1 mg Nepafenak Grubu(Grup 1)**

Enjeksiyon yapılan toplam 13 tavşandan 7'si, 1 hafta sonrasında sakrifiye edildiği için 1 aylık değerlendirmede toplam 6 tavşan kalmıştı. 1. ay değerlendirmede toplam 6 tavşanın 4'ünde 1.haftada katarakt mevcuttu. Birinci haftadaki kontrolleriyle kıyaslandığında 4 gözdeki kataraktın tamamen kaybolduğu görülmüştür.

Göz dibi incelemesinde, tavşanların hiç birinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-2).

MKK ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-3).

### **0,05 mg Nepafenak Grubu(Grup 2)**

Enjeksiyon yapılan toplam 14 tavşandan 7'si, 1 hafta sonrasında sakrifiye edildiği için 1. ay değerlendirmede toplam 7 tavşan kalmıştı. 1. ay değerlendirmede toplam 7 tavşanın 2'sinde 1.haftada katarakt mevcuttu. Birinci haftadaki kontrollerle kıyaslandığında iki gözdeki kataraktın tamamen kaybolduğu gözlenmiştir.

Göz dibi incelemesinde, tavşanların hiç birinde herhangi bir patolojik bir bulguya rastlanmamıştır.

GİB ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-2).

MKK ölçümlerinde kontrol grubuyla ilaç yapılan gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ) (Tablo-3).

**Tablo-2:**Gruplar arası GİB değerleri

GİB				
	Enjeksiyon Öncesi	1.hafta	1.ay	P değeri*
<b>Kontrol</b>	11,40±2,011	10,00±2,539	12,00±0,707	0,636
<b>Grup 1</b>	12,13±1,922	10,20±2,305	10,57±1,272	0,496
<b>Grup 2</b>	12,63±2,217	10,94±2,489	11,38±1,685	0,554

GİB: Göz içi basınç

\*Kontrol grubu ile diğer gruplar arası karşılaştırma (Mann Whitney U testi) p değerleri

**Tablo-3:** Gruplar arası MKK değerleri

MKK				
	Enjeksiyon Öncesi	1.hafta	1.ay	P değeri*
<b>Kontrol</b>	401,60±24,070	395,30±20,625	397,40±4,930	0,316
<b>Grup 1</b>	373,73±20,965	373,07±17,495	369,43±19,104	0,481
<b>Grup 2</b>	371,25±23,971	375,69±20,719	383,74±20,148	0,596

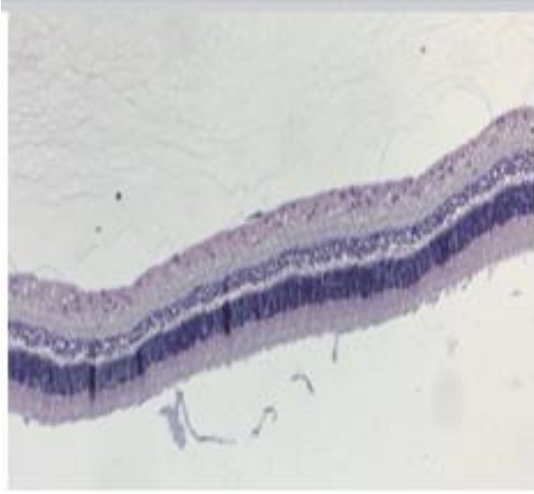
MKK:Merkezi kornea kalınlığı

\*Kontrol grubu ile diğer gruplar arası karşılaştırma (Mann Whitney U testi) p değerleri

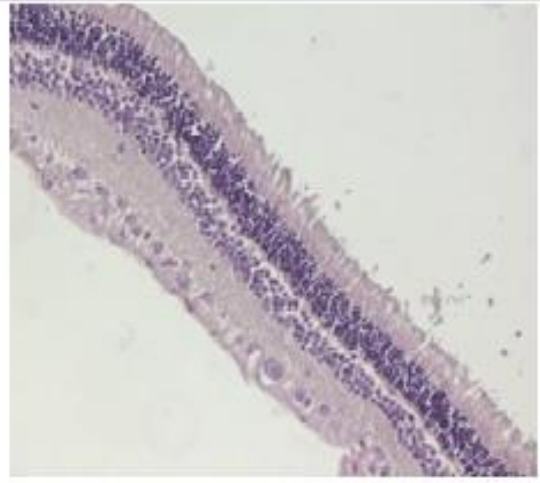
## HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Kontrol ve ilaç gruplarının herbirinin biyopsi kesitlerinin 1.hafta ve 1. ay ışık mikroskopik histopatoloji değerlendirmelerinde retina ve/veya optik disk düzeyinde herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

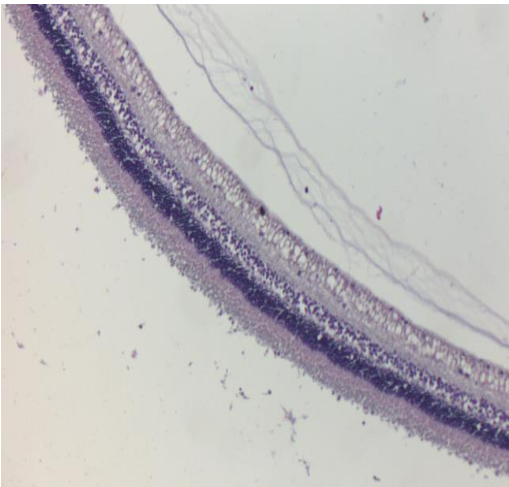
Tüm gruplara ait 1. haftadaki Hematoksilen/Eozin boyanma paterni **Resim-12**'de gösterilmiştir.



**Kontrol Grubu**

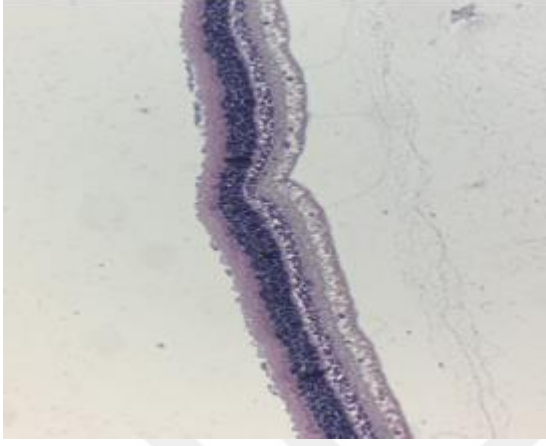


**0,1mg Nepafenak yapılan grup(Grup 1)**

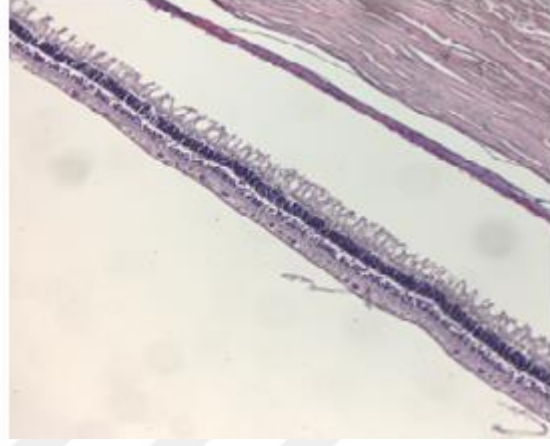


**0,05 mg Nepafenak yapılan grup(Grup 2)**

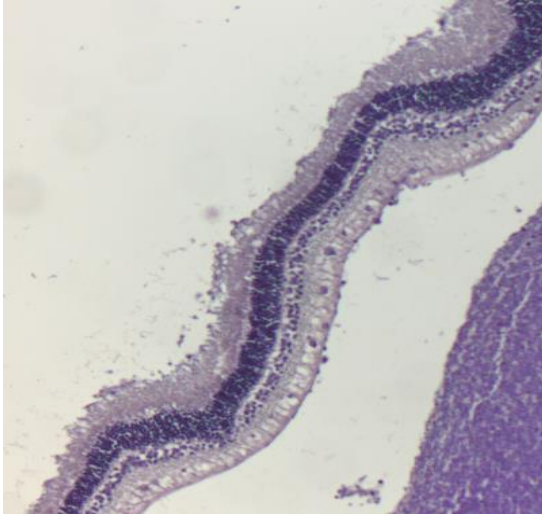
Tüm gruplara ait 1. aydaki Hematoksilen/Eozin boyanma paterni **Resim-13**'de gösterilmiştir.



**Kontrol Grubu**



**0,1 mg Napafenak yapılan grup(Grup 1)**



**0,05 mg Napafenak yapılan grup(Grup 2)**



## TUNEL BOYASINA AİT BULGULAR

Apoptotik süreçteki DNA fragmentasyonunu gösteren TUNEL boyama tekniği ile yapılan incelemelerde TUNEL ile pozitif boyanan hücre sayısı tespit edildi ve yüzde olarak oranlanarak apoptotik index değerleri hesaplandı.(Apoptotik index:TUNEL pozitif hücre sayısı/100) Tüm grupların çalışma gözlerinin TUNEL boyanma yüzdeleri **tablo-4** de gösterilmiştir.

İntravitreal ilaç enjeksiyonu yapılan her bir gruptaki tavşanların gözlerinde TUNEL boyanma yüzdeleri ile kontrol grubu arasında 1. hafta ve 1.ay ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir( $p>0,05$ ).

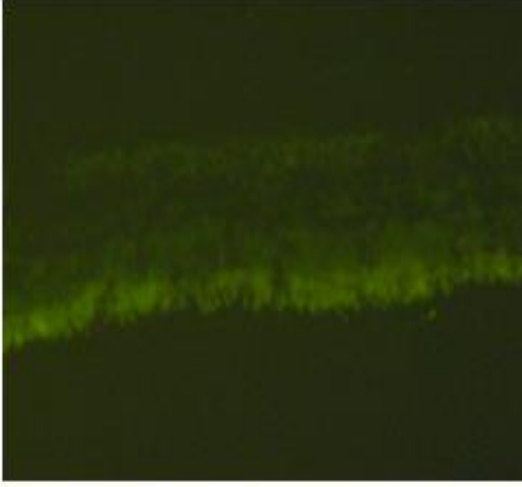
**Tablo-4:** Tüm grupların çalışma gözlerinin TUNEL boyanma yüzdeleri

	TUNEL		
	1.hafta%	1.ay%	P değeri*
<b>Kontrol</b>	1,60±2,191	1,60±2,074	0,927
<b>Grup 1</b>	0,75±1,753	2,14±1,952	0,738
<b>Grup 2</b>	1,00±1,690	1,38±1,685	0,598

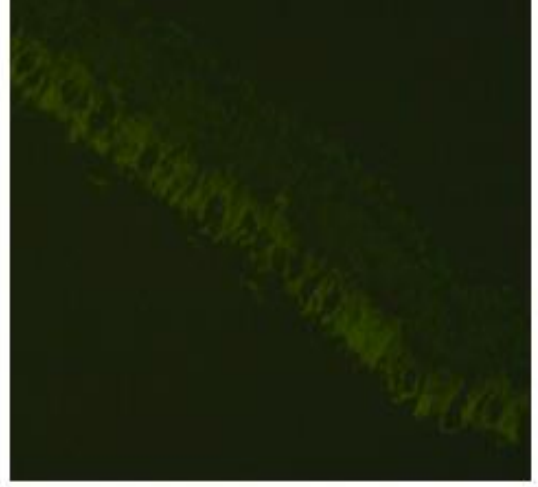
TUNEL: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-mediated dUTP nick end labelling

\*Kontrol grubu ile çalışma grupları arası karşılaştırma (Mann Whitney U testi) p değerleri

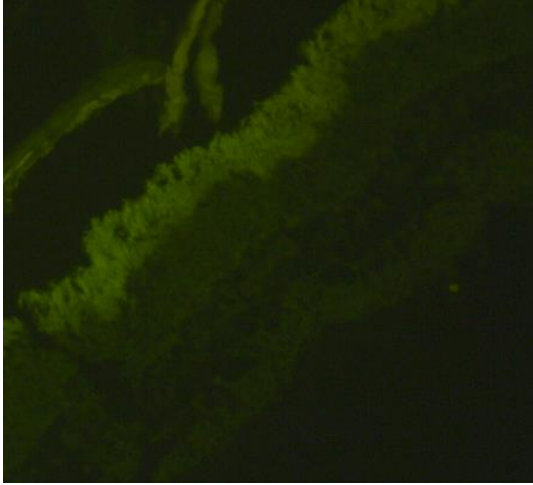
Tüm gruplara ait 1. haftadaki TUNEL boyanma paterni **Resim-14**'de gösterilmiştir.



**Kontrol Grubu**

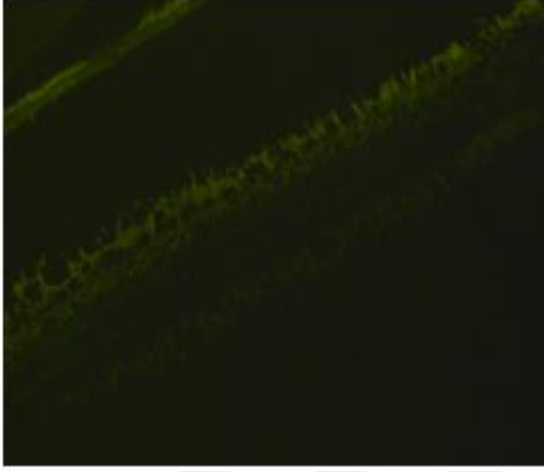


**0,1 Nepafenak yapılan grup**

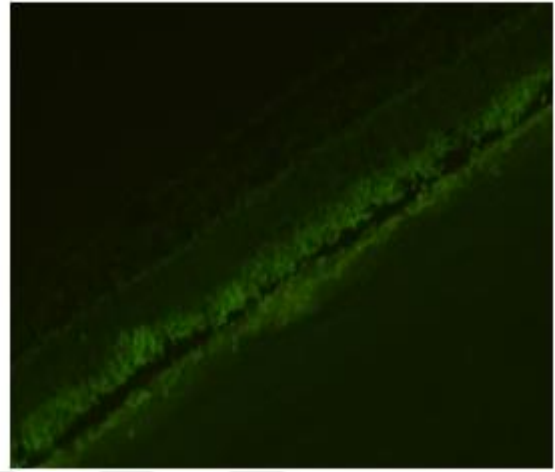


**0,05 mg Nepafenak yapılan grup**

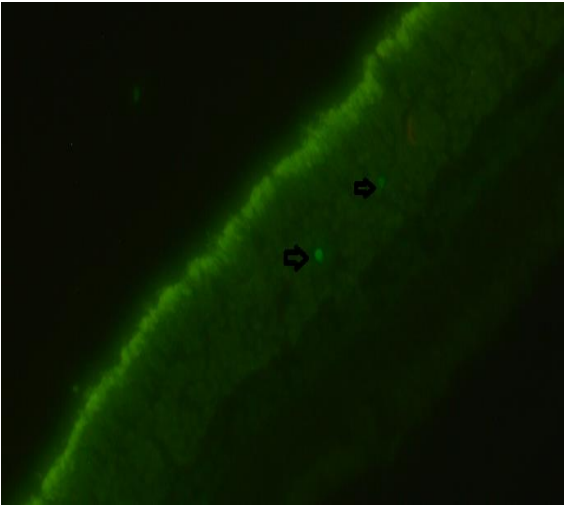
Tüm gruplara ait 1. aydaki TUNEL boyanma paterni **Resim-15**'de gösterilmiştir.



**Kontrol Grubu**



**0,1 mg Nepafenak yapılan grup**



**0,05 mg Nepafenak yapılan grup (→ ile apopitotik hücreler izlenmektedir)**

## TARTIŞMA

Diyabetik retinopati ve yaşa bağlı makula dejenerasyonunun başı çektiği birçok retina hastalıklarında makuler ödeme rastlanılmaktadır. Makuler ödemin patogenezi araştırıldığında infamatuar prosesin büyük rol oynadığı kanıtlanmıştır (1-4).Günümüzde bu hastalıkların tedavisinde anti-inflamatuar etkisinden yararlanan intravitreal steroid enjeksiyonları yapılmaktadır. Güçlü anti-inflamatuar etkilerinin yanında birçok yan etkilerinin de olması bazı hasta gruplarında intravitreal steroid enjeksiyonu yapmamızı engellemektedir. Bu sebeple yan etki profili daha düşük ve anti-enflamatuar etkisi olduğu bilinen yeni ilaçlara yönelmek gerektiği düşünülmektedir.

Biz yaptığımız bu hayvan çalışmasında topikal kullanımının makuler ödem riskini azalttığı kanıtlanmış bir NSAİİ olan Nepafenak'ın intravitreal kullanımının sağlıklı retina dokusunda toksik etki yapıp yapmadığını araştırdık.

NSAİİ'lar anti-inflamatuar etkilerini araşidonik asitten PG sentezini sağlayan COX enzimini inhibe ederek gösterirler. Topikal olarak NSAİİ'lar oftalmolojide kistoid makuler ödeminin azaltılması, katarakt cerrahisi süresince myozisin engellenmesi, alerjik konjonktivit ve keratitin tedavisinde ve postoperatif ağrının azaltılmasında sıkça kullanılmaktadır(101).

Ayrıca bu ilaçların anti-anjiogenik ve anti-proliferatif etkilerinin olduğu daha önce gösterilmiştir(117,118).

Topikal Nepafenak 0,1(1mg/ml),2005 yılında, Nepafenak 0,3(3mg/ml) 2012 yılında kullanıma girmiştir. Her ne kadar bu üretilen ilaçlar topikal kullanım için üretilmişse de biz çalışmamızda intravitreal olarak uyguladık.

NSAİİ'ların topikal kullanımının kan-oküler bariyerleri nedeniyle arka segmentte yeterli düzeyde ulaşip ulaşmadığı tartışmalı bir konu olduğu için direk intravitreal vermenin daha etkili olacağını ve eğer etkinse steroidlerin yerini alabileceğini düşündük.

İlaç enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan etkileri değerlendirmek için direk oftalmoskopi, tonometri(Tono-pen) ve pakimetriyi (Richert) içeren klinik muayene yöntemlerini ve ışık mikroskobu ve TUNEL yöntemini içeren histopatolojik değerlendirme yöntemlerini kullandık.

Çalışmamızda ilacın doza bağlı etkilerini görmek amacıyla 2 farklı dozda, akut ve kronik dönemdeki etkilerini görmek için de 2 farklı zamanda inceleme yöntemlerini uyguladık.

Daha önceki yıllarda birçok ilacın retina toksisitesini incelemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır(119-123).

Geçmişteki çalışmaları incelediğimizde NSAİİ'leri intravitreal uygulamasıyla alakalı bilgiler sınırlı sayıdadır.

Bizim çalışmamızda kullandığımız ilaca bağlı retina toksisitesinin incelendiği çalışma geçmişte sadece bir tanedir.

Bu çalışmada Filiz Afrashi ve arkadaşları 40 adet tavşana 10'arlı 4 gruba sırasıyla 0,3mg,0.5mg,0.75mg ve 1.5mg nepafenak aktif molekülünü(prezervan içermeyen) intravitreal uygulamışlardır. Enjeksiyon sonrası 1,4 ve 8. haftalarda klinik muayene, 4.ve 8. haftalarda ERG ölçümü ve 8. Hafta sonunda tavşanlara ötenazi yapılarak ve gözler enüklü edilerek histopatolojik inceleme yapılmıştır. Klinik muayene, ERG ölçümleri ve histopatolojik incelemelerde hiçbir dozda herhangi bir toksisiteye rastlanmamıştır(124). Bizim çalışmamızın bu çalışmadan farklarından bahsedecek olursak birincisi her ne kadar grup sayısı az olsada gruptaki tavşan sayısı daha fazladır. İkincisi tavşanların yarısına 1. haftada diğer yarısı 1.ayda ötenazi uygulanarak gözler histopatolojik icelermeye tabi tutulmuş ve ilacın hem akut hem de kronik dönemdeki etkileri değerlendirilmiştir. Üçüncüsü ise toksisitenin daha spesifik göstergesi olan ve hücreseel düzeyde toksisite bulgularını değerlendirebilmek için TUNEL yöntemi kullanılmıştır.

Daha önceki NSAİİ ilaçların etkilerinin incelendiği çalışmaları incelediğimizde; Margalit ve arkadaşları 15 adet tavşanı iki gruba ayırarak sırasıyla 500 µg ve 250 µg dozlarında preservan içermeyen intravitreal ketorolak enjeksiyonu yapmışlar ve klinik muayene, ERG ölçümleri ve histopatolojik değerlendirmede herhangi bir toksisiteye rastlamamışlardır(125).

Stephan ve arkadaşları 22 adet tavşanı 2 gruba ayırarak 1. gruba sırasıyla 300-1500 µg/0,1ml değerleri arasında diklofenak; 2. gruba ise 500-6000 µg/0,1ml değerleri arasında intravitreal ketorolak enjeksiyonu yapmışlardır. Enjeksiyon sonrası hastaların klinik muayene, ERG ölçümü ve 8. hafta sonunda gözler enüklü edilerek histopatolojik incelemeleri yapılmış, 3000µg üstü ketorolak ve 300µg üstü diklofenak değerlerinde retina toksisitesine ve ERG ölçümlerinde patolojik değerlere rastlamışlardır ve bu değerlerin altının güvenilir olduğu düşünmüşlerdir(126).

Lang ve arkadaşları ise 4mg Kenalog(triamsinolon asetat ın ticari formu)'un intravitreal enjeksiyonunun tavşan retinasına toksik etki yaptığını bildirmişlerdir. Ancak bu toksik etkinin içerisinde bulunan preservan(benzil alkol) maddeye bağlı olduğunu düşünmüşlerdir(127). Daha önceki diğer çalışmalarda da benzil alkol ün toksik etki yaptığı bildirilmiştir(%0,9)(128).Bizim çalışmamızda ise Nepafenak etken maddesi olan ilacın ticari formundan ilacın direk hazırlanarak intravitreal verilmesine rağmen herhangi bir toksik bulguya rastlanmamıştır. Toksik etki görülmemesinin sebebinin preservan maddenin diğer ilaçlardan farklı olarak çok düşük oranda bulunmasından kaynaklı olabileceğini düşündük (%0,05 benzalkonyum klorür).

Yine bizim çalışmamızda klinik muayane bulgularıyla gözlerin hiç birisinde GİB ölçümleri ve korneal kalınlık ölçümlerinde herhangi bir farklılık izlenmemiştir. Ayrıca çalışmamızda görmeyi kalıcı şekilde engelleyecek geri dönüşümsüz herhangi bir komplikasyona rastlanmamıştır. İzlenen tek komplikasyon katarakt gelişimidir ki oda 1.ay kontrollerinde kaybolmuştur.

Steroidlerin katarojenik etki mekanizmasında literatürde birçok sebep suçlamıştır. Bunlar lens metabolizmasındaki değişiklikler hücrel katyon pompası, steroidlerin C20 grubu ile kristallerin lüzum kalıntılarının amnio grupları arasında şeffaf baz oluşumu ve oksidatif stresdir (129,130).

Bizim çalışmamızda 1 hafta kadar erken dönemde katarakt oluşumunun görülmesinin ilacın farmakokinetik etkisine bağlı olduğunu düşündük. Yüksek dozda verilen grupta daha fazla sayıda kataraktlı göz olması da bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

Her ne kadar gelişen katarakt 1. ay konrollerde kaybolsa da klinik pratikte hasta gruplarına tekrarlayan enjeksiyon yapılabileceği düşünüldüğünde tekrarlayan intravitreal nepafenak enjeksiyonunun kalıcı katarakt yapıp yapmayacağı tahmin edilememektedir.

Bunun yanı sıra tekrarlayan enjeksiyonların retinaya toksik etkisinin olup olmadığı halen bilgi boşluğu bulunan teyide muhtaç alanlardır. Literatür incelendiğinde bu konuyla alakalı yapılmış sadece bir çalışma vardır.

İzabella Komarowska ve arkadaşları ketorolac'ın ticari preperatını (3mg/0.1ml);9 adet tavşanın 6 tanesinin gözüne tek doz 3 tanesinin gözüne ise 2 hafta arayla 4 doz şeklinde intravitreal olarak yapmışlardır. Tek doz yapılan tavşanlarda histopatolojik olarak ve ERG ölçümlerde patolojik bulguya rastlanmazken, tekrarlayan enjeksiyon yapılan 3 tavşanda

retinal lokal toksisite bulgularına ve ERG ölçümlerinde patolojik ölçümlere rastlamışlardır. Ayrıca immünohistokimyasal analizlerinde hücre hasarı markerı olan glial fibriller asidik protein(GFAP) tekrarlayan enjeksiyon yapılan gruptaki 1 tavşanda retinal defekt alanında hafif silik gözlenmiştir. Retinal toksisitenin sebebi tam açıklanmasada ilacın içindeki preservan maddelere bağlı olduğu düşünülmüştür(%10 alkol)(131).

Bizim çalışmamızı diğer çalışmalardan ayıran bir özellikte TUNEL yöntemiyle apoptotik index değerlerinin incelenmesiydi. Gruplar arasında apoptotik index değerleri arasında anlamlı fark izlenmedi.

Sonuç olarak bu çalışma verilerine göre 0,1mg ve 0,05 mg intravitreal nepafenak retinada toksik etki yapmamaktadır. Bu sebeple antiinflamatuvar etkili diğer ilaçların yararlı sonuçlar verdiği çeşitli ön ve arka segment oküler patolojilerinde intravitreal prezervansız NSAİİ uygulamaları da ilave veya alternatif seçenek olabilir. Bunun daha ileri araştırılması için daha geniş bir seride gönüllülerde toksisite çalışmalarına ve hasta grubunda makuler ödeme olan etkilerinin incelendiği insan deneylerine ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Funk, M., Karl, D., Georgopoulos, M., Benesch, T., Sacu, S., Polak, K., ... & Schmidt-Erfurth, U. (2009). Neovascular age-related macular degeneration: intraocular cytokines and growth factors and the influence of therapy with ranibizumab. *Ophthalmology*, 116(12), 2393-2399.
2. Kousuke Noda, Shintaro Nakao, Susumu Ishida and Tatsuro Ishibashi Leukocyte Adhesion Molecules in Diabetic Retinopathy, *Journal of Ophthalmology* Volume 2012, Article ID 279037,
3. Lawrence A. Yannuzzi, MD; Antonio Ciardella, MD; Richard F. Spaide, MD; Maurice Rabb, MD; K. Bailey Freund, MD; Dennis A. Orlock, CRA The Expanding Clinical Spectrum of Idiopathic Polypoidal Choroidal Vasculopathy *Arch Ophthalmol.* 1997;115(4): 478-485
4. Jonas, Jost B., Ingrid Kreissig, and Robert Degenring. "Intravitreal triamcinolone acetonide for treatment of intraocular proliferative, exudative, and neovascular diseases." *Progress in retinal and eye research* 24.5 (2005): 587-611.
5. Yamamoto Y, Komatsu T, Koura Y, Nishino K, Fukushima A, Ueno H. Intraocular pressure elevation after intravitreal or posterior sub-Tenon triamcinolone acetonide injection. *Can J Ophthalmol.* 2008;43(1):42-7.
6. Ansari EA, Ali N. Intraocular pressure following intravitreal injection of triamcinolone acetonide. *Open Ophthalmol J.* 2008;2:119-22.
7. Cekiç O, Chang S, Tseng JJ, Akar Y, Barile GR, Schiff WM. Cataract progression after intravitreal triamcinolone injection. *Am J Ophthalmol.* 2005;139(6):993-8.
8. Singh, R., Alpern, L., Jaffe, G. J., Lehmann, R. P., Lim, J., Reiser, H. J., ... & Sager, D. Evaluation of nepafenac in prevention of macular edema following cataract surgery in patients with diabetic retinopathy. *Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)*, 6, 2012; 1259.
9. Wielders, L. H., Lambert, V. A., Schouten, J. S., van den Biggelaar, F. J., Worthy, G., Simons, R. W., ... & Nuijts, R. M. Prevention of cystoid macular edema after cataract surgery in nondiabetic and diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *American journal of ophthalmology*, 160(5), 2015; 968-981.
10. Aydın P. Temel göz hastalıkları, 2. baskı 2010, Ankara
11. Polyak SL: The Retina. Chicago: University of Chicago Press. Chicago. 1941
12. Aydın P, Akova Y.A. Temel Göz Hastalıkları, Güneş Kitapevi, Ankara, 2001, s. 289



13. Snell RS, Lemp MA. The Eye ball. in: Clinical Anatomy of the eye. Snell RS, Lemp MA 2.ed Blackwell science 1998;132-213
14. Klein R, Knudtson MD, Lee KE, Gangnon R, Klein BE. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy XXIII: the twenty-five-year incidence of macular edema in persons with type 1 diabetes. Diabetes Care. 2002 Sep;25(9):1551-6. Ophthalmology. 2009 Mar;116(3):497-503.
15. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. XV The long-term incidence of macular edema. Ophthalmology 1995; 102:7-16
16. American Academy of Ophthalmology. Retina and Vitreous. United States of America 2005;7-15.
17. Quillen DA, Barber AJ. Anatomy and physiology of retina. In: Quillen DA, Blodi BA, eds Clinical Retina. 1st ed. United States of America: AMA Press 2002. s.1-14
18. Ahnet PK, Kolb H. The mammalian photoreceptor mosaic-adaptive design. Prog Retin Eye Res 2000;19:711-777.
19. Curcio CA, Sloan KR, Kalina RE et al. Human photoreceptor topography. J Comp Neurol 1990;292:497-523
20. Massey SC. Functional Anatomy of the mammalian retina. In: Hinton DR, Schachat AP, eds. Retina. 4th ed. China: Elsevier Mosby; 2006. s.43-82
21. Boycott BB, Kolb H; The connections between bipolar cells and photoreceptors in the retina of the domestic cat. J Comp Neurol, 1973, 148:91
22. Aydın P. Temel göz hastalıkları, 2. baskı 2010, Ankara.
23. Grossniklaus H.E, Kincaid M: Macular diseases. Ophthalmology clinics of North America, W.B. Saunders Company, Philadelphia, U.S.A 1993, 6: 181-191
24. Bec P, Ravault M, Arne JL, Trepsat C : In the Fundus Periphery. New York: Masson Publishing, 1985: 5
25. Norton EW, Aaberg T, Fung W, Curtin VT. Giant retinal tears. I. Clinical management with intravitreal air. Trans Am Ophthalmol Soc 1969;67:374-93.
26. Machemer R, Aaberg TM, Norton EW. Giant retinal tears. II. Experimental production and management with intravitreal air. Trans Am Ophthalmol Soc 1969;67:394-414.
27. Jain IS, Singla RK, Sharma RR, Gupta SD. Role of intravitreal air in the resolution of vitreous haemorrhages: A radioisotope study. Indian J Ophthalmol 1972;20:95-100.
28. Forrester J, Williamson J. Resolution of intravitreal clots by urokinase. Lancet 1973;2:179-81.

29. Peyman GA, Vastine DW, Meisels HI. The experimental and clinical use of intravitreal antibiotics to treat bacterial and fungal endophthalmitis. *Doc Ophthalmol* 1975;21;39:183-201.
30. Meisels HI, Peyman GA. Intravitreal erythromycin in the treatment of induced staphylococcal endophthalmitis. *Ann Ophthalmol* 1976;8: 939-43.
31. Rutgard JJ, Berkowitz RA, Peyman GA. Intravitreal cephalothin in experimental staphylococcal endophthalmitis. *Ann Ophthalmol* 1978;10:293-8.
32. Machemer R, Sugita G, Tano Y. Treatment of intraocular proliferations with intravitreal steroids. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1979;77:171-80.
33. Tano Y, Sugita G, Abrams G, Machemer R. Inhibition of intraocular proliferations with intravitreal corticosteroids. *Am J Ophthalmol* 1980; 89:131-6.
34. Binder S, Riss B, Skorpik C, Kulnig W. Inhibition of experimental intraocular proliferation with intravitreal 5-fluouracil. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1983;221:126-9.
35. Shockley RK, Jay WM, Friberg TR, et all. Intravitreal ceftriaxone in a rabbit model. Dose and time dependent toxic effects and pharmacokinetic analysis. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1236-8.
36. Yoshizumi MO, Silverman C. Experimental intravitreal 5-fluorocytosine *Ann Ophthalmol* 1985;17:58-61.
37. van Bockxmeer FM, Martin CE, Thompson DE, Constable IJ. Taxol for the treatment of proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26:1140-7.
38. Vegh S, Peyman GA, Vernot J, Fiscella R. Toxicity of intravitreal interferon. *Ophthalmic Surg* 1986;17:103-5.
39. Pavan PR, Brinser JH. Treatment of experimental methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis with intravitreal vancomycin. *Ophthalmology* 1987;94:896.
40. Fiscella R, Peyman GA, Kimura A, Small G. Intravitreal toxicity of cotrimoxazole. *Ophthalmic Surg* 1988;19:44-6.
41. Whitacre MM, Crockett RS. Tolerance of intravitreal povidone-iodine in rabbit eyes. *Curr Eye Res* 1990;9:725-32.
42. Antoszyk AN, Gottlieb JL, Machemer R, Hatchell DL. The effects of intravitreal triamcinolone acetonide on experimental pre-retinal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1993; 231: 34-40.
43. Tuncer S, Yilmaz S, Urgancioglu M, ve ark. Results of intravitreal triamcinolone acetonide (IVTA) injection for the treatment of panuveitis attacks in patients with Behcet

disease. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2007;23:395-401.

**44.** Aggio FB, Muccioli C, Belfort R Jr. Intravitreal triamcinolone acetonide as an adjunct in the treatment of severe ocular toxoplasmosis. *Eye.* 2006;20:1080-1082.

**45.** Antcliff RJ, Spalton DJ, Stanford MR, et al. Intravitreal triamcinolone for uveitic cystoid macular edema: an optical coherence tomography study. *Ophthalmology.* 2001;108:765-772.

**46.** Liggett PE, Colina J, Chaudhry NA, et al. Triple therapy of intravitreal triamcinolone, photodynamic therapy, and pegaptanib sodium for choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol.* 2006;142:1072-1074.

**47.** Gillies MC, Larsson J. The effect of intravitreal triamcinolone on foveal edema in exudative macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2007;144:134-136.

**48.** Batioglu F, Ozmert E, Parmak N, et al. Two-year results of intravitreal triamcinolone acetonide injection for the treatment of diabetic macular edema. *Int Ophthalmol.* 2007;27:299-306.

**49.** Ramezani A, Entezari M, Moradian S, et al. Intravitreal triamcinolone for acute central retinal vein occlusion; a randomized clinical trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006;244:1601-1606.

**50.** Greenberg PB, Martidis A, Rogers AH, et al. Intravitreal triamcinolone acetonide for macular edema due to central retinal vein occlusion. *Br J Ophthalmol.* 2002;86:247-248

**51.** Hofman P, Blaauwgeers HG, Tolentino MJ, et al. VEGF-A induced hyperpermeability of blood-retinal barrier endothelium in vivo is predominantly associated with pinocytotic vesicular transport and not with formation of fenestrations. *Vascular endothelial growth factor-A. Curr Eye Res* 2000;21:637-45.

**52.** Tolentino MJ, Brucker AJ, Fosnot J, et al. Intravitreal injection of vascular endothelial growth factor small interfering RNA inhibits growth and leakage in a nonhuman primate, laser-induced model of choroidal neovascularization. *Retina* 2004;24:132-8.

**53.** Maguire MG, Fine SL, Ying GS. Intravitreal injection of VEGF siRNA. *Retina* 2005;25:101-2.

**54.** Larsen M, Sander B, Villumsen JE, et al. Treatment of neovascular age-related macular degeneration with intravitreal vascular endothelial growth factor inhibitor. *Ugeskr Laeger* 2005;29;167:3301-5.

**55.** Irigoye C, Ziahosseini K, Morphis G, et al. Endophthalmitis following intravitreal injections. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250:499–505.

**56.** Moshfeghi AA, Rosenfeld PJ, Flynn HW, et al. Endophthalmitis after intravitreal anti-vascular endothelial growth factor antagonists: a six year experience at a University Referral

Center. *Retina* 2011;31:662-8.

**57.** McCannel CA. Meta-analysis of endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents: causative organisms and possible prevention strategies. *Retina* 2011;31:654-1.

**58.** Jonas JB, Spandau UH, Schlichtenbrede F. Short-term complications of intravitreal injections of triamcinolone and bevacizumab. *Eye* 2008;22:590-1.

**59.** Mezaad-Koursh D, Goldstein M, Heilwail G, et al. A Clinical characteristics of endophthalmitis after an injection of intravitreal anti-vascular endothelial growth factor. *Retina* 2010;30:1051-7.

**60.** Lyall DA, Tey A, Foot B, et al. Post-intravitreal anti-VEGF endophthalmitis in the United Kingdom: incidence, features, risk factors, and outcomes. *Eye* 2012;26:1517-26.

**61.** Inoue M, Kobayakawa S, Sotozono C, et al. Evaluation of the Incidence of Endophthalmitis after Intravitreal Injection of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor. *Ophthalmologica* 2011;226:145-50.

**62.** Wu L, Evans T. Immediate changes in intraocular pressure after an intravitreal injection of 2.5 mg of bevacizumab. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2010;85:364-9.

**63.** Singh IP, Ahmad SI, Yeh D, et al. Early rapid rise in intraocular pressure after intravitreal triamcinolone acetonide injection. *Am J Ophthalmol* 2004; 138:286-7.

**64.** Hollands H, Wong J, Bruen R, et al. Short-term intraocular pressure changes after intravitreal injection of bevacizumab. *Can J Ophthalmol* 2007;42:807-11.

**65.** Kim JE, Mantravadi AV, Hur EY, Covert DJ. Short-term intraocular pressure changes immediately after intravitreal injections of anti-vascular endothelial growth factor agents. *Am J Ophthalmol* 2008;146:930-4.

**66.** Frenkel RE, Mani L, Toler AR, Frenkel MP. Intraocular pressure effects of pegaptanib (Macugen) injections in patients with and without glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2007;143:1034-5.

**67.** Good TJ, Kimura AE, Mandava N, Kahook MY. Sustained elevation of intraocular pressure after intravitreal injections of anti-VEGF agents. *Br J Ophthalmol* 2011;95:1111-4.

**68.** Lee AC, Crowston JG, Goldbaum MH, Weinreb RN. Late intraocular pressure rise after repeat intravitreal triamcinolone acetonide injections. *Semin Ophthalmol* 2004;19:119-21.

**69.** Kaushik S, Gupta V, Gupta A, Dogra MR, Singh R. Intractable glaucoma following intravitreal triamcinolone in central retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol* 2004;137:758-60.

**70.** Kerimoglu H, Ozturk BT, Bozkurt B, Okka M, Okudan S. Does lens status affect the

course of early intraocular pressure and anterior chamber changes after intravitreal injection?  
*Acta Ophthalmol* 2011;89:138-42.

**71.** Hoang QV, Tsuang AJ, Gelman R, et al. Clinical predictors of sustained intraocular pressure elevation due to intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Retina* 2013;33:179-87.

**72.** Bakri SJ, Moshfeghi DM, Rundle A, et al. IOP in Eyes Treated With Monthly Ranibizumab: A Post Hoc Analysis of Data From the MARINA and ANCHOR Trials. Paper presented at: AAO Annual Meeting, October 17, 2010; Chicago.

**73.** Meyer CH, Rodrigues EB, Michels S, et al. Incidence of damage to the crystalline lens during intravitreal injections. *J Ocul Pharmacol Ther* 2010;26:491-5.

**74.** Khalifa YM, Pantanelli SM. Quiescent posterior capsule trauma after intravitreal injection: implications for the cataract surgeon. *J Cataract Refract Surg* 2011;37:1364.

**75.** Brown DM, Kaiser PK, Michels M, et al. Ranibizumab versus verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: Two-year results of the ANCHOR study. *Ophthalmology* 2009; 116:57–65.e5.

**76.** Singerman LJ, Masonson H, Patel M, et al. Pegaptanib sodium for neovascular age-related macular degeneration: third-year safety results of the VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularisation (VISION) trial. *Br J Ophthalmol* 2008; 92:1606–1611.

**77.** Wu L, Martinez-Castellanos MA, Quiroz-Mercado H, et al. Twelve-month safety of intravitreal injections of bevacizumab (Avastin): results of the Pan- American Collaborative Retina Study Group (PACORES). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008; 246:81–87.

**78.** Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, et al. MARINA study group. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1419–1431.

**79.** Özkiriş A, Erkiliç K. Complications of intravitreal injection of triamcinolone acetonide. *Can J Ophthalmol*. 2005;40:63-68.

**80.** Nelson ML, Tennant MT, Sivalingam A, et al. Infectious and presumed noninfectious endophthalmitis after intravitreal triamcinolone acetonide injection. *Retina* 2003; 23:686–

**81.** Roth DB, Chieh J, Spirn MJ, et al. Noninfectious endophthalmitis Associated with intravitreal triamcinolone injection. *Arch Ophthalmol* 2003; 121:1279–1282.

**82.** Wang LC, Yang CM. Sterile endophthalmitis following intravitreal injection of triamcinolone acetonide. *Ocul Immunol Inflamm* 2005; 13:295–300.

**83.** Jonisch J, Lai JC, Deramo VA, et al. Increased incidence of sterile endophthalmitis following intravitreal preserved triamcinolone acetonide. *Br J Ophthalmol* 2008; 92:1051–1054.

- 84.** Moshfeghi DM, Kaiser PK, Bakri SJ, et al. Presumed sterile endophthalmitis following intravitreal triamcinolone acetonide injection. *Ophthalmic SurgLasers Imaging* 2005; 36:24–29.
- 85.** Lam A, Garg SJ, Spirn M, et al. Sterile endophthalmitis following intravitreal injection of preservative-free triamcinolone acetonide. *Retinal Cases and Brief Reports* 2008; 2:228–230.
- 86.** Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, et al. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.*2004;351:2805-16.
- 87.** Brown DM, Kaiser PK, Michels M, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006; 355:1432–1444.
- 88.** The Eyetech study group.: Anti-vascular endothelial growth factor therapy for subfoveal choroidal Neovascularization secondary to age- related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2003;110:979- 986.
- 89.** Ziemssen F, Warga M, Neuhann IM et al. Tuebingen Bevacizumab Study Group. Does intravitreal injection of bevacizumab have an effect on the blood-aqueous barrier function? *Br J Ophthalmol.* 2006;90:922.
- 90.** Kiss C, Michels S, Prager F et al. Evaluation of anterior chamber inflammatory activity in eyes treated with intravitreal bevacizumab. *Retina.* 2006;26:877-881
- 91.** Gómez-Ulla F, Basauri E, Arias L, Martínez-Sanz F. Management of intravitreal injections. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2009;84:377-88.
- 92.** Höhn F, Mirshahi A. Impact of injection techniques on intraocular pressure (IOP) increase after intravitreal ranibizumab application. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248:1371-5.
- 93.** Ozkaya A, Alkın Z, Celik U, et al. Comparing the effects of three different intravitreal injection techniques on vitreous reflux and intraocular pressure. *J Ocul Pharmacol Ther* 2013;29:325-9.
- 94.** Doshi RR, Leng T, Fung AE. Reducing oral flora contamination of intravitreal injections with face mask or silence. *Retina* 2012 ;32:473-6.
- 95.** Ballou SP, Kushner I: Laboratory evaluation of inflammation. In textbook of romatology. Edited by Kelley WN, Haris ED Jr, Ruddy S, Sledge CB. Philadelphia: W B sounders co, 2000: 697– 703.
- 96.** Kılınçturgay K. Enfeksiyonlara Karşı Savunma. İmmunolojiye Giriş, 3. Baskı. Tayf Ofset 1994, S: 127– 28.
- 97.** Vinay Kumar, Ramzi S. Cotran, Stanley L. Robbins, Basic Pathology, Akut ve Kronik İnflamasyon, Bölüm 2, 2000, sayfa,26

- 98.** J. Harry, and G. Mission. Clinical Ophthalmic Pathology, Principles of Diseases of the Eye and Associated Structures, Butterworth Heinemann, Oxford, UK, 2001.
- 99.** J. H. Chang, and H. Chung. Nonsteroidal antiinflammatory drug and endotoxin induced uveitis. Korean. J. Ophthalmol,1993,s:7:35–42.
- 100.** Sherif Z. Corticosteroids in ophthalmology: past-present-Future. Ophthalmologica 2002; 216:305-315.
- 101.** Kim SJ, Flach AJ, Jampol LM. Nonsteroidal antiinflammatory drugs in ophthalmology. Surv Ophthalmol 2010; s:55:108–133
- 102.** Vane JR, Botting RM. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Am J Med 1998;104:2S–8S.
- 103.** Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1998;38:97–120.
- 104.** Botting RM. Vane's discovery of the mechanism of action of aspirin changed our understanding of its clinical pharmacology. Pharmacol Rep 2010;62:518–525.
- 105.** Maloney SC, Fernandes BF, Castiglione E, Anteck E, Martins C, Marshall JC, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in choroidal neovascular membranes from age-related macular degeneration patients. Retina 2009;29:176–180.
- 106.** Da. Gamache, G. Graff, M. T. Brady, J. M. Spellman, and J. M. Yanni. Nepafenac a unique non steroidal prodrug with potential utility in the treatment of trauma-induced ocular inflammation: I. Assessment of anti-inflammatory efficacy. Inflammation 2000,24: 357–369.
- 107.** T. L. Ke, G. Graff, J. M. Spellman, and J. M. Yanni. Nepafenac a unique non steroidal prodrug with potential utility in the treatment of trauma-induced ocular inflammation: II In vitro bioactivation and permeation of external ocular barriers. Inflammation, 2000, 24:371–384.
- 108.** Ke, T. L., Graff, G., Spellman, J. M., & Yanni, J. M. Nepafenac, a unique nonsteroidal prodrug with potential utility in the treatment of trauma-induced ocular inflammation: II. In vitro bioactivation and permeation of external ocular barriers. *Inflammation*, 24(4),2000: 371-384.
- 109.** Gamache, D. A., Graff, G., Brady, M. T., Spellman, J. M., & Yanni, J. M. Nepafenac, a unique nonsteroidal prodrug with potential utility in the treatment of trauma-induced ocular inflammation: I. Assessment of anti-inflammatory efficacy. *Inflammation*, 24(4),2000: 357-370.
- 110.** Nardi, M., Lobo, C., Berezki, A., Cano, J., Zagato, E., Potts, S., ... & Notivol, R. Analgesic and anti-inflammatory effectiveness of nepafenac 0.1% for cataract

surgery. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*, 1(4),2007: 527.

**111.**Lane, S. S., Modi, S. S., Lehmann, R. P., & Holland, E. J. Nepafenac ophthalmic suspension 0.1% for the prevention and treatment of ocular inflammation associated with cataract surgery. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 33(1),2007: 53-58.

**112.**Simone, J. N., & Whitacre, M. M. (2001). Effects of anti-inflammatory drugs following cataract extraction. *Current opinion in ophthalmology*, 12(1), 63-67.

**113.**Singh, R., Alpern, L., Jaffe, G. J., Lehmann, R. P., Lim, J., Reiser, H. J., ... & Sager, D. Evaluation of nepafenac in prevention of macular edema following cataract surgery in patients with diabetic retinopathy. *Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)*, 6,2012: 1259.

**114.**Wielders, L. H., Lambermont, V. A., Schouten, J. S., van den Biggelaar, F. J., Worthy, G., Simons, R. W., ... & Nuijts, R. M. Prevention of cystoid macular edema after cataract surgery in nondiabetic and diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *American journal of ophthalmology*, 160(5),2015: 968-981.

**115.**Walters, T., Raizman, M., Ernest, P., Gayton, J., & Lehmann, R. In vivo pharmacokinetics and in vitro pharmacodynamics of nepafenac, amfenac, ketorolac, and bromfenac. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 33(9),2007: 1539-1545.

**116.**Lane, S. S. Nepafenac: A unique nonsteroidal prodrug. *International ophthalmology clinics*, 46(4),2006: 13-20.

**117.** Monnier Y, Zaric J, Ruegg C. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal antiinflammatory drugs: from the bench to the bedside and back. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005;4(1):31-38.

**118.** Chandler DB, Rozakis G, de Juan E Jr, Machemer R. The effect of triamcinolone acetonide on a refined experimental model of proliferative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1985;99(6):686-690.

**119.**McDonald, H. R., Schatz, H., Allen, A. W., Chenoweth, R. G., Cohen, H. B., Crawford, J. B., ... & Snider, J. D. Retinal toxicity secondary to intraocular gentamicin injection. *Ophthalmology*, 93(7),1986: 871-877.

**120.**Johnson, M. W., Olsen, K. R., Hernandez, E., Irvine, W. D., & Johnson, R. N. Retinal toxicity of recombinant tissue plasminogen activator in the rabbit. *Archives of Ophthalmology*, 108(2),1990: 259-263.

**121.**Alghadyan, A. A., Peyman, G. A., Khoobehi, B., & Liu, K. R. Liposome-bound cyclosporine: retinal toxicity after intravitreal injection. *International ophthalmology*, 12(2),1988: 105-107.

**122.**Campochiaro, P. A., & Green, W. R. Toxicity of intravitreal ceftazidime in primate



retina. *Archives of Ophthalmology*, 110(11),1992: 1625-1629.

**123.**Rowley, S. A., Vijayasekaran, S., Yu, P. K., McAllister, I. L., & Yu, D. Y. Retinal toxicity of intravitreal tenecteplase in the rabbit. *British journal of ophthalmology*, 88(4),2004: 573-578.

**124.**Afrashi, F., Karatepe Hashas, A. S., Shahbazov, C., Arici, M., Yikilmaz, M. S., Deveci, R., ... & Sahar, U. Reliability of intravitreal nepafenac in rabbits. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 31(1),2015: 43-50.

**125.**Margalit, E., Kugler, L. J., Brumm, M. V., Meza, J. L., Kompella, U. B., Escobar, E. R., & Christensen, G. R. The safety of intraocular ketorolac in rabbits. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(5),2006: 2093-2099.

**126.**Kim, S. J., Adams, N. A., Toma, H. S., Belair, M. L., Thorne, J. E., Green, W. R., & Jabs, D. A. Safety of intravitreal ketorolac and diclofenac: an electroretinographic and histopathologic study. *Retina*, 28(4),2008: 595-605.

**127.**Lang, Y., Zemel, E., Miller, B., & Perlman, I. Retinal toxicity of intravitreal kenalog in albino rabbits. *Retina*, 27(6),2007: 778-788.

**128.**Morrison, V. L., Koh, H. J., Cheng, L., Bessho, K., Davidson, M. C., & Freeman, W. R. Intravitreal toxicity of the kenalog vehicle (benzyl alcohol) in rabbits. *Retina*, 26(3),2006: 339-344.

**129.**Urban RC Jr, Cotlier E. Corticosteroid-induced cataracts. *Surv Ophthalmol* 1986;31:102–10.

**130.** Creighton MO, Sanwal M, Stewart-DeHaan PJ, Trevithick JR. Modeling cortical cataractogenesis. V. Steroid cataracts induced by solumedrol partially prevented by vitamin E in vitro. *Exp Eye Res* 1983;37:65–76.

**131.**Komarowska, I., Heilweil, G., Rosenfeld, P. J., Perlman, I., & Loewenstein, A. Retinal toxicity of commercially available intravitreal ketorolac in albino rabbits. *Retina*, 29(1),2009: 98-105.

