



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

**TAVŞAN GÖZLERİNDE FARKLI DOZ VE SÜRELERDE
TOPIKAL OLARAK UYGULANAN MITOMİSİN C’NİN
GÖZ İÇİ BASINCINA ETKİLERİ İLE YOL AÇTIĞI
HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Kemal YAR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Altan A. ÖZCAN

ADANA-2010



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

**TAVŞAN GÖZLERİNDE FARKLI DOZ VE SÜRELERDE
TOPIKAL OLARAK UYGULANAN MITOMİSİN C’NİN
GÖZ İÇİ BASINCINA ETKİLERİ İLE YOL AÇTIĞI
HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Kemal YAR

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Altan A. ÖZCAN

**Bu Tez Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir
PROJE NO: TF 2006 LTP 38**

Adana-2010

TEŞEKKÜR

Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen aileme, başta tez danışmanım Doç. Dr. Altan A. Özcan olmak üzere asistanlık eğitimimde emeği geçen kıymetli hocalarıma, tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Histoloji Anabilim Dalı Bölüm Başkanı Prof. Dr. Sait Polat'a, Patoloji Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan Doç. Dr. Şeyda Erdoğan'a , Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda görev yapmakta olan Uzm. Dr. Yaşar Sertdemir'e, birlikte çalıştığım asistan, hemşire ve personel arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Kemal Yar
Adana, 2010

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMA LİSTESİ	VIII
ÖZET ve ANAHTAR SÖZCÜKLER	IX
ABSTRACT – KEYWORDS	X
1.GİRİŞ ve AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mitomisin C	3
2.1.1. MMC’nin yapısı ve genel özellikleri	3
2.1.2. MMC’nin etki mekanizması	4
2.1.3. MMC’nin oküler farmakokinetiği	6
2.2. MMC’nin oftalmolojide kullanım alanları	6
2.2.1. Oküler yüzey tümörleri	6
2.2.1.1. Skuamöz oküler yüzey tümörleri	8
2.2.1.1.1. İntraepitelyal neoplazi	8
2.2.1.1.2. Skuamöz hücreli Karsinom	8
2.2.1.2. Melanositik oküler yüzey tümörleri	8
2.2.1.2.1. Primer akkiz melanozis	8
2.2.1.2.2. Malign melanom	9
2.2.2. Oftalmik cerrahiler	9
2.2.2.1. Glokom cerrahisi	9
2.2.2.2. Piterjiyum cerrahisi	10
2.2.2.3. Lakrimal cerrahi	11
2.2.2.4. Refraktif cerrahi	11
2.2.2.5. Oküler skatrizasyon cerrahisi	12
2.3.MMC’nin Oftalmolojide gelecekte kullanılabileceği alanlar	13
2.3.1.Oftalmik cerrahiler	13
2.3.1.1. Şaşılık cerrahisi	13
2.3.1.2. Orbital implant cerrahisi	13
2.3.1.3. Proliferatif vitreoretinopati	13
2.3.1.4. Optik sinir kılıfı fenestrasyon cerrahisi	14
2.3.1.5. Katarakt cerrahisi	14
2.3.2. Vernal keratokonjonktivit	14
2.4. Topikal MMC’nin komplikasyonları	15
2.5. Oküler yüzey tümörlerinde kullanılan diğer ajanlar	16
2.5.1. 5-Fluourasil	16
2.5.2. İnterferon	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. Deneysel Aşama	19
3.2. Histopatolojik değerlendirme	21
3.2.1. Elektron mikroskopi	21
3.2.2. Işık mikroskopi yöntemleri	23
3.3. İstatistiksel analiz	23

4. BULGULAR	
4.1. Mitomisin C'nin histopatolojik etkileri	24
4.1.1. Işık mikroskopisi	24
4.1.1.1. Siliyer cisim	25
4.1.1.2. Kornea	28
4.1.2. Elektron mikroskopisi	30
4.1.2.1. Normal Kontrol Grubu	30
4.1.2.1.1 Siliyer cisim	30
4.1.2.1.2. Kornea	32
4.1.2.2. MMC'nin kısa dönem histopatolojik etkileri	34
4.1.2.2.1. Siliyer cisim	34
4.1.2.2.2. Kornea	37
4.1.2.3. MMC'nin kısa dönem histopatolojik etkileri	42
4.1.2.3.1. Siliyer cisim	42
4.1.2.3.2. Kornea	45
4.2. Mitomisin C'nin göz içi basıncına etkileri	49
5. TARTIŞMA	56
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	64
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	74

TABLO LİSTESİ

Tablo no.	Sayfa no.
Tablo 1. Oküler yüzey tümörleri sınıflaması	7
Tablo 2. Topikal Mitomisin C'nin yan etkileri	16
Tablo 3. Grupların özellikleri	20
Tablo 4. Kısa dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basınç ölçüm değerleri	50
Tablo 5. Uzun dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basıncı ölçüm değerleri	53

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil no.	Sayfa no.
Şekil 1: Mitomisin C kimyasal yapısı	3
Şekil 2: Mitomisin C'nin kimyasal reaksiyonları	5
Şekil 3: Tonopen XL ile göz içi basınç ölçümü	20
Şekil 4: Enükleasyon işlemi	21
Şekil 5: Enükleasyon materyalinden hazırlanan histolojik kesitte papiler yapılanma Gösteren siliyer cisim HE x 100	24
Şekil 6: Kontrol grubunda siliyer cisim kesitinde epitelyum hücrelerinde pembe Eozinofilik stoplazma HE X 400.	25
Şekil 7: 0,2 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta siliyer cisim epitel Hücrelerinde hafif derecede şeffaflaşma HE X 400	25
Şekil 8: 0,4 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) siliyer cisim epitelinde şiddetli derecede vakuoler dejenerasyonu	26
Şekil 9: 0,8 mg/ml 6 ay (12 kür) grupta siliyer cisim stromasında belirgin artım ve damarlanma artışı HE X400.	26
Şekil 10: 0,4 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta siliyer cisim Sromasında belirgin artışı HE X400.	27
Şekil 11: 0,4 mg / ml MMC 3 ay (6 kür) kullanılan tavşanlarda siliyer cisim epitelinde orta şiddette vakuoler dejenerasyon .	27
Şekil 12: 0,8 mg/ml dozda 3 ay (6 kür) kullanılan grupta siliyer cisim epitelinde şiddetli derecede vakuoler dejenerasyon sonucunda görülen şeffaflaşma.	28
Şekil 13: 0 Şekil 13. Kontrol grubunda düzgün sıralanma gösteren , stoplazması belirgin olmayan kornea endoteli HE X 400.	29
Şekil 14: 0,4 ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta korneada epitelin sıralanma artışı(ince ok) ve endotelde vakuoler dejenerasyon izlenmektedir HE X 400.	29
Şekil 15: 0,8 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta kornea endotel stoplazmasında vakuoler dejenerasyon HE X 400.	30
Şekil 16. Korpus Siliare Normal Kontrol Grubu. Korpus siliare yüzey epitel hücrelerinin apikal kısmındaki intakt, içiçe geçmiş mikrovilluslar (Beyaz oklar) izlenmektedir. İç sınırlayıcı membran (Ok başı), çekirdek (Ç) İç sınırlayıcı membran (Ok başı), çekirdek (Ç).	32
Şekil 17: Şekil 17: Kornea Normal Kontrol Grubu. Kornea epitelinin, nonkeratinize çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluştuğu görülmektedir. Kornea epitel hücrelerinin apikal yüzeylerindeki kısa mikrovilluslar izlenmektedir (Ok başları). Hücreler arasındaki bağlantı kompleksleri görülmektedir (Beyaz oklar). Çekirdek (Ç). kompleksleri görülmektedir. Çekirdek (Ç).	33

Şekil 18: Kornea Normal Kontrol Grubu. Kornea alt kısmını döşeyen endotel hücre tabakası görülmektedir (En). Endotel hücreleri apikal yüzeyindeki mikrovilluslar izlenmektedir (Siyah ok). Çekirdek (Ç).Descement membranı (D).	34
Şekil 19: Siliyer cisim 3 ay, 0,2 mg/ml MMC.Siliyer cisim yüzey epitel hücrelerinde apikal mikrovillus kayıpları (Siyah ok) ve sitoplazma içerisinde membranöz whorl yapıları (Beyaz ok) görülmektedir. Bazal hücre (BH), çekirdek (Ç).	35
Şekil 20: Korpus Siliare 3 ay, 0,4 mg/ml MMC. Korpus siliare yüzey epitelinde apikal mikrovillus kaybı (Siyah ok), lateral yüzeyde hücrelerarası aralıklarda düzensizleşme (Ok başı), çekirdekte derin indentasyonlar (Çift ok) ve sitoplazma içerisinde membranöz whorl yapıları (Beyaz oklar) görülmektedir. Bazal hücre (BH), çekirdek (Ç).	36
Şekil 21: Korpus Siliare 3 ay, 0,8 mg/ml MMC. Korpus siliare yüzey epitelinde incelleme, mikrovillus kaybı, hücrelerarası aralıklarda genişleme (Siyah oklar), apikal yüzeyde belirgin olmak üzere, mitokondriyonlarda yapısal harabiyet (Ok başları) ve membranöz whorl yapıları (Beyaz oklar) örülmektedir. Bazal hücre (BH), çekirdek (Ç).	37
Şekil 22: Kornea 3 ay, 0,2 mg/ml MMC. Kornea epiteli görülmektedir. Kornea yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzeylerindeki kısa mikrovilluslar izlenmekte (Ok başları). Hücreler arasındaki bağlantı kompleksleri görülmektedir (Beyaz oklar). Çekirdek (Ç).	38
Şekil 23: Kornea 3 ay, 0,2 mg/ml MMC. Kornea alt kısmını döşeyen endotel hücre tabakası görülmektedir (En). Endotel hücre tabakasındaki litik alanlar (Siyah ok) ve Descement membranına yakın kısımlarda vakuolizasyon (Beyaz oklar) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Descement membranı (D).	38
Şekil24: Kornea 3 ay, 0,4 mg/ml MMC: Kornea yüzey epitelinde hücrelerarası aralıklarda hafif genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Yüzeyel mikrovilluslar (Ok başları), çekirdek (Ç).	39
Şekil 25: Kornea 3 ay, 0,4 mg/ml MMC: Kornea endotel hücrelerinde, çekirdekte hiperkromatin artışı, piknotik değişiklikler ve sitoplazmada litik alanların varlığı (Siyah oklar) izlenmektedir. Endotel hücreleri (En), çekirdek (Ç), Descement membranı (D).	40
Şekil 26: Kornea 3 ay, 0,8 mg/ml MMC. Kornea epitelinde bazale yakın hücrelerde hücrelerarası aralıklarda hafif genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Stroma (S), bazal lamina (BL), çekirdek (Ç).	41
Şekil 27: Kornea 3 ay, 0,8 mg/ml MMC. Kornea endotel hücrelerinde sitoplazmada litik alanların varlığı (Siyah oklar) izlenmektedir. Endotel hücreleri (En), çekirdek (Ç), Descement membranı (D).	41
Şekil 28: Korpus Siliare 6 ay, 0,2 mg/ml MMC. Korpus siliarenin yüzey prizmatik epitel hücresinde apikal mikrovillus sayısında azalma, lateral yüzeyde ödemi temsil eden, hücrelerarası aralıklarda düzensizleşme ve genişlemeler (Siyah oklar) izlenmektedir. İç sınırlayıcı membranda düzensizleşme ve fibriler yapıların varlığı (Ok başları) görülmektedir. Çekirdekte stres fiber (Beyaz ok) izlenmektedir. Çekirdek (Ç).İç sınırlayıcı membranda düzensizleşme ve fibriler yapıların varlığı görülmektedir. Çekirdekte stres fiber izlenmektedir. Çekirdek (Ç).	42

Şekil 29:	Korpus Siliare 6 ay, 0,4 mg/ml MMC. Korpus siliarenin yüzey prizmatik epitel hücrelerinde apikal mikrovillus sayısında azalma, lateral yüzeyde ödemi temsil eden, hücrelerarası aralıklarda genişlemeler (Siyah oklar) izlenmektedir. Epitel hücreleri arasında göç eden bir lenfosit (L) dikkati çekmektedir. İç sınırlayıcı membran (Ok başları), bazal hücreler (BH), çekirdek (Ç).	43
Şekil 30:	Korpus Siliare 6 ay, 0,8 mg/ml MMC. Korpus Siliare yüzey epitelinde apikal mikrovillus sayısında belirgin azalma, interselüler aralıklarda ödemi temsil eden düzensizleşme ve genişlemeler görülmektedir (Siyah oklar). İç sınırlayıcı membranda hafif incelme ve düzleşme, bazı alanlarda membranın tamamen dejenere olduğu ve bu alanlarda mikrovillusların yüzeye temas haline geldiği izlenmektedir (Ok başı). Çekirdek (Ç).	44
Şekil 31:	Kornea 6 ay, 0,2 mg/ml MMC. Korneanın çok katlı yassı nonkeratinize epiteli görülmektedir. Kornea epitel hücreleri arasında hafif genişlemeler izlenmektedir (Beyaz oklar). Yüzeyel mikrovilluslar (Siyah oklar), hücrelerarasındaki bağlantı kompleksleri (Ok başları) görülmektedir.	45
Şekil 32:	Kornea 6 ay, 0,2 mg/ml MMC. Kornea endotel tabakasında düzleşme ve mikrovillus kaybı (Ok başları), çekirdek periferinde ve Descement membranına yakın ödem alanlarını simgeleyen az sayıda düzensiz boşluklar izlenmekte (Beyaz oklar). Endotel hücreleri (En), Descement membranı (D), çekirdek (Ç).	46
Şekil 33:	Kornea 6 ay, 0,4 mg/ml MMC. Kornea yüzey epitelinde hücreler arasında ödem alanlarını temsil eden intersellüler genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Yüzeyel hücrelerde mikrovillusların sayılarında azalma (Siyah oklar) izlenmektedir. Çekirdek (Ç).	47
Şekil 34:	Kornea 6 ay, 0,4 mg/ml MMC. Endotel hücreleri arasında ödemi temsil eden genişleme (Beyaz ok), endotel hücrelerinin apikalinde mikrovillus sayısında azalma (Ok başları) ve hafif vakuolizasyon (siyah oklar) izlenmekte. Çekirdek (Ç), Descement membranı (D).	47
Şekil 35:	Kornea 6 ay, 0,8 mg/ml MMC. Kornea yüzey epitelinde hücreler arasında ödem alanlarını temsil eden intersellüler genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Çekirdek (Ç).	48
Şekil 36:	Kornea 6 ay, 0,8 mg/ml MMC. Endotel hücreleri (En) arasında ödemi temsil eden hücreler arası aşırı genişleme (Beyaz ok), endotel hücrelerinin apikalinde mikrovillus sayısında azalma (Ok başları) ve hafif vakuolizasyon (siyah oklar) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Descement membranı (D).	49
Şekil 37:	Kısa dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basınç ölçüm değerlerinin değişimi.	51
Şekil 38:	Kısa dönem gruplarda ölçümler arasındaki GİB değerlerinin değişimi.	51
Şekil 39:	6 aylık (12 kür MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basıncı ölçüm değerlerinin değişimi.	54
Şekil 40:	6 ay (12 kür) MMC kullanılan gruplarda aylık ölçümler arasındaki GİB değerlerinin değişimi.	54

KISALTMA LİSTESİ

MMC	: Mitomisin C
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSR	: Dakriyosistorinostomi
GİB	: Göz içi basıncı
İNF	: İnterferon
HE	: Hematoksilen eozin
KMM	: Konjonktival malign melanoma
KSHK	: Konjonktival skuamöz hücreli karsinom
LASEK	: Lazer subepitelyal keratomileusis
LASİK	: Lazer in situ keratomileusis
MMP	: Muköz membran pemfigoid
OSKF	: Optik sinir kılıfı fenestrasyonu
OYT	: Oküler yüzey tümörleri
PAM	: Primer akkiz melanozis
PRK	: Fotorefraktif keratektomi
PVR	: Proliferatif vitreoretinopatide
RNA	: Ribonükleik asit
Tunel	: Transferaz aracılı dUTP-digoxigenin nick end labeling
5-FU	: 5-Fluourasil

ÖZET ve ANAHTAR SÖZCÜKLER

TAVŞAN GÖZLERİNDE FARKLI DOZ VE SÜRELERDE TOPİKAL OLARAK UYGULANAN MİTOMİSİN C’NİN GÖZ İÇİ BASINCINA ETKİLERİ İLE YOL AÇTIĞI HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Topikal damla formunda farklı doz ve sürede uygulanan mitomisin C’nin göz içi basıncına etkileri ile siliyer cisim ve korneada meydana getirdiği histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek.

Gereç-Yöntem: Çalışmamızda 6 aylık, 35 adet albino tavşan kullanıldı. Tavşanlar her biri 5 tavşan 10 gözden oluşan 7 gruba ayrıldı. 0. grup kontrol grubu olarak ayrıldıktan sonra diğer gruplar uzun ve kısa dönem olarak iki gruba ayrıldı. İlk 3 gruba sırası ile 0,2, 0,4, 0,8 mg/ml mitomisin C olmak üzere 6 kür, 4, 5 ve 6 gruplara ise yine sırası ile aynı dozları 12 kür topikal damla formunda mitomisin C uygulandı. Kontrol grubuna serum fizyolojik damlatıldı. Tavşanların göz içi basıncı aylık olarak tonopen XL ile ölçüldü. İlaç uygulamaları tamamlandıktan sonra intrakardiyak ketamin ile ötenazi uygulanan tavşanların gözleri enüklea edildi ve histopatolojik incelemeler için hazırlandı.

Bulgular: Yüksek doz ve uzun süre uygulanan grupta (grup6) diğer gruplara göre daha belirgin olmak üzere tüm gruplarda göz içi basınç düşüklüğü tespit edildi ($p<0,001$). Mitomisin C kullanılan gruplarda ışık mikroskobu ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde kullanılan doz ve süre ile ilişkili olarak tüm gruplarda siliyer cisimde, kornea epitel ve endotelinde farklı derecelerde histopatolojik değişiklikler tespit edildi.

Tartışma: Topikal damla formunda uygulanan mitomisin C doz ve süre ile ilgili olarak kornea ve siliyer cisime toksik etkiler göstermekte ve göz içi basıncını düşürmektedir. Toksik etki miktarı doz ve süre ile ilişkili olmakla birlikte doz artışından daha fazla etkilenmektedir. Çalışmamız topikal mitomisin C kullanımında olası yan etkileri önlemek için en etkin ve en az toksik dozun belirlenmesinde konusunda fayda sağlayacaktır.

Anahtar sözcük: Topikal mitomisin C, siliyer cisim, kornea, göz içi basıncı, toksisite

ABSTRACT – KEYWORDS

APPLICATION OF TOPICAL MITOMYCIN C IN DIFFERENT DOSES AND DIFFERENT PERIODS ON RABBIT EYES: EVALUATION OF THE EFFECTS ON INTRAOCULAR PRESSURE AND RELATED HISTOPATHOLOGICAL CHANGES

Purpose: To evaluate the effects of topical mitomycin C on intraocular pressure and related histopathological changes in the rabbit eyes with various doses and application periods.

Materials-Methods: Thirty five albino rabbits were used in the study. The rabbits were investigated in seven different groups including 10 eyes of 5 rabbits in each group. Six cycles of mitomycin C were applied in Group 1,2 and 3 and 12 cycles in Group 4,5 and 6 as 0,2, 0,4, 0,8 mg/ml respectively. Group 0 was accepted as a control group and topical saline solution was used instead of mitomycin C. The intraocular pressure of the rabbits was measured monthly with Tonopen XL. At the end of the mitomycin C application cycles, all rabbits were sacrificed with intracardiac ketamine and enucleated for histopathological evaluation.

Results: The intraocular pressures were significantly lower in all groups 4,5 and especially in group 6 compared to others in which high dose with long duration was used ($p < 0,001$). The examinations of all groups with light and electron microscopy revealed various histopathological changes of cornea epithelium, endothelium and ciliary body in different grades with relation to dose and application periods.

Conclusions: Topical mitomycin C had intraocular pressure lowering effect and was found to be toxic on cornea and ciliary body of rabbit eyes depending on application period and significantly on dosage. This study will be helpful to define the optimal dosage of topical mitomycin C application with minimal toxic effects.

Keywords: Topical mitomycin C, ciliary body, cornea, intraocular pressure, toxicity.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Mitomisin C (MMC) *Streptomyces caespitosus*'dan elde edilen DNA alkilleyici kemoterapötik bir ajandır. Antifibrotik ve antineoplastik özelliklerinden dolayı oftalmolojide çok sık olarak kullanılmakta ve bu kullanım alanı her geçen gün daha da genişlemektedir.

Günümüzde MMC topikal olarak oküler yüzey tümörlerinin tedavisinde, glokom, pterjiyum, lakrimal kanal, oküler skatrizasyon ve kornea refraksiyon cerrahilerinde kullanılmaktadır. Bunların dışında vernal keratokonjonktivit, lakrimal drenaj sisteminden kaynaklı tümörler ile şaşılık, orbital implant, proliferatif vitreoretinopati ve katarakt cerrahilerindeki etkileri de araştırılmaktadır.

MMC'nin kullanım alanındaki genişleme ile orantılı olarak görülen yan etkileri de artmaktadır. Özellikle bu yan etkiler filtran glokom cerrahisi ile pterjiyum cerrahilerinde daha ciddi ve sık olarak görülmektedir. Diğer kullanım alanlarında ise genel olarak reversibl küçük yan etkiler izlenmekle birlikte bu değerlendirmeler genelde klinik olarak yapılmıştır. Bilgilerimiz dahilinde MMC'nin topikal damla formunda kullanımının histopatolojik etkilerini değerlendiren herhangi bir çalışma yoktur.

Oküler yüzey tümörlerinde, tümörün gerilemesine bağlı olarak MMC uzun süre kullanılabilirmekte ancak buna bağlı yan etkileri de artabilmektedir. Ciddi ve geri dönüşümsüz olabilen yan etkilerinden dolayı, yüksek dozlardan ve uzun süre kullanımından bu olgularda kaçınılmaktadır. Bu da ilacın istenilen etkiyi göstermeden kesilmesi ile sonuçlanabilmektedir. Şu ana kadar oküler yüzey tümörlerinde MMC'ye ait genel bir tedavi protokolü bulunmamaktadır. Kullanılan dozlar, süreler ile kullanım şekli uygulayan hekime göre değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmadaki amaç oküler yüzey tümörlerinde topikal damla formu olarak kullanılan MMC'nin farklı doz ve uygulama sürelerinin oküler dokulara olan histopatolojik etkilerini ve göz içi basıncındaki değişikliklerini değerlendirmektir. Bu sayede MMC kullanımı esnasında histopatolojik etkileri bilinerek olası yan etkileri hakkında daha fazla fikir sahibi olunacaktır. Bu da MMC için en etkin doz ve uygun sürenin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. Ayrıca göz içi basıncına olan etkilerinden fayda sağlanıp sağlanmayacağı konusunda da fikir edinilecektir.

Bu çalışmada :

1. Oftalmolojide topikal olarak kullanımı her geçen gün artan antiproliferatif bir ajan olan MMC'nin, topikal damla formunun çeşitli oküler dokulara olan etkileri histopatolojik olarak etkileri incelenmiştir.
2. MMC'nin, topikal damla formunun göz içi basıncına etkileri araştırılmıştır.
3. MMC kullanımı ile gelişen histopatolojik etkilerin göz içi basıncı ile bağlantısı araştırılmıştır.
4. MMC' nin topikal damla formunda uygulanan 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,8 mg/ml gibi farklı dozlarının histopatolojik etkileri karşılaştırılmıştır.
5. MMC'nin topikal damla formunda uygulanan 0,2 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,8 mg/ml gibi farklı dozlarının göz içi basıncına etkileri karşılaştırılmıştır.
6. Elde edilen bilgiler ışığı altında topikal damla formunda kullanılan MMC'nin olası yan etkileri hakkında daha geniş bilgi sahibi olunması hedeflenmiştir.
7. Kullanım süresi ve dozu hakkında tam bir fikir birliği henüz sağlanamamış olan topikal damla formunda MMC kullanımındaki farklılıkları azaltarak etkin doz ve uygun sürenin belirlenmesine katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

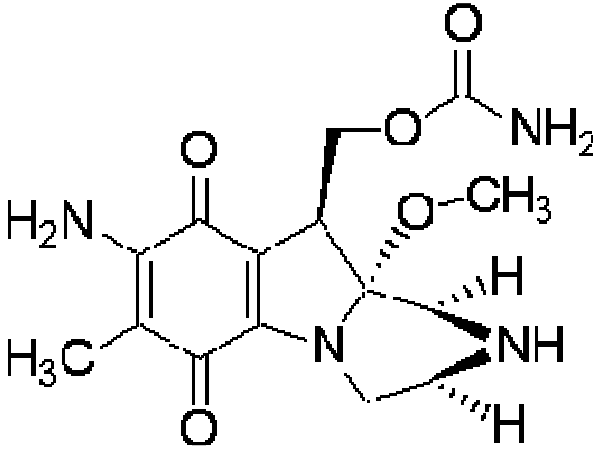
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mitomisin C

Seçici olarak DNA sentezini bozan, mitozu ve protein sentezini inhibe eden bir alkilleyici ajandır.

2.1.1. Mitomisin C yapısı ve genel özellikleri

MMC *Streptomyces caespitosus* mantarından elde edilmiş olan 334 dalton ağırlığında olup su ve organik çözücülerde çözünen bir antibiyotiktir. Her biri ilacın etkinliğini sağlayan kuinon, karbamat ve aziridin gruplarını içermektedir.¹



Şekil 1: Mitomisin C kimyasal yapısı.

MMC hücre içinde indirgendikten sonra etkinlik kazanır ve DNA'yı çapraz bağ yaparak alkiler. Böylece DNA sentezi bozulmaktadır. Döneme özgü etki göstermemekle birlikte G1 ve erken S dönemlerinde etkinliği daha fazladır.² Selektif olarak DNA replikasyonunu bozar ve mitozu inhibe ederek hücre ölümüne neden olur.³ Yüksek dozlarda ise bunlara ek olarak RNA ve protein sentezini de inhibe etmektedir.⁴ Mide kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, kolorektal kanserler, serviks kanseri, mesane kanseri, pankreas kanseri ve özefagus kanserlerinde sistemik olarak kullanılmaktadır.⁵ MMC' nin sistemik kullanımında kardiyotoksisite, kemik iliği

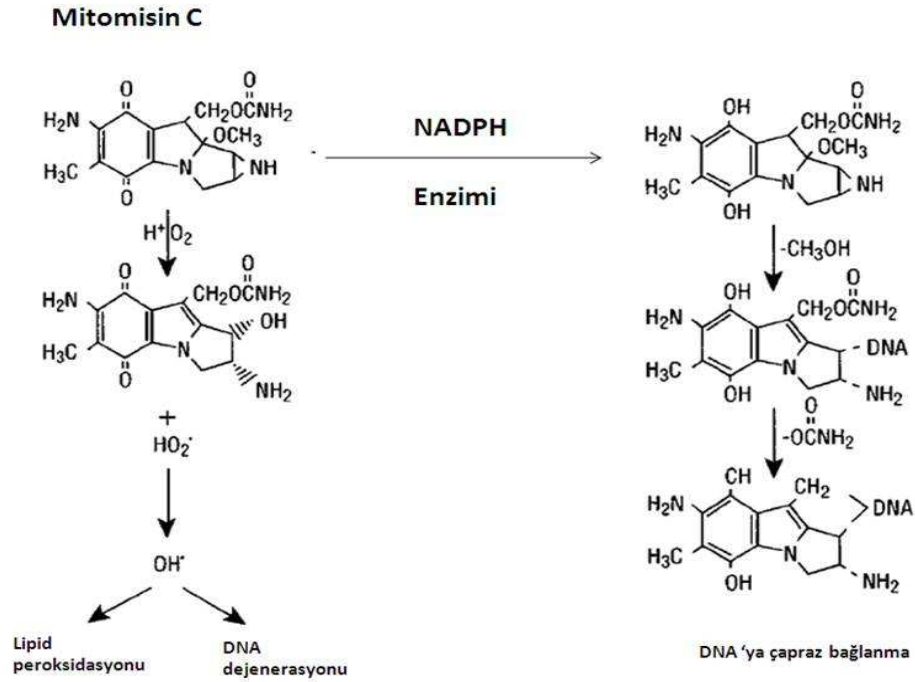
depresyonu, venookluzif karaciğer hastalığı, interstisyel pnömoni, nefrotoksisite, alopesi ve cilt döküntüleri gibi yan etkileri mevcuttur ancak herhangi bir oküler yan etki bildirilmemiştir.^{2,6}

Mide barsak kanalından absorbe edilmez ve karaciğerden hızlı bir şekilde metabolize edilir.⁵

2.1.2. Mitomisin C'nin Etki mekanizması

MMC alkilleyici bir ajan olup tüm alkilleyici ajanlar gibi elektrofiliktir ve etkin hale dönüşmesi için hücre içinde kuinon kısmından indirgenmesi gerekmektedir. Bu işlem sitokromlarda oksidoredüktaz enzimleri tarafından gerçekleştirilir. Sitokrom P-450 direkt MMC'ye etki etmez ancak oluşan metabolitleri üzerine düzenleyici etkiler göstermektedir. İndirgenmiş olan MMC metabolitleri alkilleyici özellik kazanarak DNA sarmalında N₂ pozisyonundaki guanine çapraz bağlanır ve DNA sentezini engellerler. Her aşamadaki DNA'ya bağlanabilmektedirler ancak sentez aşamasında özellikle de geç G1 ve erken S fazında affiniteleri daha yüksektir.

MMC için bir diğer yol ise konak aktivasyonuna ihtiyaç duymadan (indirgenmeden) oksijenli ortamlarda süperoksit, hidrojen peroksit radikalleri oluşturmaktır. Oluşan bu radikaller de hücre membranlarındaki yağlar ile etkileşerek hasara neden olmaktadır.^{7,8}



Şekil 2: Mitomisin C'nin kimyasal reaksiyonları.

MMC topikal kullanımda genellikle moleküler oksijen ile etkileşerek serbest radikaller üretir ve lipid peroksidasyonu, DNA ve protein sentezine bozarak hücrelere toksik etki göstermektedir. Ayrıca normalde mitotik aktivite göstermeyen kornea hücrelerinde DNA'da meydana gelen hasarın tamir edilmesini de engelleyerek hücre hasarına neden olmaktadır.^{9,10}

Oftalmolojik kullanımda MMC'nin hücre göçünü ve ekstraselüler materyal üretimini engellediği, subkonjonktival uygulamalarda tenon kapsülündeki fibroblast apoptozunu indüklediği gösterilmiştir.^{11,12} Ayrıca tek doz topikal (sünger ile) uygulanmasından yıllar sonra bile mekanizması tam olarak açıklanamayan bir şekilde kronik doku etkileri tespit edilebilmektedir.^{13,14}

2.1.3. MMC'nin oküler farmakokinetiği

Tavşan çalışmalarında MMC'nin subkonjonktival enjeksiyonundan sonra konjonktiva yarı ömrü 0,18-0,30 saat ve sklera yarı ömrü 0,2-0,45 saat olarak bildirilmiştir.¹⁵ Tavşanlarda trabekülektomi için eksternal sünger ile uygulanan MMC dakikalar sonra aköz hümorede belirlenmiş ve skleral uygulanan MMC'nin aköz humor konsantrasyonu episkleral uygulanana göre daha yüksek bulunmuştur. Serum fizyolojik ile yapılan irrigasyon sonrasında MMC'nin ilk konsantrasyonunun sklerada 1/5, konjonktivada ise 1/15'ine gerilediği ancak yarı ömründe değişiklik olmadığı bildirilmiştir.^{15,16}

Tavşanlarda epitel debridmanı sonrasında korneaya % 0,02 MMC emdirilmiş sünger 2 dakika süreyle uygulanmış ve pik korneal konsantrasyona $3,728 \pm 2,55 \mu\text{g/ml}$ ile 30 dk. sonra ulaşılmış olup 60 dakika sonraki konsantrasyonu ise $0,76 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$ olarak ölçülmüştür. Aköz hümorede ise pik düzeye 1 saat sonra $0,2 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$ ile ulaşılmıştır. Aköz humor konsantrasyonu doza ve uygulanan süreye bağlı olarak artmaktadır.¹⁷

Literatürde topikal olarak sünger ile uygulanan MMC'nin kornea, konjonktiva ve skleradan göz içine penetrasyon gösterdiği ispatlayan kantitatif çalışmalar mevcuttur. Bu bilgiler ışığı altında topikal damla formunda uygulanan MMC'nin de aynı yol ile göz içine geçeceği düşünülmektedir, ancak bununla ilgili kantitatif çalışma bulunmamaktadır.^{15,16,17}

MMC'nin yalın korneadan penetrasyonunun konjonktiva veya skleraya göre daha fazla olduğu görülmektedir. Bu da topikal MMC'nin endotelyal hücre hasarında daha fazla risk taşıyabileceğini göstermektedir.¹⁸

2.2. MMC'nin oftalmolojide kullanım alanları

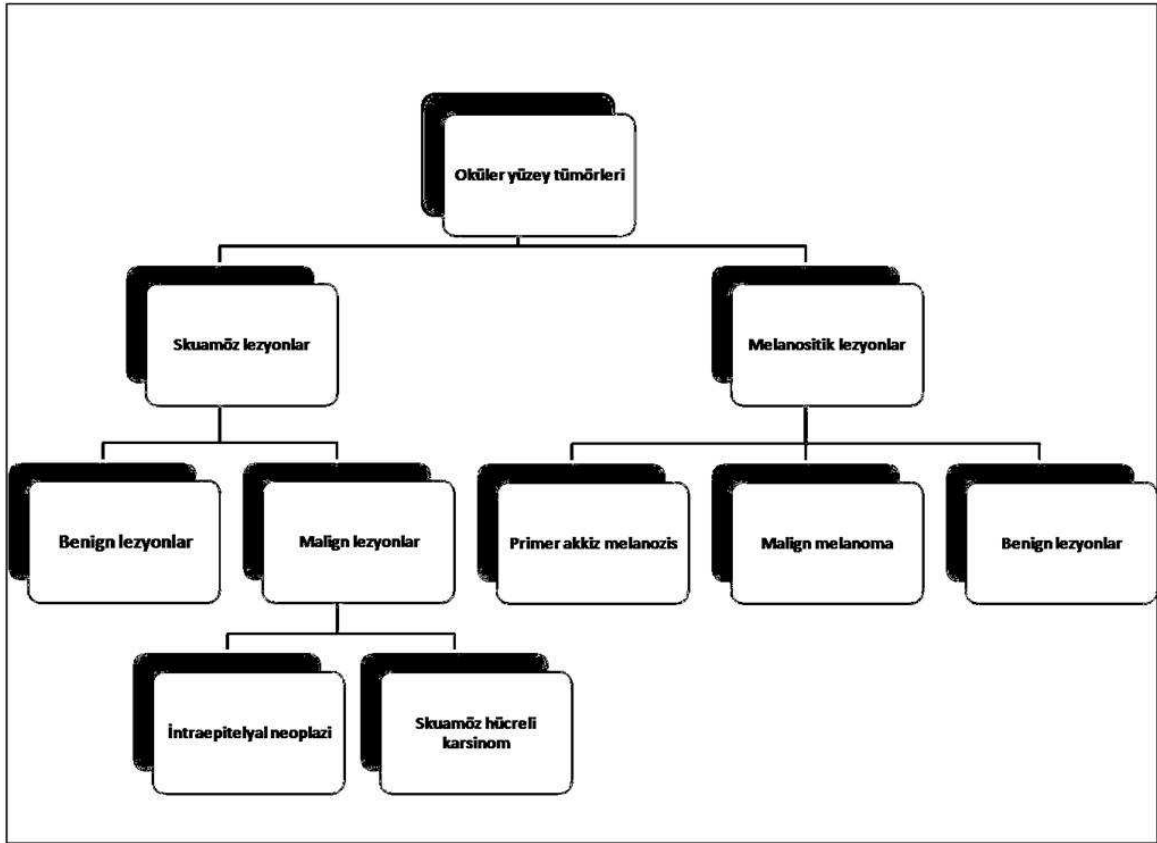
2.2.1. Oküler yüzey tümörleri (OYT)

Oküler yüzey tümörleri genel olarak kornea ile konjonktivanın malign tümörlerini tanımlamakta olup kaynaklandıkları hücrelere göre skuamöz ve melanositik lezyonlar olarak sınıflanmaktadır. Malign skuamöz olanlar kendi arasında intraepitelyal neoplazi (Karsinoma in situ) ve invaziv skuamöz karsinom olarak; malign melanositik lezyonlar

ise primer edinilmiş melanozis ve malign melanom olarak kabaca gruplandırılmaktadır.
19

Tedavisinde temiz cerrahi sınırlarla kitlenin total eksizyon altın standarttır ancak büyük tümörlerde, zor lokalizasyonlarda ve diffüz yayılımlarda bunu sağlamak her zaman mümkün değildir.²⁰ Kalan tümör dokusunun yok edilmesi için topikal antineoplastik ajanlar kullanılmaktadır. Ayrıca bu antineoplastik ajanlar sadece ameliyat sonrası değil ameliyat öncesi de büyük kitlelerin ameliyat öncesi küçültülmesinde veya küçük kitlelerin ise eradikasyonunda kullanılmaktadır.

Tablo.1 Oküler yüzey tümörleri sınıflaması.¹



2.2.1.1.Skuamöz oküler yüzey tümörleri

2.2.1.1.1. İntraepitelyal neoplazi

İntraepitelyal neoplazi deyimi in situ karsinom, konjonktival displazi ve intraepitelyal epitelyoma ile aynı anlamda kullanılmaktadır. Genellikle limbus yakınlarında başlar, forniksler ile konjonktivaya doğru yayılım gösterir. Nadir görülen bir hastalıktır. Bu tablonun invaziv skuamöz hücreli karsinoma dönüşmesi nadir olarak izlenmektedir. Tedavide cerrahi eksizyon ile birlikte kriyoterapi uygulanması veya topikal MMC uygulanması tercih edilebilmektedir.

2.2.1.1.2. Skuamöz hücreli karsinom (KSHK)

KSHK'ler kendiliğinden ya da konjonktiva–korneal intraepitelyal neoplaziden gelişen malign tümörlerdir. Nadiren metastaz yapmakla birlikte sklera ve korneaya invaze olarak göz küresi içine ilerleyebilir. Sistemik morbiditesi bulunan KSHK'de cerrahi sonrası nüks oranı % 15-52 arasında değişmektedir.²¹ Nüks için en önemli risk faktörü cerrahi sınırın intakt olmamasıdır. Ancak geniş eksizyon uygulanan olgularda ise skatrisyel değişiklikler, oküler hareket sorunları ile korneal tutulum olan olgularda irregüler astigmatizma gibi problemler ortaya çıkabilmektedir. Bu da geniş eksizyon yapılmasını kısıtlamaktadır. Cerrahi sınırın intakt olmadığı olgularda kemoterapi, radyoterapi, kriyoterapi, immunoterapiler gibi yardımcı tedaviler üzerinde durulmaktadır.¹

Kemoterapötik ajanların kullanıma girmesi ilk kez 1994 yılında optik aksta yerleşmiş olan intraepitelyal neoplazi için topikal damla olarak % 0.02'lik MMC'nin kullanılması ile başlamış ve bu çalışmada başarılı bulunmuştur. Bundan sonra da bunu destekleyen ciddi çalışmalar yapılmış olup kullanılan düşük dozlarda dahi nüks sıklığının azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmalarda ciddi bir yan etki de bildirilmemiştir.^{22,23}

2.2.2.2.Melanositik oküler yüzey tümörleri

2.2.2.2.1. Primer akkiz melanozis (PAM)

PAM genellikle tek taraflı ve tek odaklı düz kahverengi renkli konjonktival kitlelerdir. Kafkas ırkında daha sıktır ve genellikle de 6. ve 7. dekada

gözlenmektedir.^{24,25} Atipik hücrelerin bulunmadığı PAM olgularında malignleşme potansiyeli çok düşük iken, atipik hücre bulunanlarda malign melanoma ilerleme ihtimali % 46,4 olarak bildirilmiştir.²⁴ Tedavisinde birinci seçenek lokal eksizyondur. 1996 yılında ilk kez MMC'nin PAM olgularında kullanımı bildirilmiş ve bundan sonra da çeşitli çalışmalarla faydalı olduğu kanıtlanmıştır.^{26,27}

2.2.2.2.2. Konjonktival malign melanoma (KMM)

Konjonktival malign melanom nadir görülen bir oküler malignensidir. İnsidansı beyaz ırkta milyonda 0,2-0,8 arasında değişmekte olup 10 yıllık mortalite oranı % 30 olarak bildirilmiştir.²⁸ Temel tedavisi total eksizyon olmakla beraber ancak tam olarak çıkartılması her zaman mümkün olmamaktadır.²⁹ Eksizyon yapılan kenarlara nüksü önlemek için kriyoterapi uygulanabilmektedir.³⁰ Bazı cerrahlar geniş konjonktival melanomlarda cerrahi sonrası topikal damla olarak MMC kullanmaktadırlar. Uzun dönem takip sonuçlarının sınırlı olmasına rağmen topikal MMC'nin lokal eksizyon sonrasında radyoterapi ve kriyoterapiye oranla çok daha etkili olduğu gösterilmiştir.³¹

Yapılan bir çalışmada NAD(P)H quinoneoksidoredüktazın (NQO1) MMC'nin aktivasyonunda çok önemli rol aldığını bildirilmiştir. Konjonktival melanom ve PEM'in histopatolojik incelemelerinde NQO1 immunohistokimyasal olarak gösterilmiştir. Bu da MMC nin bu tümörlerde kullanılma nedenini desteklemektedir.^{32,33}

2.2.2. Oftalmik cerrahiler

2.2.2.1. Glokom Cerrahisi

Oftalmolojide MMC en sık olarak glokom cerrahilerinde kullanılmaktadır. İlk kez 1983 yılında glokom cerrahisinde antifibrotik özelliklerinden dolayı yardımcı ajan olarak kullanılan MMC, daha sonraları filtran cerrahilerde rutin kullanılan bir madde haline gelmiştir. Doz olarak 0,2-1,1 mg/ ml arasında, 2-5 dakika arasında değişen sürelerde konjonktiva altına sklera üzerine MMC emdirilmiş sünger ile uygulanmaktadır. Optimum doz ve süre konusunda fikir birliği bulunmamakla birlikte deneyimler yüksek dozun yüksek komplikasyon riski taşıdığını göstermektedir.^{34,35} Günümüzdeki bilgiler ışığında % 0,02-0,04 MMC'nin 2-3 dakika uygulanması bleb yetersizlik riski yüksek olan gözlerde başarı şansını önemli derecede arttırmaktadır.¹

MMC ile yapılan filtran glokom cerrahilerinde postopratif 12 ay boyunca ilaçsız göz içi basınç kontrolü olguların % 88'inde sağlanabilmekte iken bu oran 5-FU ile cerrahi geçiren grupta % 40 civarında seyretmektedir.³⁶

Çocuklardaki filtran cerrahiler erişkinlere göre daha başarısızdır. Çünkü yara iyileşme yanıtı daha saldırgan olup kalın tenon kapsülü ve düşük skleral rijidite mevcuttur. MMC skarlaşmayı engelleyerek konjenital glokom cerrahilerde birincil ve nüks ameliyatlarda başarı şansını erişkin filtran cerrahilerine oranla daha belirgin arttırmaktadır.^{37,38,39,40,41} Bununla beraber ince skleraya uygulanan MMC'nin yan etkileri daha sık ve ciddi olabilmektedir.

Bunun dışında antifibrotik özelliklerinden dolayı glokom drenaj implantı yerleştirilen olgularda da MMC antifibrotik özelliklerinden dolayı tercih edilebilmektedir.¹

2.2.2.2. Pterjiyum Cerrahisi

Pterjiyum bulber konjunktivada fibrovasküler proliferasyon ile başlayıp, korneaya invazyon gösteren, elastik dejenerasyon ve hiperplazi ile seyreden dejeneratif bir bozukluktur.^{42,43} Tüm dünyada yaygın görülmekle birlikte coğrafi ve genetik özelliklere bağlı olarak prevalansı % 0,3 ile % 29 arasında değişmektedir.^{44,45}

Tedavisinde uygulanan sadece pterjiyum dokusunun eksizyonu ile % 30-40 arasında nüks gözlenmiştir. Bu nedenle nüks oranını azaltmak için konjonktival otogreft, limbal-limbokonjonktival transplantasyon, tek başına amniyotik membran transplantasyonu veya MMC ile beraber uygulaması, lameller keratoplasti, *fibrin glue* (doku yapıştırıcısı) uygulamaları gibi farklı cerrahi yöntemler gelişmiştir. MMC' nin yardımcı ajan olarak pterjiyum nükslerini azaltmada etkili olduğu gösterilmiş ve günümüzde MMC kullanımı ile otogreft kullanım tekniği en sık kullanılan yöntemler haline gelmiştir.^{46,47,48,49}

MMC oftalmolojide ilk olarak pterjiyumlarda rekürrensleri önlemek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır.⁵⁰ Bununla ilgili en eski makale 1967 yılında pterjiyum ameliyatları sonrasında topikal olarak MMC uygulamasıdır.⁵¹

Esas olarak topikal mitomisin C'nin iki uygulama metodu vardır.^{46,47,48,52,53,54,55} Birincisi peroperatif çıplak skleraya sünger ile uygulama diğeri ise postoperatif olarak damla formunda uygulanmaktadır. Peroperatif uygulamada % 0,01 ile % 0,04 arasında

değişen konsantrasyonlarda uygulanmaktadır. Çalışmalarda verilen nüks oranları % 3-37 arasında değişmektedir.^{46,47,52,53,54} Uygulama süresi uzatıldığı zaman etki süresi daha da artmaktadır, ancak yan etkilerinin de artması nedeni ile bu sınırlanmaktadır.⁵³

Postoperatif uygulamada MMC %0,002 ile %0,04 arasında değişen konsantrasyonlarda kullanılmakta olup en sık kullanılan %0.02'lik formun etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.^{48,53,54,55} Postoperatif 5-14 gün arasında değişen sürelerde ortalama 10 gün kullanılmıştır ve nüks etme oranı çeşitli çalışmalarda % 0-38 arasında bildirilmiştir. Postoperatif damlanın 7 veya 14 gün kullanılmasının nüksü önlemede peroperatif topikal uygulamadan farkı olmadığı bildirilmiştir.^{48,53,54,55}

Bunun dışında daunorubicin ve 5-FU gibi ajanlar da kullanılmış ancak yan etkilerinin fazlalığı veya etkinliğinin az olması nedeniyle zamanla kullanımları bırakılmıştır.^{56,57,58}

2.2.2.3. Lakrimal drenaj sistemi

Lakrimal cerrahilerden dakriyosistorinostomi (DSR) ameliyatlarında başarı oranı cerraha bağlı olarak % 80-99 arasında değişmekte iken, ortalama % 9,4 başarısızlık bildirilmiştir.^{51,59,60} Başarısızlığa birleşik kanalın veya osteotominin kapanmasının yol açtığı düşünülmektedir.^{61,62} Osteotomi alanına ve anastomoz fleplerine fibröz proliferasyonu ve skarlaşmayı baskılamak amacıyla antifibrotik ajanların kullanılması düşünülmüş ve ilk kez 2002 DSR ameliyatlarında MMC uygulanması bildirilmiştir. Günümüzde silikon tüp entübasyonu uygulanan konjenital ve edinsel nazolakrimal kanal obstruksiyonu operasyonlarında, başarı şansını artırma amacıyla halen MMC kullanılmaktadır.^{63,64,65}

2.2.2.4.Refraktif Cerrahi

Fotorefraktif keratektomi günümüzde refraksiyon kusurlarının düzeltilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Korneal haze gelişimini engellemede en sık olarak topikal steroidler kullanılmakla birlikte önemli bir etkinlik elde edilememektedir. İlk kez 1991 yılında tavşan gözlerinde refraktif cerrahi sonrasında uygulanan MMC'nin güçlü bir şekilde subepitelyal kollajen sentezini inhibe ederek haze gelişimini önlediği bildirilmiştir. Yapılan diğer çalışmalar da bunu desteklemektedir.^{66,67,68,69}

Yapılan prospektif bir çalışmada fotorefraktif keratektomi (PRK) uygulanacak 36 ileri miyopili hastanın 72 gözünü çalışmaya alınmış ve hastaların yarısına rastgele peroperatif % 0,02 MMC uygulamış. Bir yıllık takipte MMC uygulanan hastaların hiçbirinde, steroid kullananların ise % 20'sinde korneal haze geliştiği bildirilmiştir. Ayrıca konfokal mikroskopi ile aktive olmuş keratositler ile ekstraselüler matriks miktarının MMC kullanılmayan grupta artmış olduğu gösterilmiştir.⁷⁰ Yine bir hayvan çalışmasında % 0,002'lik MMC'nin de korneal haze gelişimini engellemede etkin olduğunu göstermişlerdir.⁷¹

Sonuç olarak MMC skar gelişimini önleyici hatta tedavi edici bir ajandır. PRK'de, LASEK (Lazer subepitelyal keratomileusis) uygulamalarında ve LASİK (Lazer in situ keratomileusis) cerrahisi sonrasında gelişen flep komplikasyonlarının düzeltilmesinde kullanılmaktadır. Bugünkü bilgilerin ışığı altında MMC'nin refraktif cerrahide kullanımının daha da artacağı düşünülmektedir.⁷²

2.2.2.5. Oküler skatrizan hastalıklar

Muköz membran pemfigoid (MMP), Steven-Johnson Sendromu'na veya kimyasal yanıklara bağlı oküler skatrizasyon gelişen olgularda da antifibrotik etkisinden dolayı MMC kullanımı düşünülmüştür. Mukoz membran pemfigoid olan olgularda preoperatif olarak % 0,02 konsantrasyonda MMC'yi subkonjonktival olarak uygulamış ve % 88 olan başarı kontrol grubunda % 55 de kalmıştır.⁷³ Bir başka çalışmada da subkonjonktival uygulanan MMC'nin MMP'ini önlemede etkin olduğu bildirilmiştir.⁷⁴

Sonuç olarak MMC skatrizasyon gelişimini engellemektedir. Ayrıca opere edilen ve ayrılan skar dokusunun tekrar gelişimini engellemek için kullanılan amniyotik membranın başarısını da arttırmaktadır.^{75,76,77}

2.3. MMC'nin gelecekte oftalmolojide kullanılabileceği alanlar

2.3.1.Oftalmik cerrahiler

2.3.1.1.Şaşılık cerrahisi

MMC'nin göz cerrahilerinde kullanımı fibrozis ve skarlaşmayı engelleyici etkisinden dolayı daha da artmaktadır. Yine fibrozis gelişiminin istenmediği şaşılık cerrahisinde de MMC kullanılması gündeme gelmiştir. Yapılan deneysel hayvan çalışmalarında topikal MMC uygulananın kas yapışmasını engellemeden fibrozisi önlediği bildirilmiştir.^{78,79} Bu çalışmaların yanında MMC'nin ekstraoküler kas cerrahisinde inflamatuvar yanıtı azaltmada başarısız olduğu dolayısıyla da adhezyon gelişimini engellemede etkisiz olacağını bildiren çalışma da bulunmaktadır.⁷⁹

Şaşılık cerrahisinde MMC kullanımı henüz deneysel aşamalarda olup bu alanda da yerini alabilmesi için daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.1.2. Orbital implant cerrahisi

MMC'nin antifibrotik özelliğinden dolayı evisserasyon veya enükleasyon sonrasında orbital implant için oluşturulan soket yerinin stabilizasyonunda ve yerleştirilen protezin hareketini engelleyen fibroz doku gelişimini engellemede kullanılabileceği düşünülmektedir.¹ Bu nedenle tavşanlarda yapılan deneysel bir çalışmada peroperatif 0,5 mg/ml MMC uygulanan grupta hareket edici askıların deliklerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı kapanmama izlenmiştir. Ancak 1 mg/ml MMC uygulanan grupta ise ülserasyon ve implant exposure gibi komplikasyonlar bildirilmiştir.⁸⁰ Bu alanda MMC'nin rutin kullanıma girebilmesi için geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.1.3. Proliferatif vitreoretinopati

MMC'nin antiproliferatif özelliğinden dolayı proliferatif vitreoretinopatide (PVR) de faydalı olabileceği düşünülmüştür. PVR nedeniyle retina pigment epitelyum transplantasyonu yapılan tavşanlarda intravitreal MMC uygulanan grupta traksiyonel retina dekolmanı gelişiminin daha az, dolayısıyla başarı şansının daha yüksek olduğu bildirilmiştir.^{81,82} PVR'de MMC kullanımı ile ilgili literatürde çok az çalışma

bulunmakta olup fikir sahibi olunabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

2.3.1.4. Optik sinir kılıfı fenestrasyonu

Optik sinir kılıfı fenestrasyonu benign intrakranial hipertansiyonu olan olgularda artmış kafa içi basıncını azaltmak için optik sinirin orbital kısmına uygulanan bir cerrahidir. OSKF ameliyatlarında başarısızlık nedenleri arasında dura materden kaynaklanan fibroblast etkisi ile skar gelişimi öne sürülmüş ve bu skarlaşmayı engellemek için MMC'nin antifibrotik özelliklerinden faydalanılması düşünülmüştür. Tavşan deneylerinde OSKF operasyonlarından sonra fibrozisi azalttığı da gösterilmiştir.^{83,84}

2.3.1.5. Katarakt cerrahisi

Hücre proliferasyonunu engellediği çeşitli çalışmalarla ispatlanan MMC'nin katarakt ameliyatları sonrasında lens epitel hücre proliferasyonu sonucu gelişen arka kapsül opasifikasyonlarını önleyebileceği düşünülerek çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu karşılaştırmalı hayvan çalışmalarında lens kapsülü içine uygulanan 0,4 mg/ml MMC'nin arka kapsülde opasifikasyon gelişimini distile sudan ve heparinden daha etkili olarak engellediği bildirilmiştir.^{85,86} Ancak yan etkilerinden dolayı insanlarda kullanımından kaçınılmaktadır.

MMC kullanılan trabekülektomi ile kombine katarakt cerrahilerinde ön kamara MMC konsantrasyonunun arka kapsül opasifikasyon gelişimi engellemede yeterli olduğu yönünde hipotez geliştirilmiştir.⁸⁷

2.3.2. Vernal keratokonjonktivit

Vernal keratokonjonktivitli ve konvansiyonel tedavilere yanıt alınamayan olgularda kısa dönem, düşük doz topikal MMC uygulananı önerilmiştir. Bazı araştırmacılar topikal MMC'nin topikal azelastinden daha etkili olduğunu ve dev papiller yapılara bağlı korneal komplikasyon riskini azalttığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır.^{88,89,90}

2.4. Topikal MMC ‘nin komplikasyonları

MMC’nin oküler yüzey tümörlerinde kullanımı sonucu geçici yan etkiler olan sulanma, oküler ağrı, blefarospazm, keratokonjonktivit, konjonktival hiperemi ve punktal epitelyal keratopati sık olarak gözlenmektedir.^{91,92,93,94,95,96} Bunun yanında nadir olarak limbal kök hücre yetersizliği, fokal korneal haze, katarakt, dermatit (kaşımaya sekonder), diskiform keratit de rapor edilmiştir.^{93,97,98,99,100}

Konjonktival melanomu bulunan ve bu nedenle sırası ile 7 ve 28 gün % 0,04 MMC uygulanan hastaların ekzenterasyon materyallerinde episklera, kornea, iris, siliyer cisim, lens sklera ve retinada patolojik bir değişiklik izlenmemiştir.⁹⁸ Oküler yüzey tümörleri nedeni ile takip edilen ve topikal MMC kullanılan 91 hastada % 34 oranda en sık alerjik reaksiyon izlenmiştir. Bunu %14 oranında punktal stenoza bağlı epifora izlemekte olduğu rapor edilmiştir.¹⁰¹

Pterijyum cerrahisinde MMC’nin çıplak korneaya 3-5 dakika uygulanması sonucunda skleromalazi, sklera perforasyonu, korneal incelme, katarakt, inatçı glokom, ön üveit, piyojenik granülom, kalsifik skleral plak ve korneal ülser gibi sorunlar gelişebilmektedir.^{102,103}

Glokom cerrahisinde yine çıplak sklera uygulamalarına bağlı olarak yan etkiler görülebilmektedir Bunlar ince duvarlı avasküler bleb, sızıntı sonrasında endoftalmiye yatkınlık, aşırı filtrasyona bağlı hipotoni ve hipotoniye bağlı olarak da koroidal efüzyon, koroidal hemoraji, makulopati, ön kamara sıgılgı, korneal dekompresyon, kan aköz bariyerinde bozulma ve katarakt gelişimi olabilir.¹

Limbal kök hücre yetersizliği ve punktal stenoz topikal damla formunda uygulanan MMC’nin en önemli komplikasyonlarıdır.¹⁰¹ Glokom ve pterijyum cerrahilerinin aksine oküler yüzey tümörlerinde kullanılan topikal (damla formu) MMC nin yan etkileri hafif ve geçicidir.

Tablo 2: Topikal Mitomisin C'nin yan etkileri.^{1,101}

Oküler yüzey tümörleri (Topikal damla formu)	Pterijyum cerrahisi (Topikal yüzey uygulama)	Glokom cerrahisi (Topikal yüzey uygulama)
• Limbal kök hücre eksikliği • Punktal stenoz • Oküler iritasyon • Konjonktival hiperemi • Sulanma • Punktat keratopati • Blefarospazm • Korneal ödem • Oküler Ağrı	• Oküler Ağrı • Yabancı cisim hissi • Fotofobi • İyileşmeyen konjonktival epitelyal defekt • Yüzeysel skleral incelme • Skleral incelme-ektazi-kalsifikasyon • Korneal epitelyal toksisite • Korneal delen-ektazi • Korneal perfprasyon • Kornea-skleral ülserasyon • Konjonktival kist-granülom • Sembelfaron • Sekonder glokom	• Korneal epitelyal toksisite • Konjonktival yetmezlik • Bleb zayıflığı • Blebitis • Hipotonik makulopati • Koroidal effüzyon • Katarakt gelişimi • Ön kamara darlığı • Suprakoroidal hemoraji • Endoftalmi • Retinal ven oklüzyonu • Hifema • Üst kapak retraksiyonu • Retinal hemoraji • Büllöz keratopati

2.5. Oküler yüzey tümörlerinde kullanılan diğer ajanlar

Oküler yüzey tümörlerinde MMC dışında kullanılan diğer ajanlar hakkında genel olarak bilgilerimiz yapılan çalışmalar ile sınırlıdır. Bu bilgiler ışığı altında genel olarak MMC dışındaki ajanların yan etki profili MMC'ye göre daha iyi olup etkinlik açısından daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.5.1. 5-Fluourasil

5-FU birçok epitelyal kanserin tedavisinde kullanılan ve hızlı çoğalan hücrelere etki eden antimetabolit bir ajandır. Hücre siklusunda S fazındaki timidilat sentetaz enzimini inhibe ederek hızlı çoğalan hücrelerde DNA ve RNA sentezini timidin eksikliği yaratarak inhibe etmektedir.¹⁰⁴

İlk kez 1986 yılında yapılan bir çalışmada kornea ve konjonktival karsinoma in situ hastaların %1 5-FU ile başarılı şekilde tedavi edildiği bildirilmiştir.¹⁰⁵

Parsiyel eksizyon uygulanmış ve nüksetmiş, skuamöz hücreli karsinom olgularında prospektif, non-randomize, bir çalışmada 5-FU etkinliği bildirilmiştir. Bu çalışmadaki hastaların tamamı invaziv skuamöz hücreli karsinom ve hastaların tamamı günlük olarak % 1 5-FU ile tedavi edilmişler. İki hastada rekürrens bildirilirken diğer hastaların tamamında sitolojik ve biyopsi incelemelerinde tümöral hücre izlenmemiştir.¹⁰⁵

Yirmi sekiz gün sürekli topikal olarak 5-FU kullanılan bir başka çalışmada hastaların tamamında 3. ve 4. haftalarda geçici konjonktivit ve yüzeysel keratit izlenmiştir. Yan etkileri kullanılan topikal steroidlerle kolay olarak kontrol altına alınmıştır.¹⁰⁵ Bir başka çalışmada ise pulse uygulama ile sürekli uygulanan ile aynı sonuçları elde edilirken hiçbir yan etki izlenmemiştir. Sistemik kullanımı ile lakrimal drenaj sisteminde skar gelişimi rapor edilmişken, topikal kullanımı ile rapor edilmemiştir. Kornea epitelde MMC ile benzer değişiklikler bildirilmiştir.^{106,107}

Sonuç olarak 5-FU MMC ye göre yan etki profili bakımından çok daha tercih edilebilir bir ajandır ancak bu avantajının doğrulanması için daha başka çalışmalara ihtiyaç vardır.¹⁰⁵

2.5.2 İnterferon

İnterferonlar (İFN) hücre yüzey reseptörlerini etkileyerek antiviral ve antitümöral etki gösteren glikoprotein molekülü ailesidir.¹⁰⁸

İFN'lar aminoasit dizilimi ve biyolojik aktivitelerine göre tip I ve tip II olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tip I İFN'lar aynı reseptörler üzerinden etki eden, α ve β alt gruplardan oluşan, daha fazla immunolojik özellik gösteren büyük grubu oluşturmaktadır. Tip II ise sadece interferon γ ' yı içermektedir.¹⁰⁹ İNF- α sistemik olarak saçlı hücreli lösemi, kondiloma akuminata, AIDS ile birlikte olan kaposi sarkomu, Hepatit B ve C de kullanılmaktadır. İntralezyoner olarak kullanılan interferonun cildin skuamöz hücreli ve serviksin bazal hücreli karsinomuna etkili olduğu gösterilmiştir (Q0,SK5). İNF α -2b ise İFN- α 'nın rekombinant formu olup konjonktiva-korneal intraepitelyal neoplazilerde subkonjonktival, perilezyoner enjeksiyon ve topikal damla olarak uygulanmasının tümörün gerilemesinde etkili olduğu gösterilmiştir.^{111,112,113,114,115} Bu etkisi indirekt antiproliferatif etki yüzeysel tümör hücrelerine konağın sitotoksik etkili hücrelerini aktive ederek sağlamaktadır.¹

İnterferon ilk kez 1994 yılında topikal damla formunda oküler yüzey tümörlerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Bundan sonra nüks olgularında dahil olduğu çeşitli çalışmalarda sadece topikal interferonun yeterli olduğu bildirilmiş ve bu histolojik olarak da ispatlanmıştır. Sadece İFN kullanılan ve nüks gelişen olgularda ilacın tekrar başlanması ile lezyonların gerilediği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda İFN'ların uzun süre kullanımlarında dahi ciddi bir yan etki bildirilmemiştir. Yan etki bildirilen tek çalışmada da yan etki olarak lokalize konjonktival injeksiyon ile folikülozis bildirilmiştir.^{115,116,117}

Bu bilgiler ışığı altında yan etki yönünden tercih edilebilir durumda olan interferon topikal formunun etkinliği açısından daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

3. GEREÇ-YÖNTEM

3.1. Deneysel Aşama

Çalışmamızda 6 aylık ve ortalama ağırlıkları 3000 gr. olan 35 adet Yeni Zellanda cinsi albino tavşan kullanılmıştır. Çalışma 'Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne uygun olarak yapılmıştır

Çalışmaya başlarken kullanılabilecek en az sayıda hayvanı belirlemek için Biyostatistik AD. ile görüşüldü. Göz içi basıncı hesaplamalarında örnek büyüklüğü $\alpha = 0,05$ ve Power = 0,9 alındı. Literatür taranarak normal tavşan göz içi basınç değerinin $14,5 \pm 1$ mmHg olduğu tespit edildi. Bu hesaplamalar ile 1,5 mmHg'lık fark anlamlı olarak kabul edilerek.¹¹⁸ iki grup arasında karşılaştırma için her gruptan 5 tavşan yeterli bulunmuş, grup dağılımında bu dikkate alınmıştır.

Gruplar her biri 5 tavşan 10 gözden oluşan 7 gruba ayrıldı. İlk grup kontrol grubu olarak ayrılıp serum fizyolojik damlatıldı(bir hafta dolu, bir hafta boş). 1, 2, 3. gruplara sırası ile 0,2, 0,4, 0,8 mg/ml olmak üzere kısa dönem 6 kür (1 hafta ilaçlı , bir hafta ilaçsız), 4, 5 ve 6 gruplara ise sırası ile 0,2, 0,4, 0,8 olmak üzere 12 kür topikal damla formunda mitomisin C (Mitomisin C Kyowa® flakon) uygulandı. Her bir kür, ilaç damlatılan ve damlatılmayan birer haftadan oluşmaktadır. Bu şekilde güncel topikal MMC kullanımına benzer uygulama yapılmıştır. Bu uygulama ile normal hücrelere göre daha fazla proliferasyon özelliği gösteren tümör hücreleri daha fazla etkilenmekte ve normal hücreler ise kendini onaracak zamanı bulmaktadır. Böylelikle görülen yan etki şiddetinin azaldığı düşünülmektedir(Tablo 3).

Tüm tavşanların göz içi basıncı MMC uygulamasına başlamadan Schiötz tonometresi ve Tono-Pen® XL (Reichert, Inc.) ile ölçüldü. İki cihazla ölçüm arasında fark olmadığı görüldü. Bundan sonraki ölçümler aynı kişi tarafından aylık olarak proparakain hidroklorür % 0.5 (Alcaine 5 mg 15 ml Oftalmik solusyon) damlatılarak Tono-Pen® XL (Reichert, Inc.) yardımı ile ölçüldü (Şekil 3).

Tablo3: Grupların özellikleri.

	DOZ	GÖZ SAYISI (n)	SÜRE	KÜR SAYISI
Grup0	Serum fizyolojik	10	3 ay	6
Grup 1	0,2 mg/ml MMC	10	3 ay	6
Grup 2	0,4 mg/ml MMC	10	3 ay	6
Grup 3	0,8 mg/ml MMC	10	3 ay	6
Grup 4	0,2 mg/ml MMC	10	6 ay	12
Grup 5	0,4 mg/ml MMC	10	6 ay	12
Grup 6	0,8 mg/ml MMC	10	6 ay	12

İlaç uygulamaları tamamlandıktan sonra intrakardiyak ketamin ile ötenazi uygulanan tavşanların gözleri enükle edilmiştir. (Şekil 4)



Şekil 3: Tonopen XL ile göz içi basınç ölçümü.



Şekil 4: Enükleasyon işlemi.

3.2. Histopatolojik değerlendirme

Enükleasyon işleminden sonra alınan gözler ışık mikroskopisi için Patoloji AD'a, ve elektron mikroskopik inceleme için Histoloji-Embriyoloji AD'a gönderildi.

3.2.1. Elektron mikroskopisi

Tavşanların sağ gözlerinden elektron mikroskopik incelemeler için siliyer cisim ve kornea doku parçaları alındı. Alınan doku parçaları Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış % 5'lik gluteraldehit solüsyonunda 1 saat bekletildikten sonra üzerinde birkaç damla %5'lik gluteraldehit bulunan, dişçi mumu ile kaplanmış petri kutularına alındı ve jilet yardımıyla yaklaşık 1 mm³ büyüklüğünde parçalara ayrıldı. Doku parçaları tekrar %5'lik gluteraldehit solüsyonuna alınarak 3 saat kadar daha tespit edildi. Böylece dokular bu solüsyonda toplam 4 saat tespit edilmiş oldu. Tespit işleminden sonra, dokular Millonig fosfat tampon solüsyonunda 10 dakika süreyle çalkalandı. Dokular ikinci kez Millonig fosfat tamponuna alındıktan sonra aynı tampon içerisinde bir gece bekletildi. Ertesi gün dokular Millonig fosfat tamponu ile hazırlanmış %1'lik osmium tetraoksit solüsyonuna alınarak 2 saat süreyle ikinci kez tesbit edildi ve ardından Millonig fosfat tampon solüsyonu ile iki kez 10'ar dakika

yıkandı. Dokular daha sonra derecesi aşağıdaki sıraya göre artan alkol serilerinden geçirilip dehidrate edildi:

- % 50 Etil alkolde +4° C’de 15 dakika
- % 70 Etil alkolde +4° C’de 15 dakika
- % 86 Etil alkolde +4° C’de 15 dakika
- % 96 Etil alkolde +4° C’de 15 dakika
- % 100 Etil alkolde +4° C’de 15 dakika
- % 100 Etil alkolde +4° C’de 15 dakika

Buraya kadar olan işlemler buzdolabında +4° C’de gerçekleştirildi. Daha sonra aşağıdaki işlemler oda ısısında gerçekleştirildi :

- % 100 Etil alkolde 15 dakika
- Propilen oksitte 15 dakika
- Propilen oksitte 15 dakika

Dehidrate edilen doku parçaları daha sonra aşağıdaki solüsyonlar içerisinde immerse edildi :

- Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika
- Propilen oksit + gömme materyali 30 dakika

Bu işlemden sonra doku parçaları içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (rezin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda karıştırıldı.

Gömme materyali :

- Araldit CY 212 20 ml
- Sertleştirici HY 964 20 ml
- Hızlandırıcı DY 064 0.6 ml
- Plastikleştirici – Dibütil Fitalat 1 ml

Ertesi gün doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak 00 polietilen kapsüllere gömüldü ve 60° C’de etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra elde edilen bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan Reichert Ultracut S ultramikrotomu ile 500 A° kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere toplandı ve % 70’lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds’un kurşun sitrat solüsyonları ile boyandı. Boyanan kesitler Jeol JEM 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu (Japan) ile incelendi ve mikrograflar elde edildi.

3.2.2. Işık mikroskopi yöntemleri

% 10 formaldehit solüsyonuna alınan örnekler rutin takip işlemlerinden geçtikten sonra parafin bloklara alındı. 5 m kalınlığında hazırlanan kesitlere; Haemotoksilen-Eozin (HE), histokimyasal boyası uygulandı. Kesitler ışık mikroskobunda incelenerek fotoğraflandı. Resimler Nikon UFX-DX fotomikroskop sisteminde çekildi.

3.3. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 17.0 paket programı kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum-maksimum) olarak özetlendi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki Kare test istatistiği kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen ölçümleri iki grup arasında karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. Önce sonra gibi normal dağılım göstermeyen iki ölçümü karşılaştırmada Wilcoxon Signed Rank test kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen ölçümleri ikiden fazla grup arasında genel karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanıldı. Aynı tavşanlar üzerinde farklı zamanlarda yapılan sürekli ölçümlerinin zaman içindeki değişimini karşılaştırmada tekrarlı ölçümler analizi kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

4.BULGULAR

4.1. Mitomisin C'nin histopatolojik etkileri

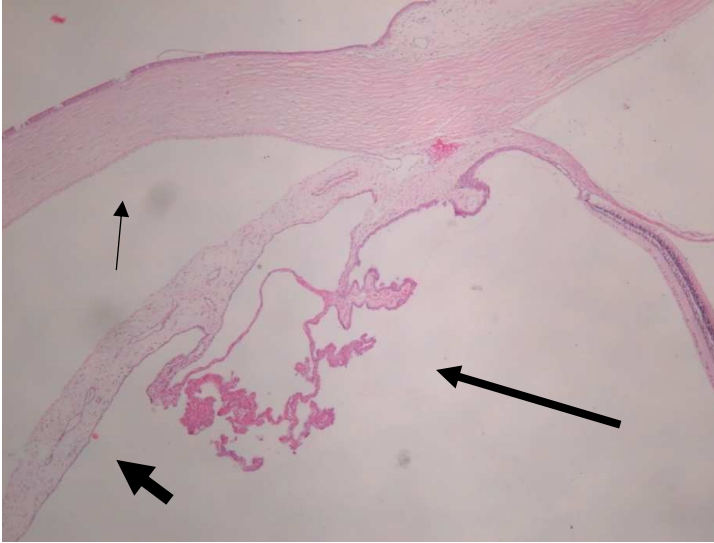
MMC'nin oküler dokular üzerindeki histopatolojik etkileri ışık mikroskopisi ve elektron mikroskopisinde incelendi.

4.1.1 Işık mikroskopisi

Alınan gözlerden hazırlanan hematoksilin-eozin (HE) ile boyalı preparatlarda oküler dokular farklı büyütmelemler ile incelendi. MMC uygulanan gözlerde özellikle siliyer cisimde ve korneada hücresel düzeyde değişiklikler tespit edildi. Sınıflamamız uzun dönem ile kısa dönem arasındaki histopatolojik değişikliklerin hafif olması nedeniyle öncelikle dozlar arasındaki farka göre yapıldı.

Tüm MMC uygulanan gözlerde MMC'nin doz ve süresi ile ilişkili olarak siliyer cismin papiller yapılarında bozulma, epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve stromada artış ile karakterize değişiklikler görüldü. Bu etkiler yüksek dozların kullanıldığı üçüncü ve altıncı gruplarda çok belirgin olmak üzere MMC uygulanan tüm gözlerde farklı derecelerde izlendi.

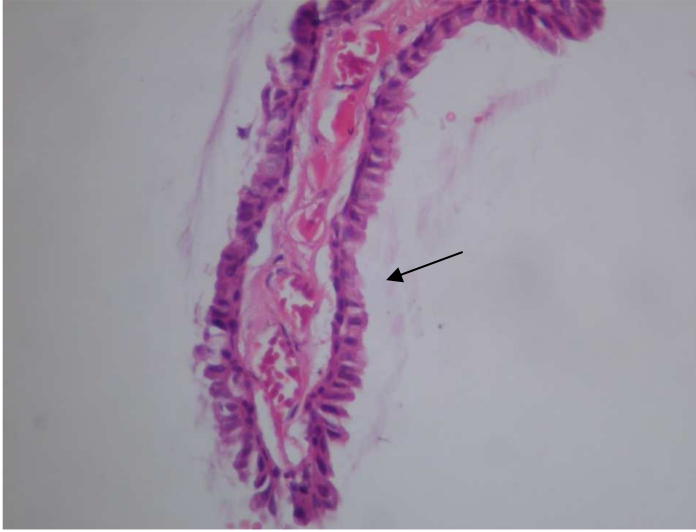
Yine uygulanan doz ve süre ile ilişkili olarak kornea epitelinde kalınlaşma, endotelde hücrelerin diziliminde düzensizleşme, hücrelerde vakuolizasyon ve hücre kaybı izlendi.



Şekil 5: Kontrol grubu enükleasyon materyalinden hazırlanan histolojik kesitte papiller yapılanma gösteren siliyer cisim (uzun ok), kornea (ince ok), iris (kalın ok) HE x 100.

4.1.1.1. Siliyer cisim

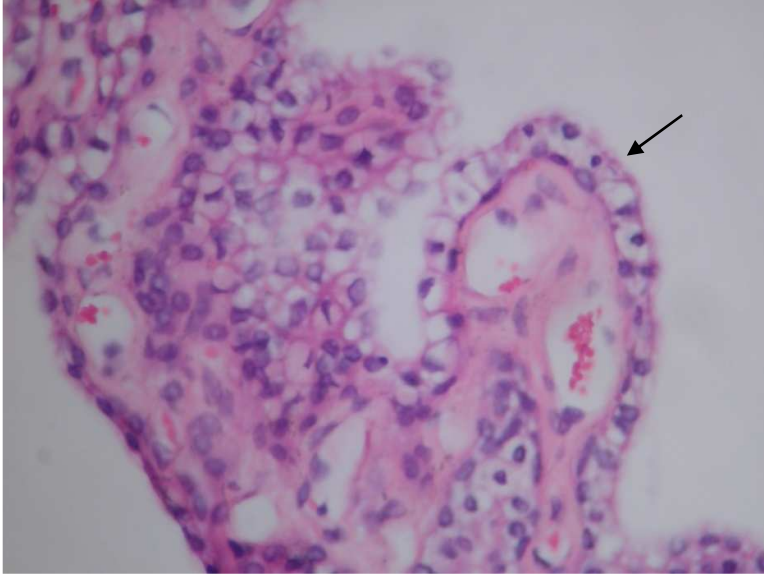
Siliyer cisimdeki vakuoler dejenerasyon kullanılan doz ile ilişkili olarak farklı şiddetlerde olmaktadır. Kontrol grubunda siliyer cisim kesitinde epitelyum hücrelerinde pembe eozinofilik boyanan stoplazma ile düzgün papiller yapılar izlenirken, doz artımı ile değişen oranlarda hücre içinde geniş boşluklarla karakterize vakuoler dejenerasyon, papiller yapılarda bozulma ve stromada vaskularizasyon artışı izlenmektedir. (Şekil12,7-8,13)



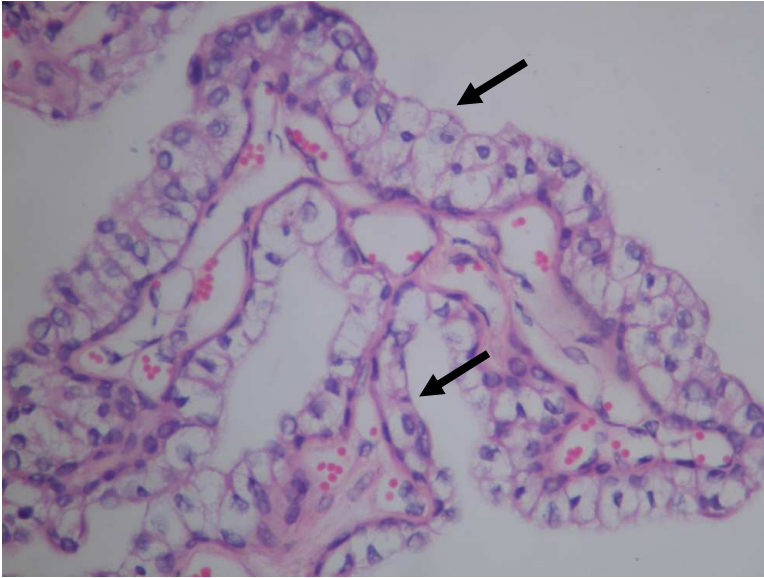
Şekil 6: Kontrol grubunda siliyer cisim kesitinde epitelyum hücrelerinde pembe eozinofilik stoplazma(siyah ok) HE X 400.



Şekil 7 : 0,2 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta siliyer cisim epitel hücrelerinde hafif derecede vakuolizasyon (siyah ok) HE X 400.

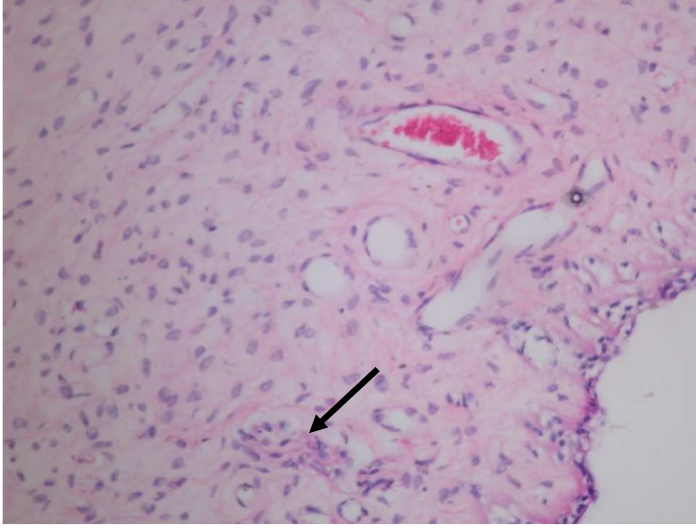


Şekil 8: 0,4 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) grupta siliyer cisim epitelinde şiddetli derecede vakuoler dejenerasyon.



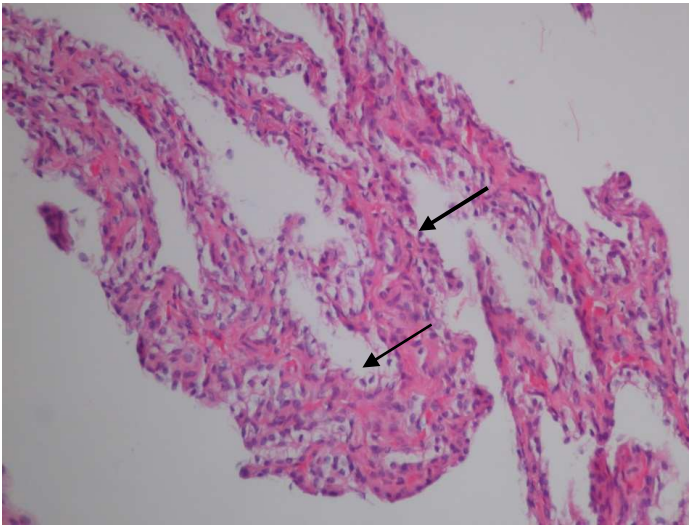
Şekil 9: 0,8 mg/ml MMC 6ay (12 kür) kullanılan grupta siliyer cisim epitelinde belirgin şeffaf stoplazmayla karakterize vakuoler dejenerasyon ve nukleuslarda dejenerasyon HE X 400.

MMC kullanılan gözlerin siliyer cisim stromalarında artış görülmekte ve aynı zamanda damar sayısında da artış izlenmektedir.

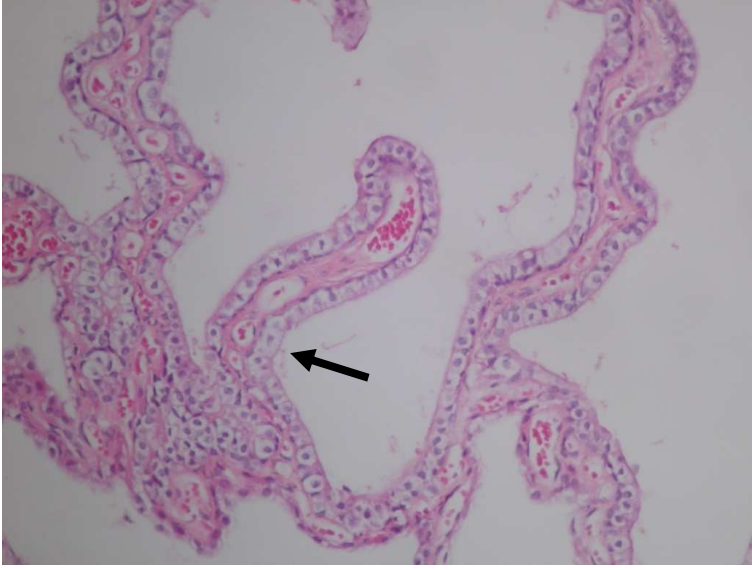


Şekil 10: 0,4 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta siliyer cisim stromasında belirgin artış HE X400.

Kısa dönem kullanılan gruplarda da kullanılan MMC'nin dozları ile ilişkili olarak siliyer cisimde vakuoler dejenerasyonlar görülmekte olup, dejenerasyonun şiddeti doz artışı ile artmaktadır. Etkilenme derecesi uzun dönem kullanılan gruplardan çok az fark göstermektedir. (Şekil 11-16)



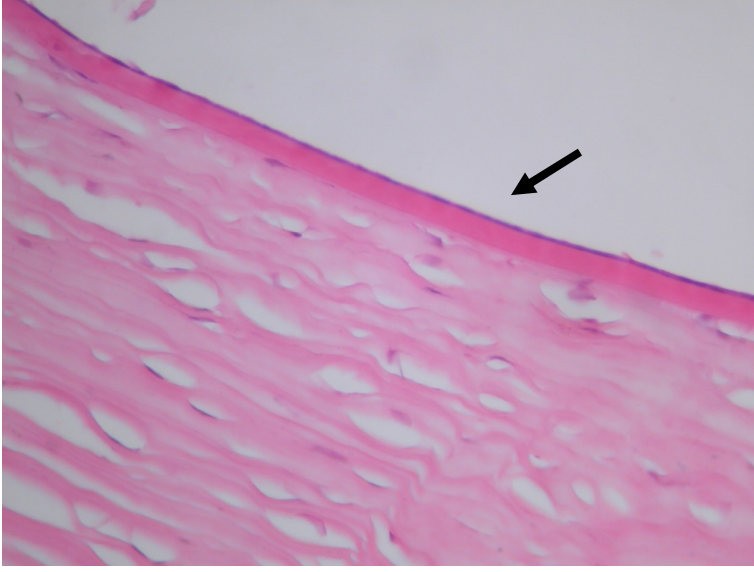
Şekil 11: 0,4 mg / ml MMC 3 ay (6 kür) kullanılan tavşanlarda siliyer cisim epitelinde orta şiddette vakuoler dejenerasyon (siyah ok).



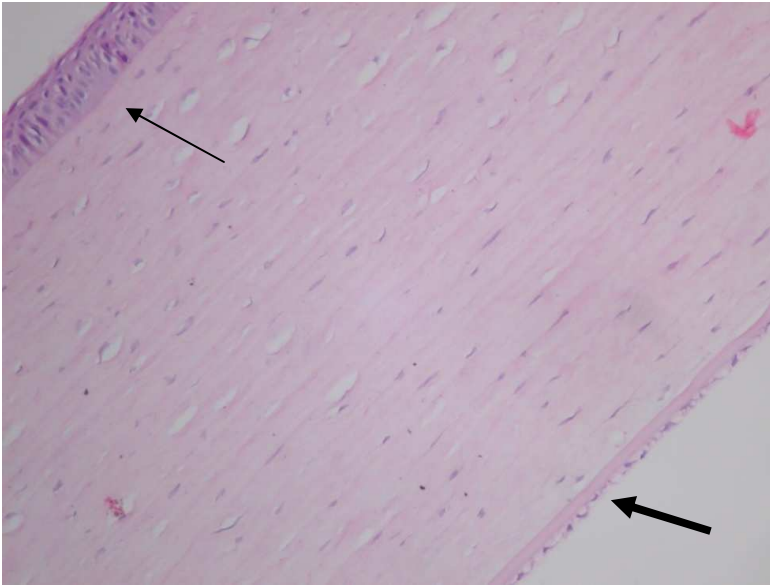
Şekil 12: 0,8 mg/ml dozda 3 ay (6 kür) kullanılan grupta siliyer cisim epitelinde şiddetli derecede vakuoler dejenerasyon sonucunda görülen şeffaflaşma.

4.1.1.2. Kornea

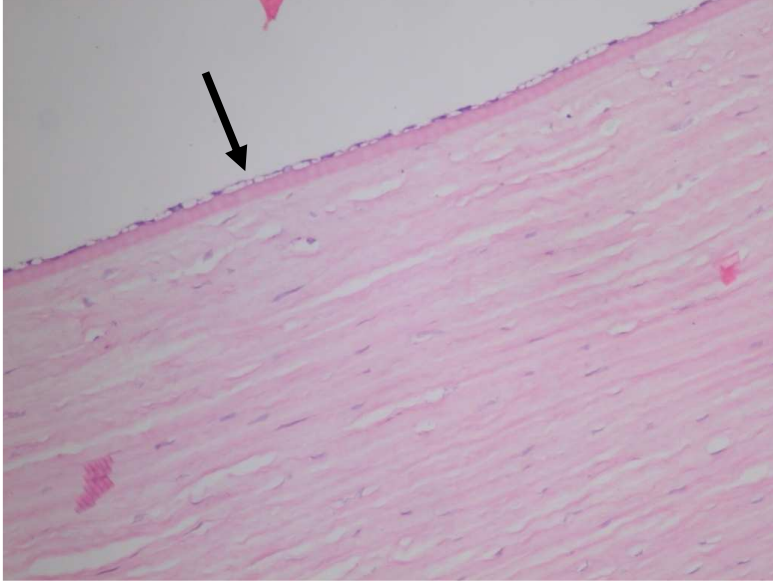
Siliyer cisimde görülen histopatolojik değişimlere paralel olarak korneada da MMC'ye bağlı toksik etkilere bağlı histopatolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Işık mikroskopisinde epitelde sıralanma artışı, endotelde ise kontrol grubunda düzgün sıralanma gösteren hücrelerin aksine, sıralanmada bozulma, hücre içi mesafede genişleme ile karakterize vakuoler dejenerasyon izlenmektedir. Endoteldeki bozulma da doz artımından belirgin olarak etkilenmektedir (Şekil 14,15,10).



Şekil 13: Kontrol grubunda düzgün sıralanma gösteren , stoplazması belirgin olmayan kornea endoteli HE X 400.



Şekil 14: 0,4 ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta korneada epitelin sıralanma artışı (ince ok) ve endotelde vakuoler dejenerasyon izlenmektedir (kalın ok). HE X 400.



Şekil 15: 0,8 mg/ml MMC 6 ay (12 kür) kullanılan grupta kornea endotel stoplazmasında vakuoler dejenerasyon HE X 400.

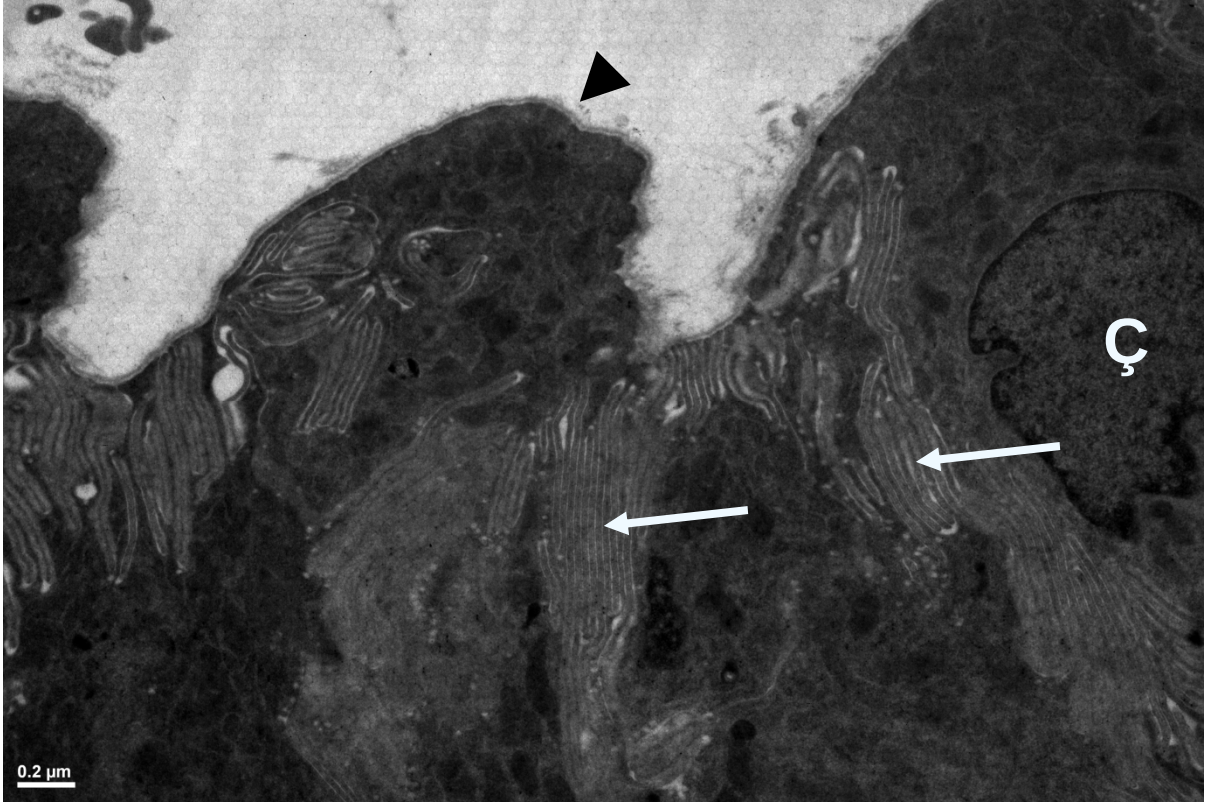
4.1.2 Elektron mikroskopi

4.1.2.1. Normal Kontrol Grubu

4.1.2.1.1 Siliyer cisim

Korpus siliarenin iki tabakalı prizmatik epitel hücreleri ile döşeli olduğu, epitelin altında fibröz bağ dokusundan oluşan stroma tabakasının yer aldığı gözlemlendi. Stroma, fibroblastlar, kollajen lifler ve kan damarları ve sinirleri içeren bağ dokusundan meydana gelmişti. Epitelin yüzeyel tabakası prizmatik veya alçak prizmatik hücrelerden oluşmuştu. Hücreler apikal yüzeyde bazal laminaya benzer ince bir tabaka olan iç sınırlayıcı membran ile kaplanmıştı. Yüzey epitel hücreleri iç sınırlayıcı membran altında ve apikal yüzeyde pek çok mikrovillus şeklinde sitoplazmik katlantılara sahipti. Yüzey epitel hücreleri, birbirleri ile lateral yüzeylerde, apikal sınırdan başlamak üzere bazal yüzeye kadar aralıklarla devam eden bağlantı kompleksleri ile birbirlerine bağlanmışlardı. Yüzey prizmatik hücreler, aynı zamanda bazal yüzde de epitelin ikinci tabakası olan, pigment epiteli ile de birbirlerine bağlantı kompleksleri ile bağlıydı. Yüzey prizmatik hücrelerde, hücrenin ortasında oval veya yuvarlak bir adet çekirdek bulunmaktaydı. Çekirdek içerisinde bir adet çekirdekçiğin varlığı da ayırt edildi.

Kromatin çekirdekte homojen bir dağılıma sahipti ve yer yer perinükleer kılıfa yakın kümeler oluşturmaktaydı. Hücre sitoplazmasında granüler ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, mitokondriyonlar golgi kompleksi, serbest ribozomlar ve az sayıda lizozom ve lipid damlacıkları ayırt edildi. Yüzey epiteli altında yer alan pigment epiteli kübik tipte hücrelerden oluşmaktaydı. Pigment epitel hücreleri ile yüzey epitel tabakası arasında hücreler nisbeten girintili çıkıntılı olarak yer almaktaydı ve birbirlerine sıkı bağlantılar ile bağlanmışlardı. Pigment epitel hücreleri, yüzey prizmatik hücrelere göre nisbeten daha elektron dens görünümdeydiler. Bazal kısımda hücreler stroma tabakasına doğru parmak şeklinde sitoplazmik uzantılar göndermişti. Stroma ile pigment epitel tabakası arasında ince bir bazal laminanın varlığı ayırt edildi. Pigment epitel hücreleri de oval veya yuvarlak bir adet çekirdek içermekteydi. Bu çalışmada albino tavşanlar kullanılması nedeniyle sitoplazmada pigment granülleri bulunmamaktaydı. Hücre sitoplazmalarında, granüler ve agranüler endoplazmik retikülüm sisternaları, ribozomlar, mitokondriyonlar ve az sayıda lizozomlar yer almaktaydı. Bazal laminanın da altında, içerisinde ince, uzun sitoplazmik uzantıları ve mekik şekilli çekirdekleriyle karakterize fibroblastlar ile kollajen ve elastik lifler ve kapiller damarları içeren stroma bulunmaktaydı (Şekil 16).

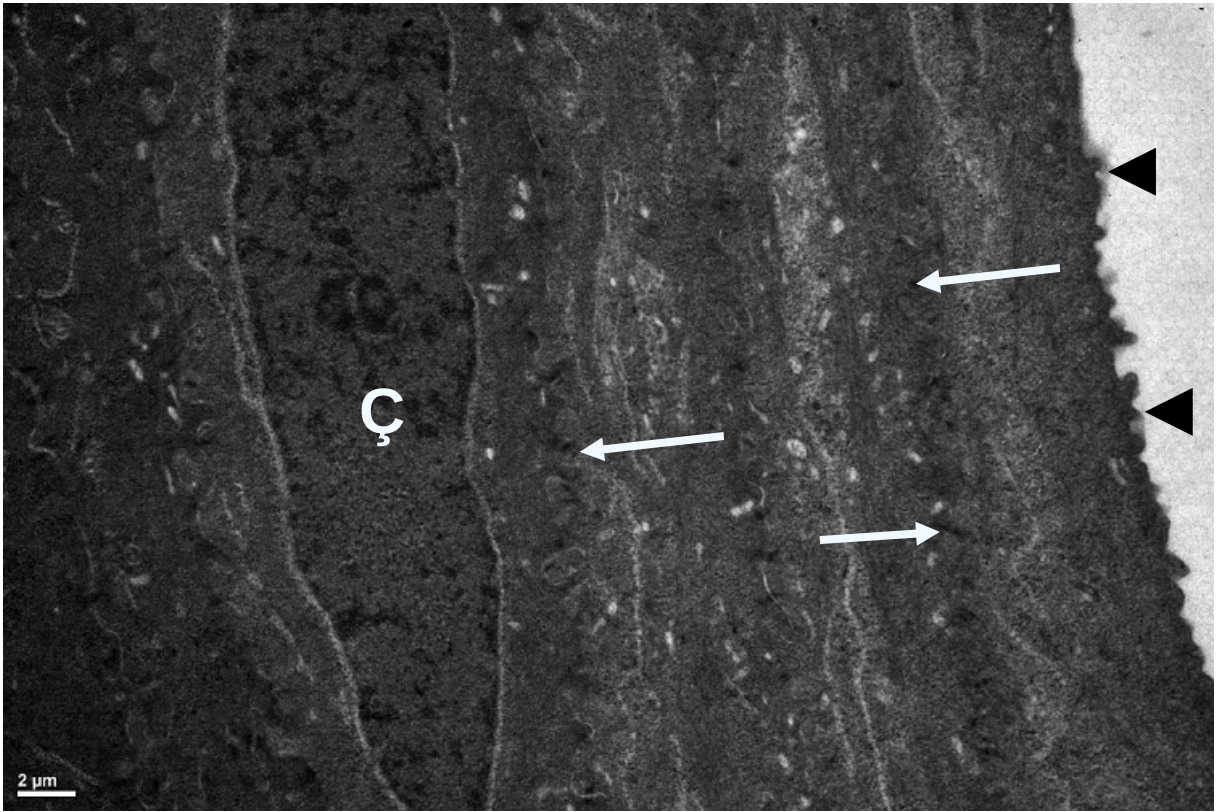


Şekil 16: Siliyer Cisim Normal Kontrol Grubu. Siliyer cisim yüzey epitel hücrelerinin apikal kısmındaki intakt, içiçe geçmiş mikrovillüsler (Beyaz oklar) izlenmektedir. İç sınırlayıcı membran (Ok başı), çekirdek (Ç).

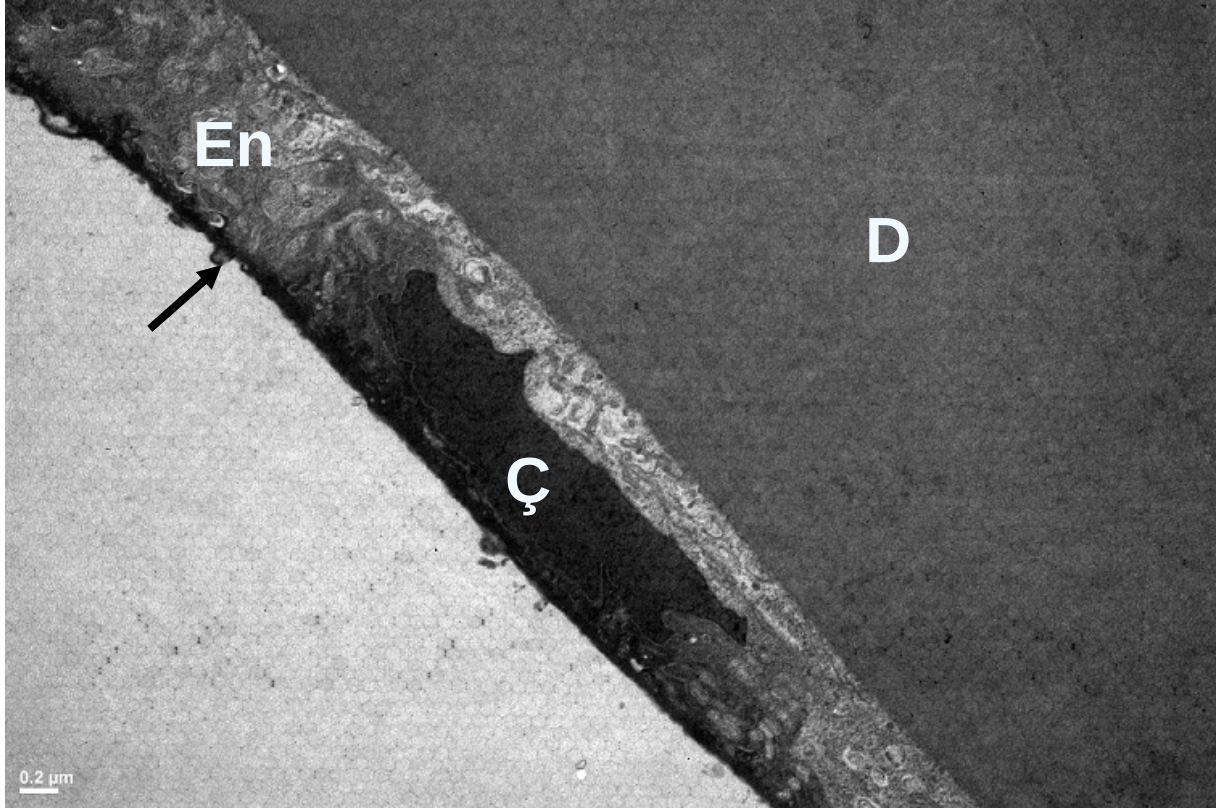
4.1.2.1.2. Kornea

Kornea tabakası, epitel, stroma, Descement membranı ve endotel tabakasından oluşmaktaydı. Kornea epiteli non keratinize çok katlı yassı epitelden oluşmuştu. Yaklaşık 5-6 tabaka epitel hücrelerinden oluşan epitelde bazal hücrelerin genellikle prizmatik tipte oldukları, ara zonlarda epitelin kübik, yüzeyel tabakalarda ise yassı hücrelerin yer aldıkları belirlendi. Epitel alttan ince bir bazal lamina ile desteklenmişti. Kornea yüzey epitel hücreleri apikal yüzeyde ve lateral ve bazal yüzeylerde kısa mikrovillüslara sahipti. Komşu epitel hücreleri aralarında desmozomları içeren sıkı bağlantılar yer almaktaydı. Epitel hücrelerinde genellikle hücrelerin ortasında yer alan ve indentasyonlara sahip olan bir adet heterokromatinden zengin çekirdek bulunmaktaydı. Çekirdek periferinde yer alan sitoplazmada az sayıda hücre organelinin varlığı ayırt edilmekteydi (Şekil 17). Epitel altında yer alan ince bir bazal lamina ile Descement membranı arasında kalan stromada düzenli bir organizasyona sahip kollajen lifler ve fibroblastlar bulunmaktaydı. Stroma derininde yer alan Descement membranı, endotel altında yer alan bazal lamina görünümünde bir tabaka olarak izlendi. Kornea en

alttan tek sıralı endotel hücrelerinden oluşan bir tabaka ile örtülüydü. Endotel hücreleri lateral yüzeylerde birbirlerine sıkı bağlantılar ile bağlanmıştı. Endotel hücreleri apikalde az sayıda mikrovillus benzeri kısa sitoplazmik uzantılara sahipti. Endotel hücrelerinde ortada ince uzun oval bir çekirdek bulunmaktaydı. Çekirdek nisbeten heterokromatinden zengin olup bazı alanlarda çekirdekçiğin varlığı ayırt edilmekteydi. Sitoplazmada mitokondriyonlar, endoplazmik retikülüm sisternaları, golgi kompleksi ve serbest ribozomların varlığı kaydedildi (Şekil 18).



Şekil 17: Kornea Normal Kontrol Grubu. Kornea epitelinin, nonkeratinize çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluştuğu görülmektedir. Kornea epitel hücrelerinin apikal yüzeylerindeki kısa mikrovilluslar izlenmektedir (Ok başları). Hücreler arasındaki bağlantı kompleksleri görülmektedir (Beyaz oklar). Çekirdek (Ç).



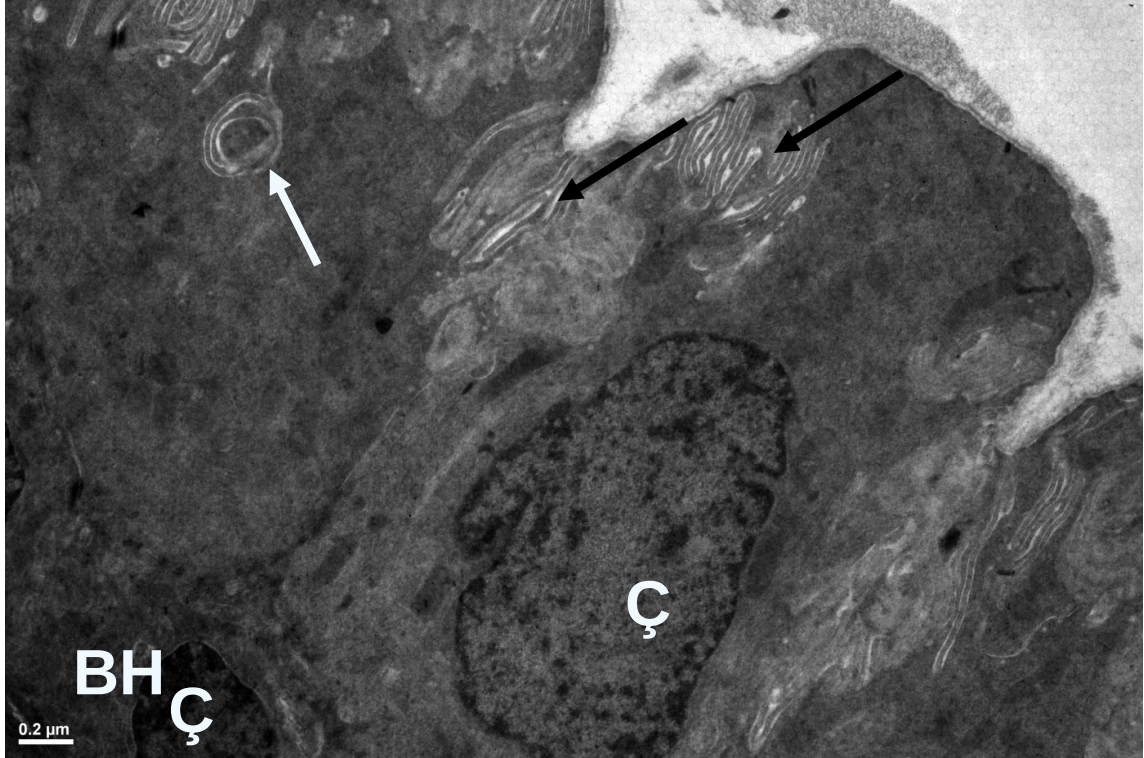
Şekil 18: Kornea Normal Kontrol Grubu. Kornea alt kısmını döşeyen endotel hücre tabakası görülmektedir (En). Endotel hücreleri apikal yüzeyindeki mikrovilluslar izlenmektedir (Siyah ok). Çekirdek (Ç). Descemet membranı (D).

4.1.2.2. MMC'nin kısa dönem histopatolojik etkileri:

4.1.2.2.1. Siliyer cisim

3 ay, 0,2 mg/ml MMC:

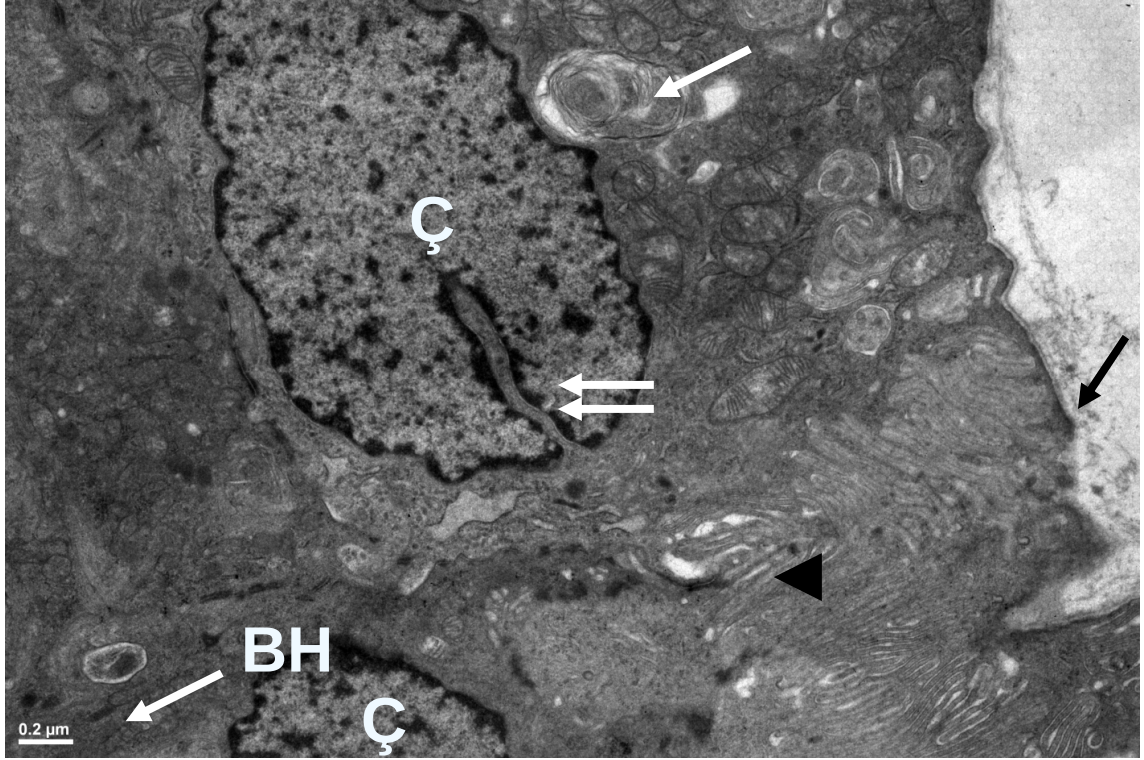
Üç ay süre ile 0,2 mg/ml MMC verilen gruba ait siliyer cisim dokularının elektron mikroskopik değerlendirilmesinde, yüzey epitel hücrelerinde apikal mikrovilluslarda bir miktar azalma, intersellüler aralıklarda genişlemeler ve iç sınırlayıcı membranda bir miktar incelmenin varlığı izlendi. Yüzey epitel hücrelerinde çekirdeklerde indentasyon, sitoplazmada özellikle mitokondriyonların bazılarında meydana gelen yapısal bozulmlara bağlı olarak gelişen membranöz whorl yapıları ve endoplazmik retikülüm sisternalarında hafif genişlemeler gözlenen ortak bulgulardı. Pigment epiteli ve stroma normal olarak değerlendirildi (Şekil 19).



Şekil 19: Siliyer cisim 3 ay, 0,2 mg/ml MMC. Siliyer cisim yüzey epitel hücrelerinde apikal mikrovillus kayıpları (Siyah ok) ve sitoplazma içerisinde membranöz whorl yapıları (Beyaz ok) görülmektedir. Bazal hücre (BH), çekirdek (Ç).

3 ay, 0,4 mg/ml MMC:

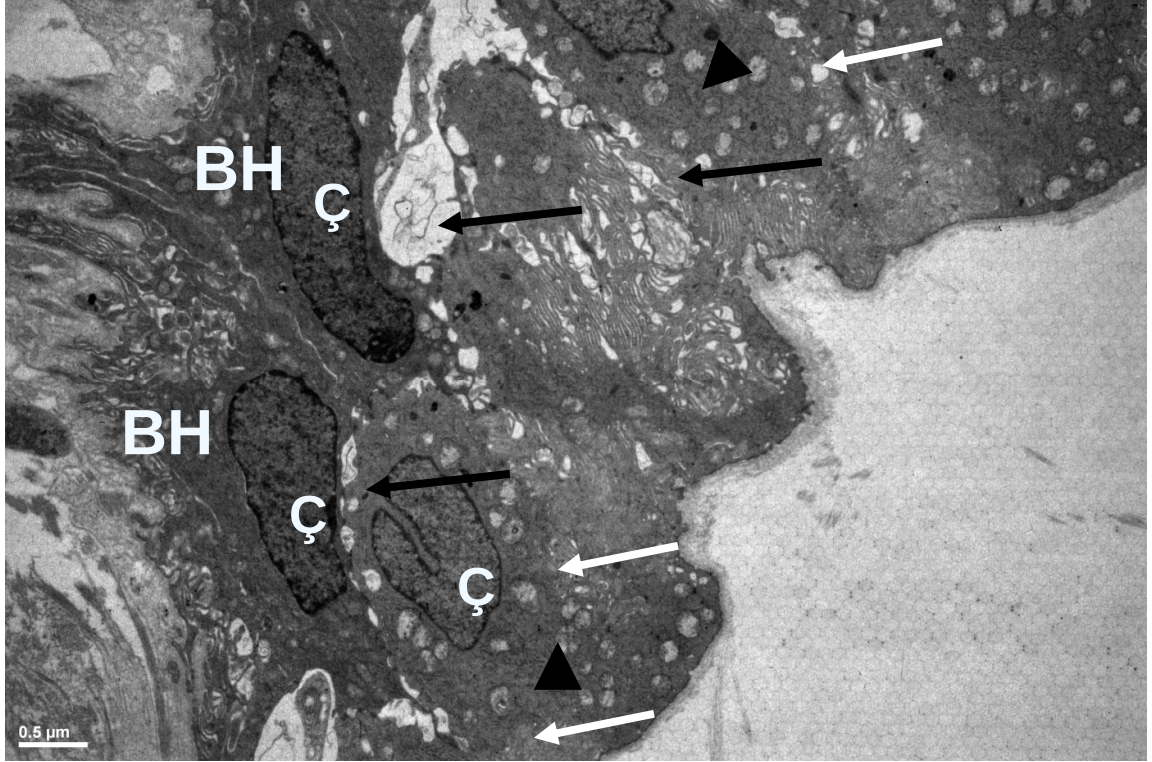
Üç ay süre ile 0,4 mg/ml MMC verilen gruba ait siliyer cisim dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, siliyer cisim yüzey epitelinde apikal mikrovillus sayısında belirgin azalma, lateral yüzeyde ödem alanlarını temsil eden, hücrelerarası aralıklarda düzensizleşme ve genişlemelere sıklıkla rastlandı. Ayrıca apikal yüzeyde yer alan iç sınırlayıcı membranda hafif incelmenin varlığı da izlendi. Yüzey prizmatik hücrelerde, çekirdekte derin invaginasyonlar ve çekirdek içerisinde “stres fiber” adı verilen filamentöz yapıların ortaya çıktığı dikkat çekti. Bunların dışında, endoplazmik retikülüm sisternalarında genişleme ve sitoplazma içerisinde membranöz whorl yapıları ile epitel hücrelerinin bazale yakın sitoplazmalarında lipid damlacıklarının varlığı da görüldü. Bazalde yer alan, pigment epitelinde elektron densite artışı, bazal katlantıların belirgin olması dışında normal yapı genellikle korunmuştu (Şekil 20).



Şekil 20: Siliyer cisim 3 ay, 0,4 mg/ml MMC. Siliyer cisim yüzey epitelinde apikal mikrovillus kaybı (Siyah ok), lateral yüzeyde hücrelerarası aralıklarda düzensizleşme (Ok başı), çekirdekte derin indentasyonlar (Çift ok) ve sitoplazma içerisinde membranöz whorl yapıları (Beyaz oklar) görülmektedir. Bazal hücre (BH), çekirdek (Ç).

3 ay, 0,8 mg/ml MMC:

Üç ay süre ile 0,8 mg/ml MMC verilen gruba ait siliyer cisim dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, yüzey prizmatik epitel kalınlığında incelme, mikrovillus kaybı, hücrelerarası aralıklarda genişleme, sitoplazmada membranöz whorl yapıları, iç sınırlayıcı membranda düzleşme ve incelme ile komşu epitel hücrelerinin aralarında yer alan bağlantı komplekslerinin sayılarında, diğer gruplara göre azalma dikkat çekmekteydi. Ayrıca yüzey epitel hücrelerinin çekirdeklerinde derin indentasyonlar, mitokondrionlarda yapısal düzensizleşme ve kristalarında parçalanma, diğer organellerde genişlemeler gözlenen ortak bulgular. Bunların dışında, bazaldeki pigment epitel hücreleri arasında ödemi temsil eden genişlemeler, hücrelerinin çekirdeklerinde hiperkromatin artışı ve muhtemelen organel harabiyetine bağlı membranöz whorl yapıları da izlendi (Şekil 21).

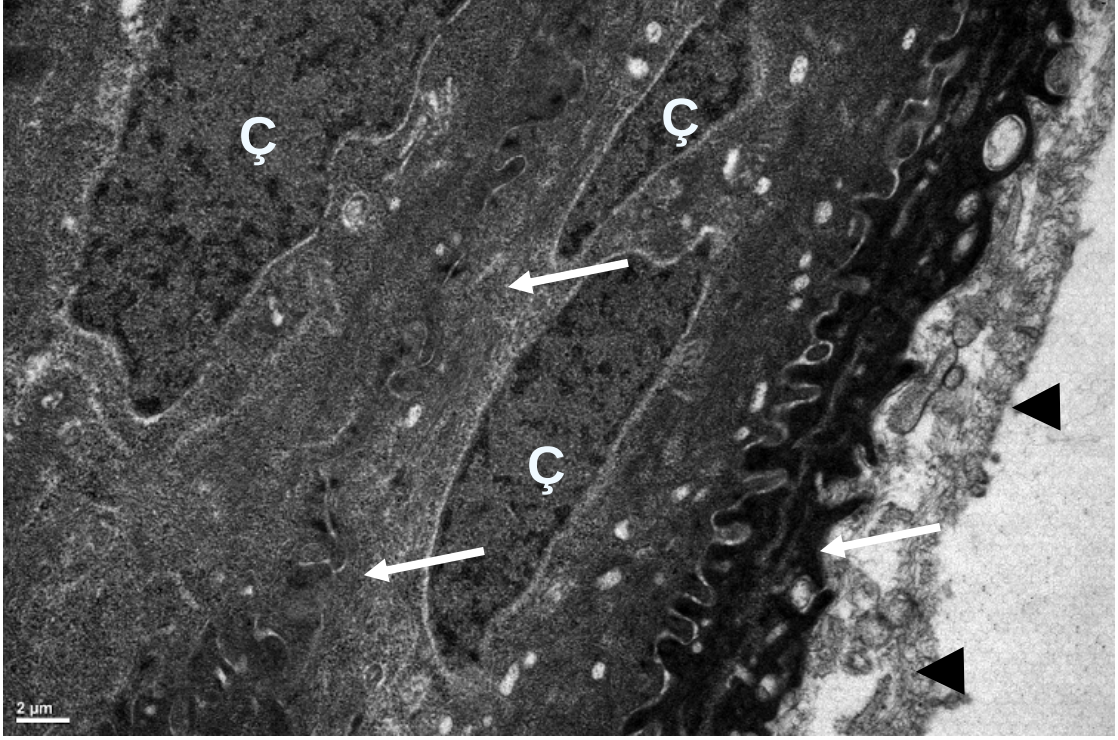


Şekil 21:Siliyer cisim 3 ay, 0,8 mg/ml MMC. Siliyer cisim yüzey epitelinde incelme, mikrovillus kaybı, hücrelerarası aralıklarda genişleme (Siyah oklar), apikal yüzeyde belirgin olmak üzere, mitokondriyonlarda yapısal harabiyet (Ok başları) ve membranöz whorl yapıları (Beyaz oklar) görülmektedir. Bazal hücre (BH), çekirdek (Ç).

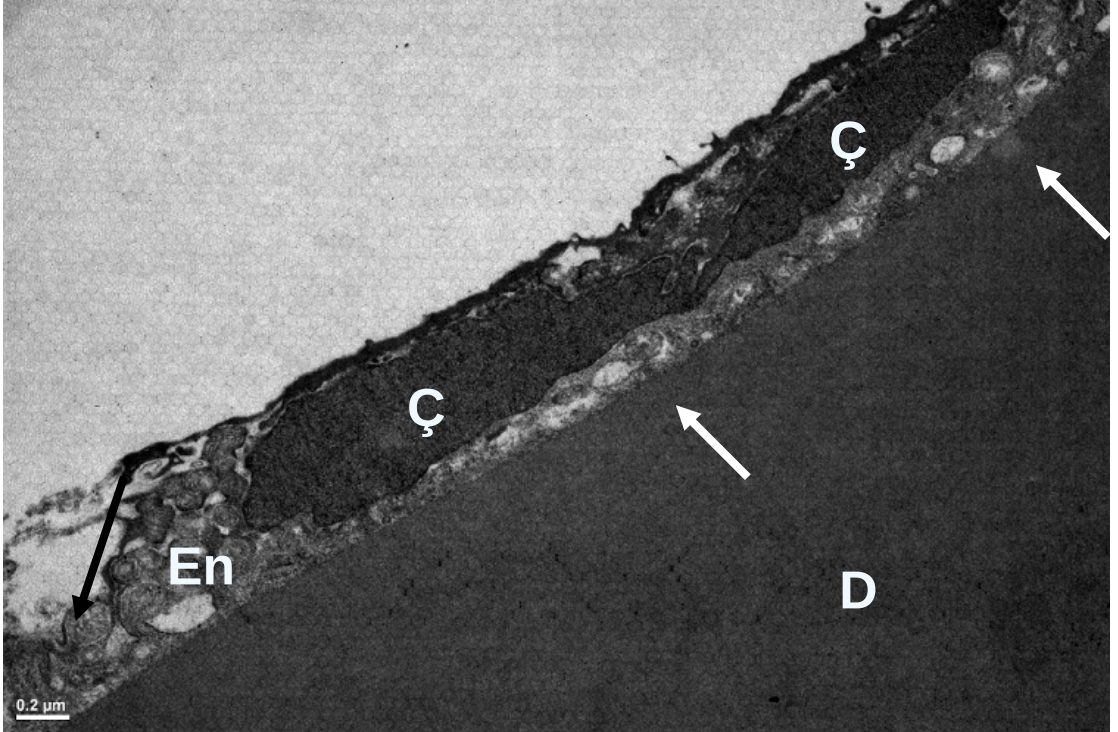
4.1.2.2.2. Kornea

3 ay, 0,2 mg/ml MMC:

Üç ay süre ile 0,2 mg/ml MMC verilen gruba ait kornea dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, bazı yüzey epitel hücrelerinin genellikle normal görünümünü korudukları gözlemlendi. Bununla birlikte, bazı hücelerde hafif mikrovillus kaybı ve intersellüler alanlarda ödemi temsil eden hafif genişlemeler, epitel hücrelerinde incelme, çekirdeklerde derin indentasyonlar, sitoplazma içerisinde elektron densite artışı ve ileri vakuolizasyon dikkat çekti (Şekil 22). Stroma tabakası normal görünümde izlendi. Kornea endotelinde incelme, Descement membranına yakın kısımlarda vakuolizasyon ve ödem alanlarını temsil eden hücrelerarası genişlemeler ve yer yer litik alanlar, hücrelerarası bağlantı komplekslerinde azalma ile hücresel dejenerasyonların varlığı kaydedildi. Ayrıca sitoplazma içerisinde membranöz whorl yapıları da gözlemlendi (Şekil23).



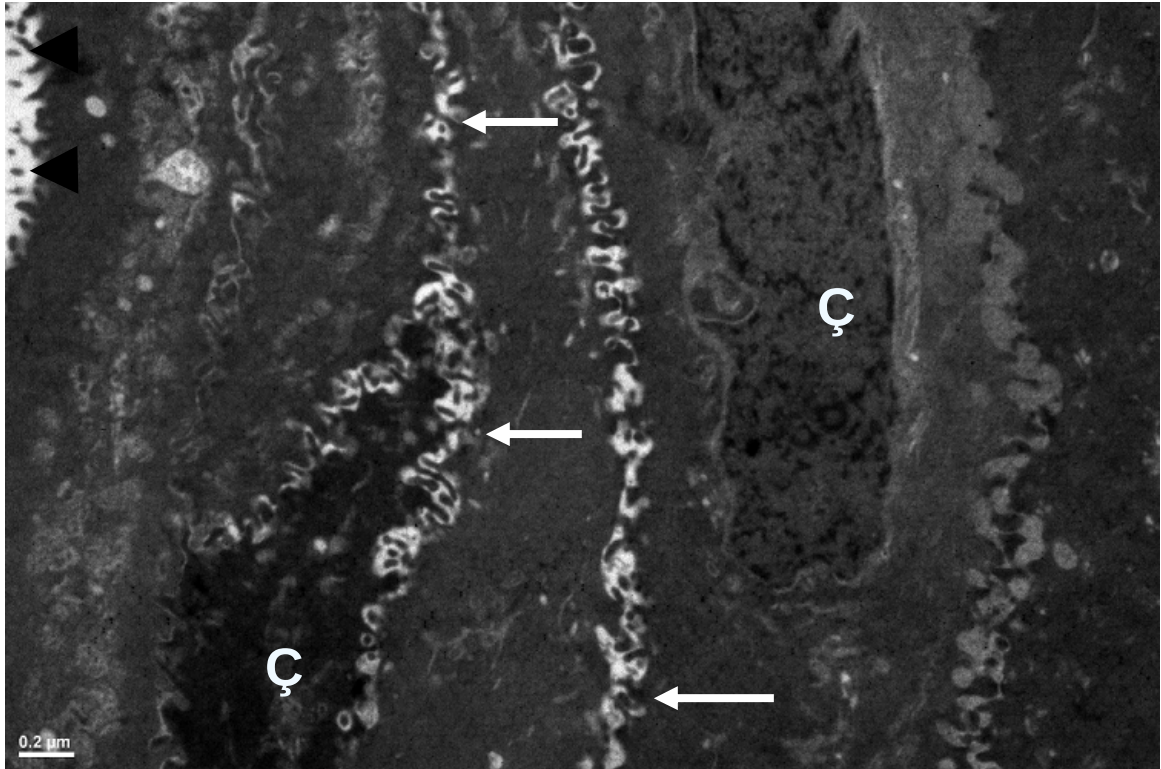
Şekil 22: Kornea 3 ay, 0,2 mg/ml MMC. Kornea epiteli görülmektedir. Kornea yüzey epitel hücrelerinin apikal yüzeylerindeki kısa mikrovilluslar izlenmekte (Ok başları). Hücreler arasındaki bağlantı kompleksleri görülmektedir (Beyaz oklar). Çekirdek (Ç).



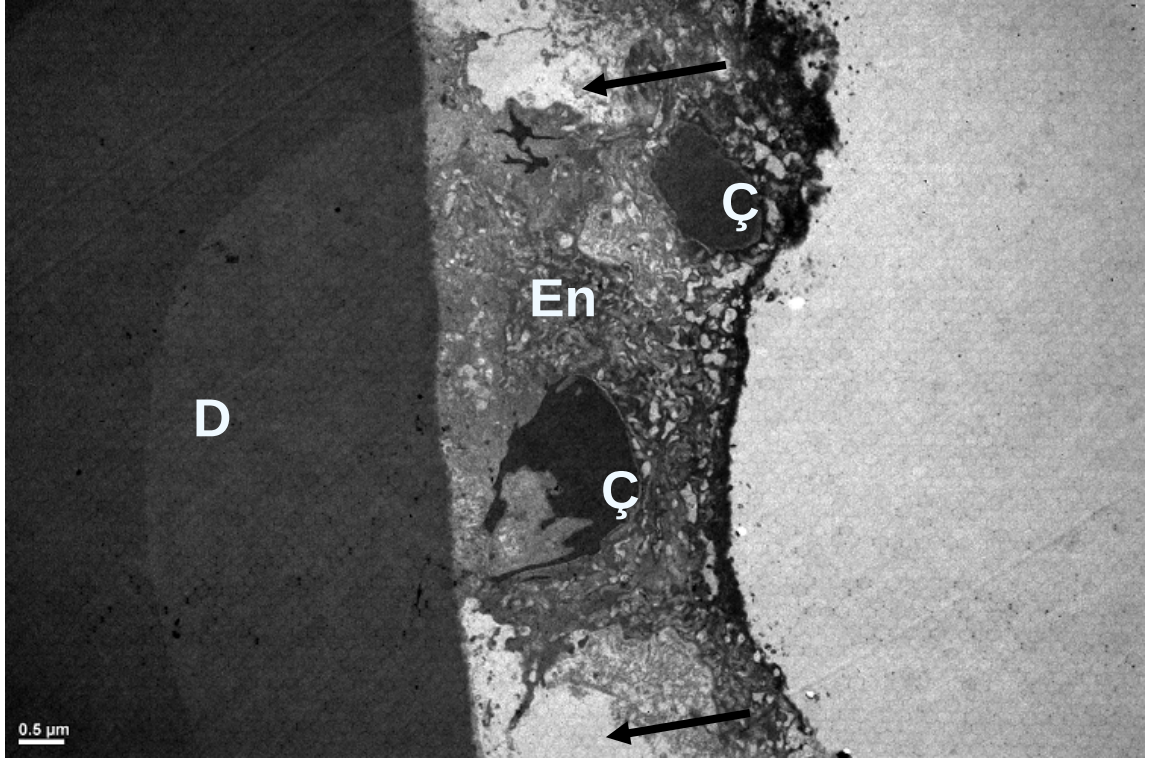
Şekil 23: Kornea 3 ay, 0,2 mg/ml MMC. Kornea alt kısmını döşeyen endotel hücre tabakası görülmektedir (En). Endotel hücre tabakasındaki litik alanlar (Siyah ok) ve Descement membranına yakın kısımlarda vakuolizasyon (Beyaz oklar) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Descement membranı (D).

3 ay, 0,4 mg/ml MMC:

Üç ay süre ile 0,4 mg/ml MMC verilen gruba ait kornea dokularının elektron mikroskopik değerlendirilmesinde, kornea yüzey epitelinde hücrelerarası aralıklarda hafif genişlemeler ile bazal epitel tabakasında yer alan hücrelerde intrasitoplazmik vakuolizasyon gözlemlendi (Şekil 24). Stroma genellikle normal görünümdeydi. Kornea endotel hücrelerinde, çekirdekte hiperkromatin artışı, piknotik değişiklikler ve sitoplazmada litik alanların varlığı kaydedildi (Şekil 25).



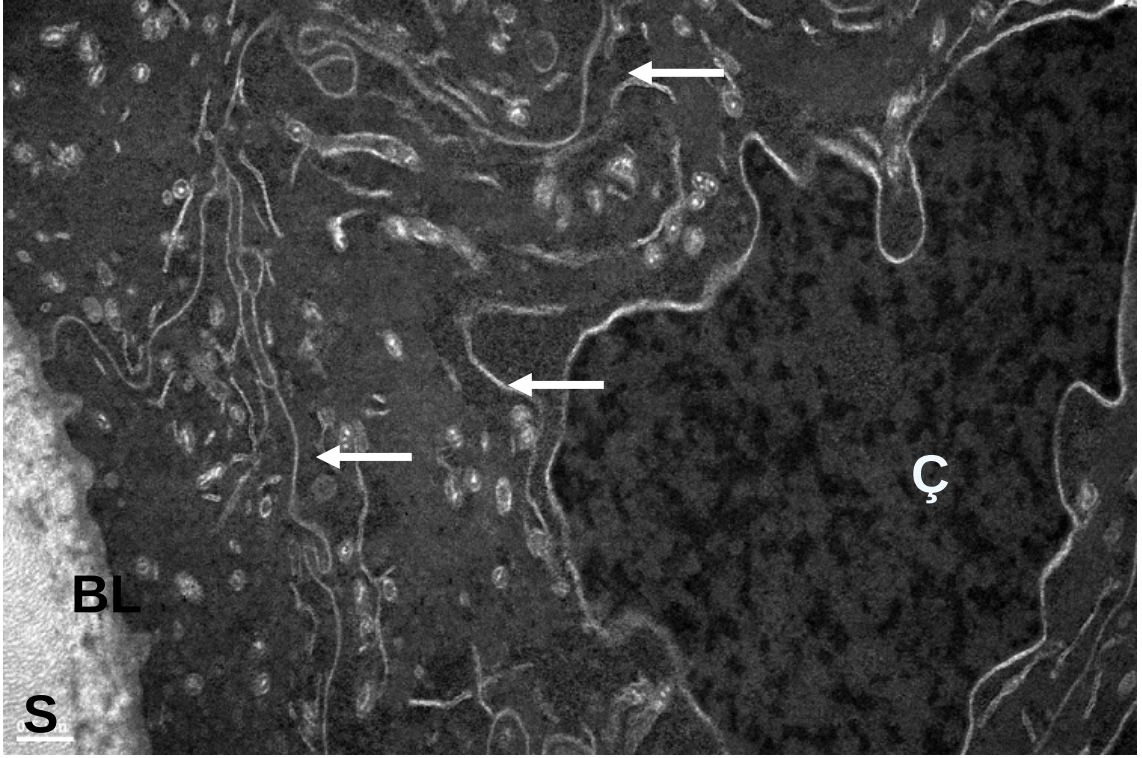
Şekil 24: Kornea 3 ay, 0,4 mg/ml MMC: Kornea yüzey epitelinde hücrelerarası aralıklarda hafif genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Yüzeyel mikrovilluslar (Ok başları), çekirdek (Ç).



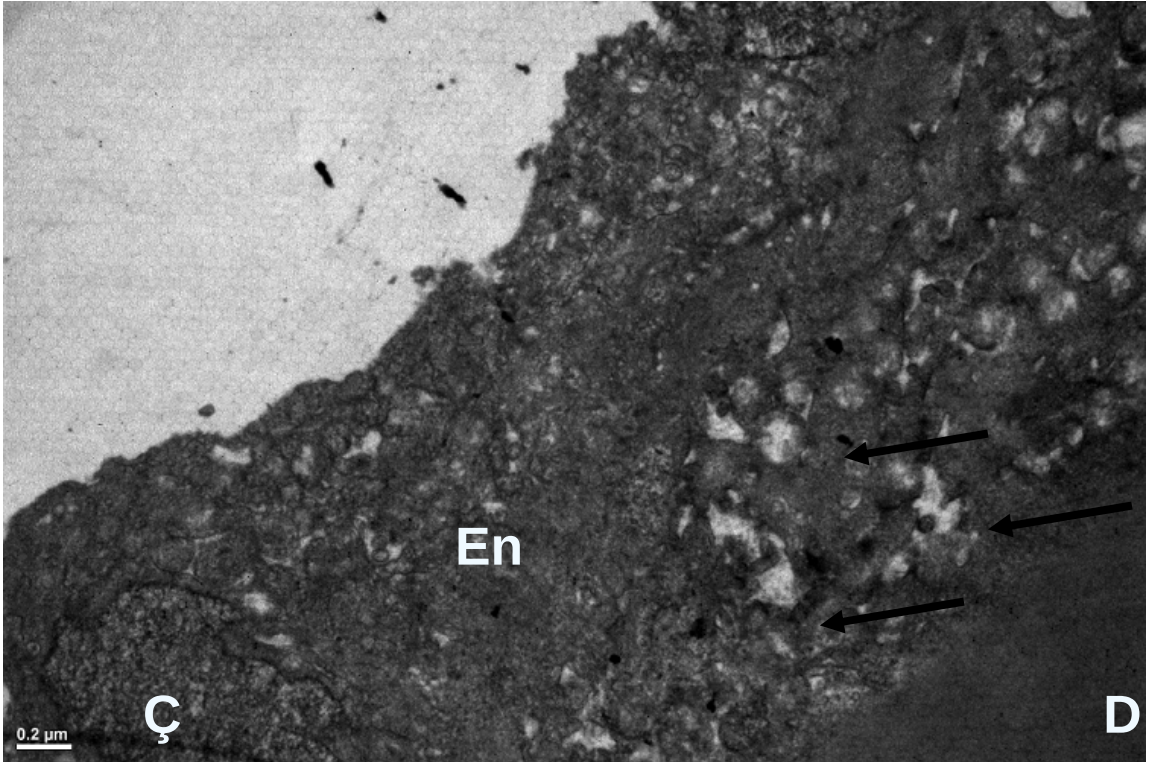
Şekil 25: Kornea 3 ay, 0,4 mg/ml MMC: Kornea endotel hücrelerinde, çekirdekte hiperkromatin artışı, piknotik değişiklikler ve stoplazmada litik alanların varlığı (Siyah oklar) izlenmektedir. Endotel hücreleri (En), çekirdek (Ç), Descement membranı (D).

3 ay, 0,8 mg/ml MMC:

Üç ay süre ile 0,8 mg/ml MMC verilen gruba ait kornea dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, epitelde hücrelerarası aralıklarda hafif genişlemeler ile bazal tabakada yer alan hücrelerde intrasitoplazmik genişlemeler dikkati çekti (Şekil 26). Stromada fibroblast sitoplazmasında hafif vakuolizasyon dışında genellikle normal görünüm korunmuştu. Kornea endotelinde, Desement membranına yakın alanlarda vakuolizasyon ve ödem alanlarını temsil eden hücrelerarası genişlemeler ile sitoplazmada mitokondriyon harabiyetine bağlı olarak oluşan, membranöz whorl yapıları belirlendi (Şekil 27).



Şekil 26: Kornea 3 ay, 0,8 mg/ml MMC. Kornea epitelinde bazale yakın hücrelerde hücrelerarası aralıklarda hafif genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Stroma (S), bazal lamina (BL), çekirdek (Ç).



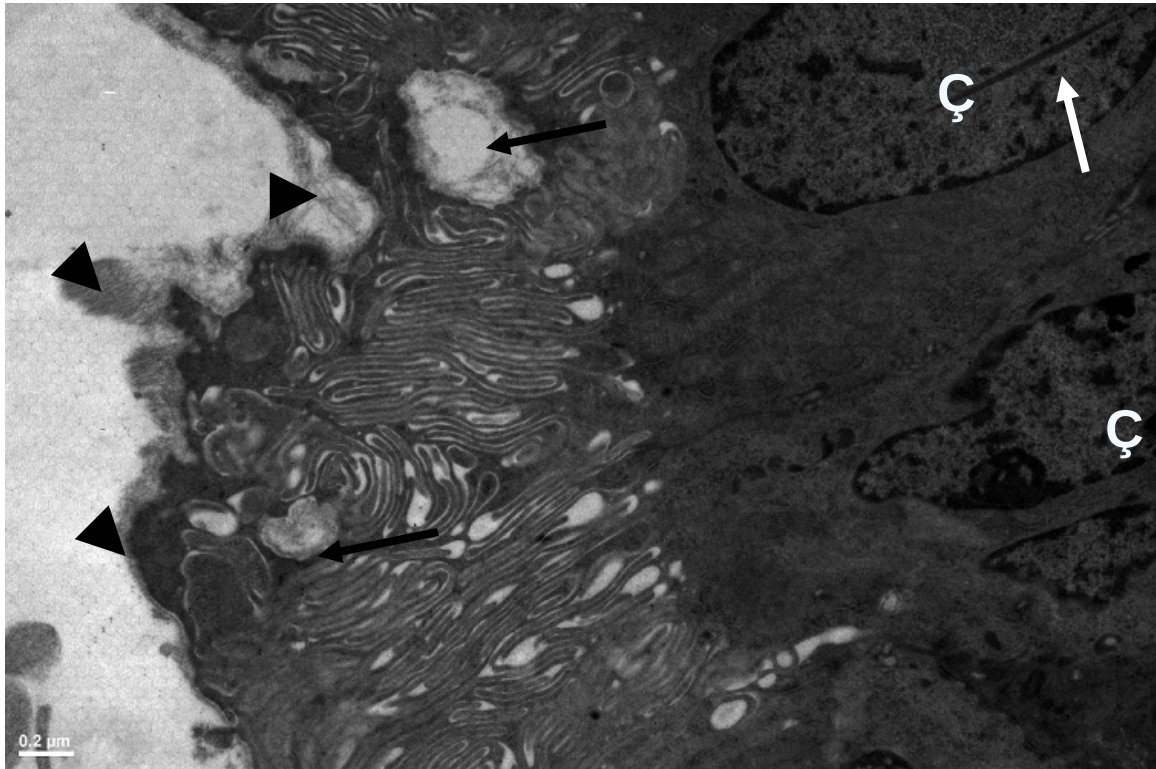
Şekil 27: Kornea 3 ay, 0,8 mg/ml MMC. Kornea endotel hücrelerinde sitoplazmada litik alanların varlığı (Siyah oklar) izlenmektedir. Endotel hücreleri (En), çekirdek (Ç), Descemet membranı (D).

4.1.2.3. MMC'nin uzun dönem histopatolojik etkileri

4.1.2.3.1.Siliyer Cisim

0,2 mg/ml MMC:

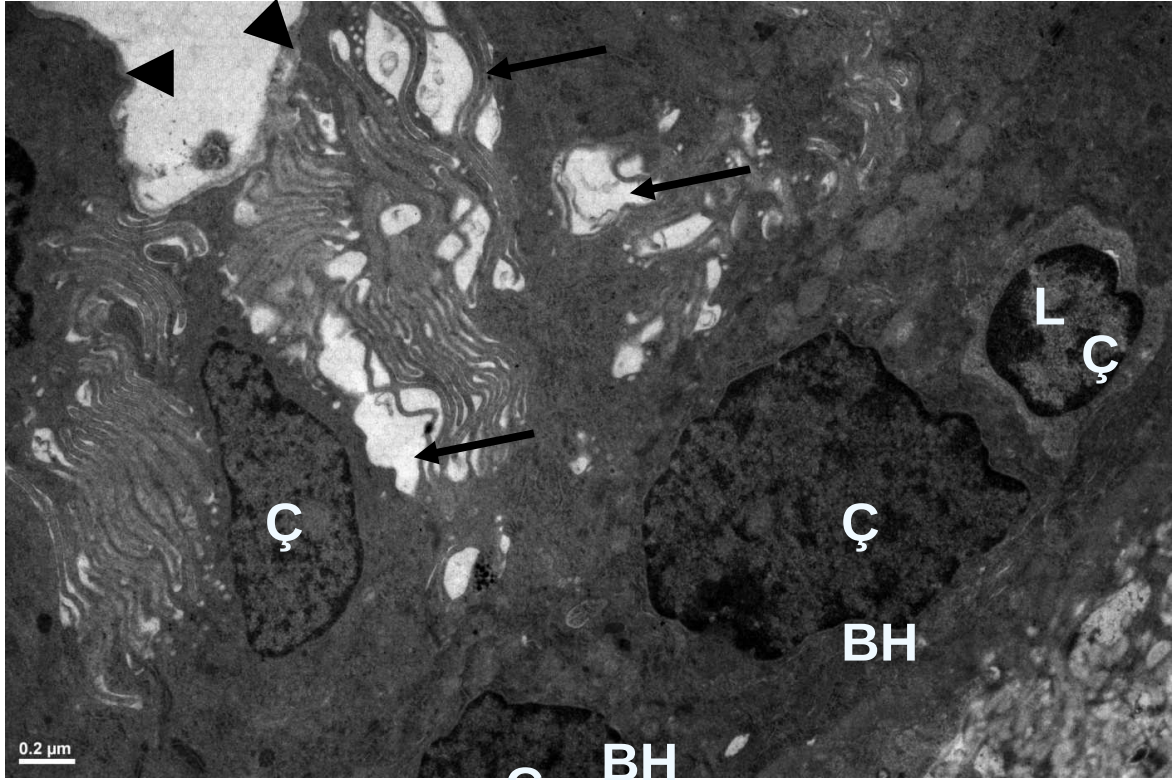
Altı ay süre ile 0,2 mg/ml MMC verilen gruba ait siliyer cisim dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, siliyer cisimnin yüzey prizmatik epitel hücrelerinde apikal mikrovillus sayısında belirgin azalma, lateral yüzeyde ödem temsil eden, hücrelerarası aralıkta düzensizleşme ve genişlemeler izlendi. Ayrıca, hücre çekirdeklerinde derin indentasyonlar, çekirdekte stres fiberler ve sitoplazmada membranöz whorl yapıları belirlendi. Bunun dışında, iç sınırlayıcı membranda düzensizleşme, incelmeler ve yer yer silinmelerin olduğu dikkati çekti. İlave olarak, iç sınırlayıcı membranda amorf yapıların yanında fibriler yapıların varlığı da kaydedildi. Pigment epiteli ve stroma normal olarak değerlendirildi. (Şekil 28)



Şekil 28:Siliyer cisim 6 ay, 0,2 mg/ml MMC. Siliyer cisimnin yüzey prizmatik epitel hücrelerinde apikal mikrovillus sayısında azalma, lateral yüzeyde ödem temsil eden, hücrelerarası aralıklarda düzensizleşme ve genişlemeler (Siyah oklar) izlenmektedir. İç sınırlayıcı membranda düzensizleşme ve fibriler yapıların varlığı (Ok başları) görülmektedir. Çekirdekte stres fiber (Beyaz ok) izlenmektedir. Çekirdek (Ç).

0,4 mg/ml MMC:

Altı ay süre ile 0,4 mg/ml MMC verilen gruba ait siliyer cisim dokularının elektron mikroskopik değerlendirilmesinde, siliyer cisimnin yüzey prizmatik epitel hücrelerinde apikal mikrovillus kaybı, hücrelerarası ödemi temsil eden vakuolizasyon, komşu epitel hücrelerinin lateral yüzeylerinde düzensiz bir görünüm ve aşırı genişlemeler kaydedildi. Bunun yanında, epitel hücre çekirdeklerinde heterokromatin artışı ve derin indentasyonlar, çekirdekte stres fiberler ve sitoplazmada membranöz whorl yapıları da belirlendi. İlave olarak, iç sınırlayıcı membranda amorf yapıların yanında fibriler yapıların varlığı da kaydedildi. Pigment epitelinde hücre çekirdeklerinde aşırı indentasyon ve sitoplazmada elektron densite artışı dikkati çekmekteydi. Stromada yapı genelde normaldi. (Şekil29)

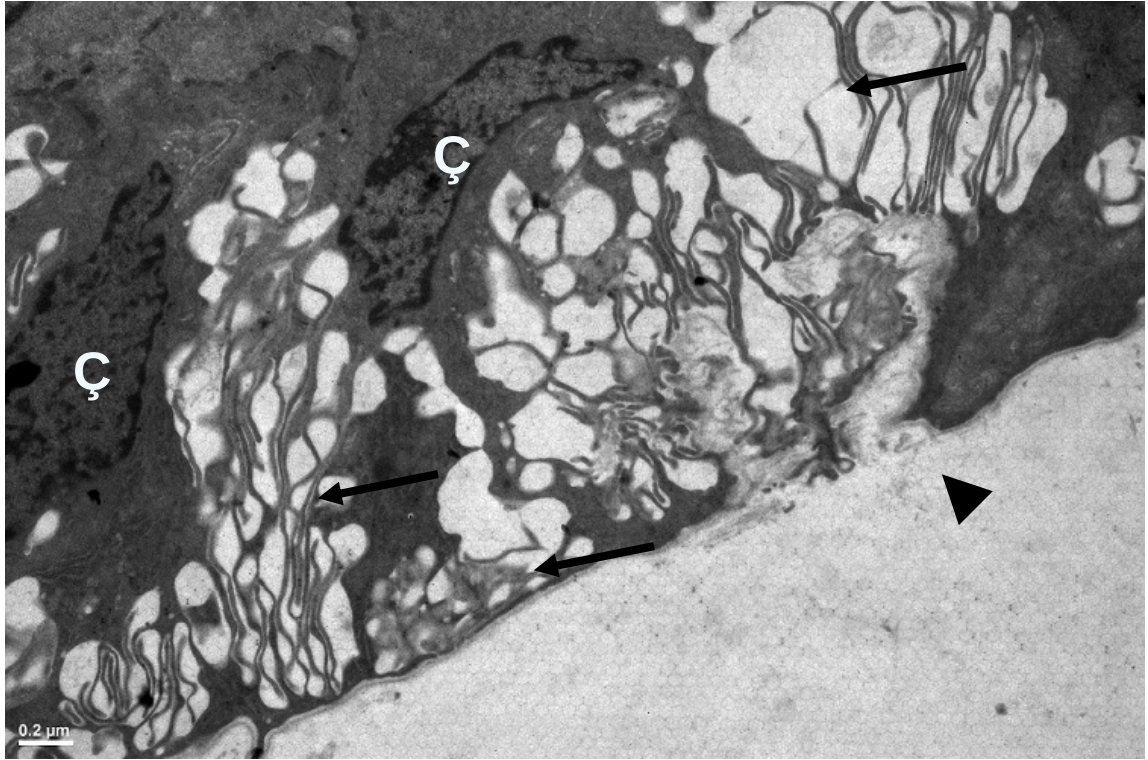


Şekil 29:Siliyer cisim 6 ay, 0,4 mg/ml MMC. siliyer cisimnin yüzey prizmatik epitel hücrelerinde apikal mikrovillus sayısında azalma, lateral yüzeyde ödemi temsil eden, hücrelerarası aralıklarda genişlemeler (Siyah oklar) izlenmektedir. Epitel hücreleri arasında göç eden bir lenfosit (L) dikkati çekmektedir. İç sınırlayıcı membran (Ok başları), bazal hücreler (BH), çekirdek (Ç).

0,8 mg/ml MMC

Altı ay süre ile 0,8 mg/ml MMC verilen gruba ait siliyer cisim dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, yüzey epitelinde apikal mikrovillus sayısında belirgin azalma, interselüler aralıkta ödemi temsil eden düzensizleşme ve genişlemelere

sıklıkla rastlandı. Hücrelerarası aralıklarda membranöz whorl yapıları da bulunmaktaydı. İç sınırlayıcı membranda hafif incelme ve düzleşme, bazı alanlarda membranın tamamen dejenere olduğu ve bu alanlarda mikrovillusların yüzeyle temas haline geldiği dikkati çekti. Ayrıca yüzey epitel hücrelerinde çekirdeklerde derin indentasyon ve kromatin kümeleşmesi, sitoplazmada organel harabiyeti, aşırı vakuolizasyon, mitokondriyonlarda şişme ve endoplazmik retikulumda genişlemeler ile membranöz whorl yapıları gözlenen ortak bulgulardı. Pigment epitelinde de, benzer şekilde mitokondriyonlarda genişlemeler ve krista yapılarında parçalanmalar kaydedildi. Komşu epitel hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri azaldığı dikkati çekiyordu. (Şekil 30)



Şekil 30:Siliyer cisim 6 ay, 0,8 mg/ml MMC. Siliyer cisim yüzey epitelinde apikal mikrovillus sayısında belirgin azalma, interelüler aralıklarda ödemi temsil eden düzensizleşme ve genişlemeler görülmektedir (Siyah oklar). İç sınırlayıcı membranda hafif incelme ve düzleşme, bazı alanlarda membranın tamamen dejenere olduğu ve bu alanlarda mikrovillusların yüzeyle temas haline geldiği izlenmektedir (Ok başı). Çekirdek (Ç).

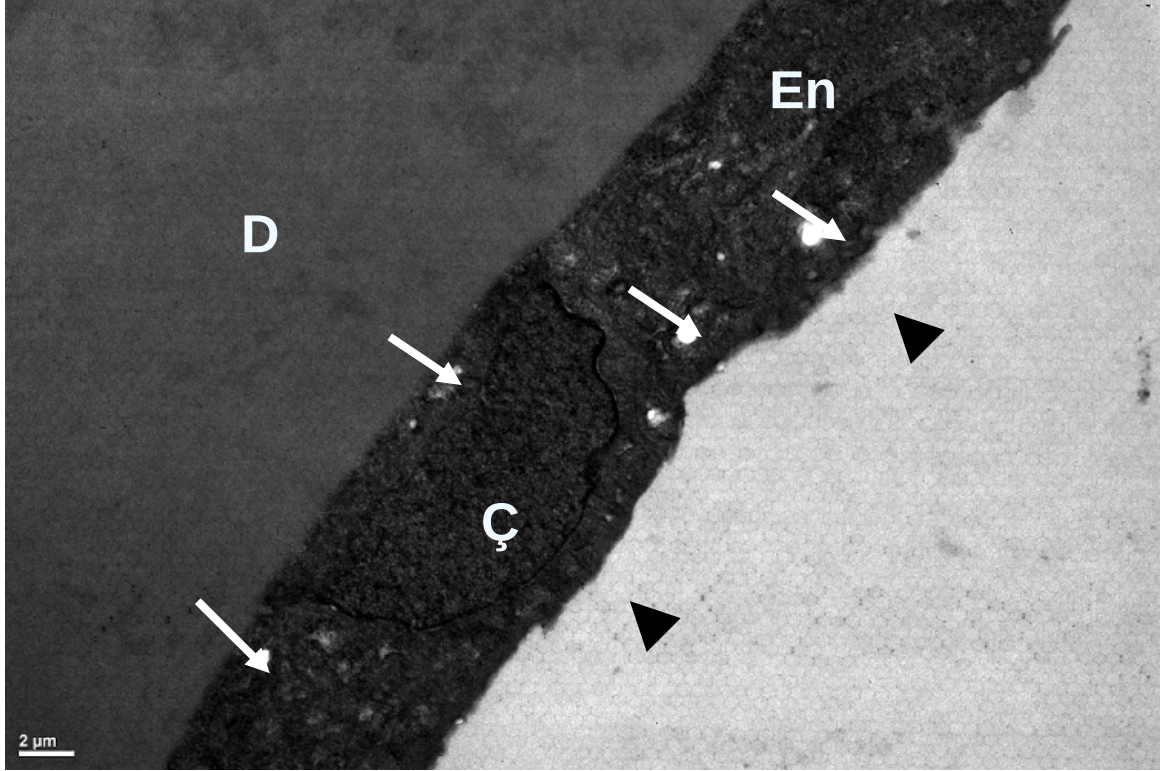
4.1.2.3.2. Kornea

0,2 mg/ml MMC

Altı ay süre ile 0,2 mg/ml MMC verilen gruba ait kornea dokularının elektron mikroskopik değerlendirilmesinde, epitelin yüzeyel tabakalarında mikrovillusların genelde normal görünümde olduğu, bununla birlikte, hücreler arasında hafif genişleme, derin tabakalarda yer alan hücrelerde intrasitoplazmik vakuolizasyon kaydedildi (Şekil 31). Stroma genellikle normal olarak değerlendirildi. Endotel tabakasında düzleşme ve mikrovillus kaybı, hücre çekirdeğinde kromatin artışı ve çekirdek periferinde ve Descement membranına yakın ödem alanlarını simgeleyen düzensiz boşluklara rastlandı (Şekil 32).



Şekil 31: Kornea 6 ay, 0,2 mg/ml MMC. Korneanın çok katlı yassı nonkeratinize epiteli görülmektedir. Kornea epitel hücreleri arasında hafif genişlemeler izlenmektedir (Beyaz oklar). Yüzeyel mikrovilluslar (Siyah oklar), hücrelerarasındaki bağlantı kompleksleri (Ok başları) görülmektedir.



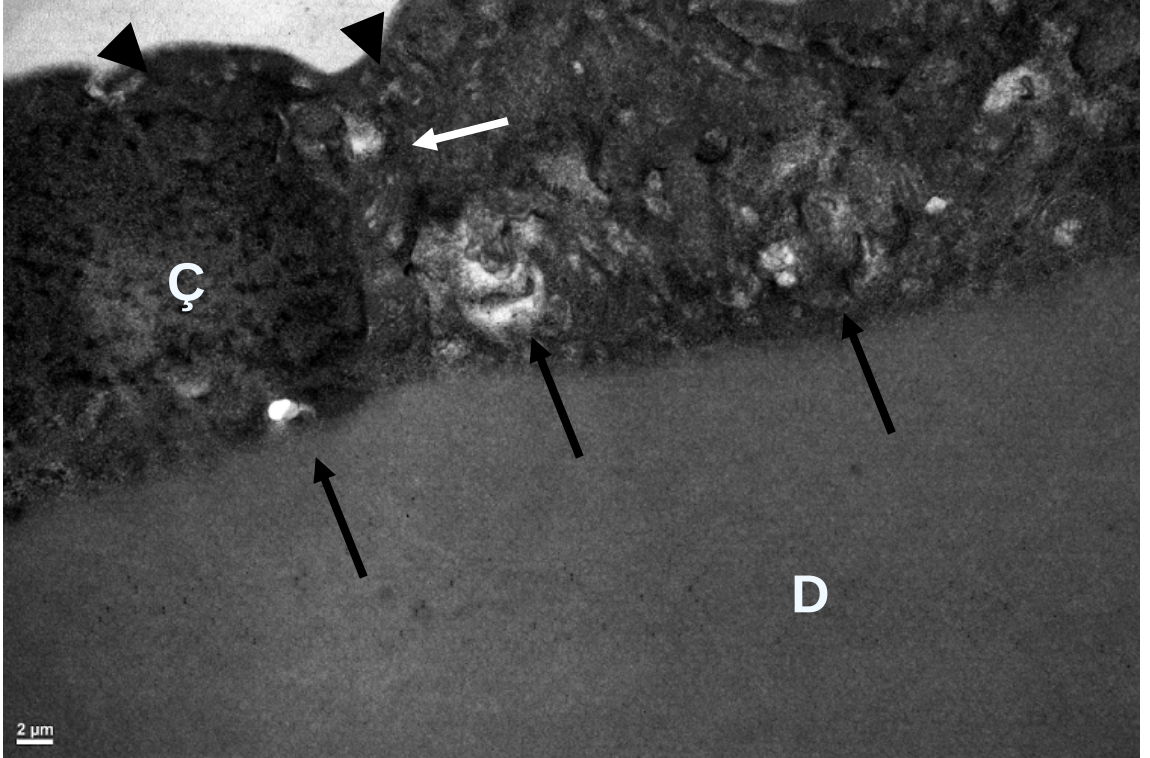
Şekil 32: Kornea 6 ay, 0,2 mg/ml MMC. Kornea endotel tabakasında düzleşme ve mikrovillus kaybı (Ok başları), çekirdek periferinde ve Descemet membranına yakın ödem alanlarını simgeleyen az sayıda düzensiz boşluklar izlenmekte (Beyaz oklar). Endotel hücreleri (En), Descemet membranı (D), çekirdek (Ç).

0,4 mg/ml MMC:

Altı ay süre ile 0,4 mg/ml MMC verilen gruba ait kornea dokularının elektron mikroskopik değerlendirilmesinde, yüzey epitelinde hücreler arasında ödem alanlarını temsil eden intersellüler genişlemelere sıklıkla rastlandı. Yüzeyel hücrelerde mikrovillusların sayılarında azalma, intersellüler aralıklarda hafif genişlemeler, sitoplazmada endoplazmik retikülüm sisternalarında genişlemeler ile bazal kısımda hücrelerde elektron densite artışı dikkati çekmekteydi (Şekil 33). Stromanın görünümü genellikle normal olarak değerlendirildi. Endotel hücreleri arasında ödemi temsil eden hücreler arası aşırı genişleme, endotel hücrelerinin apikalinde mikrovillus sayısında azalma ve hafif vakuolizasyon dikkat çekmekteydi. Ayrıca endotel tabakası ile Descemet membranı arasında da hafif genişlemeler kaydedildi. Endotel hücrelerinin çekirdeklerinde derin indentasyonlar, sitoplazma içerisinde mitokondriyon ve endoplazmik retikulum sisternalarında intrasitoplazmik ödemi temsil eden genişlemeler ve apikal sitoplazmada membranöz whorl yapılarının varlığı da gözlemlendi (Şekil 34)



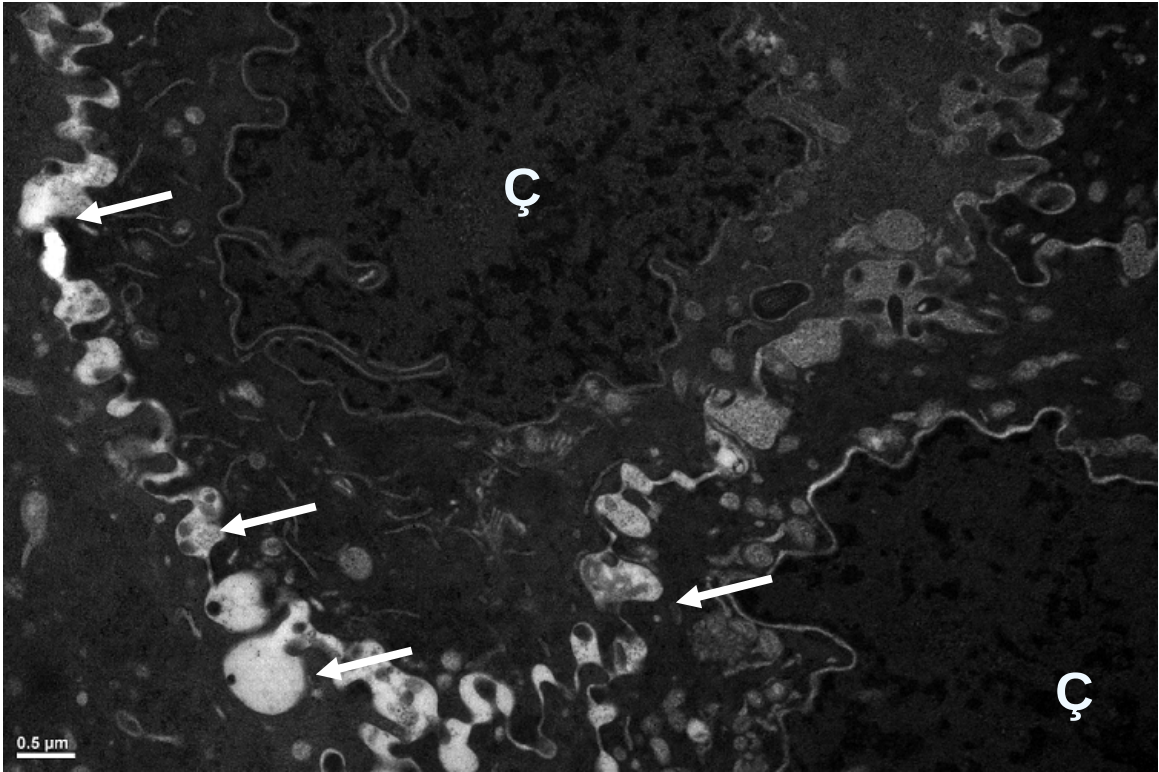
Şekil 33: Kornea 6 ay, 0,4 mg/ml MMC. Kornea yüzey epitelinde hücreler arasında ödem alanlarını temsil eden intersellüler genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Yüzeyel hücrelerde mikrovillusların sayılarında azalma (Siyah oklar) izlenmektedir. Çekirdek (Ç).



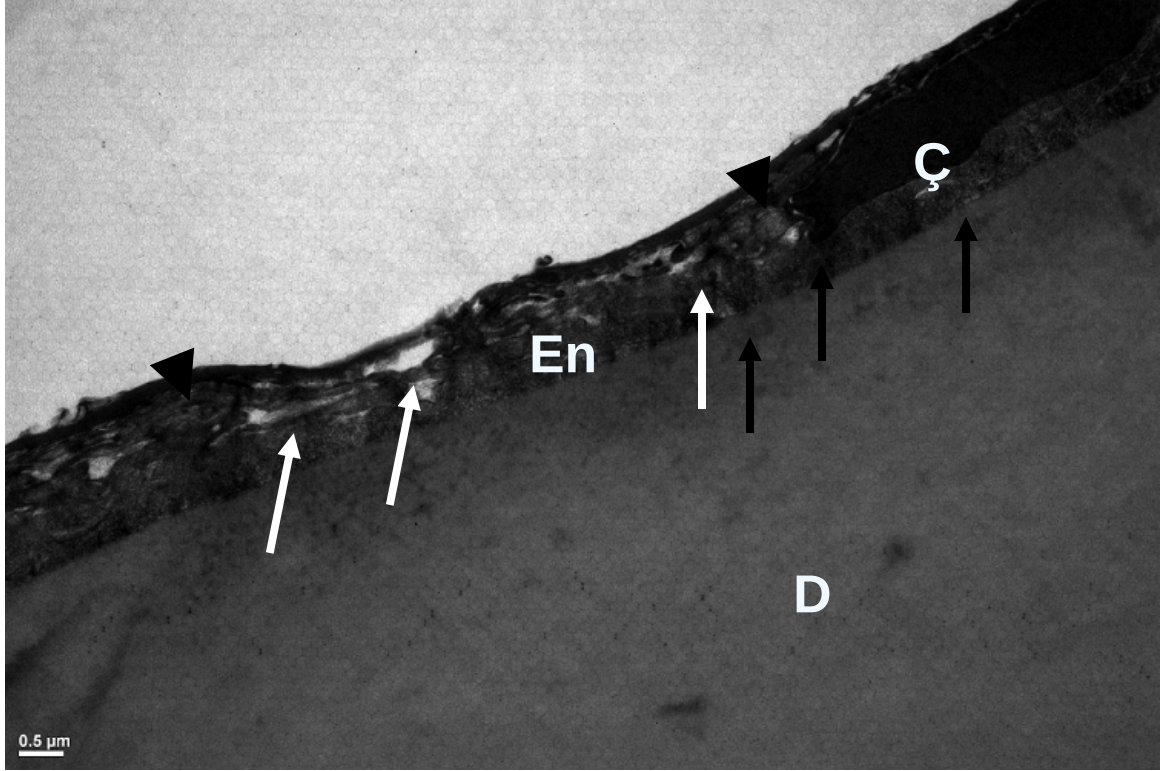
Şekil 34: Kornea 6 ay, 0,4 mg/ml MMC. Endotel hücreleri arasında ödemi temsil eden genişleme (Beyaz ok), endotel hücrelerinin apikalinde mikrovillus sayısında azalma (Ok başları) ve hafif vakuolizasyon (siyah oklar) izlenmekte. Çekirdek (Ç), Descemet membranı (D).

0,8 mg/ml MMC:

Altı ay süre ile 0,8 mg/ml MMC verilen gruba ait kornea dokularının elektron mikroskopik incelenmesinde, yüzey epitelinde hücreler arasında ödem alanlarını temsil eden belirgin intersellüler genişlemeler izlendi. Epitel hücrelerinin bazılarında hücrelerin elektrondens hale geldiği, hücreler arası bağlantı komplekslerini azaldığı, hücreler arası mesafelerin genişlediği dikkati çekti. Hücrelerde çekirdeklerde kromatin artışı, derin indentasyonlar ve sitoplazma içerisinde mitokondriyonlarda genişleme ve vakuolizasyonlara sıklıkla rastlandı (Şekil 35). Stroma içerisinde, fibroblastlarda hafif genişlemeler dışında genellikle normal yapı korunmuştu. Kornea endotel hücrelerinde incelme, yüzeyel mikrovillus kaybı ve sitoplazmada vakuolizasyon gözlenen ortak bulgular (Şekil36).



Şekil 35: Kornea 6 ay, 0,8 mg/ml MMC. Kornea yüzey epitelinde hücreler arasında ödem alanlarını temsil eden intersellüler genişlemeler (Beyaz oklar) görülmektedir. Çekirdek (Ç).



Şekil 36: Kornea 6 ay, 0,8 mg/ml MMC. Endotel hücreleri (En) arasında ödemı temsil eden hücreler arası aşırı genişleme (Beyaz ok), endotel hücrelerinin apikalinde mikrovillus sayısında azalma (Ok başları) ve hafif vakuolizasyon (siyah oklar) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Descement membranı (D).

4.2. Mitomisin C'nin göz içi basıncına etkileri

Tavşanların tümünün, ilaç uygulaması öncesi ortalama göz içi basınç değeri $15,2 \pm 1,41$ (10-20) olarak ölçülmüştür. Oluşturulan 7 gruptaki gözlerin GİB değerleri arasında ilaç uygulaması öncesinde fark bulunmuştur ($p=0,012$). Sıfır ve üçüncü grupların GİB değerleri diğer gruplara göre yüksek olarak değerlendirilmiştir. Ancak ikinci ayda bu fark kapanmıştır. Bunun muhtemelen hayvanların ve ölçüm yapan kişinin işleme alışma etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ancak bu dönemde ilacın etkisini de dışlamak mümkün değildir.

Oluşturulan kontrol (0) grubunda 6 kür (3 ay) olarak serum fizyolojik damlatılan 10 gözde işlem öncesi GİB ortalama $17,2 \pm 1,62$ mmHg, birinci ayda $13,4 \pm 2,27$, ikinci ayda $13,5 \pm 0,97$, üçüncü ayda ise $13,5 \pm 0,85$ olarak ölçülmüştür. Ölçümler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak bu fark ilk ölçümdeki

alışma döneminin etkisinden kaynaklanmaktadır. İkinci, üçüncü ve dördüncü ölçümler arasında fark bulunmamaktadır.

Birinci grupta 0,2 mg/ml MMC uygulanan 10 gözde işlem öncesi ortalama GİB'ı $14,4 \pm 2,55$ ölçülmüş olup 6 kür ilaç uygulaması sonrasında üçüncü ayda bu değer $11,2 \pm 1,55$ 'a gerilemiştir. İki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

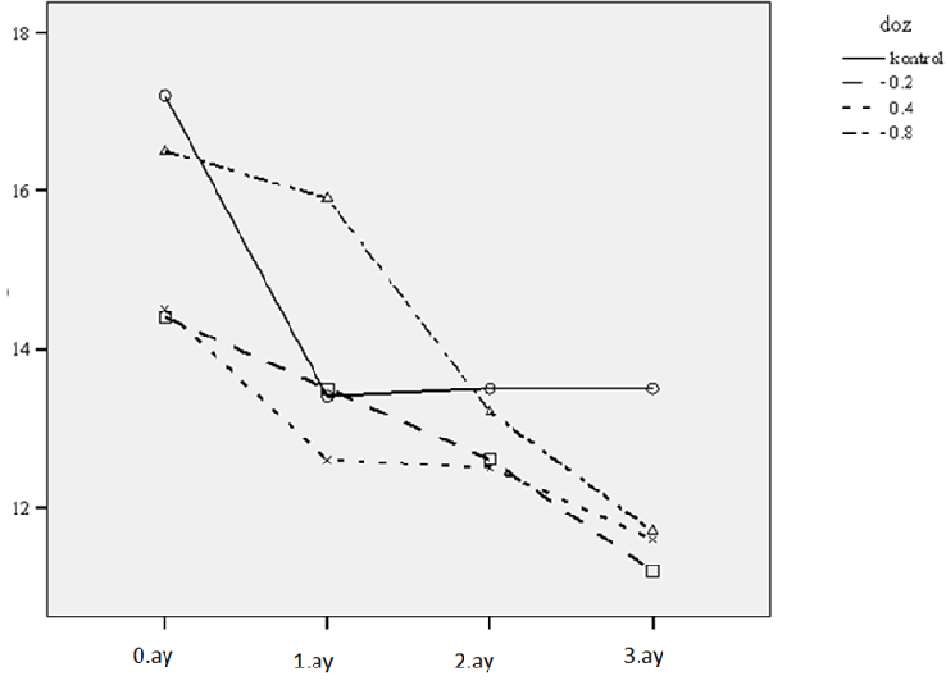
İkinci grupta 0,4 mg/ml MMC uygulanan 10 gözde işlem öncesi ortalama GİB'ı $14,5 \pm 1,35$ ölçülmüş olup 6 kür ilaç uygulaması sonrasında üçüncü ayda bu değer $11,6 \pm 1,35$ 'a gerilemiştir. İki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

Üçüncü grupta 0,8 mg/ml MMC uygulanan 10 gözde işlem öncesi ortalama GİB'ı $16,5 \pm 2,72$ ölçülmüş olup 6 kür ilaç uygulaması sonrasında üçüncü ayda bu değer $11,7 \pm 0,82$ 'ye gerilemiştir. İki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

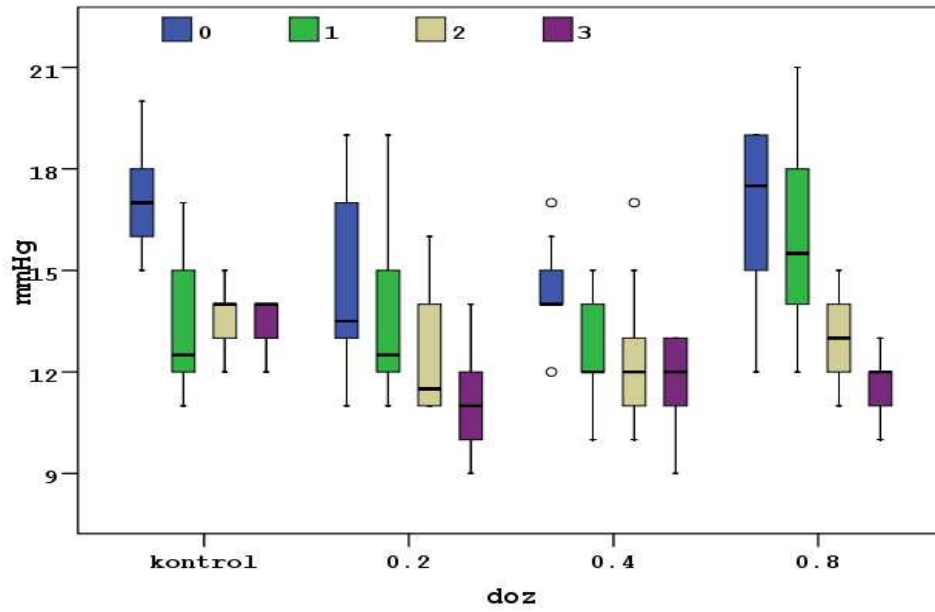
İlk ölçümlerde gruplar arasındaki GİB farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,012$) ancak ikinci ayda bu farkın muhtemelen işleme alışma ile yok olduğu görülmüştür ($p = 0,316$). 3. Ay ölçümlerinde MMC uygulanan üç grupta da GİB'ı kontrol grubuna göre düşük ölçülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0,002$).

Tablo-4: Kısa dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basınç ölçüm değerleri

	Kısa	Grup0	Grup1	Grup 2	Grup 3	P grup
0. Ay	X ± Sd Med.(min- max)	$17,2 \pm 1,62$ 17 (15-20)	$14,4 \pm 2,55$ 13,5 (11-19)	$14,5 \pm 1,35$ 14 (12-17)	$16,5 \pm 2,72$ 17,5(12-19)	0,012
1. ay	X ± Sd Med.(min- max)	$13,4 \pm 2,27$ 12,5 (11-17)	$13,5 \pm 2,37$ 12,5 (11-19)	$12,6 \pm 1,65$ 12 (10-15)	$15,9 \pm 2,77$ 15,5(12-21)	0,032
2.ay	X ± Sd Med.(min- max)	$13,5 \pm 0,97$ 14 (12-15)	$12,6 \pm 1,96$ 11,5 (11-16)	$12,5 \pm 2,17$ 12(10-17)	$13,2 \pm 1,32$ 13 (11-15)	0.316
3.ay	X ± Sd Med.(min- max)	$13,5 \pm 0,85$ 14 (12-14)	$11,2 \pm 1,55$ 11 (9-14)	$11,6 \pm 1,35$ 12 (9-13)	$11,7 \pm 0,82$ 12 (10-13)	0,002
	P zaman	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	



Şekil 37: Kısa dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basınç ölçüm değerlerinin değişimi.



Şekil 38: Kısa dönem gruplarda ölçümler arasındaki GİB değerlerinin değişimi.

Uzun dönem MMC uygulanan gruplara bakılınca;

Uzun dönem GİB için ayrı kontrol grubu bulunmamaktadır. Kontrol grubunun ikinci ölçümden sonra GİB değeri sabit seyir göstermektedir. Bu nedenle uzun dönemlerin GİB değerleri için kontrol grubunun son ölçüm değeri kullanılması Biyoistatistik AD.ile görüşülerek uygun görülmüştür.

Dördüncü grupta 0,2 mg/ml MMC uygulanan 10 gözde işlem öncesi ortalama GİB'ı $14,88 \pm 2,7$ ölçülmüş olup 12 kür ilaç uygulaması sonrasında üçüncü ayda bu değer $14,13 \pm 1,25$ 'e gerilemiştir. İki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

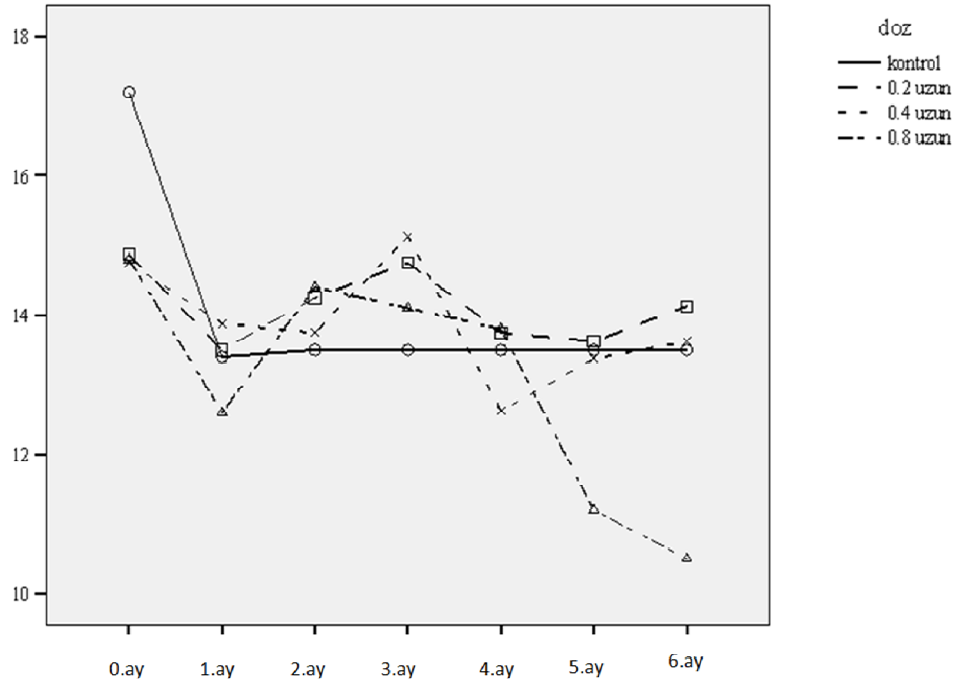
Beşinci grupta 0,4 mg/ml MMC uygulanan 10 gözde işlem öncesi ortalama GİB'ı $14,75 \pm 2,49$ ölçülmüş olup 12 kür ilaç uygulaması sonrasında üçüncü ayda bu değer $13,63 \pm 1,4$ 'e gerilemiştir. İki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

Altıncı grupta 0,8 mg/ml MMC uygulanan 10 gözde işlem öncesi ortalama GİB'ı $14,8 \pm 2,2$ ölçülmüş olup 12 kür ilaç uygulaması sonrasında üçüncü ayda bu değer $10,5 \pm 0,97$ 'ye gerilemiştir. İki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).

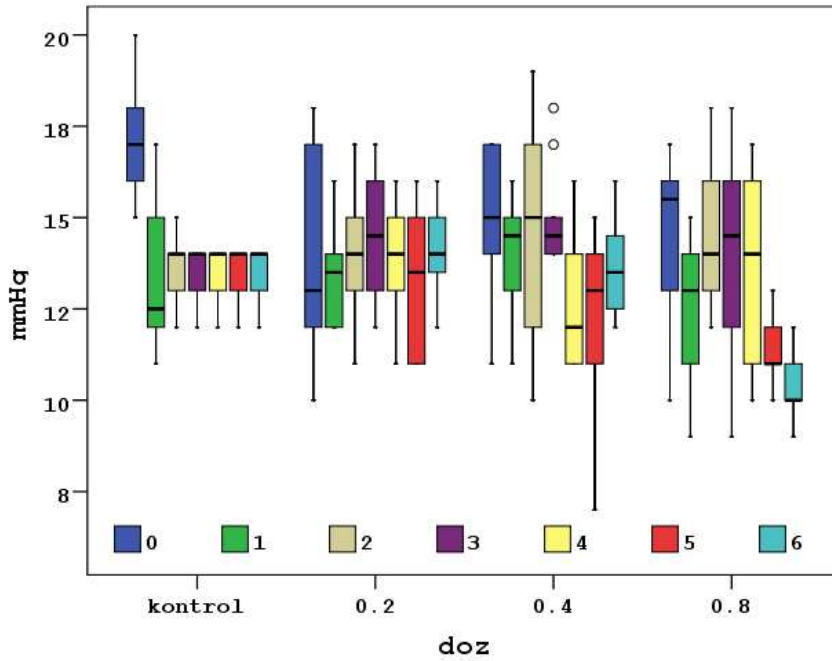
Gruplar arasındaki GİB farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p = 0,033$). Bu farkın işleme alışma dönemi nedeniyle yüksek ölçüm alınmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ancak birinci ayda bu farkın kaybolduğu görülmüştür ($p = 0,374$). Daha sonra 0,8 mg/ml MMC uygulanan üçüncü grupta da GİB'ının beşinci aydan itibaren daha fazla düştüğü gözlenmiştir ($p = 0,013$). Bu düşüşün altıncı ayda da devam ettiği ve farkın daha da belirginleştiği görülmektedir ($p < 0,001$). Bu oluşan farkın MMC'nin etkisine bağlı olarak değiştiği düşünülmüştür.

Tablo-5: Uzun dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basıncı ölçüm değerleri.

	Uzun dönem	Grup 0	Grup 4	Grup 5	Grup 6	P grup
0. Ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	17,2 $\pm$ 1,62 17 (15-20)	14,88 $\pm$ 2,70 14,5 (11-18)	14,75 $\pm$ 2,49 15 (11-17)	14,8 $\pm$ 2,20 15,5 (10-17)	0,033
1. ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	13,4 $\pm$ 2,27 12,5 (11-17)	13,5 $\pm$ 1,51 13,5(12-16)	13,88 $\pm$ 1,73 14,5 (11-16)	12,6 $\pm$ 1,90 13 (9-15)	0,374
2. ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	13,5 $\pm$ 0,97 14 (12-15)	14,25 $\pm$ 2,12 14(11-17)	13,75 $\pm$ 2,49 14,5(10-17)	14,4 $\pm$ 2,07 14(12-18)	0,666
3. ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	13,5 $\pm$ 0,85 14 (12-14)	14,75 $\pm$ 1,67 15 (12-17)	15,13 $\pm$ 1,55 14,5 (14-18)	14,1 $\pm$ 2,85 14,5 (9-18)	0,187
4. ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	13,5 $\pm$ 0,85 14 (12-14)	13,75 $\pm$ 1,83 13,5 (11-16)	12,63 $\pm$ 1,85 12 (11-16)	13,8 $\pm$ 2,70 14 (10-17)	0,349
5. ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	13,5 $\pm$ 0,85 14 (12-14)	13,63 $\pm$ 2,07 14 (11-16)	13,38 $\pm$ 1,51 14 (11-15)	11,2 $\pm$ 0,92 11 (10-13)	0.013
6. ay	X $\pm$ Sd Med.(min- max	13,5 $\pm$ 0,85 14 (12-14)	14,13 $\pm$ 1,25 14 (12-16)	13,63 $\pm$ 1,41 13,5 (12-16)	10,5 $\pm$ 0,97 10 (9-12)	<0,001
	P zaman	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	



Şekil 39: Uzun dönem grupların MMC uygulaması öncesi ve aylık göz içi basıncı ölçüm değerlerinin değişimi.



Şekil 40: 6 aylık (12 kür) MMC kullanılan gruplarda ölçümler arasındaki GİB değerlerinin değişimi.

Bu çalışmada farklı dozlarda ve sürelerde uygulanan MMC'nin göz içi basıncına olan etkileri incelenmiştir. İlaç uygulaması öncesinde kontrol grubu da dahil olmak üzere ölçülen göz içi basınç değerleri daha yüksektir. Buradaki farkın tavşanın ve ölçüm yapan kişinin işleme alışmasının kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak bu fark ilerleyen dönemlerde azalarak kaybolmakta ve son ölçümlerde ilacın etkisi daha belirginleşmektedir. Bunu en iyi uzun dönem 0,8 mg/ml kullanılan grupta görmekteyiz. Tüm gruplarda ilk ve son ölçümler arasında istatistiksel olarak anlamlı düşüş bulunurken, altıncı grupta bu etki çok belirgindir.

MMC'nin göz içi basıncına etkisi uygulama süresi ve dozu arttıkça artmaktadır. Bu etki yüksek dozda ve uzun sürede çok belirginleşmektedir.

5.TARTIŞMA

MMC antineoplastik ve antifibrotik etkilerinden dolayı oftalmolojide pek çok alanda kullanılmaktadır. En sık kullanıldığı alan ise, antifibrotik etkisinden dolayı filtran glokom cerrahileridir. Bunun yanında antineoplastik etkisi nedeniyle oküler yüzey tümörlerinde ve pterijyum cerrahilerinde de tercih edilmektedir. Normal hücrelere olan toksisitesi ile geri dönüşümsüz yan etkilere neden olabildiğinden kullanımı esnasında uygun doz ve süre konusunda birtakım tereddütler yaşanmaktadır.

MMC ile yapılan trabekülektomilerden sonra gelişen yan etkilerden biri uzamış postoperatif hipotonidir. Bunun nedeni olarak da bleb bölgesindeki dokularda gelişen düzensizliğe bağlı aşırı filtrasyon ile siliyer cisim toksisitesine bağlı aköz hümör yapımının azalması gösterilmektedir.¹¹⁸ Trabekülektomi esnasında skleraya MMC emdirilmiş sünger uygulamalarında ön kamara sıvısına MMC'nin geçtiği de tespit edilmiştir.^{15,16,17} Yapılan çalışmalarda MMC'nin siliyer cisim ve trabeküler ağ hücre kültürlerinde, yaşayan hücre popülasyonunu azalttığı, bu hücrelerin proliferasyonunu inhibe ettiği ve DNA'larında fragmantasyona yol açtığı gösterilmiştir.¹¹⁹ Yine oküler hipotoni gelişen insan gözlerinde bleb bölgelerinin eksizyonu sonrasında yapılan histopatolojik incelemelerde, bleb bölgesindeki konjonktiva, sklera ile siliyer cisimde vakuolizasyon, fibroblast infiltrasyonu, mitokondriyal bozulma ile karakterize değişiklikler gözlenmiştir.¹²⁰ Bu da siliyer cisim etkilenmesinin uzamış postoperatif hipotonide etkili olabileceğini desteklemektedir.

Sarı ve arkadaşları tarafından tavşanlarda yapılan çalışmada, farklı derinliklerde skleral flep kaldırılarak uygulanan 0,4 mg/ml MMC sonrası siliyer cisimde en belirgin histopatolojik değişikliğin kalın flep kaldırılan grupta izlendiği bildirilmiştir. Işık mikroskopi incelemelerinde siliyer cismin bazal membranında kalınlaşma ve düzensizleşme, hücrelerde vakuolizasyon gözlemlenmiştir. Daha ince kaldırılan fleplerde ise siliyer cisimde stromal kapillarizasyonda artış, yüzeysel hücrelerde vakuolizasyon gibi daha hafif etkilenmeler izlendiği bildirilmiştir. Kalın flep kaldırılan ve MMC uygulanan gruplarda elektron mikroskopik incelemelerde ise mikrovillus yapılarında silinme, mitokondrielerde kristalozis, yaygın vakuolizasyon, nekrotik ve apoptotik hücre varlığı gibi çok belirgin bulgulara rastlanmıştır. Skleral flep kaldırılmadan MMC uygulanan gruplarda ve kontrol gruplarında ise mikrovillus yapılarının sağlam, mitokondri kristallarının intakt olduğu ve az sayıda vakuolizasyon

olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmaya göre ince skleradan MMC'nin göz içine geçişi daha fazla olmakta ve bu da siliyer cisimde histopatolojik değişikliklere neden olabilmektedir.¹¹⁸

Topikal (damla formunda) uygulanan MMC'nin göz içine geçtiğini gösteren çalışma şuan ki bilgilerimize göre bulunmamaktadır. Ancak MMC'nin sklera ve korneadan difüzyon yolu ile göz içine geçebileceği düşünülmektedir. Bu düşünce ile planladığımız çalışmamızda da topikal (damla formunda) olarak MMC kullanılan gözlerde yapılan ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik incelemelerde kullanılan doz ve süreye bağlı olarak farklı histopatolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Işık mikroskobu ile yapılan incelemelerde kontrol grubunun siliyer cisim kesitlerinde düzgün papiller yapılar ile pembe eozinofilik sitoplazmalı epitel hücreleri izlenirken; yüksek dozda (0.8 mg/ml) MMC kullanılan gruplarda (3 ve 6 ay süresince) siliyer cismin stroma ve damarlanmasında artış, epitelinde belirgin şeffaf stoplazmayla karakterize vakuoler dejenerasyon ve papiller yapılarda bozulma izlenmiştir. Diğer gruplarda ise bu bulgular uygulanan doz ve süre ile ilişkili olarak bu etkiler farklı derecelerde gözlenmiştir. Elektron mikroskopik incelemede ise kontrol grubunda siliyer cismin yüzey epitel hücrelerinin apikal kısımları intakt olduğu ve mikrovillus yapıları izlenmektedir. MMC'nin 0,2 mg/ml dozunun 3 ay kullanıldığı grupta ise yüzey epitel hücrelerinde apikal mikrovilluslarda bir miktar azalma, intersellüler aralıklarda genişlemeler, iç sınırlayıcı membranda bir miktar incelme ile karakterize hafif değişimler izlenmiştir. Pigment epiteli ve stromada ise değişiklik saptanmamıştır. MMC'nin 0,8 mg/ml dozunun 6 ay kullanıldığı grupta ise siliyer cisim epitelinde apikal mikrovillus sayısında belirgin azalma, intersellüler aralıkta genişleme, membranöz *whorl* yapıları ile karakterize şiddetli etkilenme gözlenmiştir. Pigment epitelinde ise mitokondriyonlarda genişlemeler ve krista yapılarında parçalanmalar görülmektedir. MMC kullanılan her gözde, kullanılan konsantrasyon ve süre ile bağlantılı olarak siliyer cisim epitelinde değişiklikler izlenmiştir. En büyük histopatolojik değişiklik 0,8 mg/ml MMC ve 12 kür (uzun dönem) kullanılan grupta izlenmiştir. Ancak 0,8 mg/ml MMC'i kısa dönem kullanılan grupta, uzun dönem 0,2 ve 0,4 mg/ml kullanan gruplara göre daha fazla histopatolojik değişiklik gözlenmiştir. Bu bulgulara bakıldığında dokulara olan toksisite şiddetinde MMC'nin kullanım süresinden ziyade konsantrasyonunun çok daha etkili olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte konjonktival melanom nedeni ile

topikal olarak damla formunda (sırası ile 7 ve 28 gün) 0,4 mg/ml MMC kullanılmış olan iki hastanın ekzenterasyon materyallerinin histopatolojik incelemelerinde episklara, kornea, iris, siliyer cisim, lens ve retinada herhangi bir toksik etkiye rastlanmadığı bildirilmiştir.¹⁰¹ Ancak bu çalışmada kullanılan MMC nin kullanım süresi hem çok kısa olup hem de inceleme ışık mikroskopisi ile yapılmıştır. Bu nedenle oluşabilecek olan küçük değişiklikler de ışık mikroskopisinin elektron mikroskopisi kadar hassas olmaması nedeni ile belirlenememiş olabilir.

Letchinger ve arkadaşları tarafından tavşan gözlerinde filtran cerahi yapmaksızın subkonjonktival enjeksiyon ile uygulanan MMC'nin GİB seviyelerinde düşüş yaptığı bildirilmiştir.¹²¹ Bir başka çalışmada ise göz içi basınç değerleri 30 mmHg'nin üzerinde seyreden ve görmeyen insan gözlerinde, trabekülektomi yapılmaksızın subkonjonktival 0,4 mg/ml konsantrasyonunda 0.5 cc MMC enjeksiyonu yapılmış ve ilk günden itibaren göz içi basınç seviyelerinde düşüş tespit edildiği bildirilmiştir. Postoperatif 60. güne kadar GİB seviyesindeki azalmanın devam ettiği, bu etkinin de MMC' nin siliyer cisme olan direkt toksik etkisi olduğu düşünülmüştür.¹²² Bu çalışmalarda histopatolojik inceleme yapılmadığından hangi mekanizma ile GİB düşüşünü sağladığı konusunda kesin bir kanıya varmak mümkün değildir. MMC'nin siliyer cisimde toksik etkileri nedeniyle bozulmalara yol açarak aköz hümör salınımını azaltmış olmasının yanında, göz içi basınç ölçüm işlemine alışılması sonucu da GİB düşük ölçülmüş olabilir. Bunun dışında henüz açıklığa kavuşmamış başka nedenlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir.

Sarı ve arkadaşları tarafından tavşanlarda yapılan çalışmada trabekülektomi operasyonunda kaldırılan derin skleral flep sonrası uygulanan MMC'nin postoperatif 30. günde göz içi basıncında düşüşe neden olduğu, bu düşüşün de yüzeysel flep kaldırılan ve subkonjonktival MMC uygulanan gruplara göre istatistiksel olarak daha fazla olduğu bildirilmiştir.¹¹⁸ Postoperatif oküler hipotoni gelişmesinin bleb bölgesindeki dokularda oluşan düzensizliğe bağlı olarak, aşırı filtrasyon ve siliyer cisme olan toksisite sonucu aköz yapımının azalması olduğu düşünülmüştür. Burada MMC'nin beklendiği gibi ince skleradan daha fazla göz içine geçerek siliyer cisme toksik etki gösterdiği ve aköz üretimini azalttığı düşünülmektedir. Zaten histopatolojik incelemeler de derin flep kaldırılan gruplarda daha fazla siliyer cisim etkilenmesi tespit

edilmiştir. Böylece düşük GİB değerleri tavşan ve ölçümü yapan kişinin öğrenme etkisinden ziyade siliyer cisimdeki etkilenme ile bağlantılı olduğu düşünülmüştür.

Bizim çalışmamızda ise tüm gruplarda ölçülen son GİB değerleri başlangıç GİB değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük çıkmıştır. Bu etkinin ölçüm işlemine alışma nedeniyle ilk ölçümlerin yüksek çıkması nedeniyle olabileceği gibi göz içine geçen MMC'nin siliyer cisme direkt toksik etkisi nedeniyle aköz hümör üretimindeki azalmaya bağlı olabileceği de düşünülmektedir. Ancak 3. ve 6. gruplarda diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha anlamlı düşüş tespit edilmiştir. Bu gruplar 0,8 mg/ml MMC 3 ay ve 6 ay uygulandığı ve yapılan histopatolojik incelemelerde siliyer cisimde en fazla etkilenmenin tespit edildiği gruplardır. Bu nedenle kornea ve sklera yoluyla göz içine geçen MMC'nin siliyer cisme olan direk toksik etkisine bağlı göz içi basıncında azalma olabileceği düşüncesi daha doğru görünmektedir.

Kymionis arkadaşlarının 20 tavşanın 40 gözü ile yaptıkları bir çalışmada, fotorefraktif keratektomi ve peroperatif sünger ile 0,2 mg/ml MMC uygulanmasından sonra 1-15-30-90. günlerde göz içi basıncında ve siliyer cismin elektron mikroskopik incelemesinde herhangi bir değişiklik tespit edilmediği bildirilmiştir. Bu çalışmada MMC'nin kullanım süresi kısa ve kullanılan dozun düşük olması nedeniyle herhangi bir etki gözlenmediği düşünülmüştür.¹²³

Topikal damla formunda uygulanan MMC ön kamaraya geçmeden direkt olarak konjonktiva ve korneada da sitotoksik etki gösterebilmektedir. Konsantrasyonu 0,2 ve 0.4 mg/ml olan gruplardaki tavşanlarda herhangi bir huzursuzluk gözlenmez iken 0.8 mg/ml kullanılan grupta ilaç damlatılırken aşırı huzursuzluk gözlenmiştir. Bu da irritasyonun yüksek dozlarda daha fazla olduğu düşüncesini desteklemektedir.

MMC'nin uygulama süresi ve konsantrasyon derecelerinin kornea stromasına yaptığı apoptotik etkileri incelemek için yapılan bir çalışmada apoptotik hücreleri belirlemede *deoksiribonükleotidil transferaz aracılı dUTP-digoxigenin nick end labeling (Tunel)* boyama yöntemi uygulanmıştır. Doz artımı ile Tunel pozitif boyanan hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir artış izlenirken uygulama süresi ile olan artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.¹⁷ Mohan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada fotorefraktif keratektomi sonrasında 4. saatte en fazla apoptotik hücre tespit edilmiştir.¹²⁴

Avışar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise pterijyum cerrahisi uygulanan hastalara peroperatif 0,2 mg /ml MMC topikal olarak skleraya 5 dakika boyunca uygulanmıştır. Preoperatif endotelial hücre sayısı 2254 ± 128 hücre/ mm iken, postoperatif birinci haftada endotelial hücre kaybı % $21,25 \pm 2,8$, birinci ayda % $24,26 \pm 1,8$ ve üçüncü ayda ise % $21,05 \pm 3,2$ olarak tespit edilmiştir. Sonuç olarak tüm zamanlardaki ölçümler de istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bildirilmiştir.¹²⁵

Bizim çalışmamızda MMC'nin korneaya olan etkilerinin ışık mikroskopunda hematoxilen eozin boyası ile değerlendirilmesinde; MMC'nin uzun dönem, yüksek dozlarda kullanıldığı gruplarda (0,4 ve 0,8 mg/ml) epitel hücrelerinde kontrol grubuna göre belirgin sıralanma artışı saptanmıştır. Bu etki diğer dozlarda yüksek dozlarda olduğu kadar belirgin değildir. Yine kornea endotel hücrelerinde kontrol grubuna göre kullanılan doz ve süre ile bağlantılı olarak değişen şiddette vakuoler dejenerasyon, hücre diziliminde düzensizleşme izlenmektedir. Elektron mikroskopik incelemede ise, epitelde intersellüler alanın ödem nedeniyle genişlediği, epitel hücrelerinin bazılarının elektrondens hale geldiği, hücreler arası bağlantı komplekslerini azaldığı, hücreler arası mesafelerin genişlediği görülmüştür. Hücre çekirdeklerinde kromatin artışı, derin indentasyonlar ve sitoplazma içerisinde mitokondriyonlarda genişleme ve vakuolizasyonlara sıklıkla rastlanmıştır. Stroma içerisinde, fibroblastlarda hafif genişlemeler dışında genellikle normal yapı korunduğu izlenmiştir. Kornea endotel hücrelerinde incelmeye, yüzeyel mikrovillus kaybı ve sitoplazmada vakuolizasyon ortak bulgu olarak gözlenmiştir. Yine korneadan elde edilen bulgular da kullanılan MMC'nin dozu ve süresi ile ilişkili olarak farklı derecede etkilenmelerin olduğu gözlenmiştir.

Tavşan korneası insan korneasına göre biraz farklılıklar göstermektedir. Tavşan korneası Bowman tabakası içermediğinden daha incedir. Ayrıca tavşan kornea endoteli insan kornea endotelinden farklı olarak mitoz geçirerek çoğalabilmektedir. Bu nedenle elde ettiğimiz sonuçlar insanlara MMC uygulanması ile birebir aynı özellikleri göstermeyebilecektir. MMC proliferasyon gösteren hücrelere daha fazla etki etmektedir. Tavşan kornea endotelinin mitoz geçirebilme özelliğinin bulunması ve daha ince korneaya sahip olmalarından dolayı daha fazla etkilenme mümkündür, ancak mitoz ile hasar gören endotelin onarımı sağlanarak endotel yetmezliğine gitme ihtimalinin de daha düşük olduğu düşünülmüştür.^{17,126}

Proliferatif vitreoretinopatide kullanımı henüz deneysel aşamalarda olan MMC topikal uygulama sonucunda ön kamaraya geçen miktarından daha düşük oranda vitreusa geçmektedir. Işık mikroskobu ile yaptığımız retinanın histopatolojik değerlendirilmesinde kontrol grubuna göre herhangi bir değişiklik saptanmadı. Bu da retina MMC'nin çok düşük oranda ulaşması veya retina hücrelerinin MMC'ye daha dayanıklı olabilecekleri düşünülmüştür. Ayrıca meydana gelen minimal değişikliklerde ışık mikroskobunun elektron mikroskopu kadar hassas olmamasında etkisi olabileceği düşünülmüştür.

MMC antineoplastik ve antiproliferatif özellikleri nedeniyle tümörler yanında birçok cerrahide de antifibrotik özelliklerinden yararlanmak için kullanılmaktadır. Ancak zaman zaman çok ciddi ve geri dönüşümsüz olan yan etkileri meydana gelebilmektedir. Özellikle MMC emdirilmiş sünger ile uygulanan glokom ve pterijyum cerrahilerinde bu ciddi yan etkiler görülmektedir. Oküler yüzey tümörlerinde de olası yan etkileri nedeniyle uzun süre kullanılması gereken olgularda tereddütler yaşanmaktadır. Bu nedenle diğer antineoplastik ve antifibrotik etki gösteren ajanlar hakkında çalışmalar da devam etmektedir. Bunlardan en önemlileri 5-FU ve interferon- α -2b'dir. Bu ajanlar yapılan çalışmalarda yan etki profili olarak MMC'ye göre daha tercih edilebilir görünmektedir. Ancak etkinlik açısından daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmamızda oftalmolojide birçok alanda kullanılan MMC'nin farklı doz ve sürelerinin oküler dokulara ve göz içi basıncına olan etkilerini araştırdık. Literatürde MMC'nin oküler toksik etkileri ile ilgili olarak birçok çalışma mevcuttur. Çalışmaların çoğunluğu filtran glokom cerrahilerinde olduğu gibi lokal olarak süngere emdirilmiş kullanımlar üzerine iken bizim çalışmamızda topikal damla formunun uzun süreli kullanımı ve farklı dozları arasındaki değişiklikler incelenmiştir. Çeşitli çalışmalarda MMC'nin korneal veya skleral yoldan difüzyonla göz içine geçişi aköz hümör konsantrasyonları ölçülerek gösterilmiştir.^{15,16,17} Biz çalışmamızda topikal damla formunda uygulanan MMC'nin kornea ve/veya skleradan difüzyon yolu ile geçip siliyer cisimde toksik etkiler meydana getirerek göz içi basıncında değişiklikler yapabileceğini düşündük. Nitekim maliyetinin çok yüksek olması nedeniyle aköz hümörde MMC varlığını araştıran çalışmayı yapamadık. Ancak yapılan histopatolojik incelemelerde uygulanan MMC konsantrasyonuna ve süresine bağlı olarak siliyer cisim

epitelinde vakuoler dejenerasyon ile papiller yapılarda düzensizlikler tespit edilmiştir. Siliyer cisimdeki etkilenme kullanılan doz ve kullanım süresindeki artış ile bağlantılı olarak artmaktadır. Ancak dozdaki artış, uygulama süresindeki artışa göre çok daha etkili görünmektedir.

Bu çalışmada kullanılan düşük doz uzun dönemler de dahil olmak üzere MMC'nin kornea ve siliyer cisme sitotoksik etkisi tespit edilmiştir. Ancak bu etki doz artımı ile (0,8 mg/ml) çok şiddetli hale gelebilmektedir. Yüksek doz damlatılan kısa dönemlerde dahi, düşük dozların uzun dönemlerinden daha fazla histopatolojik etkiler görülmüştür. Bu nedenle topikal damla formundaki MMC'nin irritasyonundan ve olası sitotoksik etkilerinden kaçınmak amacıyla etkili olan en düşük dozda kullanmak önemlidir. Böylelikle MMC'nin topikal damla formunda kullanılması ile limbal kök hücre eksikliği, punktal stenoz, oküler irritasyon, konjonktival hiperemi, sulanma, punktat keratopati, blefarospazm, korneal ödem ve oküler ağrı gibi yan etkilerinden olabildiğince kaçınılmış olunacaktır. Farklı süre, farklı doz ve farklı yöntemlerle ilgili birçok çalışma mevcuttur. Nitekim MMC'nin 0,02 mg/ml gibi düşük dozda kullanıldığı primer ve nüks oküler yüzey tümörlü olan olguların tamamında tümör gerilemesi bildirilmiştir ve yan etki gözlenmemiştir.¹²⁷

Günümüzde oftalmolojide birçok alanda kullanıma girdiği görülen MMC'nin yüksek dozlarının korneada ve siliyer cisimde yan etkilerinin daha belirgin olduğu gözlenmektedir. MMC'nin uzun dönem düşük dozlarda kullanımı, kısa dönem yüksek doza göre yan etki profili açısından daha avantajlıdır. Bu nedenle düşük doz uzun süre kullanmak tercih edilmelidir. MMC'nin refraktif cerrahide de sık kullanılır hale geldiğinden benzer şekilde yan etkiler olabileceği unutulmamalıdır. Gerilemeyen oküler yüzey tümörlerinde öncelikle kür sayısı artırılmalıdır. Kullanılan konsantrasyondaki azalma ilacın hasta tarafından tolere edilmesine de olumlu yönden etki edecektir.

Çalışmamızda topikal MMC uygulanan olgularda ciddi korneal toksisite gözlenmeden önce siliyer cisimde etkilenmelere yol açarak GİB düşüşüne neden olmaktadır. Daha geniş çalışmalar ile ileride absölu gözlerde siklokriyoterapi, retrobulber alkol uygulaması, ahmed glokom valv uygulaması gibi yöntemlere alternatif olarak topikal, non invaziv bir yöntem olarak kullanılması mümkün olabileceği gibi. gelecekte göz içi basıncını kalıcı olarak düşürmek amacıyla topikal olarak MMC

kullanılması çok da uzak görünmemektedir. Ancak insan korneası tavşan korneasına göre önemli farklılıklar gösterdiği için bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

MMC emdirilmiş süngerin skleraya uygulanması sonrasında aköz hümör içinde ilaç varlığı gösterilmesine rağmen oküler yüzey uygulamalara ait vitreus penetrasyonu şu ana kadar değerlendirilememiştir. Bizim çalışmamızda ışık mikroskopisi ile yapılan incelemelerde hiçbir grupta retinal değişiklik izlenmemiştir. Elektron mikroskopik incelemeler daha anlamlı sonuçlar verebilir. Çünkü birçok olguda araştırmalar öncelikle hücresel düzeydedir. Deneysel olarak proliferatif vitreoretinopatilerde antiproliferatif özelliklerinden dolayı kullanımı göz önüne alınırsa geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Bir diğer konu ise siliyer cisim ve korneada MMC uygulanması sonucu meydana gelen histopatolojik değişikliklerin geri dönüşümlü mü yoksa kalıcı mı olduğudur. Çalışmamızda ilaç kesilmesinden belli bir süre sonraki histopatolojik değişiklikler incelenmediğinden bu konuda da ileride yeni çalışmaların yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. Bunun da MMC'nin kullanım dozu ve süresi konusunda tereddütlerin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Topikal MMC kullanımında hekimler arasında uygulanan doz, süre ve tedavi şekillerinin farklılıklar göstermesinden tam bir fikir birliği oluşmadığı anlaşılmaktadır. Görülebilen ciddi yan etkileri nedeniyle gereken dozda ve sürede kullanılmasında tereddütler yaşanması nedeniyle birçok oküler yüzey tümöründe cerrahi ön planda düşünülebilmektedir. Bu nedenle birçok olguda tedavi sonuçlandırılmadan MMC kesilmekte ya da etkin olmayan düşük dozlarda uygulanmaktadır. Bu çalışmanın temel amaçlarından biri etkin olan en düşük doz için en uygun kullanım süresini belirlemek ve bu şartlarda oluşabilecek yan etkiler konusunda bilgi sahibi olmaktır. Bu nedenle çalışmamızda topikal damla formundaki MMC'nin farklı dozlarını, farklı sürelerde kullanılarak olası histopatolojik değişiklikler ile göz içi basıncına etkileri araştırıldı. Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında yüksek doz kullanılan gruplarda siliyer cisimde daha belirgin değişiklikler gözlenmiştir ve bununla da doğru orantılı olarak göz içi basıncı değişiklikleri tespit edilmiştir. Topikal MMC'nin korneaya da sitotoksik etkileri olduğu belirlendi.

Çalışmamızın oftalmolojide kullanımı giderek artmakta olan MMC'nin olası toksisiteyi açısından yol gösterici olacağını ve topikal (damla formunda) kullanımında en uygun yolun belirlenmesine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Topikal damla formunda kullanılan MMC normal kornea ve siliyer cisim hücrelerini etkileyerek histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır.
- Değişikliklerin şiddeti kullanılan doz ve süre ile ilişkili olarak artmaktadır. Çalışmamıza göre etkilenmeyi doz artışı süre artışına göre daha fazla etkilemektedir.
- Siliyer cisimdeki etkilenmeler nedeniyle aköz hümör üretiminin azalmasına bağlı olarak göz içi basıncında da düşüş olduğu gözlenmiştir.
- Çalışmamız topikal damla formunda kullanılan MMC'nin farklı doz ve sürelerinin siliyer cisim ve korneaya olan histopatolojik etkilerini inceleyerek olası yan etkileri açısından farklarını göstermesi açısından önemlidir.
- Topikal damla formunda MMC'nin kullanımı açısından tam bir fikir birliği sağlanmasına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.
- Günümüzde kullanımı giderek artan topikal MMC kullanımının yan etkilerini anlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmaların tavşan korneasının insan korneasından farklı özellikleri bulunması nedeniyle klinik çalışmalar olması daha faydalı olacaktır.
- Bu sayede en etkin, en az toksik olan doz belirlenerek MMC'nin olası yan etkilerinden olabildiğince kaçınmak mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. **Abraham LM, Selva D, Casson R, Leibovitch I.** Mitomycin Clinical Applications in Ophthalmic Practice. *Drugs*. **2006**;66(3):321-40. Review.
2. **KayaalpSO.** *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi Farmakoloji*, 8. Baskı, Ankara; Hacettepe-TAŞ . Cilt 1: **1991**;1015.
3. **Verweij J, Pinedo HM.** Mitomycin C: mechanism of action, usefulness and limitations. *Anticancer Drugs*. **1990** Oct;1(1):5-13. Review.
4. **Chen CW,** Enhanced intraocular pressure controlling effectiveness of trabeculectomy by local application of mitomycin C . *Trans Asia-Pacific Acad Ophthalmol* **1983**;172-175.
5. **KayaalpSO.** *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi Farmakoloji*, 8. Baskı, Ankara; Hacettepe-TAŞ Cilt 1 **1991**; 309.
6. **Verweij J, Stoter G .** Severe side effects of the cytotoxic drug mitomycin C. *Neth J Med*.1987; 30:43-50.
7. **Dorr RT.** Pharmacokinetic, metabolic and drug-resistance aspects of mitomycin C. *Semin Oncol*. **1988**;15(suppl):32-41.
8. **Mark L. McDermott, Jiming Wang, Dong H. Shin.** Mitomycin and human corneal endothelium. *Arc Ophthalmol*. **1994**;112:533-537.
9. **Reddy MV, Randerath K.** 32P-analysis of DNA adducts in somatic and reproductive tissues of rats treated with the anti- cancer antibiotic, mitomycin C. *Mutat Res* **1987**; 179 (1): 75-88.
10. **Lown JW.** The molecular mechanism of action of the mito-mycins. In: Carter SK, Crooke ST, eds. Mitomycin: current status and new developments. *New York: Academic Press* **1979**: 243-51.
11. **Jampel HD.** Effect of brief exposure of mitomycin C on viability and proliferation of cultured human Tenon's capsule fibro- blasts. *Ophthalmology* **1992**; 99: 1471-6.
12. **Crowston JG, Akbar AN, Constable PH, et al.** Antimetabolite- induced apoptosis in Tenon's capsule fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **1998**; 39 (2): 449-54.
13. **Francis BA, Du LT, Najafi K, et al.** Histopathologic features of conjunctival filtering blebs. *Arch Ophthalmol* **2005**; 123 (2): 166-70.
14. **Lama PJ, Fechtner RD.** Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol* **2003**; 48: 314-46.

15. **Kawase K, Matsushita H, Yamamoto T, et al.** Mitomycin concentration in rabbit and human ocular tissues after topical administration. *Ophthalmology* **1992**; 99 (2): 203-7.
16. **Seah SK, Prata JA, Minckler DS.** Mitomycin C concentration in the human ocular tissues following trabeculectomy. *Eye* **1993**; 7: 652-5.
17. **Song JS, Kim JH, Yang M, Sul D, Kim HM.** Concentrations of mitomycin C in rabbit corneal tissue and aqueous humor after topical administration. *Cornea*. **2006** Dec;25(10 Suppl 1):S20-3.
18. **Song JS, Kim JH, Yang M, Sul D, Kim HM.** Mitomycin-C concentration in cornea and aqueous humor and apoptosis in the stroma after topical mitomycin-C application: effects of mitomycin-C application time and concentration *Cornea*. **2007** May;26(4):461-7.
19. **Majumdar PA, Epstein RJ.** Antimetabolites in ocular surface neoplasia. *Curr Opin Ophthalmol* **1998**; 9: 35-9.
20. **Shields JA, Shields CL, De Potter P.** Surgical management of conjunctival tumors: the 1994 Lynn B McMahan Lecture. *Arch Ophthalmol* **1997**; 115 (6): 808-15.
21. **Lee GA, Hirst LW.** Ocular surface squamous neoplasia. *Surv Ophthalmol* **1995**; 39 (6): 429-50.
22. **Frucht-Pery J, Rozenman Y.** Mitomycin C therapy for corneal intraepithelial neoplasia. *Am J Ophthalmol* **1994**;117:164-8.
23. **Prabhasawat P, Tarinvorakup P, Tesavibul N, et al.** Topical 0.002% mitomycin C for the treatment of conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Cornea* **2005**; 24 (4): 443-8.
24. **Corcoran KT, Marsich MM, Ward DC.** Potentially life threatening primary acquired melanosis. *Clin Eye Vis Care* **2000**; 12: 185-8.
25. **Folberg R, McLean IW, Zimmerman LE.** Conjunctival melanosis and melanoma. *Ophthalmology* **1984**; 91: 673-8.
26. **Norregaard JC, Gerner N, Jensen OA, et al.** Malignant melanoma of the conjunctiva: occurrence and survival following surgery and radiotherapy in a Danish population. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **1996**; 234: 569-72.
27. **Frucht-Pery J, Pe'er J.** Use of mitomycin C in the treatment for conjunctival primary acquired melanosis with atypia. *Arch Ophthalmol* **1996**; 114: 1261-4.
28. **Seregard S.** Conjunctival Melanoma. *Surv Ophthalmol* **1998**; 42: 321-50.
29. **Shields JA, Shields CL, De Potter P.** Surgical management of circumscribed conjunctival melanomas. *Ophthalmol Plastic Reconstr Surg* **1998**; 14: 208-15
30. **Jakobiec FA, Brownstein S, Wilkinson RD, et al.** Combined surgery and cryotherapy for diffuse malignant melanoma of the conjunctiva. *Arch Ophthalmol* **1980**; 98: 1390-6.

31. **Werschnik C, Lommatzsch PK.** Long-term follow-up of patients with conjunctival melanoma. *Am J Clin Oncol* **2002**; 25(3): 248-55.
32. **Wilson MW, Scheltonka LP, Siegel D, et al.** Immunohistochemical localization of NAD(P)H:quinone oxidoreductase in conjunctival melanomas and primary acquired melanosis. *Curr Eye Res* **2001**; 22 (5): 348-52.
33. **Demirci H, McCormick SA, Finger PT.** Topical mitomycin chemotherapy for conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia: clinical experience with histopathologic observations. *Arch Ophthalmol* **2000**; 118 (7): 885-91.
34. **Joshi AB, Parrish RK, Feuer WF.** 2002 survey of the American Glaucoma Society: practice preferences for glaucoma surgery and antifibrotic use. *J Glaucoma* **2005**; 14: 172-4.
35. **Neelakantan A, Rao BS, Vijaya L, et al.** Effect of the concentration and duration of application of mitomycin C in trabeculectomy. *Ophthalmic Surg* **1994**; 25 (9): 612-5.
36. **Kitazava T, Kawase K, Matsushita R, Minobe M.** Trabeculectomy with mitomycin. A comparative study with Fluorouracil. *Arch Ophthalmol* **1991**;109:1693-1698.
37. **Al-Hazmi A, Zwaan J, Awad A, et al.** Effectiveness and complications of mitomycin C use during pediatric glaucoma surgery. *Ophthalmology* **1998**; 105 (10): 1915-20.
38. **Mullaney PB, Selleck C, Al-Awad A, et al.** Combined trabeculotomy and trabeculectomy as an initial procedure in uncomplicated congenital glaucoma. *Arch Ophthalmol* **1999**; 117 (4): 457-60
39. **Mandal AK, Prasad K, Naduvilath TJ.** Surgical results and complications of mitomycin C augmented trabeculectomy in refractory developmental glaucoma. *Ophthalm Surg Lasers* **1999**; 30: 473-80.
40. **Rodrigues AM, Junior AP, Montezano FT, et al.** Comparison between results of trabeculectomy in primary congenital glaucoma with and without the use of mitomycin C. *J Glaucoma* **2004**; 13 (3): 228-32.
41. **Al-Hazmi A, Awad A, Zwaan J, et al.** Correlation between surgical success rate and severity of congenital glaucoma. *Br J Ophthalmol* **2005**; 89 (4): 449-53.
42. **Jaros PA, De Louis VP.** Pingecula and pterygia. *Surv Ophthalmol* **1998**; 33;41-49.
43. **Durukan A, Doğan H:** Pterjiyum eksizyonundan sonra mitimisin-C uygulama sonuçları.*MN Oftalmoloji* 1998;5:262-264.
44. **Moran DJ, Hollows FC.** Pterygium and ultraviolet radiation: a positive correlation. *Br J Ophthalmol* **1984**; 68:343–346.
45. **Taylor HR, West S, Munoz B, et al.** The long-term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol* **1992**; 110:99–104.

46. **Frucht-Pery J, Charalambos SS, Ilsar M.** Intraoperative application of topical mitomycin C for pterygium surgery. *Ophthalmology* **1996**; 103:674–677.
47. **Lam DS, Wong AK, Fan DS, et al.** Intraoperative mitomycin C to prevent recurrence of pterygium after excision: a 30-month follow-up study. *Ophthalmology* **1998**; 105:901–904.
48. **Gupta VP, Saxena T.** Comparison of single-drop mitomycin C regime with other mitomycin C regimes in pterygium surgery. *Ind J Ophth* **2003**; 51:59–65.
49. **Leonard P.K. Anga, Jocelyn L.L. Chua et al.** Current concepts and techniques in pterygium treatment *Curr Opin Ophthalmol* **2007**; 18:308–313.
50. **Singh G, Wilson MR, Foster CS,** Mitomycin eye drops as treatment for pterygium. *Ophthalmology* **1988**;95:813-821.
51. **Iliff CE.** A simplified dacryocystorhinostomy. *Arch Ophthalmol* **1971**; 85: 586-91.
52. **Manning CA, Kloess PM, Diaz MD, Yee RW.** Intraoperative mitomycin in primary pterygium excision: a prospective, randomized trial. *Ophthalmology* **1997**; 104:844–848.
53. **C Cardillo JA, Alves MR, Ambrosio LE, et al.** Single intraoperative application versus postoperative mitomycin C eye drops in pterygium surgery. *Ophthalmology* **1995**; 102:1949–1952.
54. **Oguz H, Basar E, Gurler B.** Intraoperative application versus postoperative mitomycin C eye drops in pterygium surgery. *Acta Ophthalmol Scand* **1999**; 77:147–150.
55. **Raiskup F, Solomon A, Landau D, et al.** Mitomycin C for pterygium: long term evaluation. *Br J Ophthalmol* **2004**; 88:1425–1428.
56. **Dadeya S, Kamlesh.** Intraoperative daunorubicin to prevent the recurrence of pterygium after excision. *Cornea* **2001**; 20: 172–174.
57. **Maldonado MJ, Cano-Parra J, Navea-Tejerina A, et al.** Inefficacy of low-dose intraoperative fluorouracil in the treatment of primary pterygium. *Arch Ophthalmol* **1995**; 113:1356–1357.
58. **Bekibele CO, Baiyeroju AM, Olusanya BA, et al.** Pterygium treatment using 5-FU as adjuvant treatment compared to conjunctiva autograft. *Eye* **2006**; Jun16 [Epub ahead of print].
59. **Pico G.** A modified technique of external dacryocystorhinostomy. *Am J Ophthalmol* **1971**; 72: 679-89.
60. **Tarbet KJ, Custer PL.** External dacryocystorhinostomy: surgical success, patient satisfaction, and economic cost. *Ophthalmology* **1995**; 102: 1065-70.
61. **Welham RAN, Wulc AE.** Management of unsuccessful lacrimal surgery. *Br J Ophthalmol* **1987**; 71: 152-7.

62. **Walland MJ, Rose GE.** Factors affecting the success rate of open lacrimal surgery. *Br J Ophthalmol* **1994**; 78: 888-91.
63. **Kaufman LM, Guay-Bhatia LA.** Monocanicular intubation with Monoka tubes for the treatment of congenital naso-lacrimal duct obstruction. *Ophthalmology* **1998**; 105 (2): 336-41.
64. **Fulcher T, O'Connor M, Moriarty P.** Nasolacrimal intubation in adults. *Br J Ophthalmol* **1998**; 82 (9): 1039-41.
65. **Liu D, Bosley TM.** Silicone nasolacrimal intubation with mitomycin C: a prospective randomized, double masked study. *Ophthalmology* **2003**; 110: 306-10.
66. **Talamo GH, Gollamudi S, Green WR, et al.** Modulation of corneal wound healing after excimer laser keratomileusis using topical mitomycin C and steroids. *Arch Ophthalmol* **1991**; 109: 1141-6.
67. **Schipper I, Suppelt C, Gebbers JO.** Mitomycin C reduces scar formation after excimer laser (193 nm) photorefractive keratectomy in rabbits. *Eye* **1997**; 11: 649-55.
68. **Xu H, Liu S, Xia X, et al.** Mitomycin C reduces haze formation in rabbits after excimer laser photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* **2001**; 17 (3): 342-9
69. **Carones F, Vigo L, Scandola E, Vacchini L.** Evaluation of the prophylactic use of Mitomycin-C to inhibit haze formation after photorefractive keratectomy. *J Cataract Refract Surg* **2002**; 28:2008—2095.
70. **Gambato C, Ghirlando A, Moretto E, et al.** Mitomycin C modulation of corneal wound healing after photorefractive keratectomy in highly myopic eyes. *Ophthalmology* **2005**; 112:208—218
71. **Netto MV, Mohan R, Sharma A, et al.** PRK with MMC: mechanism of action, side effects and optimized concentration-exposure time. Washington, DC: *American Society of Cataract and Refractive Surgery*; **2005**.
72. **Lacayo GO 3rd, Majmudar PA.** How and when to use mitomycin-C in refractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol.* **2005** Aug;16(4):256-9. Review.
73. **Donnenfeld ED, Perry HD, Wallerstein A, et al.** Subconjunctival mitomycin C for the treatment of ocular cicatricial pemphigoid. *Ophthalmology* **1999**; 106 (1): 72-8.
74. **Celis Sanchez J, Lopez Ferrando N, Garcia Largacha M, et al.** Subconjunctival mitomycin C for the treatment of ocular cicatricial pemphigoid. *Arch Soc Esp Oftalmol* **2002**; 77 (9): 501-6
75. **Solomon A, Espana EM, Tseng SC.** Amniotic membrane transmycin plantation for reconstruction of the conjunctival fornices. *Ophthalmology* **2003**; 110: 93-100.
76. **Secchi AG, Tognon MS.** Intraoperative mitomycin C in the treatment of cicatricial obliterations of conjunctival fornices. *Am J Ophthalmol* **1996**; 122 (5): 728-30.

77. **Tseng SC, Di Pascuale MA, Liu DT, et al.** Intraoperative mitomycin C and amniotic membrane transplantation for reconstruction in severe cicatricial ocular surface diseases. *Ophthalmology* **2005**; 112 (5): 896-903.
78. **Cruz OA, Matkovich L.** Effects of intraoperative topical mitomycin-C on strabismus surgery in the rabbit: a preliminary study. *Ophthalmic Surg* **1995**; 26 (3): 237-40.
79. **Mahindrakar A, Tandon R, Menon V, et al.** Effectiveness of mitomycin C in reducing reformation of adhesions following surgery for restrictive strabismus. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* **2001** ;3 (3):131-5.
80. **Lew H, Lee SY, Yang WI, et al.** A morphological study of drill holes applied with mitomycin-C in hydroxyapatite orbital implants. *Ophthal Res* **2001**; 33 (6): 340-4.
81. **Wu WC, Kao YH, Hu DN.** A comparative study of effects of antiproliferative drugs on human retinal pigment epithelial cells in vitro. *J Ocul Pharmacol Ther* 2002; 18 (3): 251-64.
82. **Yu HG, Chung H.**Antiproliferative effect of mitomycin C on experimental proliferative vitreoretinopathy in rabbits. *Korean J Ophthalmol.* **1997** Dec;11(2):98-105.
83. **Spoor TC, McHenry JG.** Long-term effectiveness of optic nerve sheath decompression for pseudotumor cerebri. *Arch Ophthalmol* **1993**; 11: 632-5.
84. **Spoor TC, McHenry JG, Shin DH.** Long-term results using adjunctive mitomycin C in optic nerve sheath decompression for pseudotumor cerebri. *Ophthalmology.* **1995**;102: 2024-8.
85. **Haus CM, Galand AL.** Mitomycin against posterior capsular opacification: an experimental study in rabbits. *Br J Ophthalmol* **1996**; 80 (12): 1087-91.
86. **Kim SY, Kim JH, Choi JS, Joo CK.** Comparison of posterior capsule opacification in rabbits receiving either mitomycin-C or distilled water for sealed-capsule irrigation during cataract surgery *Clin Experiment Ophthalmol.* **2007** Nov;35(8):755-8.
87. **Shin DH, Kim YY, Ren J, et al.** Decrease of capsular opacification with adjunctive mitomycin C in combined glaucoma and cataract surgery. *Ophthalmology* **1998**; 105 (7): 1222-6.
88. **Akpek EK, Hasiripi H, Christen WG, et al.** A randomized trial of low-dose, topical mitomycin-C in the treatment of severe vernal keratoconjunctivitis. *Ophthalmology* **2000**; 107 (2): 263-9.
89. **Sodhi PK, Pandey RM, Ratan SK.** Efficacy and safety of topical azelastine compared with topical mitomycin C in patients with allergic conjunctivitis. *Cornea* **2003**; 22 (3): 210-3.
90. **Tanaka M, Takano Y, Dogru M, et al.** A comparative evaluation of the efficacy of intraoperative mitomycin C use after the excision of cobblestone-like papillae in severe atopic and vernal keratoconjunctivitis. *Cornea* **2004**; 23 (4): 326-9.
91. **Frucht-Pery J, Sugar J, Baum J, et al.** Mitomycin C treatment for conjunctivalcorneal intraepithelial neoplasia. A multicenter experience. *Ophthalmology* 1997;104:2085-93.

92. **Wilson MW, Hungerford JL, George SM, et al.** Topical mitomycin C for the treatment of conjunctival and corneal epithelial dysplasia and neoplasia. *Am J Ophthalmol* **1997**;124:303–11.
93. **Finger PT, Grazyna C, Liarikos S.** Topical mitomycin C chemotherapy for conjunctival melanoma and PAM with atypia. *Br J Ophthalmol* **1998**;82:476–9.
94. **Shields CL, Naseripour M, Shields JA.** Topical mitomycin-C for pagetoid invasion of the conjunctiva by eyelid sebaceous gland carcinoma. *Ophthalmology* **2002**;109:2129–33.
95. **Frucht-Pery J, Rozenman Y.** Mitomycin C therapy for corneal intraepithelial neoplasia. *Am J Ophthalmol* **1994**;117:164–8.
96. **Shields CL, Naseripour M, Shields JA.** Topical mitomycin C for extensive, recurrent conjunctival-corneal squamous cell carcinoma. *Am J Ophthalmol* **2002**;133:601–6.
97. **Daniell M, Maini R, Tole D.** Use of mitomycin C in the treatment of corneal conjunctival intraepithelial neoplasia. *Clin Experiment Ophthalmol* **2002**;30:94–8.
98. **Demirci H, McCormick S, Finger P.** Topical mitomycin chemotherapy for conjunctival malignant melanoma and primary acquired melanosis with atypia: clinical experience with histopathologic observations. *Arch Ophthalmol* **2000**;118:885–91.
99. **Dudney BW, Malecha MA.** Limbal stem cell deficiency following topical mitomycin C treatment of conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia. *Am J Ophthalmol* **2004**;137:950–1.
100. **Sacu S, Se'gur-Eltz N, Horvat R, et al.** Intumescent cataract after topical mitomycin C for conjunctival malignant melanoma. *Am J Ophthalmol* **2003**;136:375–7.
101. **Khong JJ, Muecke J.** Complications of mitomycin C therapy in 100 eyes with ocular surface neoplasia. *Br J Ophthalmol.* **2006** Jul; 90(7):819-22. Epub 2006 May 3.
102. **Dougherty PJ, Hardten DR, Lindstrom RL.** Corneoscleral melt after pterygium surgery using a single intraoperative application of mitomycin-C. *Cornea* **1996**;15:537–40.
103. **Rubinfeld RS, Pfister RR, Stein RM, et al.** Serious complications of topical mitomycin-C after pterygium surgery. *Ophthalmology* **1992**;99:1647–54.
104. **Kayaalp SO.** Rasyonel tedavi yönünden tıbbi Farmakoloji, Ankara . Cilt 1, **1998**;394.
105. **Midena E, Angeli CD, Valenti M, et al.** Treatment of conjunctival squamous cell carcinoma with topical 5-fluorouracil. *Br J Ophthalmol*, **2000**84:268–72.
106. **Yeatts RP, Engelbrecht NE, Curry CD, et al.** 5-Fluorouracil for the treatment of intraepithelial neoplasia of the conjunctiva and cornea .*Ophthalmology*, 2000. 107:2190–5.

107. **Yeatts RP, Ford JG, Stanton CA, et al.** Topical 5-fl uorouracil in treating epithelial neoplasia of the conjunctiva and cornea. *Ophthalmology*, **1995**. 102:1338–44.
108. **Michael D. Boehm, MD, Andrew J. W. Huang, MD, MPH** Treatment of Recurrent Corneal and Conjunctival Intraepithelial Neoplasia with Topical Interferon Alfa 2b *Ophthalmology* **2004**;111:1755–1761.
109. **Friederike Mackensen, Regina Max and Matthias D. Becker.** Interferon therapy for ocular disease. *Curr Opin Ophthalmol* **2002** ,17:567–573.
110. **Kayaalp SO.** *Rasyonel tedavi yönünden tıbbi Farmakoloji*, 8. Baskı, Ankara; Hacettepe-TAŞ . Cilt 1, **1998**;362
111. **Giaconi JA, Karp CL.** Current treatment options for conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia. *Ocul Surf* ..**2003**;2:66–73.
112. **Karp CL, Moore JK, Rosa RH Jr.** Treatment of conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia with topical interferon _2b. *Ophthalmology* **2001**;108:1093–8.
113. **Maskin SL.** Regression of limbal epithelial dysplasia with topical interferon. *Arch Ophthalmol* **1994**;112:1145–6.
114. **Schechter BA, Schrier A, Nagler RS, et al.** Regression of presumed primary conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia with topical interferon alpha-2b. *Cornea* **2002**;21:6–11.
115. **Vann RR, Karp CL.** Perilesional and topical interferon alfa-2b for conjunctival and corneal neoplasia. *Ophthalmology*. **1999** Jan;106(1):91-7.
116. **Schechter BA, Rand WJ, Velazquez GE, Williams WD, Starasoler L.** Treatment of conjunctival papillomata with topical interferon Alfa-2b. *Am J Ophthalmol* **2002**; 134(2):268–70.
117. **Boehm MD, Huang AJ.** Treatment of recurrent corneal and conjunctival intraepithelial neoplasia with topical interferon alfa 2b. *Ophthalmology* **2004**; 11(9):1755–61.
118. **Sari A, Onol M, Ozdek S, Ozogul C, Hasanreisoglu B.** Effect of mitomycin C on ciliary body and intraocular pressure with various application depths: an experimental study. *Clin Experiment Ophthalmol*. **2005** Apr;33(2):169-75.
119. **Hong SJ, Wu KY, Wang HZ, Lai YH.** Toxic effects of mitomycin-C on cultured ciliary process cells and trabecular meshwork cells. *J Ocul Pharmacol Ther*. **2001** Aug;17(4):331-42.
120. **Nuyts RM, Felten PC, Pels E, Langerhorst CT, Geijssen HC, Grossniklaus HE, Greve EL, .** Histopathologic effects of mitomycin C after trabeculectomy in human glaucomatous eyes with persistent hypotony . *Am J Ophthalmol* **1994**; 118:225-237.
121. **Letchinger SL, Becker B, Wax MB,.** Effects of sunconjunctival administration of mitomycin C on intraocular pressure in rabbits . *Invest ophthalmol Visc Sci* **1992**;33(suppl):736.
122. **Gandolfi SA, Vecchi M, Braccio L.** Decrease of intraocular pressure after subconjunctival injection of mitomycin in human glaucoma. *Arch Ohthalmol* **1995**;113:582-585.

123. **Kymionis GD, Diakonis VF, Charisis S, Pallikaris AI, Bouzoukis DI, Yoo SH, Naoumidi I, Tsilimbaris MK.** Effects of topical mitomycin C on the ciliary body and intraocular pressure after PRK: an experimental study *J Refract Surg.* **2008** Jun;24(6):633-8.
124. **Mohan RR, Hutcheon AE, Choi R, Hong J, Lee J, Mohan RR, Ambrósio R Jr, Zieske JD, Wilson SE.** Apoptosis, necrosis, proliferation, and myofibroblast generation in the stroma following LASIK and PRK. *Exp Eye Res.* **2003** Jan;76(1):71-87.
125. **Avisar R, Apel I, Avisar I, Weinberger D.** Endothelial cell loss during pterygium surgery: importance of timing of mitomycin C application. *Cornea.* **2009** Sep;28(8):879-81.
126. **Chang SW .** Early corneal edema following topical application of mitomycin C. *J Cataract Refract Surg.* **2004**;30:1742-1750.
127. **Prabhasawat P, Tarinvorakup P, Tesavibul N, Uprasertkul M, Kosrirukvongs P, Booranapong W, Srivannaboorn S.** Topical 0.002% mitomycin C for the treatment of conjunctival-corneal intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Cornea.* **2005** May;24(4):443-8.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Kemal Yar
Doğum Tarihi ve Yeri : 28.12.1979- Adana
Medeni Durum : Bekar
Adres : 100.yıl mh. Tekart 51.Blok No: 8
Çukurova/Adana
Telefon : 0 (322) 2565590
Faks : -
E.posta : kemalyar@yahoo.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Varsa Mezuniyet Derecesi : -
Görev Yerleri : Türkiye Kızılay Derneği
Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Göz
Hastalıkları A.D.
Dernek Üyelikleri : Türk Oftalmoloji Derneği
Amerikan Oftalmoloji Akademisi

Alınan Burslar : -
Yabancı Dil(ler) : Almanca, İngilizce
Diğer Hususlar : -