

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



DENEYSEL AYARLANABİLİR SÜTÜR İLE ŞAŞILIK CERRAHİSİ
MODELİNDE SURAMİN, GENİSTEİN VE DURAGEN BARIYER
MATRİKSİN MEKANİK, İMMÜNHİSTOKİMYASAL VE
HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Çağlar ÖKTEM

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Prof. Dr. Sibel OTO

ANKARA, 2007

Bu proje (Proje no: DA 06/34) Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu katkılarıyla yapılmıştır.

TEŞEKKÜR

Başta bu çalışmanın baŐından sonuna kadar desteğiyle her zaman yanımda olan tez danıŐmanım Prof. Dr. Sibel Oto olmak üzere, uzmanlık eğitimimde emeği geçen anabilim dalı baŐkanımız Prof. Dr. Yonca Aydın Akova, oğretim üyeleri Prof. Dr. Gürsel Yılmaz, Prof. Dr. Ahmet Akman, Doç. Dr. Dilek Dursun Altınörs, Yrd. Doç. Dr. Őansal Gedik, Yrd. Doç. Dr. İmren Akkoyun, Uz. Dr. Sezin Akça Bayar, Uz. Dr. Fehmi Cem Küçükerdönmez' e, patolojik incelemeleri yapan Dr. Serap Toru ve Doç. Dr. Handan Özdemir'e, istatistiksel incelemeleri yapan Uz. Dr. CoŐkun Bakar'a, Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Araştırma Ünitesi koordinatörü Yrd. Doç. Dr. Hale Tufan ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. ağlar ÖKTEM

Kasım 2007, ANKARA

ÖZET

Ayarlanabilir sütür cerrahisi ile ilgili araştırmalarda temel hedeflerden biri dokuda fibrozis ve yapışıklıkları engellemek ve ayarlanabilirlik süresini arttırmaktır. Geç dönemdeki ayarlamalarda sonucun daha stabil olduğu düşünölmektedir. Çalışmamızda şaşılık cerrahisinde ayarlanabilir sütür uygulamasında fibrozis ve enflamasyonun önlenmesi ve ayarlamının geciktirilebilmesi için antifibrotik bir ajan olan suramin, antiadeziv ve antiproliferatif özellikte olan genistein ve mekanik bariyer oluşturan selöler matriks (DuraGen) kullanılmıştır. Bu amaçla, 18 Yeni Zelanda albino tavşanının 36 gözünde ayarlanabilir sütür tekniği kullanılarak üst rektus kasına geriletme yapılmıştır. Kas ve komşu dokular arasında yapışıklığın önlenmesi amacıyla suramin (250 mg / ml), genistein (0,5 mg / ml) ve DuraGen bariyer matriks (1 x 0,5 cm büyüklük ve 0,2 mm kalınlıkta) üst rektus kasının üst ve alt yüzeyine uygulanmış ve bunların mekanik, histopatolojik ve immünohistokimyasal etkileri incelenmiştir. Bu üç çalışma grubuyla karşılaştırılmak üzere iki kontrol grubu oluşturulmuştur. Bu kontrol gruplarından birisinde genistein preparatının çözücüsü olduğu için olası çapraz etkiyi gözlemek amacı ile dimetilsülfoksit

(DMSO) kullanılmış, diğer kontrol grubunda ise herhangi bir ilaç kullanılmadan serum fizyolojik (SF) ile yıkama yapılarak üst rektus kasına 5 mm geriletme işlemi uygulanmıştır. Cerrahi işlem yapıldıktan sonra 2, 7, 14 ve 21. günlerde ayarlama sırasında kasın hareket miktarı ölçölmüş, kas çekilirken uygulanan kuvvet düzeyleri, kas ve sklera dokuları ile kas ve konjonktiva dokuları arasında oluşan yapışıklık düzeyi derecelendirilerek kaydedilmiştir. Yirmibirinci günde tüm gözlere enökleasyon yapılmış, kas, komşu sklera ve konjonktivayı içeren dokular, histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için % 10 formaldehit solüsyonuna konulmuştur. Hematoksilen eosin (HE) boyası kullanılarak histopatolojik inceleme yapılmış, immünohistokimyasal incelemede ise VEGF, MAC 387, TGF-β, b-FGF ekspresyonları araştırılmıştır.

Mekanik inceleme sonuçları değerlendirildiğinde, kas-sklera ve kas-konjonktiva dokuları arasındaki yapışıklığın tüm gruplarda süreyle birlikte arttığı görülmüştür. Genistein grubundaki bir göz dışında 14. günde tüm gruplardaki gözlere ayarlama yapmak mümkün olmuştur. Yirmibirinci günde DuraGen grubundaki tüm gözlere ayarlama yapılabilirken, suramin grubunda 3 göze ayarlama yapılmış, diğer gruplarda üst rektus kasını hareket ettirmek mümkün olmamıştır. Kas-konjonktiva dokuları arasındaki yapışıklığın gruplar arasındaki karşılaştırılmasında 2 ve 7. günde anlamlı fark bulunmuştur. Bu fark, suramin ve DuraGen gruplarındaki yapışıklığın az olmasından kaynaklanmıştır. Kas-sklera dokuları arasındaki yapışıklık 2. ve 7. günde istatistiksel olarak anlamlı fark göstermiş, bu farkın hem 2, hem de 7. günde genistein ve DMSO gruplarında yapışıklığın az olmasından kaynaklandığı saptanmıştır. Kas çekilirken uygulanan kuvvet düzeyleri incelendiğinde 14 ve 21. günlerde farkın anlamlı olduğu görülmüştür. Bu fark, 14. günde suramin ve duragen gruplarında, 21. günde ise duragen grubunda kası çekmek için gereken kuvvet miktarının düşük olmasından kaynaklanmıştır.

HE ile yapılan histopatolojik incelemede dev hücre sayısının sadece genistein grubunda kontrol grubundan anlamlı olarak az olduğu görülmüştür.

İmmünohistokimyasal incelemede ise suramin ve genistein gruplarında VEGF, MAC 387, TGF- β ve b-FGF ekspresyonunun anlamlı olarak az olduğu saptanmıştır. DuraGen grubunda da kas içinde damar endoteli ve stromal yangısal infiltratta b-FGF ekspresyonu ve stromal yangısal infiltratta VEGF ekspresyonu SF kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur.

Çalışmamızın sonucunda suramin ve genisteinin cerrahi sahada fibrotik cevabı belirgin azalttığı görülmüştür, ancak selüler bariyer matriks olarak kullanılan DuraGen en etkin şekilde geç dönem ayarlamaya olanak sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Ayarlanabilir sütür, fibrozis, suramin, genistein, DuraGen

ABSTRACT

One of the main goals of investigation about adjustable suture surgery has been to prevent adhesions and fibrosis in surgical tissue, and to increase the period before adjustment procedure. The results of delayed adjustment have been considered as more stable. In our study, suramin an antifibrotic agent, genistein an agent with antiadhesive and antiproliferative features, and a cellular matrix (DuraGen) which constitutes a mechanical barrier and hold apart the tissues were used in adjustable suture surgery to prevent fibrosis and inflammation, reduce scarring and to delay adjustment procedure. For this purpose, using adjustable suture technique, 5 mm recession of superior rectus muscle has been performed in 36 eyes of 18 New Zealand albino rabbits. Suramin (250 mg/ml), genistein (0,5 mg/ml) and DuraGen barrier matrix (1 x 0,5x0,2 cm dimensions) has been applied over and under the surface of superior rectus muscle to prevent adhesions between the muscle and surrounding tissues and their mechanical, histopathological and immunohistochemical effects have been investigated. Two control groups have been designed, one with DMSO, the solvent of genistein solution, and the second control group has been constituted by only rinsing the surgical area by SF.

After surgery the necessary force to adjust and the length of adjustment was measured on days 2, 7, 14 and 21, and the degree of adhesion between the muscle, sclera and conjunctiva were graded on a 0 to 4+ scale. Enucleation was done in all eyes at the twenty-first day, tissues containing muscle, adjacent sclera and conjunctiva were placed into % 10 formaldehyde solution for histopathological and immunohistochemical investigation. Histopathological investigation was done by using hematoxylin eosin (HE) staining, and VEGF, MAC 387, TGF- β , FGF expressions were investigated by immunohistochemical stains.

Histopathological investigation with HE displayed significantly less number of giant cells in genistein group compared with control groups.

In immunohistochemical investigation suramin and genistein groups revealed significantly less tissue expressions of VEGF, MAC 387, TGF- β and b-FGF. However, in DuraGen group b-FGF expression in vascular endothelial cells within muscle tissue and in stromal infiltrative cells and VEGF expression in stromal infiltrative cells were also found lower than SF control group.

When mechanical results were evaluated, adhesions between muscle-sclera and muscle-conjunctiva tissues in all groups displayed a progressive increase during the observational time period. It has been possible to make adjustment in all eyes except one eye in genistein group on day 14. On day 21 all eyes in DuraGen group and 3 eyes in suramin group could be adjusted however it was not possible to move superior rectus muscle in other groups.

When the amount of force necessary for adjustment was evaluated a significant difference was observed between the groups on days 14 and 21. This difference was exerted by Suramin and DuraGen groups on day 14 and DuraGen group on day 21 where less force was required for adjustment.

When the groups were compared for muscle-conjunctiva and muscle-sclera adhesions Suramin and DuraGen groups displayed significantly less muscle-conjunctiva adhesions on days 2 and 7 and Genistein and DMSO groups revealed substantially less muscle-sclera adhesions on days 2 and 7. The difference between groups was not different on days 14 and 21.

In conclusion suramin and genistein induced a significant decrease in fibrotic reaction in surgical area, however DuraGen constituting a cellular barrier matrix provided the longest period for delayed adjustment.

Keywords: Adjustable suture, fibrosis, suramin, genistein, DuraGen

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Teşekkür.....	iii
Özet ve anahtar sözcükler	iv
İngilizce özet (Abstract, key words)	vi
İçindekiler	viii
Kısaltmalar ve simgeler dizini	ix
Şekiller dizini	x
Tablolar dizini	xii
Giriş ve Amaç	1
Genel Bilgiler	3
Gereç ve Yöntem	17
Bulgular.....	33
Tartışma	59
Sonuçlar	68
Kaynaklar	69

KISALTMALAR ve SİMGELER

DMSO	Dimetilsülfoksit
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
MAC 387	Monoclonal Antibody to Macrophages
TGF	Transforme Edici Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
HE	Hematoksilen Eozin
Mit-C	Mitomisin-C
5-FU	5-Fluorourasil
SF	Serum Fizyolojik
PTFE/PLGA	Politetrafloroetilen/polilaktid-co-glikolid
ark	Arkadaşları
ET	Ezotropya
XT	Ekzotropya
HT	Hipertropya
PDGF	Platelet Kökenli Büyüme Faktörü
IGF	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
IL	İnterlökin
TNF	Tümör Nekrozis Faktör
PMNL	Polimorfonükleer lökosit
TIMP	Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase
HA	Hyaluronik Asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
TBS	Tris Buffered Salin
AEC	3-amino 9-ethyl carbozole

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1	Suramin sodyum 500 mg toz	18
Şekil 2	Genistein 25 mg toz	18
Şekil 3, 4	Steril DuraGen plus bariyer matriks	19
Şekil 5	DMSO 100 ml solüsyon.....	20
Şekil 6	DuraGen matriksin kas dokusu üzerine yerleştirilmesi	21
Şekil 7	Kas dokusu üzerinde DuraGen bariyer matriks	22
Şekil 8, 9	Suramin, Genistein ve DMSO uygulanması	23
Şekil 10, 11	Gpp-8 hassas kantar	25
Şekil 12, 13	Kas çekme kuvvetinin ölçülmesi	26
Şekil 14	Üst rektus kasının insersiyö bölgesine çekilmesi.....	26
Şekil 15	SF grubunda HE ile dokuda dev hücre	34
Şekil 16	Genistein grubunda HE ile dev hücre	34
Şekil 17	Genistein grubunda b-FGF epitel ekspresyonu.....	36
Şekil 18	SF grubunda b-FGF epitel ekspresyonu.....	36
Şekil 19	Suramin grubunda b-FGF epitel ekspresyonu.....	36
Şekil 20	Genistein grubunda b-FGF damar ekspresyonu.....	38
Şekil 21	Suramin grubunda b-FGF damar ekspresyonu	38
Şekil 22	SF grubunda b-FGF damar ekspresyonu	38
Şekil 23	Genistein grubunda b-FGF stroma ekspresyonu.....	40
Şekil 24	Suramin grubunda b-FGF stroma ekspresyonu.....	40
Şekil 25	SF grubunda b-FGF stroma ekspresyonu (yaygın)	40
Şekil 26	Suramin grubunda VEGF epitel ekspresyonu.....	42
Şekil 27	SF grubunda VEGF epitel ekspresyonu.....	42
Şekil 28	Suramin grubunda VEGF damar ekspresyonu.....	44
Şekil 29	SF grubunda VEGF damar ekspresyonu.....	44
Şekil 30	Genistein grubunda VEGF damar ekspresyonu.....	44
Şekil 31	Suramin grubunda VEGF stroma ekspresyonu.....	46

Şekil 32	Genistein grubunda VEGF stroma ekspresyonu	46
Şekil 33	SF grubunda VEGF stroma ekspresyonu (yaygın)	46
Şekil 34	Suramin grubunda TGF β epitel ekspresyonu.....	48
Şekil 35	DMSO grubunda TGF β epitel ekspresyonu.....	48
Şekil 36	Suramin grubunda TGF β damar ekspresyonu	50
Şekil 37	DMSO grubunda TGF β damar ekspresyonu	50
Şekil 38	Suramin grubunda TGF β stroma infiltrasyonu	52
Şekil 39	DMSO grubunda TGF β stroma infiltrasyonu	52
Şekil 40	Suramin grubunda MAC 387 ekspresyonu	55
Şekil 41	Genistein grubunda MAC 387 ekspresyonu	55
Şekil 42	SF grubunda MAC 387 ekspresyonu	55

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>		<u>Sayfa</u>
Tablo 1	Büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri	10
Tablo 2	Gruplara göre kas dokusunda dev hücre sayısının dağılımı.....	33
Tablo 3	Konjonktiva epitelinde b-FGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	35
Tablo 4	Damar endotelinde b-FGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	37
Tablo 5	Stromal yangısal infiltratta b-FGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	39
Tablo 6	Konjonktiva epitelinde VEGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	41
Tablo 7	Damar endotelinde VEGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	43
Tablo 8	Stromal yangısal infiltratta VEGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	45
Tablo 9	Konjonktiva epitelinde TGF- β ekspresyonunun gruplara göre dağılımı	47
Tablo 10	Gruplara göre TGF- β damar endoteli ekspresyonunun dağılımı	49
Tablo 11	Gruplara göre stromal yangısal infiltratta TGF- β ekspresyonunun dağılımı	51
Tablo 12	Gruplara göre stromal yangısal infiltratta lenfosit infiltrasyonu.....	53
Tablo 13	Gruplara göre MAC 387 sitoplazmik ekspresyonun dağılımı	54
Tablo 14	Kas ve konjonktiva dokuları arasındaki yapışıklığın dağılımı.....	56
Tablo 15	Kas ve sklera dokuları arasındaki yapışıklığın dağılımı	57
Tablo 16	Kas çekme kuvveti ölçümünün dağılımı.....	58
Tablo 17	Kas-konkonktiva ve kas-sklera yapışıklıklarının literatürle karşılaştırılması	66

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Şaşılık oftalmoloji pratiğinde özellikle de çocukluk çağında sık karşılaşılan bir hastalıktır. Kozmetik ve psikolojik problemlere yol açması yanı sıra ambliyopiye neden olduğu için özenle tedavi edilmesi gerekir. Şaşılığın tedavisinde cerrahi tedavi, optik, ortooptik ve farmakolojik tedaviler kadar yaygın ve önemlidir. Cerrahi tedavide amaç görme eksenlerindeki kaymanın düzeltilmesidir. Bu sayede binoküler tek görme sağlanmaya ve aynı zamanda kozmetik açıdan iyi bir görünüm elde edilmeye çalışılır.¹

Şaşılık cerrahisinde çoğunlukla kas skleraya direkt sütüre edilmektedir, ancak bazı özellikli olgularda sonuç önceden tam olarak belirlenemeyebilir. Cerrahi sonucun önceden tam olarak belirlenememesi, hem cerrah, hem de hasta açısından istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle ameliyat sonrası cerraha gözlerin pozisyonunu değiştirebilme olanağı tanıyan “ayarlanabilir sütün tekniği” şaşılık cerrahisi ile uğraşan oftalmologlar için iyi bir alternatif yöntemdir. Özellikle reoperasyona bağlı kas ve çevre dokularda yapışıklık ve restriksiyon gelişmiş olgular, uzun süredir varolan, kaslarda kontraktür gelişimine yol açan kaymalar, paralitik şaşılıklar, cerrahi öncesi tekrarlanan ölçümlerde tutarsızlık olan ve büyük miktarda cerrahi gerektiren ileri derecede kaymalar, kombine horizontal ve vertikal kas girişimleri, diplopi varlığı, aberan inervasyon sendromları, retina dekolmanı sonucu gelişen diplopiler, tiroide bağlı göz hastalıkları gibi özellikli olgularda ayarlanabilir sütün tekniği ile şaşılık ameliyatı geleneksel yöntemle göre üstün bir tekniktir.¹⁻⁸

Cerrahi, vücut için bir travmadır. Bütün travmalarda olduğu gibi bir yara iyileşmesi sürecini beraberinde getirir. Bu süreçte cerrahi sahada yapışıklıklar oluşmaktadır. Bu yapışıklıklar nedeniyle kaslarda ayarlama güçleşir. Şaşılık cerrahisinde fibrozis ve yapışıklıkları engelleyebilmek amacıyla silikon bariyer, ADCON-L, Interceed, Seprafilm, poliüretan film, politetrafloroetilen, sodyum

hyaluronat, politetrafloroetilen/polilaktid-co-glikolid (PTFE/PLGA), Viscoat gibi pekçok sentetik ve biyolojik implant ile mitomisin C (Mit-C), 5-fluorouracil (5-FU), daunorubisin, steroidal ajanlar, bleomisin, vincristin, vinblastin gibi antifibrotik ajanlar kullanılmıştır.⁹⁻²¹ Bu şekilde yapışıklıkların önlenmesi ve daha düzgün bir yara iyileşmesi hedeflenmiştir. Ancak bu ajanların hiçbirisi şaşılık cerrahisi için klinik uygulamada yer bulamamıştır. Yapışıklıkların önlenmesi ayarlanabilir sütür tekniği ile şaşılık ameliyatlarında oldukça önemlidir. Çünkü bu daha optimal şartlarda, daha güvenilir bir kas ayarlamasına olanak sağlayacaktır.²²

Çalışmamızda tavşanlarda ayarlanabilir sütürle şaşılık cerrahisi uygulamasında antifibrotik bir ajan olan suramin, antiproliferatif ve antiadeziv özellikleri olan genistein ve bariyer matriks fonksiyonu olan DuraGen matriksin cerrahi bölgeye peroperatuar uygulanması ile bu ajanların yara iyileşmesi ve cerrahi sahada oluşan yapışıklıklar üzerine etkilerini mekanik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelemeyi amaçladık. Literatürde, çalışmamızda kullanılan bu 3 ajanın, şaşılık cerrahisinde kullanımı bulunmamaktadır. İlk olarak çalışmamızda kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. AYARLANABİLİR SÜTÜR İLE ŞAŞILIK CERRAHİSİ

Düşünce olarak ve uygulama olarak daha gerilere giden bir geçmiş olması rağmen, bu tekniğe 1970' li yıllarda Arthur Jampolsky popülerite kazandırmıştır.^{23,24}

Ayarlanabilir suture iki farklı metodla uygulanabilir. Bunlardan biri iki basamaklı, diğeri tek basamaklı yöntemdir.¹ Ayarlanabilir suture tekniğini kullanan şaşılık cerrahlarının çoğu iki basamaklı işlemi tercih etmektedir. Cerrahi genel anestezi altında uygulanmakta, postoperatif topikal anestezi kullanarak ayarlama yapılmaktadır.^{2,3} Bunun yanında topikal anestezi altında çalışarak cerrahiye ve ayarlamayı operasyon sırasında tek işlemde yapan cerrahlarda vardır.^{25,26} Dikkatli hasta seçimi ayarlanabilir suturen başarıyla uygulanması için gerçekten çok önemlidir. Ameliyat sonrası ayarlamaya yardımcı olmayacak yetişkin hastalar ve çocuk hastalarda rahatsız edici sonuçlarla karşılaşılabilir.²⁷ Kesin bir yaş sınırlaması yoktur. Ancak 15 yaş altındaki olgulara uygulanması güçtür.^{3,4,28} Buna karşın Eustis ve ark²⁹ bir çalışmalarında en küçük 7 yaşındaki bir olguya ayarlanabilir suture uyguladıklarını bildirmişlerdir. Pratt-Johnson⁵ en küçük olgu yaşını 11, Weston ve ark⁶ ise 14 olarak belirtmişlerdir.

Ayarlanabilir suture cerrahisi, geleneksel cerrahi yöntem ile sonucun önceden kestirilemediği, ayarlama işlemine koopere olabilecek tüm hastalara önerilmektedir. Özellikle paralitik şaşılıklar, skar dokusunun olduğu ve kasların yapılarının değiştiği reoperasyon olguları, tiroid miyopati şaşılık hastaları, aberan inervasyonlar, diplopi varlığı, retina dekolman cerrahisi sonrası olan diplopiler, cerrahi öncesi tekrarlanan ölçümlerde tutarsızlık olan ve büyük miktarda cerrahi gerektiren ileri derecede kaymalar, blow out fraktür, kombine horizontal ve vertikal kas girişimleri gereken hastalarda kullanılmaktadır.^{1-3,5-8,28} İleri düzeyde orbital fraktürü olan yada tiroid oftalmopati nedeniyle orbita tabanı

dekompresyonu geçirmiş olgularda klasik cerrahiye göre daha az avantajlı olduğunu bildiren cerrahlar da vardır.^{3,5}

Postoperatif sütür ayarlamasının zamanlaması konusunda değişik yayınlar vardır. Bazı yazarlar erken dönemde yapılan ayarlamamanın etkili olmadığını, geç ayarlama yapmanın başarıyı arttırdığını vurgulamışlardır.^{9,22,30,31} Howard ve Smith³⁰ postoperatif 4. ve 6. günlerdeki sütür ayarlamasının postoperatif 1. gündeki kadar kolay olduğunu ifade etmişlerdir. Franklin ve ark³² postoperatif 24. saatte yapılan ayarlamamanın postoperatif 9. saatte yapılan ayarlamaya göre daha zor olduğunu belirtmişlerdir. Koçak-Altıntaş ve ark³³ ve Akar ve ark³⁴ ise olgularında ayarlamayı 24 saat içinde yaptıklarını ifade etmişlerdir. Spierer³⁵ ise postoperatif 8 saat ile 24 saatte ayarlama yapma arasında önemli bir fark olmadığını bildirmiştir.

Postoperatif dönemde sütür ayarlama ihtiyacı değişik çalışmacıların yayınlarında farklı oranlarda verilmektedir. Pratt-Johnson⁵ 255 olgusunun 123'nde ayarlama gerektiğini, bu olgulardan 88'ine fazla düzeltme, 35 olguya ise az düzeltme nedeni ile ayarlama yapıldığını belirtmiştir. Weston ve ark⁶ ile Kraft ve Jacobson²⁸ olgularının % 40'nda ayarlama gerektiğini bildirmişlerdir. gt ve ark³⁶ ezotrophia (ET), ekzotrophia (XT) ve vertikal deviasyonu bulunan 33 erişkin hastalarında % 30,3 oranında ayarlama ihtiyacı olduğunu yayınlamıştır. Akar ve ark³⁴ 54 hastalık serilerinde bu oranı % 16,6 olarak belirtmişlerdir. Koçak Altıntaş ve ark³³ ise ET olgularının % 31,25'ine, XT olgularının % 62,5'ine, hipertrophia (HT) olgularının ise % 66,7' sine postoperatif sütür ayarlaması gerektiğini bildirmişlerdir.

Ayarlanabilir sütür cerrahisi ile ilgili serilerde farklı yazarlar birbirine yakın başarı oranları vermişlerdir. Kraft ve Jacobson²⁸ primer olgularda % 85, reoperasyon grubunda % 78, genel olarak ise % 82 başarı oranı vermişlerdir. Weston ve ark⁶ ise, ET ve XT olgularında başarı yönünden bir fark olmadığını, genel başarı oranlarının % 80 olduğunu ancak reoperasyonda bu oranın daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Primer ET olgularında % 88, tekrarlayan ezotrophia cerrahisinde % 81, primer XT olgularında % 88, tekrarlayan ekzotrophia

cerrahisi için % 74, vertikal kayması olan grupta ise % 74 başarı oranları bildirmiştir. Koçak Altıntaş ve ark³³ ise ET grubunda % 75, XT grubunda % 65,6, vertikal kayması olanlarda % 66,7, genel olarak ise % 68,5 olarak yayınlamışlardır. ET ve XT grupları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Ayarlanabilir sütürlerle reoperasyon oranı % 10' dan azdır. Oysa bu oran geleneksel şaşılık cerrahisinde % 20 civarındadır.²⁷ Kraft ise bu oranı 93 hastasına uyguladığı primer cerrahide % 5, 108 hastalık reoperasyon olgu grubunda ise % 10 olarak belirtmiştir.²⁸

Şaşılık cerrahisi sırasında ortaya çıkan adezyonlar cerrahinin başarısını olumsuz etkilemektedir. Aşırı kanama, gereksiz koterizasyon, adele kapsülünün veya orbita septumunun zedelenmesi sonucu orbita yağ dokusunun öne gelmesi, sütür materyaline karşı gelişen yabancı cisim reaksiyonu ve postoperatif dönemde gelişen enfeksiyonlar ile çok yoğun skar dokusu oluşabilmektedir.³⁷ Şaşılık cerrahisi sonucu gelişen yapışıklıklar kas, sklera, konjonktiva, tenon kapsülü, intermuskuler membran, orbita yağ dokusu gibi yapıların birini veya tümünü etkileyebilir. Bu yapışıklıklar en sık kas ile sklera, kas kapsülü ile konjonktiva ve sklera arasında yerleşmiştir.^{18,19} Şaşılık cerrahisi sonrasında gelişen ekstraoküler kas hareket kısıtlılıklarını engellemek amacıyla hem deneysel hem de klinik olarak çeşitli sentetik ve biyolojik maddeler implante edilmiş, birçok antifibrotik etki gösteren ilaç denenmiştir. Sentetik ve biyolojik implantlar mekanik bariyer etki oluşturmuş, antifibrotik etkili ilaçlar ise yara iyileşmesinin çeşitli basamaklarına etki ederek adezyonların gelişimini farmakolojik olarak engellemiştir. Bu ajanlardan bazıları silikon bariyer, Viscoat, politetrafloroetilen, sodyum hyaluronat, PTFE/PLGA, Interceed, ADCON-L, Seprafilm, poliüretan film, mit-C, 5-FU, daunorubisin gibi ajanlardır.^{9-14,16,18-21} Bu konu ile ilgili detaylı çalışmalar “Şaşılıkta Fibrozis ve Yapışıklık Oluşumunu Önleme Amaçlı Çalışmalar” başlığı altında anlatılmıştır. (Bkz. Sayfa 11-13)

2.2. YARA İYİLEŞMESİ

Yara, canlı dokunun anatomik ve işlevsel bütünlüğünün bozulmasıdır. Yara iyileşmesi ise, hücresel ve biyokimyasal bir süreç sonunda yeni bir dokunun oluşumudur. Bu süreçte epitel, endotel, enflamatuar hücreler, trombositler, fibroblastlar belli bir düzenle görevlerini gerçekleştirirler. Doku bütünlüğü bozulduğunda oluşan doku yanıtının bazı öğeleri vardır. Bunlar;

- 1) Koagülasyon
- 2) Enflamasyon
- 3) Fibroblast proliferasyonu
- 4) Matriks proliferasyonu
- 5) Anjiogenezis
- 6) Epitelizasyon
- 7) Kontraksiyon

Bu olaylar yara iyileşmesinin 3 farklı evresi olan enflamatuar evre, proliferatif evre ve remodeling evresinde farklı işlevler görmektedir.^{38,39}

Bu fazların herbiri pek çok sayıda büyüme faktörünün etkisi altındadır. Bu büyüme faktörleri kemotaksis, hücre proliferasyonu, protein sentezi gibi değişik aşamalarda rol alır. Özellikle proliferatif faz esnasında büyüme faktörlerinin uyarımıyla selüler aktivite artışı görülür.⁴⁰

Yara iyileşmesi esnasında bu faktörler değişik hücreler tarafından farklı düzeylerde salgılanır. Trombositler trombosit kökenli büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF), transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming Growth Factor- β , TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (Insulin like Growth Factor, IGF), epidermal büyüme faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF), transforme edici büyüme faktörü alfa (Transforming Growth Factor- α , TGF- α) salgırlar. Fibroblastlar, fibroblast büyüme faktörü izomerleri (Fibroblast Growth Factor, FGF-1, FGF-2, FGF-7), insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2 (IGF 1 ve 2) ile interlökin (IL), interferon ve koloni uyarıcı faktörler salgırlar.⁴¹

Kanda bulunan monositler yara iyileşmesi sırasında dokuya ulaşarak makrofajlara dönüşürler. Aktive olmuş makrofajlar yara iyileşmesi sırasında PDGF, TGF- α ve β , EGF, FGF, IGF-1, tümör nekrozis faktör (TNF), IL-1 gibi büyüme faktörlerini ve sitokinleri üretir.^{41, 42}

2.3. YARA İYİLEŞMESİNİN EVRELERİ

Yara iyileşmesi 3 evrede incelenir.

2.3.1. İnflamasyon Evresi

Doku yaralanması ile başlayan ve 3-5 gün süren erken dönemdir. Travmaya kan damarları vazokonstriksiyonla yanıt verir. Peşinden intravasküler hücreler damar duvarından ekstravasküler alana geçer. Burada vazoaktif maddeler önemlidir. Kanama sahasında trombositler tarafından salgılanan pıhtılaşma faktörleri sayesinde bir fibrin tıkaç oluşur. Bu fibrin ağ inflamasyon hücrelerinin göçüne zemin hazırlar. Bu ortam yara iyileşmesine temel oluşturur ve doku tamirinin ilk basamağıdır. Bu aşamada trombositler büyüme faktörleri salgılar ve büyüme faktörlerine yanıt olarak epitelial ve endotelial hücreler ve bağışıklık hücreleri travma sahasına gelirler. Yirmidört saat içinde polimorfonükleer lökositler (PMNL) ve makrofajlar bölgede hakimdir. Bu dönemde trombositlerden salgılanan büyüme faktörleri özellikle PDGF, TGF- β ve EGF gibi faktörlerdir.^{41,43}

2.3.2. Proliferatif Evre

Bu evrede granülasyon dokusunu oluşturmak üzere hücreler ve hücreler arası matriks elemanlarında büyük artış gözlenir. Fibroblastlar ve endotelial hücreler bu evre boyunca proliferasyona uğrayan esas hücrelerdir. Makrofajlar ve perisitler ise diğer önemli hücrelerdir. Ekstraselüler matriks elemanları ise fibronektin, laminin, kollajen ve proteoglikanlardır. Kollajen başta tip III kollajen formasyonunda iken, iyileşmenin ileri aşamalarında yerini tip I kollajene terk eder. Bu evrede makrofajlar, fibroblastlar ve kan damarları yara bölgesine göç

ederler. Makrofajlar aktive olur, fibroblastlar farklanıp bölünür ve kapillerlere yataklık yapacak matriks dokusunu sentezlerler. Yeni damar oluşumu proliferatif evrede gözlenen önemli olaylardan biridir. Yeni damarlar dokunun ve yara bölgesinde işlev gören hücrelerin gereksinimi olan besin ve oksijeni taşır. Damar oluşumu sürecinde endotel göçü çok önemlidir. Çünkü damarlanma sadece kemotaktik ve mitojenik faktörlere bağlı olmayıp, endotel hücre göçü için uygun ortama bağlıdır.^{40,41,43-45}

2.3.3. Yeniden Şekillenme Evresi

Bu evrede hem akut, hem kronik enflamasyon hücreleri azalır, anjiogenezis ve fibroplazi sonlanır. Hem kollagen hem de kollagenaz ve matriks metalloproteinaz üretiminin sürdüğü bu evrede, sonuçta kollagen sentezi ve yıkımı arasında bir denge kurulur ve matür bir skar dokusu oluşur. Bu evrede TGF- β başta olmak üzere bazı büyüme faktörlerinin düzeyi artar. Yeniden şekillenme evresinde hücrelerarası haberleşme tam olarak aydınlatılmış değildir, ancak TGF- β aktivitesinin bloke edilmesiyle aşırı skar dokusu oluşumu ilişkilendirilmiştir. Bu, TGF- β 'nın apoptozisi uyararak skar oluşumunu sınırladığını düşündürmektedir.^{40,43,44,46}

2.4.YARA İYİLEŞMESİNDE ROL OYNAYAN BÜYÜME FAKTÖRLERİ⁴¹

Yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinler Tablo-1'de özetlenmiştir. Bunlar içinde en önemlileri şunlardır.

2.4.1. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

Trombositler ve makrofajlardan salgılanır. Tükürük, idrar, süt, plazmadan izole edilmiştir. Keratinosit ve fibroblastlar için mitojeniktir ve granülasyon dokusunun formasyonunu stimüle eder.

2.4.2. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

Trombositlerde alfa granüllerde depolanır ve trombositlerde aktivasyonu ile serbestleşir. Ek olarak aktive makrofaj, endotel, düz kas hücreleri,

keratinositler ve bazı tümör hücreleri tarafından üretilir. PMNL'ler, makrofajlar, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için kemotaktiktir. Fibroblastlar, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri için mitojeniktir. Anjiogenezis ve yara kontraksiyonunu stimüle eder. İntegrin ekspresyonunu düzenler.

2.4.3. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

Makrofajlar, mast hücreleri, T lenfositler, endotel hücreleri ve fibroblastlarca salgılanır. Anjiogenezisin tüm aşamaları için gereklidir. Fibroblastlar için kemotaktik ve mitojeniktir. Keratinositler için mitojeniktir. Keratinosit migrasyonunu sağlar. Yara kontraksiyonu ve matris oluşumunu stimüle eder.

2.4.4. Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF- β)

Makrofajlar, mast hücreleri, T-lenfositler, endotel hücreleri, keratinositler, düz kas hücreleri, plateletler ve fibroblastlar tarafından salgılanır. PMNL'ler, makrofajlar, lenfositler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için kemotaktiktir. PDGF üretim ve sekresyonunu artırır. (indirekt mitojenik etki) Keratinosit migrasyonunu stimüle eder. Anjiogenezis ve fibroplaziyi stimüle eder. İntegrin ve diğer sitokinlerin ekspresyonunu düzenler ve TGF- β üretimini indükler.

2.4.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Keratinositler tarafından sentezlenir. Vasküler geçirgenliği artırır, endotel hücreleri için mitojeniktir.

Tablo 1. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri ⁴¹

Sitokinler ve Büyüme Faktörleri	Sembol	Kaynak	Görevi
Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü	PDGF	Trombosit, makrofajlar, endotel hücreler, keratinositler, düz kas hücreleri	PMNL, makrofajlar, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için kemotaktiktir. PMNL, makrofaj ve fibroblastları aktive eder. Fibroblast, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri için mitojeniktir. Matriks metalloproteinaz, fibronektin ve HA üretimini stimüle eder. Anjiogenez ve yara kontraksiyonunu stimüle eder. Remodelingde etkilidir. Trombosit agregasyonunu inhibe eder. İntegrin ekspresyonunu düzenler.
Transforme Edici Büyüme Faktörü	TGF- β	Trombosit, T-lenfosit, makrofaj, fibroblast, endotel hücreler, keratinositler, düz kas hücreleri	PMNL, makrofaj, lenfosit, fibroblast ve düz kas hücreleri için kemotaktiktir. TIMP sentezini, keratinosit migrasyonunu, anjiogenezi ve fibroplaziyi stimüle eder. Matriks metalloproteinazların üretimini ve keratinosit proliferasyonunu inhibe eder. İntegrin ve diğer sitokinlerin ekspresyonunu düzenler ve TGF- β üretimini indükler.
Epidermal Büyüme Faktörü	EGF	Trombosit, makrofajlar, tükürük, süt ve plazma	Keratinosit ve fibroblastlar için mitojeniktir. Keratinosit migrasyonu ve granülasyon doku formasyonunu stimüle eder.
Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa	TGF- α	Makrofajlar, T-lenfositler, keratinositler ve çeşitli dokular	EGF benzeri etkiler
Fibroblast Büyüme Faktörü 1 ve 2	FGF	Makrofajlar, mast hücreleri, T-lenfositler, endotel hücreler, fibroblastlar ve çeşitli dokular	Fibroblastlar için kemotaktiktir. Fibroblastlar ve keratinositler için mitojeniktir. Keratinosit migrasyonunu, anjiogenezi, yara kontraksiyonunu ve matriks depolanmasını stimüle eder.
Keratinosit Büyüme Faktörü	KGF	Fibroblastlar	Keratinosit migrasyonu, proliferasyonu ve farklılaşmasını stimüle eder.
İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü	IGF-1	Karaciğer, makrofajlar ve fibroblastlar	Sülfat proteoglikanların ve kollajenin sentezini, keratinosit migrasyonunu ve fibroblast proliferasyonunu stimüle eder. Growth hormona benzer endokrin etkileri vardır.
Bağ Dokusu Büyüme Faktörü	CTGF	Endotel hücreler ve fibroblastlar	Bazı konnektif doku hücreleri için kemotaktik ve mitojeniktir.
Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü	VEGF	Keratinositler	Damar permeabilitesini artırır, endotelial hücreler için mitojeniktir.
Tümör Nekrozis Faktör	TNF	Makrofajlar, mast hücreleri ve T-lenfositler	Makrofajları aktive eder. Fibroblastlar için mitojeniktir. Anjiogenezi stimüle eder. Diğer sitokinleri düzenler.
İnterlökinler	IL-1	Makrofajlar, mast hücreleri, keratinositler, lenfositler ve bazı dokular	PMNL' ler (IL-1) ve fibroblastlar (IL-4) için kemotaktiktir. Matriks metalloproteinaz-1 sentezini (IL-1), anjiogenezi (IL-8), TIMP sentezini (IL-6) stimüle eder ve diğer sitokinleri düzenler.
İnterferonlar	INF- α	Lenfositler ve fibroblastlar	Makrofajları aktive eder. Fibroblast proliferasyonunu ve matriks metalloproteinazların sentezini inhibe eder ve diğer sitokinleri düzenler.

2.5. ŞAŞILIKTA FİBROZİS VE YAPIŞIKLIK OLUŞUMUNU ÖNLEME AMAÇLI ÇALIŞMALAR

Şaşılık cerrahisinde önemli bir sorun yaratan fibrozis oluşumu ve buna bağlı oluşan yapışıklıkları önleyebilmek amacıyla daha önce pek çok ajan kullanılmıştır. Bu ajanlar yara iyileşmesinin değişik evrelerine etkilidir.

Glokom filtrasyon cerrahisinde fibrozisi önlemek için en sık kullanılan ajanlardan olan Mit-C şaşılık cerrahisinde de bu amaçla kullanılmıştır. Cengiz¹⁰ ve ark 47 tavşan gözünde ayarlanabilir sütür cerrahisi uygulamış, fibrozisin önlenmesi amacıyla da Mit-C ve Viscoat kullanmışlardır. Mit-C' nin erken dönemde, özellikle postoperatif 1. haftada etkili olduğu görülmüştür. Ancak ameliyat esnasında kullanılan Viscoat'un ayarlanmanın geciktirilebilmesi ve fibrozisin önlenmesinde etkisinin olmadığı ifade edilmiştir. Ekstraoküler kas cerrahisinde postoperatif yara iyileşmesi ve yapışıklık üzerine Mit-C' nin etkisinin araştırıldığı 24 gözü kapsayan bir başka tavşan çalışmasında ise, 1 dakika ve 5 dakika süreyle 0,5 mg / ml topikal Mit-C kullanılan her iki grupta da kollagen lif proliferasyonu azalmasının, dengeli tuz solüsyonu kullanılan kontrol grubuna göre daha iyi olduğu görülmüştür. Yine aynı şekilde b-FGF ekspresyonunun azalması her iki grupta kontrol grubuna göre üstün bulunmuştur. Ancak Mit- C' nin 1 dakika veya 5 dakika süreyle uygulanması arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.¹³

Antiadeziv ajan arayışında başvuru maddelerden biri sodyum hyaluronat olmuştur. Clorfeine ve ark⁴⁷ cerrahi sahadaki yapışıklıkları önleyebilmek amacıyla 14 konsekütif şaşılık hastasında sodyum hyaluronat kullanmışlar ve postoperatif yapışıklıkların azaldığını bildirmişlerdir. Searl ve ark¹¹ tarafından yapılan bir deneysel çalışmada tavşan gözünde yapışıklığı önleyebilmek amacıyla sodyum hyaluronat kullanılmıştır. Gözlerden birinde % 1' lik sodyum hyaluronat kas etrafına lokal olarak uygulanmış, diğer göz ise kontrol grubuna dahil edilmiştir. Bu çalışma sonunda yazarlar, % 1' lik sodyum hyaluronatın yapışıklıkları azaltabileceğini ifade etmişlerdir.

Antimetabolik bir ajan olan daunorubisinin kullanıldığı bir klinik çalışmada % 0,02' lik daunorubicin 3 dakika süreyle sklera yüzeyine uygulanmış, peşinden uygulama sahası yıkanmıştır. Kontrol grubunda ise cerrahi saha serum fizyolojikle yıkanmıştır. Çalışma sonucunda yapışıklıkların önlenmesinde daunorubisin kontrol grubuna göre üstün bulunmuş ve intraoperatif % 0,02 daunorubisinin 3 dakika süreyle kullanımı önerilmiştir.¹²

Doku yapışıklığını azaltma çabaları içinde bariyer matriks ajanların kullanımı da yer almaktadır.

Shokida⁹ insanlarda ince bir silikon tabakayı kas ve sklera arasına yerleştirerek ameliyat sonrasında bu dokuların yapışmasını önlemeye çalışmış, bu sayede ayarlamayı 11 güne kadar geciktirmiştir. Son ayarlama sonrası silikon tabakayı çıkarmıştır.

Hwang ve Chang⁴⁸ tarafından yapılan bir deneysel tavşan çalışmasında Interceed ve poliglaktin 910 vikril bariyerin ayarlanabilir sütür cerrahisinde, ayarlama süresi ve doku yapışıklıkları üzerine etkinliği araştırılmıştır. Interceed grubunda bulunan beş gözün dördünde 1. haftada ayarlama yapılabilmektedir. Bu grupta 2. haftada ancak bir gözde ayarlama mümkün olmuş, 3. haftada ise hiçbir gözde ayarlama yapılamamıştır. Poliglaktin 910 bariyer ağ kullanılan beş gözün üç tanesinde 1. haftada ayarlama yapılabilmektedir, 2. ve 3. haftada ise hiçbir gözde ayarlama yapılamamıştır. Yazarlar bir diğer çalışmalarında aynı modelde 5-FU ve Interceed' in etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, 5-FU, 5-FU + Interceed ve 5-FU + Interceed + Viscoat kullanılan üç grup oluşturularak kas gerginliği ve ayarlama süresi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, 5-FU + Interceed + Viscoat'un birlikte kullanılmasıyla ayarlamaların postoperatif 1. haftada yapılabileceği bildirilmiştir.¹⁸

Choi ve ark¹⁹ tavşan gözünde ayarlanabilir sütür cerrahisinde ADCON-L' in etkinliğini değerlendirdikleri bir çalışmada ADCON-L'in, BSS kullanılan kontrol grubuna göre üstünlüğü olduğunu göstermişlerdir.

Özkan ve ark²⁰ bir deneysel tavşan çalışmasında şaşılık cerrahisinde dokular arasında oluşan yapışıklıkları önleyebilmek için Seprafilm membran kullanmışlardır. Sonuçta kas, konjonktiva ve sklera dokuları arasında oluşan yapışıklıkların Seprafilm membran ile azaldığını bildirmişlerdir.

Lee ve ark¹⁶ deneysel çalışmalarında PTFE/PLGA kullanarak sütür ayarlamasını 3 ve 5. haftada gerçekleştirdiklerini ifade etmişlerdir. PTFE kullanılan grupta 3. haftada 8 gözün 5 tanesinde, 5. hafta sonunda ise 10 gözün 5 tanesinde ayarlama yapılabildiği görülmüştür. PTFE/PLGA kullanıldığında ise, hem 3, hem de 5. haftada 10 gözün 8' inde ayarlama mümkün olmuştur.

Bir diğer deneysel tavşan çalışmasında poliüretan film uygulamasının ayarlamayı 6 haftaya kadar geciktirebileceği ileri sürülmüştür.¹⁴

Günümüzde kullanılan bu ajanlardan hiçbiri klinikte rutin kullanıma girmemiştir. İdeal antiadeziv, antifibrotik madde arayışı devam etmektedir.

2.6. ÇALIŞMAMIZDA KULLANILAN AJANLARIN ÖZELLİKLERİ

2.6.1. Suramin

Suramin 1920' lerde antitripanosidal aktivitesi nedeniyle farmakolojik ajan olarak kullanılmaya başlamış ve onkoserkiazis tedavisinde uzun süre yararlanılmıştır. Hekzasülfonatlı bir naftilüredir ve 1429 dalton molekül ağırlığı vardır. Bazı büyüme faktörlerinin biyolojik aktivitelerini bloke eder. IL-1 ve IL-2' nin fonksiyonlarını baskılar. PDGF salınımını engeller. IGF-1 ve IGF-2' yi baskılar. Angiogenezi ve bazı tümör hücrelerinin invazyonunu engeller. Tümör hücrelerinin adezyonunu bozar. Reverse transkriptazı engellediği fark edilince AIDS tedavisinde kullanımı düşünülmüş, fakat bu alanda başarılı olunamamıştır.⁴⁹

Suramin onkoloji hastalarının tedavisinde, özellikle metastatik böbrek tümörleri, adenokarsinomalar, lenfomalar, prostat kanseri ve yüksek dereceli gliomalarda kullanılmaktadır.⁵⁰⁻⁵³

Sistemik kullanımda çok sayıda yan etkisi vardır. Bu nedenle yaygın kullanım alanı bulamamıştır. Bunlar arasında sensoriyel / motor nöropatiler, parestezi, anemi, lenfopeni, trombositopeni, pıhtılaşma bozuklukları, ateş, halsizlik, adrenal yetmezlik, ishal sayılabilir. Ek olarak sistemik kullanımda gözde fotofobi, iritis, vorteks keratopati, optik nöropati ve hipermetropik kayma bildirilmiştir.^{49,54}

Suramin daha önce oftalmolojik araştırmalarda kullanılmış bir ajandır. Bu çalışmaların daha çok glokomda yeni bir adjuvan ajan bulabilmek amacıyla yapıldığı görölmektedir.⁵⁵⁻⁵⁷ Mietz ve ark⁵⁸ yaptıkları bir invitro çalışmada suraminin konjonktiva ve tenon kapsülündeki fibroblastlarda tip I ve tip III kollajen sentezini baskıladığını göstermişlerdir.

Suraminin deneysel bir sıçan modelinde immün cevabı modüle ettiği, deneysel bir fare modelinde ise angiogenezi baskıladığı görölmüştür.^{59,60}

2.6.2. Genistein

Besinsel genistein soyada bulunan doğal bir flavone bileşiğidir. Vasküler endotel hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder.⁶¹

İsoflavonoidlerin antianjiojenik etkilerinin araştırıldığı bir deneysel çalışmada b-FGF aracılığı ile uyarılmış kornea vaskülarizasyonu üzerine etkili olduğu görölmüş, genistein ve diğer isoflavonoidlerin anti-anjiojenik etki ile hücre döngüsünü durdurduğu gösterilmiştir.⁶²

Genistein tirozin kinaz üzerine inhibitor etkilidir.^{61,62} Başta EGF, b-FGF, PDGF tirozin kinazları olmak üzere bazı sitokinlerin reseptörlerine yüksek afinite gösterir.⁶²

İsoflavanoidlerin fare meme kanseri hücrelerinde VEGF ve TGF- β ekspresyonunu azalttığı görölmüştür.⁶³

Ratlarla oluşturulmuş bir deneysel çalışma modelinde, doğal bir isoflavon olan genisteinin galaktoza bağlı olarak diyetle ortaya çıkan kataraktı engellemediği, ancak geciktirdiği ifade edilmiştir.⁶⁴

Bir tavşan deneysel cerrahi modelinde intravitreal uygulanan genisteinin retina pigment epitel iyileşmesini bozucu etkisi ve koriokapiller rejenerasyonun inhibisyonuna önemli etkisi olduğu gösterilmiştir. Burdan yola çıkılarak genistein gibi tirozin kinaz inhibitörlerinin koriokapiller neovaskülarizasyon tedavisinde gelecekte farmakolojik ajan olarak kullanılabileceği yorumu yapılmıştır.⁶¹

2.6.3. DuraGen

DuraGen bir adhezyon bariyer matrikstir. Sığır aşıl tendonundan üretilmiş tip I kollagen matrikstir. Dural defektlerin onarımında kullanılır. DuraGen plus adhezyon bariyer matriks peridural fibrozisin azaltılmasında yararlı bir adhezyon bariyeridir ve dural defektlerin restorasyonu ve tamiri için kullanılan absorbe edilebilen bir implanttır. DuraGen plus matrix kolay kullanılabilen, yumuşak, beyaz, bükülebilir, kolay parçalanmayan, gözenekli, kollajen yapıda bir matrikstir. Dural defektin ortaya çıkacağı kraniyal ve spinal cerrahi prosedürlerde kullanılmaktadır. Kullanılan bölgenin yüzeyine kolayca uyum sağlar. Yeni kollajen depositlerinin ve fibroblastların infiltrasyonu için bir düzgün yapı iskeleti sağlar. İmplantasyon sonrası dokuların histopatolojik incelemesi fibroblast penetrasyonu ve kollajen proliferasyonu ile uyumlu bulunmuştur.^{65,66}

Sentetik duraplasti materyali DuraGen, bir çalışmada Alloderm'e göre, kullanım kolaylığı nedeniyle önemli ölçüde kısa ameliyat süresi sağlamıştır.⁶⁷

2.6.4. Dimetilsülfoksit

DMSO' in hücredeki özgün etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte kuvvetli hidroksil radikal tutucu ve antioksidan özelliği vardır ve bu özelliğinin bu maddenin etkinliğinde rol oynadığı kabul edilmektedir.⁶⁸ DMSO' in

hidroksil radikali tutucusu olması nedeniyle hücre kültürlerinde radyasyon zararlarından koruyucu olarak kullanılabilceği ifade edilmektedir.⁶⁹

Tavşan gözünde korneal alkali yanık oluşturularak, topikal % 20 DMSO' in etkinliğinin araştırıldığı bir deneysel çalışmada 3. günde korneal opasifikasyon ve korneal ülserasyon DMSO grubunda kontrol grubundan anlamlı düzeyde az bulunmuştur. Ancak bu etki çalışmanın ilerleyen günlerinde korunamamıştır.⁷⁰ Çalışmamızda DMSO toz formundaki genisteinin çözücüsü olarak kullanılmıştır ve bu nedenle DMSO kontrol grubu oluşturulmuştur.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu' nun onayı ve Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Kurulu'nun izni ile başlanan çalışma, Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi Araştırma Ünitesi'nde yetiştirilen ve bakımı yapılan 18 Yeni Zelanda albino tavşanı ile yapıldı. Proje kodu DA06/34 olan bu çalışma, Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklendi.

Bu çalışmaya 18 adet tavşanın 36 gözü dahil edilmiştir. Tavşanların 6 tanesi erkek, 12 tanesi dişi olup, ağırlıkları 2500 gr ile 4500 gr (ortalama 3600 gr) arasında değişmekteydi. Tavşanlar ve gözler rastgele seçildi. Bütün tavşanlara 1 ile 18 arasında numara verildi ve kulakları numaralandı. Sağ gözler çalışma gruplarına, sol gözler ise kontrol gruplarına alındı. Tavşanlardan 5 grup oluşturuldu. Çalışma grubu olarak suramin, genistein ve DuraGen selüler matriks kullanılan ve her biri 6 gözden oluşan 3 grup oluşturuldu. Kontrol grubu olarak 2 grup oluşturuldu. Bir gruba genistein preparatının çözücüsü olması nedeniyle DMSO uygulandı, diğer kontrol grubunda sadece SF kullanıldı. DMSO ile kontrol grubu oluşturulmasının nedeni DMSO' in genisteinin çözücüsü olması ve bu karışımın kas, konjonktiva ve skleral yatakta oluşturabileceği olası etkiyi gözlemlemektir. DMSO kontrol grubuna 6 göz, SF kontrol grubuna 12 göz dahil edildi.

3.1. İLAÇLAR VE DURAGEN BARIYER MATRİKSİN HAZIRLANIŞI

3.1.1. Suraminin Hazırlanışı

SİGMA firmasından elde edilen suramin Na 500 mg toz (Şekil 1) kullanıldı. Gerekli olan suramin miktarı hassas terazi (Sartorius AG, BL 6100, Goettingen, Almanya) ile tartılarak dengeli tuz çözeltisi içinde süspansiyon haline getirildi. Ardından elde edilen süspansiyon Eppendorf tüpleri içerisine konularak

vorteks cihazı (Velp, Scientifika) ile hiç tortu kalmayacak şekilde çözüldü. 250 mg / ml olarak hazırlanan bu çözelti steril ppd enjektörüne çekilip cerrahi sahaya taşındı.



Şekil 1. Suramin sodyum 500 mg toz

3.1.2. Genisteinin Hazırlanışı

SİGMA firmasından elde edilen genistein 25 mg toz (Şekil 2) kullanıldı. Toz formundaki genistein -80 derece ısıda saklandı. Çalışma günü çözücüsü olan DMSO içinde çözülerek 0,5 mg / ml dozunda olacak şekilde steril şartlarda hazırlandı. Steril ppd enjektörü içinde cerrahi sahaya taşındı.



Şekil 2. Genistein 25 mg toz

3.1.3. Selüler Matriks DuraGen'in Hazırlanışı

Ticari olarak 7,5 x 7,5 cm boyutlarında bulunan steril bariyer matriks (İntegra Neuroscience, Plainsboro, NJ) kullanıldı (Şekil 3, 4). Kas dokusunun altına ve üstüne yerleştirilmek üzere 1 x 0,5 cm büyüklük ve 0,2 mm kalınlıkta parçalar kesilerek hazırlandı. Kas çekme kuvveti ve adezyon kontrolü amacıyla konjonktiva açıldığında DuraGen matriks parçasının erode olduğu saptandığında aynı ebatlarda hazırlanan yeni parça ile değiştirildi.



Şekil 3, 4. Steril DuraGen plus bariyer matriks

3.1.4. Dimetilsülfoksitin Hazırlanışı

SİGMA firmasından elde edilen DMSO 100 ml solüsyon (Şekil 5) kullanıldı. Solüsyon herhangi bir işlem uygulanmadan direkt ppd enjektörüne çekildi ve steril olarak cerrahi sahaya taşındı.



Şekil 5. DMSO 100 ml solüsyon

3.2. CERRAHİ ÖNCESİ HAZIRLIK

Operasyondan önce tavşanlar 6 saat süreyle aç bırakıldılar. Tavşanlara ketamin hidroklorid 40 mg/kg ve xylazine hidroklorid 5 mg/kg intramusküler yapılarak anestezi sağlandı. Tavşanlar operasyon masasına yan yatırılarak başa pozisyon verildi. Peroperatif cerrahi antisepsis, betadine (povidone iyodin % 10) solüsyonu steril spanç yardımı ile kapaklara ve konjonktivaya uygulanarak elde edildi. Kapaklara 20 cm x 15 cm boyutlarında steril drape örtüldükten sonra kapak aralığına uyan bölge makasla kesildi. Blefarosta yardımıyla kapak ekartmanı sağlandı. Oküler yüzey topikal proparakain (Alcaine, Alcon) yardımıyla anestetize edildi.

3.3. CERRAHİ YAKLAŞIM

Bütün gruplarda üst rektus kasında çalışıldı. Üst kadrandan limbal konjonktival insizyonu takiben Westcott makası ile künt diseksiyon yapılarak üst

rektus kasına ulaşıldı. Üst rektus kasının insersiyosunun 1 mm gerisine kastan önce lameller sonra penetran geçecek şekilde çift iğneli 6/0 vikril (Ethicon) suture konuldu, iki yanlarda kilitlendikten sonra kas insersiyon bölgesinden kesilerek ayrıldı.

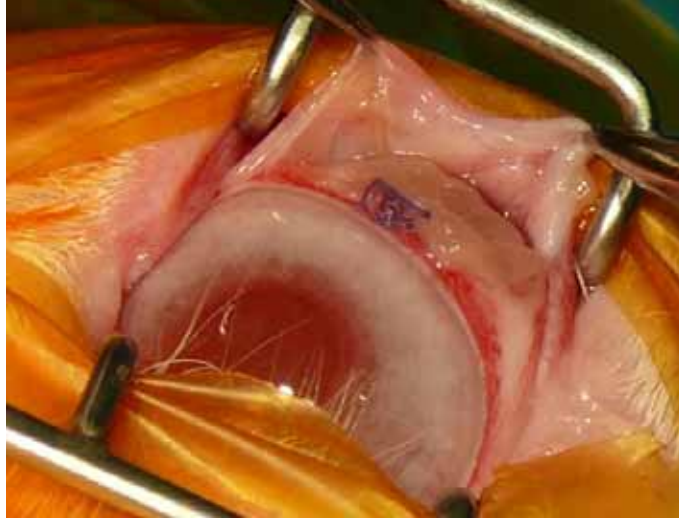
Bundan sonraki aşamada gruplarda şu işlemler yapıldı:

3.3.1. DuraGen Grubu

Kas dokusunun altına ve üstüne 1 cm x 0,5 cm boyutlarında ve 2 mm kalınlığında DuraGen matriks yerleştirildi. (Şekil 6, 7) Daha sonra üst rektus kası orijinal insersiyon yerine suture iğneleri çapraz oluşturacak şekilde girildi. Kas insersiyon bölgesinden 5 mm geriye alındı ve fiyonk yöntemi ile ayarlanabilir suture konuldu. Gerginlik ölçümü ve adezyon kontrolü amacıyla konjonktiva açıldığında eğer bu DuraGen matriksin erode olduğu gözlenmiş olursa aynı boyutlarda hazırlanan yenisi ile değiştirildi.



Şekil 6. DuraGen matriksin kas dokusu üzerine yerleştirilmesi



Şekil 7. Kas dokusu üzerine yerleştirilmiş DuraGen bariyer matriks

3.3.2. Suramin Grubu

Bu grup tavşanlarda suramin (250 mg/ml) kullanıldı. Steril ppd enjektöründe cerrahi sahaya taşınan suramin, uygun büyüklüklerde hazırlanmış üçgen spançlara emdirilerek kas üzerine ve altına yerleştirilip 2 dk bekletildikten sonra cerrahi saha bol serum fizyolojikle yıkandı. (Şekil 8, 9) Daha sonra üst rektus kası orijinal insersiyon yerine sütür iğneleri çapraz oluşturacak şekilde girildi. Kas insersiyon yerinden 5 mm geriye çekildi ve fiyonk yöntemi ile ayarlanabilir sütür konuldu.

3.3.3. Genistein Grubu

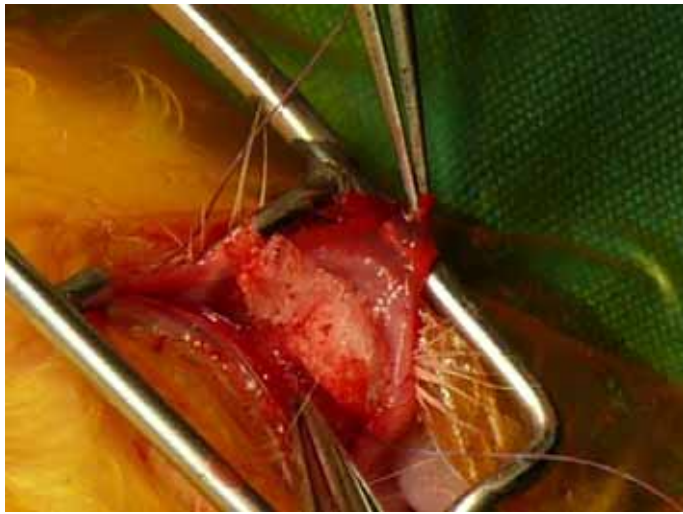
Genistein 0,5 mg/ml kullanıldı. Genistein uygun büyüklükte hazırlanmış üçgen spançlara emdirilerek kas üzerine ve altına yerleştirilip 2 dk bekletildikten sonra cerrahi saha serum fizyolojikle yıkandı. (Şekil 8, 9) Diğer gruplarda olduğu gibi üst rektus kası orijinal insersiyon yerine sütür iğneleri çapraz oluşturacak şekilde girildi. Kas 5 mm geriye alınarak fiyonk yöntemi kullanılarak ayarlanabilir sütür ile sütüre edildi. Aynı dozda genistein günde 4 kez olmak üzere topikal olarak 3 hafta süresince kullanıldı.

3.3.4. DMSO Grubu

Solüsyon herhangi bir işlem uygulanmadan direkt ppd enjektörüne çekildi. Steril olarak cerrahi sahaya taşındı. Uygun büyüklükte hazırlanmış üçgen spançlara emdirilerek kas altına ve üstüne yerleştirildi. 2 dk bekletildikten sonra cerrahi saha bol serum fizyolojikle yıkandı. (Şekil 8, 9) Daha sonra üst rektus kası orijinal insersiyon yerine sütür iğneleri çapraz oluşturacak şekilde girildikten sonra kas 5 mm geriye alınarak fiyonk yöntemi ile ayarlanabilir sütür konuldu.



Şekil 8. Suramin, Genistein ve DMSO' in spanç yardımıyla cerrahi sahaya uygulanması



Şekil 9. Suramin, Genistein ve DMSO' in spanç yardımıyla cerrahi sahaya uygulanması

3.3.5. Serum Fizyolojik Grubu

Herhangi bir ilaç ya da matriks kullanılmayan bu grupta üst rektus kası orijinal insersiyon yerinden ayrıldıktan sonra cerrahi bölge SF ile yıkandı. Sütür iğneleri çapraz oluşturacak şekilde insersiyon bölgesine girildi ve kas 5 mm geriye alındıktan sonra fiyonk yöntemi kullanılarak ayarlanabilir sütür ile suture edildi.

Tüm gruplarda fiyonk sütür konulurken, kas çekme kuvveti ölçümü sırasında kullanılmak amacıyla, hassas kantarın çengel ucuna takılmak üzere sütürün distal ucunda bir halka oluşturuldu. Yine aynı şekilde tüm gruplarda konjonktiva orijinal anatomik yerine 8/0 vikril (Ethicon) sütür kullanılarak suture edildikten sonra birinci seans cerrahi sonlandırıldı.

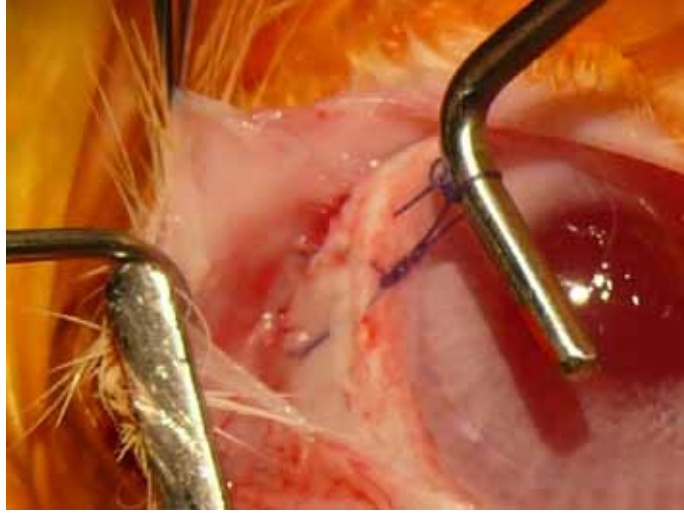
3.4. POSTOPERATİF İŞLEMLER

3.4.1. Kas çekme kuvvetinin ölçülmesi

Bu işlem için 2, 7, 14 ve 21. günlerde sistemik ve topikal anestezi eşliğinde konjonktiva yeniden açıldı. Kas çekme kuvveti düzeylerini ölçmek için 5 gr aralıklarla 0-225 gr arasında ölçüm yapabilen Gpp-8 (API, Canada) hassas kantar kullanıldı. (Şekil 10, 11) Bu işlem için konjonktiva açılarak sütür bölgesi ekspoze edildi. Daha önceden hassas kantarın çengel ucuna takılmak üzere fiyonk sütür konulurken oluşturulan halkadan yararlanılarak çengel uç halkaya takıldı. (Şekil 12, 13, 14) Sütür kas eksenine paralel olarak korneaya doğru çekilerek kas insersiyon bölgesine yaklaştırılmaya çalışıldı. Çekim sırasında kasın insersiyon bölgesine ne kadar yaklaştığı (milimetre) ve bunun için gereken kuvvet (gram) ölçüldü ve kaydedildi. Kasın insersiyon bölgesine her 1 mm yaklaşması için gereken kuvvet gr olarak hesaplandı ve istatistiksel değerlendirmede bu sayısal değer kullanıldı. Ölçüm sonrası sütür serbest bırakılarak kasın eski yerine gitmesi sağlandı. Konjonktiva tekrar 8-0 vikril (ethicon) sütür ile kapatıldı.



Şekil 10, 11. Gpp-8 hassas kantar



Şekil 12, 13. Kas çekme kuvvetinin ölçülmesi



Şekil 14. Üst rektus kasının insersiyon bölgesine çekilmesi

3.4.2. Dokular arası yapışıklığın değerlendirilmesi

Postoperatif 2, 7, 14 ve 21. günlerde sistemik ve topikal anestezi eşliğinde kas çekme kuvveti ayarlamasının yapılması için konjonktiva açıldığı zaman kas-konjonktiva ile kas-sklera dokuları arasında oluşmuş olan yapışıklıklar değerlendirilip, derecelendirilerek kaydedildi. Değerlendirmede yapışıklık sıfırdan dörde kadar derecelendirildi.¹⁸

Grade 0: Adezyon yok

Grade 1: Künt diseksiyonla kolayca ayrılan hafif yapışıklık

Grade 2: Künt diseksiyonla ayrılan hafif-orta düzeyde yapışıklık

Grade 3: Künt diseksiyonla zor ayrılan orta-şiddetli yapışıklık

Grade 4: Ayrılmayan yapışıklık

Bütün gruplarda postoperatif sürede enfeksiyon oluşumunun önlenmesi amacıyla topikal tobramisin (Tobrex-Alcon) damla 3x1 dozunda kullanıldı.

Yirmibirinci gün sonunda gözlere enükleasyon yapıldı. Enükleasyon sonrası kas dokusu ile komşu sklera ve konjonktivayı içeren dokular ayrıldı ve ikiye bölünerek histopatolojik inceleme ve immünohistokimyasal inceleme için patoloji bölümüne teslim edildi.

3.5. PATOLOJİK İNCELEME GEREÇ VE YÖNTEM

Patolojik incelemede cerrahi sahada yer alan kas, konjonktiva ve sklera dokularını içeren doku parçaları, HE ile boyanarak histopatolojik olarak incelenmiş, VEGF Ab-3, MAC 387, CD105 (TGF-beta 1/3 receptor, Endoglin) ve b-FGF ile boyanarak immünohistokimyasal inceleme yapılmıştır.

3.5.1. Histopatolojik İnceleme

Hematoksilen Eozin:

Bu inceleme için %10 tamponlu formolde fikse edilip parafin bloklara gömülmüş olan dokulardan 3µ kalınlıkta kesitler lamlara alınmıştır. Bu örnekler

56°C' lik etüvde 1 gece, 5'er dakika 2 defa ksilen, 2 defa alkol ile deparafinize edildikten sonra standart HE tekniği ile boyanmıştır.

Işık mikroskopik incelemede değerlendirilen parametreler;

- 1- Çizgili kas dokusunun varlığı
- 2- Çizgili kas dokusu içinde yangının varlığı ve derecesi
- 3- Çizgili kas dokusu içinde çok çekirdekli dev hücre varlığı
- 4- Tüm dokuda en çok bulunan alanda en büyük büyütme alanında (x40) çok çekirdekli dev hücre sayısı

3.5.2. İmmünohistokimyasal İnceleme

a. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Ab-3

VEGF ekspresyonunu değerlendirmek için %10 tamponlu formolde fikse edilip parafin bloklara gömülmüş olan dokulardan 3µ kalınlıkta kesitler poly-L-lizin kaplı lamlara alınmıştır. Bu örnekler 56°C'lik etüvde 1 gece, 5'er dakika 2 defa ksilen, 2 defa alkol ile deparafinize edilmiştir. Deparafinize edilen kesitler mikrodalga fırında 20 dakika yüksek derecede Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA, PH:8,) ile kaynatılmıştır. Oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. Ardından Tris Buffered saline (TBS; PH: 7.6, 50 µmol Tris HCl, 150 µmol) ile yıkanıp 15 dakika biotin, tekrar TBS, sonra 15 dakika avidin, tekrar TBS uygulanmıştır. 3-amino, 9-ethyl Carbozole (AEC) kromojende 15 dakika bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. On saniye Hemotoksilende bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkanıp AEC kromojen jeli ile kapatılmış değerlendirilmeye hazır hale getirilmiştir.

Işık mikroskopisinde değerlendirilirken;

- 1- Damarlanma artışının en çok olduğu alanda en büyük büyütme alanındaki (x40) damarlar ve bu damarların kaç tanesinde VEGF ekspresyonunun olduğu saptanmıştır.
- 2- Kas içindeki yangısal infiltratta yine en büyük büyütme alanındaki (x40) hücrelerin kaçında VEGF ekspresyonunun olduğu belirtilmiştir.

3- Konjonktival epitelde yaklaşık 100 hücre sayılarak kaçında VEGF ekspresyonunun olduğuna bakılmıştır.

b. Monoclonal antibody to Macrophages (MAC 387)

MAC 387 dokuda makrofaj belirteci olarak kullanılan monoklonal bir antikordur. Sitoplazmik boyanma göstermektedir.⁷¹ MAC 387 ekspresyonunu araştırabilmek amacıyla %10 tamponlu formolde fikse edilip parafin bloklara gömülmüş olan dokulardan 3µ kalınlıkta kesitler poly-L-lizin kaplı lamlara alınmıştır. Bu örnekler 56°C'lik etüvde 1 gece, 5'er dakika 2 defa ksilen, 2 defa alkol ile deparafinize edilmiştir. Ardından sitrat buffer ile 20 dakika antijen retrieval yapılmış, oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakılmıştır. Ardından çeşme suyunda yıkanmış, H₂O₂ ile 15 dakika muamele edildikten sonra Tris Buffered Saline (TBS; PH: 7.6, 50 µmol Tris HCl, 150 µmol) ile yıkanıp MAC 387 Antikoru (NOVUS) eklenerek 2.5 saat antikorda bekletilmiştir. Ardından TBS ile yıkanıp 15 dakika biotin, tekrar TBS, sonra 15 dakika avidin, tekrar TBS uygulanmıştır. AEC kromojende 15 dakika bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. On saniye Hemotoksilende bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkanıp 3-amino, 9-ethyl Carbozole (AEC) kromojen jeli ile kapatılmış değerlendirilmeye hazır hale getirilmiştir.

Işık mikroskopik incelemede;

- 1)Kas dokusu içinde makrofajın olup olmadığı
- 2)Kas dokusunda makrofaj varsa, bunların sayısı kaydedilmiştir.

c. CD105 (TGF-beta 1/3 receptor, Endoglin)

Bu inceleme için %10 tamponlu formolde fikse edilip parafin bloklara gömülmüş olan dokulardan 3µ kalınlıkta kesitler poly-L-lizin kaplı lamlara alınmıştır. Bu örnekler 56°C'lik etüvde 1 gece, 5'er dakika 2 defa ksilen, 2 defa alkol ile deparafinize edilmiştir. Ardından sitrat buffer ile 20 dakika antijen retrieval yapılmış, oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakılmıştır. Ardından çeşme

suyunda yıkanmış, H₂O₂ ile 15 dakika muamele edildikten sonra Tris Buffered Saline (TBS; PH: 7.6, 50 µmol Tris HCl, 150 µmol) ile yıkanıp CD 105 Antikoru (Neomarkers) eklenerek 2.5 saat antikorda bekletilmiştir. Ardından TBS ile yıkanıp 15 dakika biotin, tekrar TBS, sonra 15 dakika avidin, tekrar TBS uygulanmıştır. AEC kromojende 15 dakika bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. On saniye Hemotoksilende bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkanıp 3-amino, 9-ethyl Carbozole (AEC) kromojen jeli ile kapatılmış değerlendirmeye hazır hale getirilmiştir.

Işık mikroskopik incelemede;

- 1- Damarlanma artışının en çok olduğu alanda en büyük büyütme alanındaki (x40) damarlar ve bu damarların kaç tanesinde TGF beta ekspresyonu olduğu saptanmıştır.
- 2- Konjonktival epitelde yaklaşık 100 hücre sayılarak kaçında TGF beta ekspresyonunun olduğuna bakılmıştır.
- 3- Kas içindeki yangısal infiltratta yine en büyük büyütme alanındaki (x40) hücrelerin kaçında TGF beta ekspresyonunun olduğu belirtilmiştir.
- 4- Kas içindeki yangısal infiltratta en büyük büyütme alanında (x40) lenfosit sayılarak bunların kaç tanesinde TGF beta ekspresyonunun olduğu belirtilmiştir.

d. b-FGF (basic Fibroblast growth Factor)

Benzer şekilde FGF ekspresyonuna bakabilmek için %10 tamponlu formolde fikse edilip parafin bloklara gömülmüş olan dokulardan 3µ kalınlıkta kesitler poly-L-lizin kaplı lamlara alınmıştır. Bu örnekler 56°C'lik etüvde 1 gece, 5'er dakika 2 defa ksilen, 2 defa alkol ile deparafinize edilmiştir. Deparafinize edilen kesitler mikrodalga fırında 20 dakika yüksek derecede EDTA ile kaynatılmıştır. Oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkanmıştır. Peşinden 15 dakika H₂O₂'de bekletilmiştir. Daha sonra TBS ile

yıkayıp 15 dakika biotin, tekrar TBS, sonra 15 dakika avidin, tekrar TBS uygulanmıştır. AEC kromojende 15 dakika bekletildikten sonra çeşme suyu ile yıkamıştır. On saniye Hemotoksilende bekletildikten sonra tekrar çeşme suyu ile yıkayıp 3-amino, 9-ethyl Carbozole (AEC) kromojen jeli ile kapatılmış değerlendirmeye hazır hale getirilmiştir.

Işık mikroskopisinde değerlendirilirken;

- 1- Damarlanma artışının en çok olduğu alanda en büyük büyütme alanındaki (x40) damarlar ve bu damarların kaç tanesinde b-FGF ekspresyonu olduğu saptanmıştır.
- 2- Konjonktival epitelde yaklaşık 100 hücre sayılarak kaçında b-FGF ekspresyonu olduğuna bakılmıştır.
- 3- Kas içindeki yangısal infiltratta yine en büyük büyütme alanındaki (x40) hücrelerin kaçında b-FGF ekspresyonu olduğu belirtilmiştir.

3.6. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Mekanik incelemede aynı günde yapılan ayarlamalarda gruplar arasında fark olup olmadığı Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlı fark bulunduğu zaman farkın hangi gruptan kaynaklandığını anlayabilmek amacıyla Mann-Whitney U testi kullanıldı. Friedman varyans analizi kullanılarak aynı grup için 2, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilen değerler karşılaştırıldı. Sonuçlar anlamlı çıktığında farkın hangi gruptan kaynaklandığını anlayabilmek amacıyla Wilcoxon testi yapıldı.

İmmünohistokimyasal çalışmada Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılarak grup analizi yapıldı. Burada istatistiksel olarak anlamlı sonuçla karşılaşıldığında farkın hangi gruptan kaynaklandığını anlayabilmek için Mann-Whitney U testi kullanılarak grup içi kıyaslama yapıldı.

HE boyası ile yapılan histokimyasal çalışmada Kruskal-Wallis varyans analizi kullanılarak grup analizi yapıldı. Burada istatistiksel olarak anlamlı sonuçla karşılaşıldığında farkın hangi gruptan kaynaklandığını anlayabilmek için Mann-Whitney U testi kullanılarak grup içi kıyaslama yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. HİSTOPATOLOJİK ve İMMÜNHİSTOKİMYASAL İNCELEME BULGULARI

4.1.1. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME BULGULARI

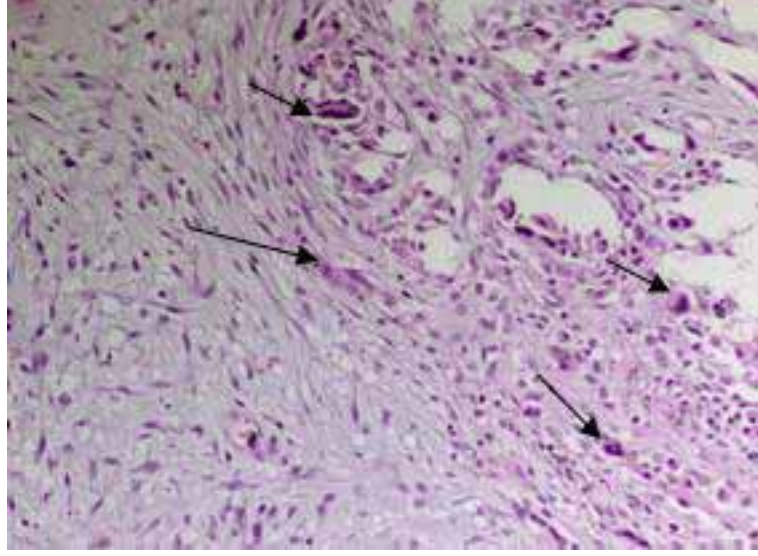
HE boyası kullanılarak kas dokusu içinde dev hücre varlığı, dev hücre varsa bunların sayısı, stromal inflamasyonun varlığı ve bu stromal inflamasyonun derecesi araştırılmıştır. Kas dokusu içinde dev hücrenin olup olmaması bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p=0,120$). Stromal inflamasyonun varlığı ($p=0,087$) ve bu inflamasyonun derecesi ($p=0,148$) karşılaştırıldığında yine gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Kas dokusunda dev hücre sayısının Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak yapılan karşılaştırmasında grup içi farkın anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi ile gruplar arasında karşılaştırma yapılmış ve genistein ile SF grupları arasında anlamlı fark izlenmiştir ($p=0,007$). Gruplara göre kas dokusunda dev hücre sayısının dağılımı Tablo 2’ de görülmektedir. Genistein ve SF gruplarında HE boyası ile kas dokusunda dev hücre varlığı Şekil 15 ve 16’ de gösterilmiştir.

Tablo 2. Gruplara göre kas dokusunda dev hücre sayısının dağılımı

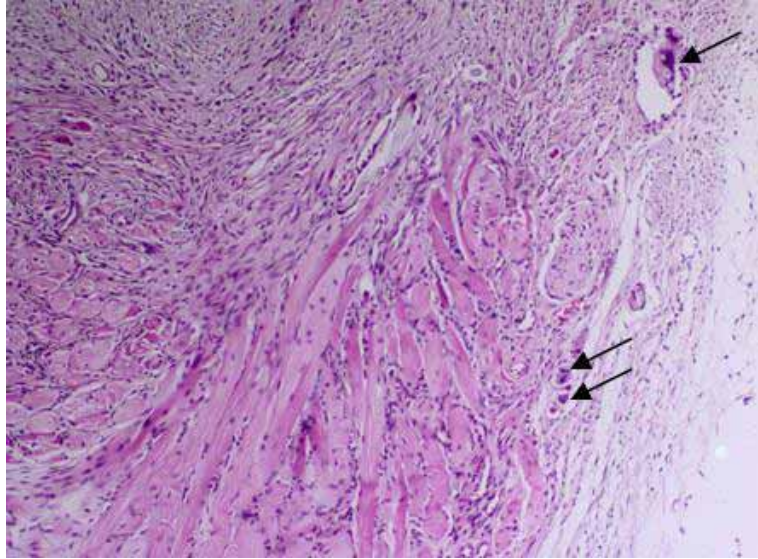
GRUP	DEV HÜCRE SAYISI Ortalama \pm SD
DURAGEN	6,5 \pm 5,2
SURAMİN	3,6 \pm 3,8
GENİSTEİN	1,3 \pm 1,5
SERUM FİZYOLOJİK	4,0 \pm 5,3
DİMETİLSÜLFOKSİT	5,3 \pm 4,0

Gruplar arası fark $p<0,05$ (Kruskal-Wallis grup analizi)

Genistein ile SF $p=0,007$ (Mann-Whitney U testi)



Şekil 15. SF grubunda HE ile yaygın fibrozis ve dev hücre (x 20)



Şekil 16. Genistein grubunda HE ile dokuda dev hücre (x 20)

4. 1. 2. İMMÜNİSTOKİMYASAL İNCELEME BULGULARI

a. b-FGF

Konjonktiva epitelinde b-FGF ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 3’ de gösterilmiştir. Yaklaşık 100 adet epitel hücresi sayılarak, bunlardan kaç tanesinde ekspresyon olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi ile yapılan istatistiksel inceleme sonucunda, gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,0001$). Farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar birbiriyle karşılaştırılmıştır. En düşük değerler öncelikle genistein sonra suramin gruplarında izlenmiştir. Bu gruplarla kontrol grubu arasındaki fark anlamlıdır. Sonuçlar Tablo 3’ ün altında gösterilmiştir. Genistein, suramin ve SF gruplarındaki b-FGF epitel ekspresyonu örnekleri Şekil 17, 18 ve 19’ da gösterilmiştir.

Tablo 3. Konjonktiva epitelinde b-FGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	EPİTEL EKSPRESYONU Ortalama \pm SD %
DURAGEN	15,8 \pm 9,7
SURAMİN	3,9 \pm 7,3
GENİSTEİN	1,0 \pm 2,3
SERUM FİZYOLOJİK	23,9 \pm 8,3
DİMETİLSÜLFOKSİT	18,7 \pm 10,5

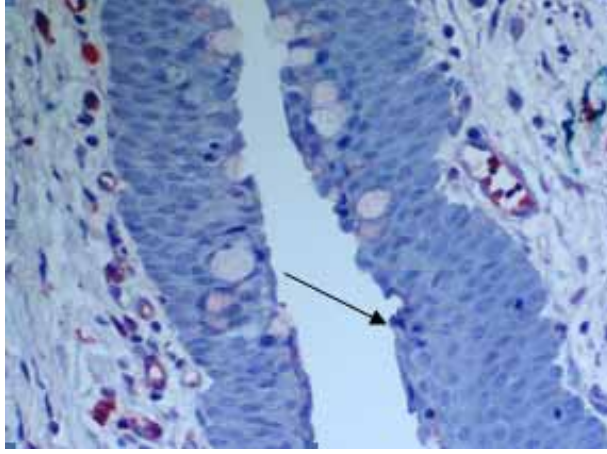
Gruplar arası fark $p=0,0001$ (Kruskal-Wallis grup analizi)

DuraGen ile Genistein arasında $p=0,002$

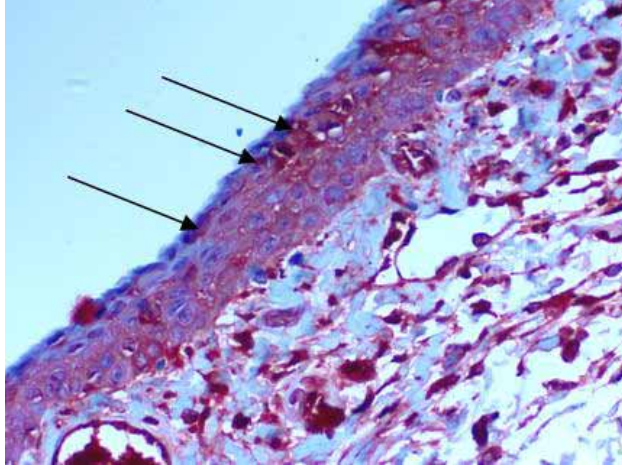
Suramin ile SF arasında $p=0,001$

Genistein ile SF arasında $p=0,0001$

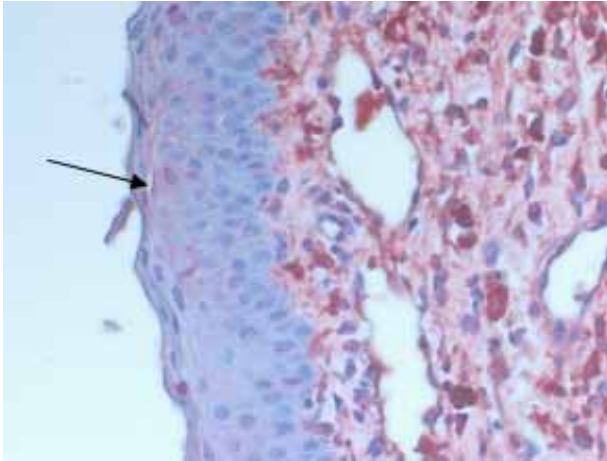
(Mann-Whitney U testi)



Şekil 17. Genistein grubunda konjonktival epitelde sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x40)



Şekil 18. SF grubunda konjonktival epitelde sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x40)



Şekil 19. Suramin grubunda konjonktival epitelde sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x40)

Damar endotelinde b-FGF ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 4’ de gösterilmiştir. İnceleme sahasındaki toplam damar endoteli sayılarak, bunlardan kaç tanesinde ekspresyon olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak bakıldığında sonuçların istatistiksel anlamlı olduğu görülmüştür (p=0,0001). Farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar birbiriyle karşılaştırıldığında ise DuraGen, suramin ve genistein gruplarında endotel ekspresyonunun kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde az olduğu izlenmiştir (p<0,05). En düşük ekspresyon genistein grubunda izlenmiştir. Genistein ile DMSO grupları arasındaki anlamlı fark bu etkinin aktif olarak genistein tarafından oluşturulduğunu göstermektedir. DuraGen grubunda genistein ve suramin gruplarından daha az olmakla birlikte SF grubuna göre b-FGF ekspresyonunda azalma anlamlıdır. Sonuçlar Tablo 4’ ün altında görülmektedir. Genistein, suramin ve SF gruplarında damar endotelinde b-FGF ekspresyonu örnekleri Şekil 20, 21 ve 22’ de gösterilmiştir.

Tablo 4. Damar endotelinde b-FGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	DAMAR EKSPRESYONU Ortalama ± SD %
DURAGEN	37,2 ± 11,3
SURAMİN	27,3 ± 7,6
GENİSTEİN	17,5 ± 7,7
SERUM FİZYOLOJİK	62,4 ± 11,8
DİMETİLSÜLFOKSİT	54,1 ± 16,5

Gruplar arası fark p=0,0001 (Kruskal-Wallis grup analizi)

DuraGen ile genistein p=0,004

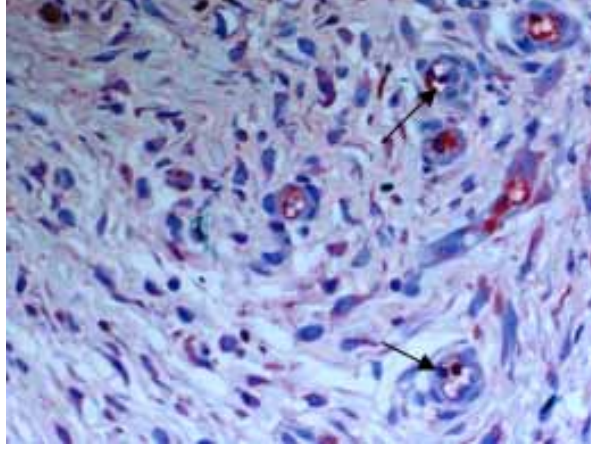
DuraGen ile SF p=0,002

Suramin ile SF p=0,0001

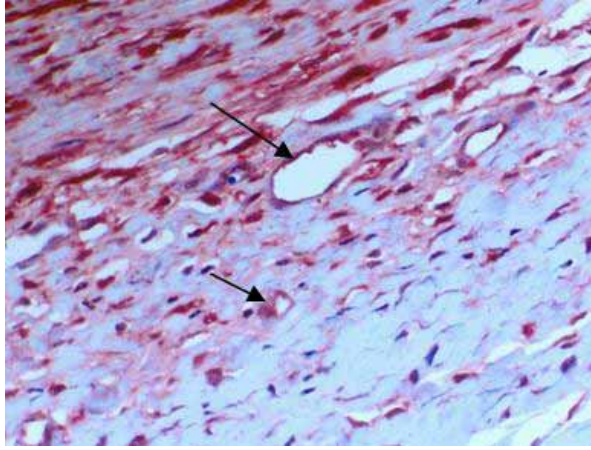
(Mann-Whitney U testi)

Genistein ile SF p=0,0001

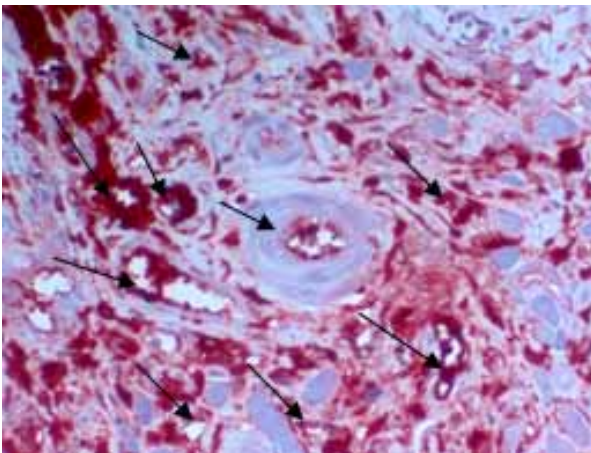
Genistein ile DMSO p=0,002



Şekil 20. Genistein grubunda damar endotelinde sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x 40)



Şekil 21. Suramin grubunda damar endotelinde sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x 40)



Şekil 22. SF grubunda damar endotelinde sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x 40)

Stromal yangısal infiltratta b-FGF ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 5’ te gösterilmiştir. Stromal infiltrat içinde yaklaşık 100 adet inflamatuvar hücre sayılmış ve bunlardan kaç tanesinde b-FGF ekspresyonu olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu grlmştir (p=0,0001). Farkın hangi gruptan kaynaklandığıнын tespit edilebilmesi amacı ile Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar arasında kıyaslama yapılmıştır. Genistein, suramin ve DuraGen alışma gruplarında stromal ekspresyonun SF kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde az olduğu grlmştir. Ayrıca genistein grubunda stromal ekspresyonun DMSO kontrol grubundan da anlamlı olarak az olduğu izlenmiştir. İstatiksel değerler Tablo 5’in altında grlmektedir. Genistein, suramin ve SF gruplarındaki stromal ekspresyon rnekleri Şekil 23, 24 ve 25’ de gösterilmiştir.

Tablo 5. Stromal yangısal infiltratta b-FGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	STROMAL İNFİLTRASYON
	Ortalama ± SD %
DURAGEN	20,0 ± 7,0
SURAMİN	18,1 ± 12,3
GENİSTEİN	14,3 ± 2,7
SERUM FİZYOLOJİK	48,4 ± 18,5
DİMETİLSÜLFOKSİT	26,3 ± 4,8

Gruplar arası fark p=0,0001 (Kruskal-Wallis grup analizi)

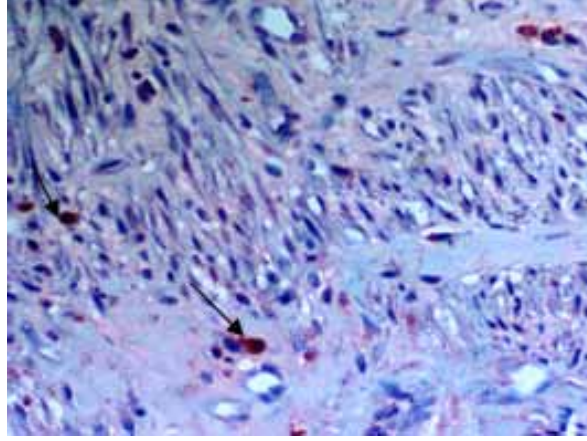
DuraGen ile SF p=0,002

Suramin ile SF p=0,002

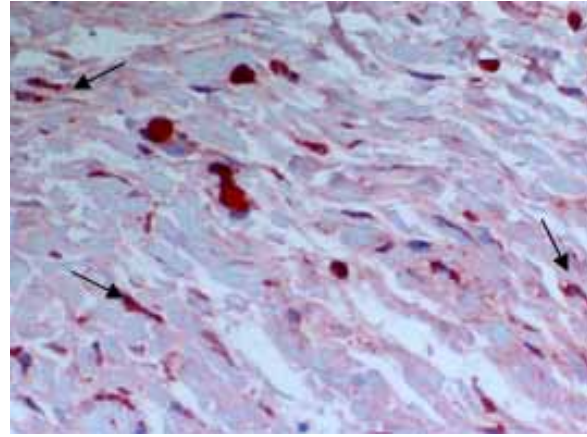
(Mann-Whitney U testi)

Genistein ile SF p=0,0001

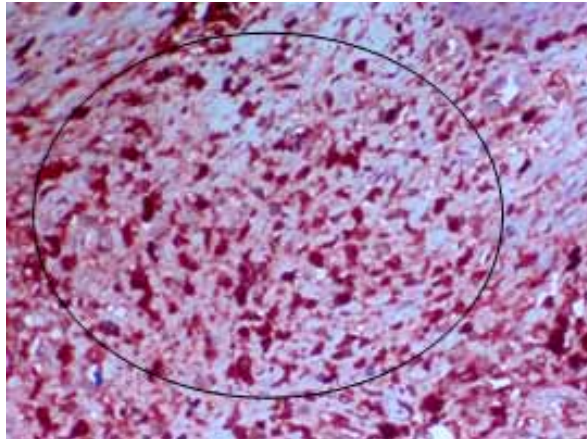
Genistein ile DMSO p=0,002



Şekil 23. Genistein grubunda stromal infiltratta sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x40)



Şekil 24. Suramin grubunda stromal infiltratta sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x40)



Şekil 25. SF grubunda stromal infiltratta yaygın sitoplazmik b-FGF ekspresyonu (x 40)

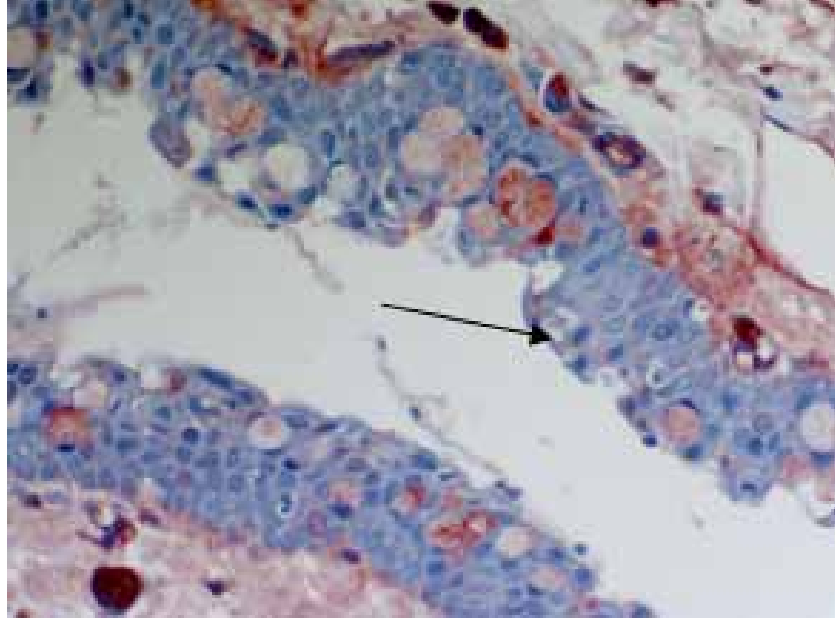
b. VEGF

Konjonktiva epitelinde VEGF ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 6’ da gösterilmiştir. Yaklaşık 100 adet epitel hücresi sayılarak, bunlardan kaç tanesinde ekspresyon olduğu kaydedilmiştir. Suramin grubunda konjonktiva epitelinde VEGF ekspresyonunun hiç olmadığı görülmüştür. Suramin grubunda ekspresyonun sıfır olması nedeniyle bu grup dışarıda tutularak Kruskal-Wallis grup analizi ile yapılan istatistiksel inceleme sonucunda, gruplar arasındaki fark anlamlı çıkmamıştır ($p=0,608$). Suramin ve SF gruplarındaki konjonktiva epiteli VEGF ekspresyonu örnekleri şekil 26 ve 27’ de gösterilmiştir.

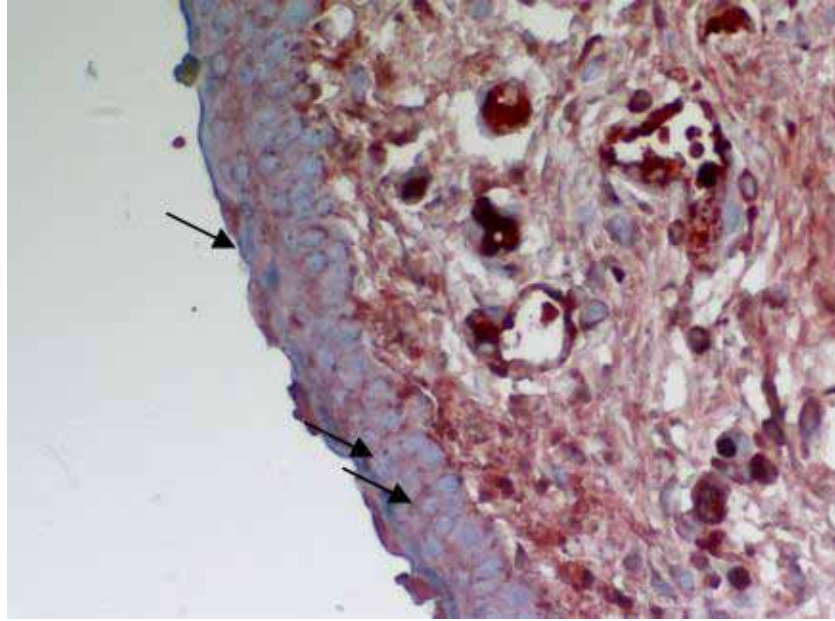
Tablo 6. Konjonktiva epitelinde VEGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	EPİTEL EKSPRESYONU Ortalama \pm SD
DURAGEN	14,9 \pm 11,8
SURAMİN	0,0 \pm 0,0
GENİSTEİN	21,04 \pm 15,5
SERUM FİZYOLOJİK	18,8 \pm 10,8
DİMETİLSÜLFOKSİT	26,4 \pm 15,1

Gruplar arası fark $p=0,608$ (Kruskal-Wallis grup analizi)



Şekil 26. Suramin grubunda konjonktival epitelde VEGF ekspresyonu yoktur. Eksprese olmamış konjonktival epitel hücresi izlenmektedir (x 40)



Şekil 27. SF grubunda epitelde yaygın, sitoplazmik ve membranöz VEGF ekspresyonu görülmektedir (x 40)

Damar endotelinde VEGF ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 7’ de gösterilmiştir. İnceleme sahasındaki toplam damar endoteli sayılarak, bunlardan kaç tanesinde ekspresyon olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak bakıldığında sonuçların istatistiksel anlamlı olduğu görülmüştür (p=0,0001). Suramin ve genistein gruplarında damar ekspresyonu diğer gruplardan belirgin olarak düşük izlenmiştir. Farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi ile gruplar karşılaştırıldığında suramin ve genistein çalışma gruplarındaki VEGF ekspresyonunun SF ve DMSO kontrol gruplarından anlamlı olarak düşük olduğu izlenmiştir. İstatiksel değerler Tablo 7’nin altında görülmektedir. Genistein, suramin ve SF gruplarındaki VEGF damar ekspresyonu örnekleri Şekil 28, 29 ve 30’ da gösterilmiştir.

Tablo 7. Damar endotelinde VEGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	DAMAR EKSPRESYONU Ortalama ± SD
DURAGEN	53,1 ± 15,8
SURAMİN	19,7 ± 12,3
GENİSTEİN	20,6 ± 6,2
SERUM FİZYOLOJİK	63,4 ± 23,9
DİMETİLSÜLFOKSİT	59,7 ± 21,2

Gruplar arası fark p=0,0001 (Kruskal-Wallis grup analizi)

DuraGen ile Suramin p=0,009

DuraGen ile Genistein p=0,004

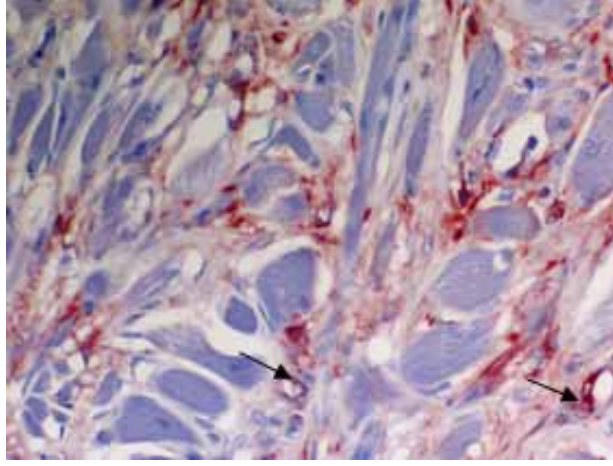
Genistein ile SF p=0,0001

(Mann-Whitney U testi)

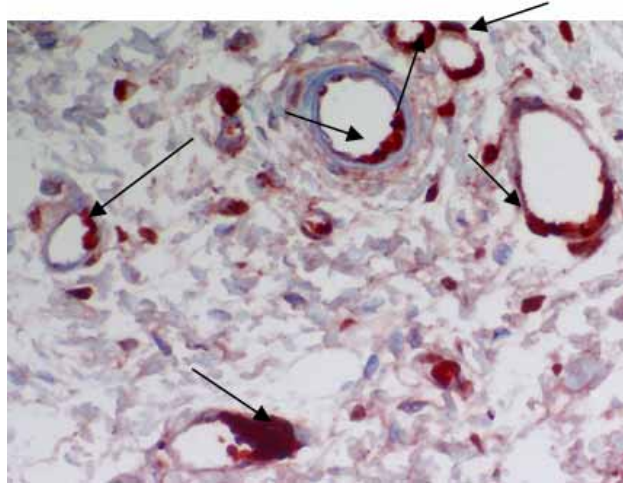
Suramin ile SF p=0,0001

Suramin ile DMSO p=0,002

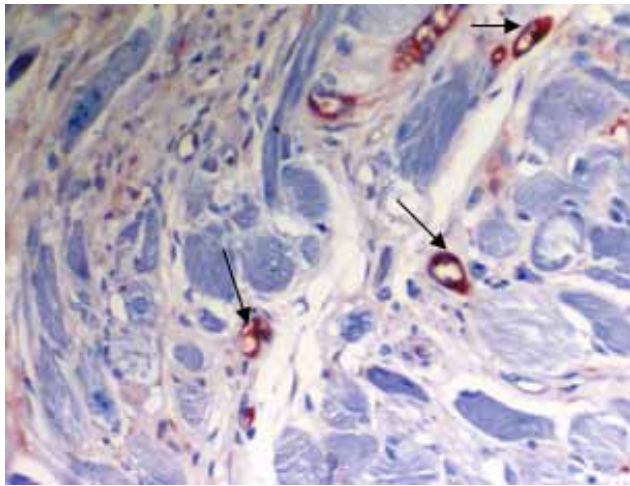
Genistein ile DMSO p=0,002



Şekil 28. Suramin grubunda damar endotelinde sitoplazmik VEGF ekspresyonu (x 40)



Şekil 29. SF grubunda damar endotelinde sitoplazmik VEGF ekspresyonu (x 40)



Şekil 30. Genistein grubunda damar endotelinde sitoplazmik VEGF ekspresyonu (x 40)

Stromal yangısal infiltratta VEGF ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 8’ de gösterilmiştir. Stromal infiltrat içinde yaklaşık 100 adet inflamatuvar hücre sayılmış ve bunlardan kaç tanesinde VEGF ekspresyonu olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (p=0,008). Daha sonra farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar arasında kıyaslama yapılmıştır. Genistein ve DuraGen alışma gruplarında ekspresyonun, SF kontrol grubundan anlamlı düzeyde az olduğu görülmüştür. Ayrıca genistein grubundaki ekspresyon DMSO grubuna göre anlamlı düzeyde az izlenmiştir. İstatiksel değerler Tablo 8’ in altında grlmektedir. Genistein, suramin ve SF gruplarındaki VEGF stroma ekspresyonu rnemleri Şekil 31, 32 ve 33’ de gösterilmiştir.

Tablo 8. Stromal yangısal infiltratta VEGF ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	STROMAL İNFİLTRASYON Ortalama ± SD %
DURAGEN	13,5 ± 8,1
SURAMİN	16,3 ± 17,9
GENİSTEİN	11,3 ± 5,0
SERUM FİZYOLOJİK	25,5 ± 8,7
DİMETİLSÜLFOKSİT	28,0 ± 14,2

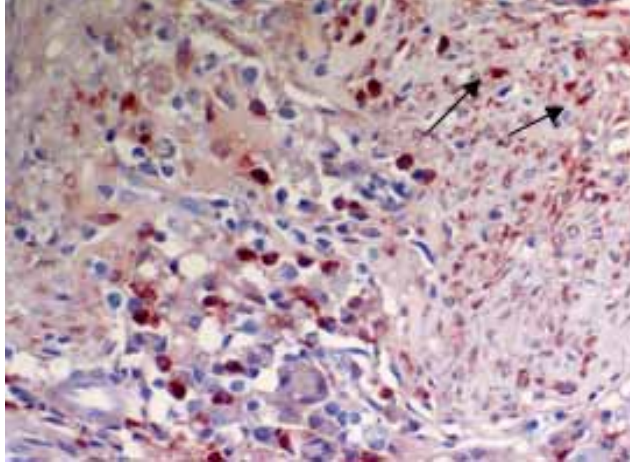
Gruplar arası fark p=0,008 (Kruskal-Wallis grup analizi)

DuraGen ile SF p=0,013

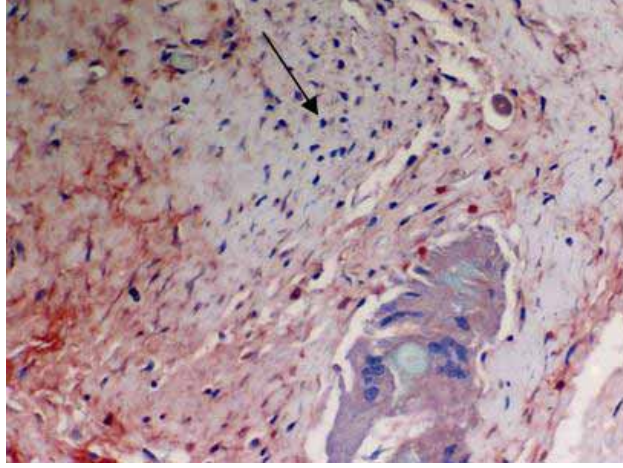
Genistein ile SF p=0,003

Genistein ile DMSO p=0,009

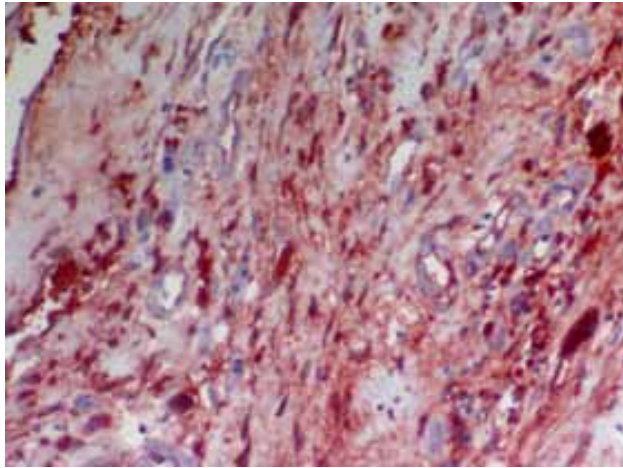
(Mann-Whitney U testi)



Resim 31. Suramin grubunda stromal infiltratta sitoplazmik VEGF ekspresyonu (x40)



Şekil 32. Genistein grubunda stromal infiltratta sitoplazmik VEGF ekspresyonu (x 40)



Şekil 33. SF grubunda stromal infiltratta sitoplazmik VEGF ekspresyonu (yaygın) (x 40)

c. TGF- β

Konjonktiva epitelinde TGF- β ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 9’ da gösterilmiştir. Yaklaşık 100 adet epitel hücresi sayılarak, bunlardan kaç tanesinde ekspresyon olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi ile yapılan istatistiksel inceleme sonucunda, gruplar arasındaki fark anlamlı çıkmıştır ($p=0,001$). Farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar arasında kıyaslama yapıldığında suramin çalışma grubundaki ekspresyonun SF ve DMSO kontrol gruplarından anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca DuraGen grubunda ekspresyon SF grubundan anlamlı düzeyde fazladır. İstatiksel değerler Tablo 9’ un altında görülmektedir. Suramin ve DMSO gruplarındaki TGF- β konjonktiva epiteli ekspresyon örnekleri Şekil 34 ve 35’ de gösterilmiştir.

Tablo 9. Konjonktiva epitelinde TGF- β ekspresyonunun gruplara göre dağılımı

GRUP	EPİTELDE EKSPRESYON
	Ortalama \pm SD
DURAGEN	19,0 \pm 6,9
SURAMİN	0,6 \pm 1,7
GENİSTEİN	17,6 \pm 9,0
SERUM FİZYOLOJİK	10,7 \pm 6,1
DİMETİLSÜLFOKSİT	18,7 \pm 8,1

Gruplar arası fark $p=0,001$ (Kruskal-Wallis grup analizi)

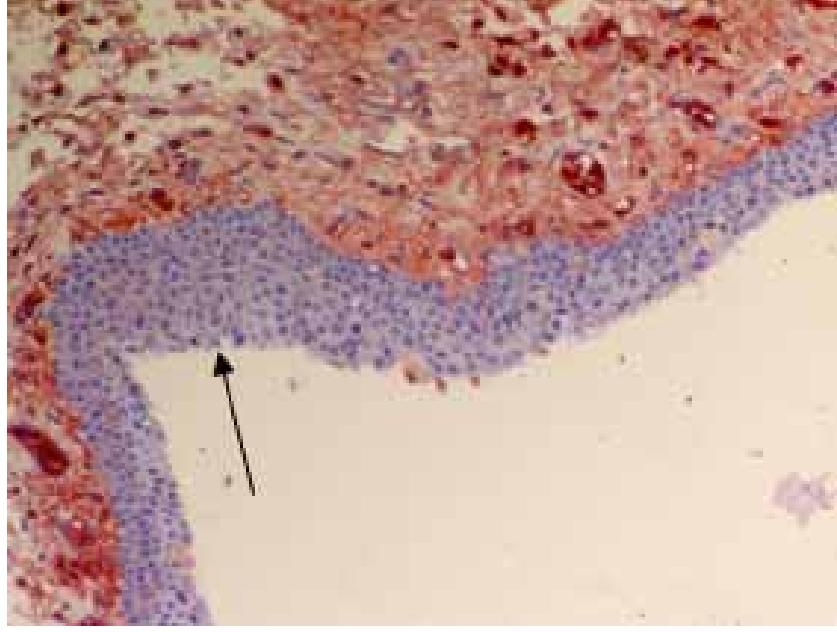
DuraGen ile Suramin $p=0,002$

DuraGen ile SF $p=0,007$

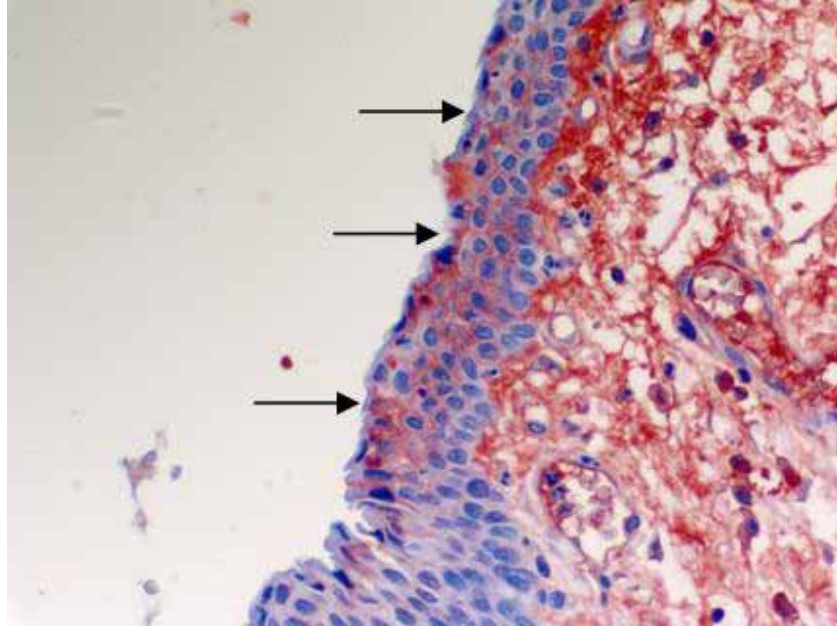
(Mann-Whitney U testi)

Suramin ile SF $p=0,001$

Suramin ile DMSO $p=0,002$



Şekil 34. Suramin grubunda epitelde çok az, fokal sitoplazmik TGF- β ekspresyonu (x 40)



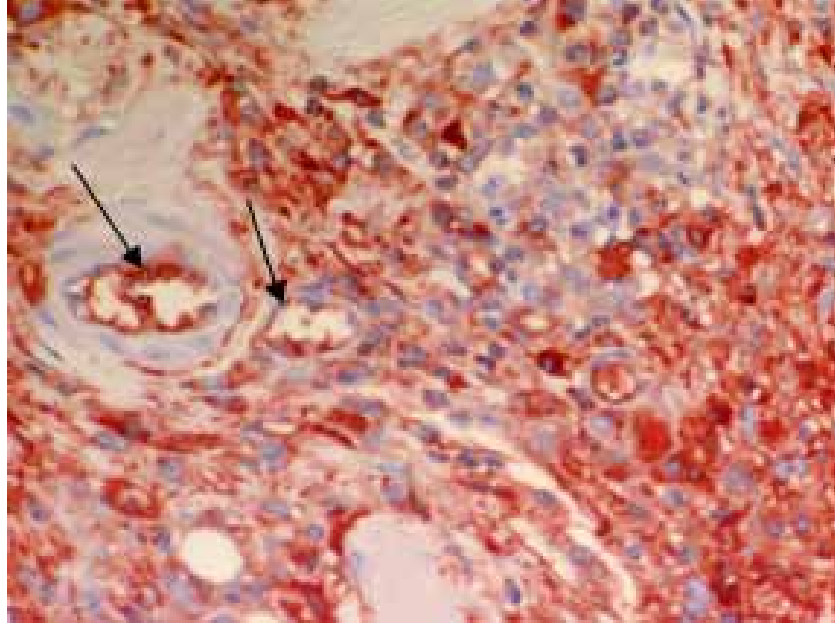
Şekil 35. DMSO grubunda epitelde belirgin sitoplazmik ve membranöz TGF- β ekspresyonu (x 40)

Damar endotelinde TGF- β ekspresyonu araştırılmış ve bulgular Tablo 10' da gösterilmiştir. İnceleme sahasındaki toplam damar endoteli sayılarak, bunlardan kaç tanesinde ekspresyon olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak bakıldığında sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (p=0,05). Suramin ve DMSO gruplarındaki TGF- β damar endoteli ekspresyon örnekleri şekil 36 ve 37' de gösterilmiştir.

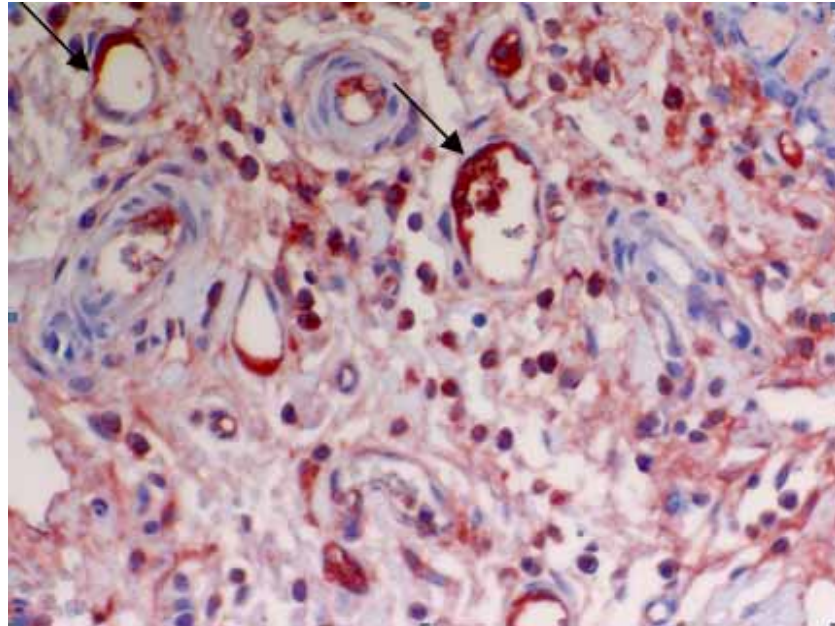
Tablo 10. Gruplara göre TGF- β damar endoteli ekspresyonunun dağılımı

GRUP	DAMAR EKSPRESYONU Ortalama \pm SD
DURAGEN	33,6 \pm 10,4
SURAMİN	40,8 \pm 26,9
GENİSTEİN	40,6 \pm 19,6
SERUM FİZYOLOJİK	57,9 \pm 22,3
DİMETİLSÜLFOKSİT	70,1 \pm 20,1

Gruplar arası fark p=0,05 (Kruskal-Wallis grup analizi)



Şekil 36. Suramin grubunda damar endotelinde sitoplazmik TGF- β ekspresyonu (x40)



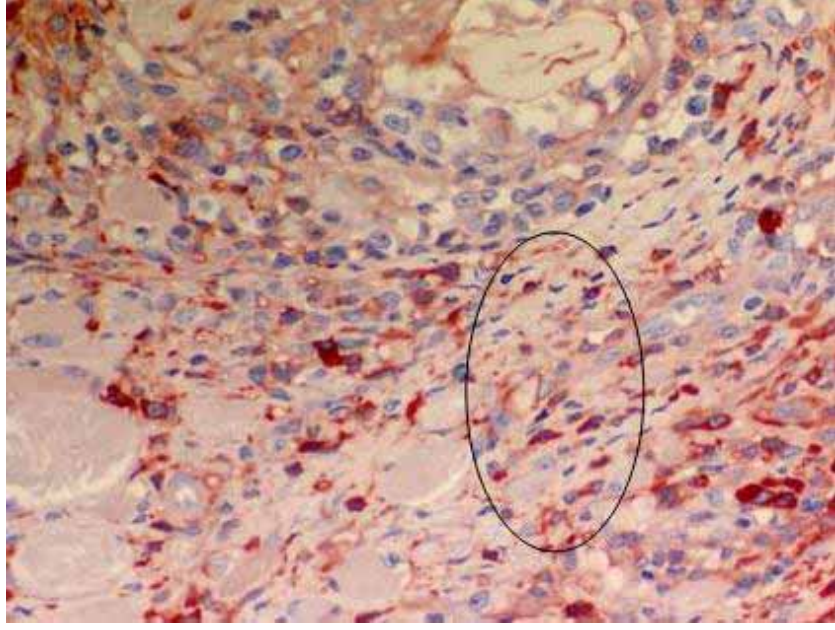
Şekil 37. DMSO grubunda damar endotelinde sitoplazmik TGF- β ekspresyonu (x 40)

Stromal yangısal infiltratta TGF- β ekspresyonu araştırılmıştır. Stromal infiltrat içinde yaklaşık 100 adet inflamatuvar hücre sayılmış ve bunlardan kaç tanesinde TGF- β ekspresyonu olduğu kaydedilmiştir (Tablo 11). Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0,734$). Suramin ve DMSO gruplarındaki stromal infiltratta TGF- β ekspresyon örneklere Şekil 38 ve 39’ da gösterilmiştir.

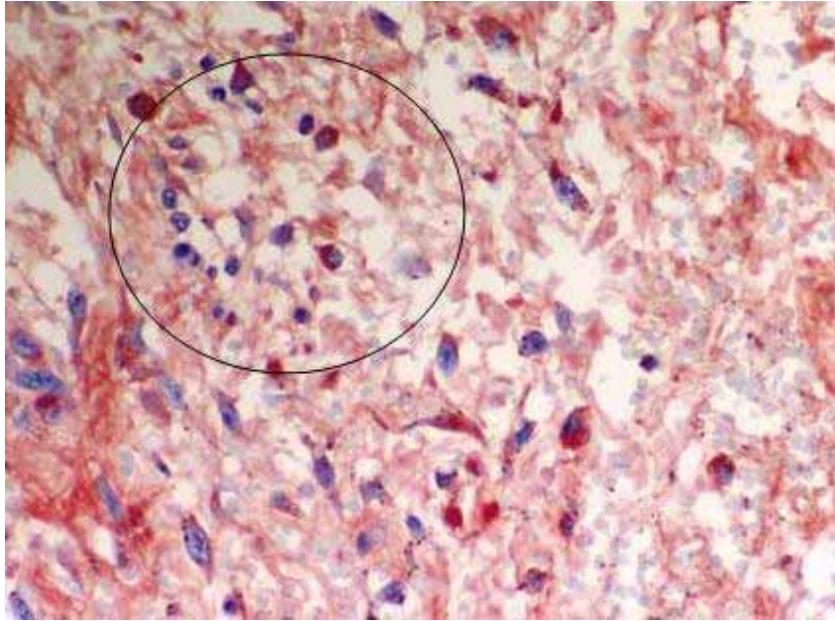
Tablo 11. Gruplara göre stromal yangısal infiltratta TGF- β ekspresyonunun dağılımı

GRUP	STROMAL İNFİLTRASYON Ortalama \pm SD
DURAGEN	16,0 \pm 2,2
SURAMİN	13,6 \pm 8,9
GENİSTEİN	14,3 \pm 8,5
SERUM FİZYOLOJİK	15,9 \pm 6,0
DİMETİLSÜLFOKSİT	12,5 \pm 3,9

Gruplar arası fark $p=0,734$ (Kruskal-Wallis grup analizi)



Şekil 38. Suramin grubunda stromal infiltratta sitoplazmik TGF- β ekspresyonu (x 40)



Şekil 39. DMSO grubunda stromal infiltratta sitoplazmik TGF- β ekspresyonu (x 40)

Stromal yangısal infiltratta TGF- β lenfosit ekspresyonu araştırılmıştır (Tablo 12) Kas dokusundaki stromal infiltrat içindeki lenfositler sayılmış ve bunlardan kaç tanesinde TGF- β ekspresyonu olduğu kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi kullanılarak sonuçlar değerlendirildiğinde farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0,679$).

Tablo 12. Gruplara göre stromal yangısal infiltratta lenfosit infiltrasyonu

GRUP	LENFOSİT İNFİLTRASYONU Ortalama \pm SD %
DURAGEN	49,2 \pm 5,8
SURAMİN	42,0 \pm 15,9
GENİSTEİN	49,2 \pm 13,8
SERUM FİZYOLOJİK	54,0 \pm 17,4
DİMETİLSÜLFOKSİT	56,9 \pm 23,9

Gruplar arası fark $p=0,679$ (Kruskal-Wallis grup analizi)

d. MAC 387

Bu incelemede makrofaj belirteci MAC 387 antikoru ile kas dokusu içindeki makrofajlar sayılmıştır. MAC 387 sitoplazmik ekspresyon gözlenen makrofajlar sayılarak kaydedilmiştir. Kruskal-Wallis grup analizi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede farkın anlamlı olduğu görülmüştür ($p=0,001$). Farkın hangi gruptan kaynaklandığının tespit edilebilmesi için Mann-Whitney U testi ile gruplar karşılaştırılmıştır. Suramin ve genistein grubunda MAC 387 ekspresyonunun SF kontrol grubundan anlamlı olarak düşük olduğu izlenmiştir. İstatistiksel değerler Tablo 13' ün altında görülmektedir. Suramin, genistein ve SF gruplarındaki MAC 387 ekspresyon örnekleri şekil 40, 41 ve 42' de gösterilmiştir.

Tablo 13. Gruplara göre MAC 387 sitoplazmik ekspresyonun dağılımı

GRUP	MAKROFAJ SAYISI Ortalama±SD
DURAGEN	25,8 ± 7,8
SURAMİN	10,6 ± 2,5
GENİSTEİN	12,6 ± 9,9
SERUM FİZYOLOJİK	52,5 ± 39,3
DİMETİLSÜLFOKSİT	28,5 ± 17,1

Gruplar arası fark $p=0,001$ (Kruskal-Wallis grup analizi)

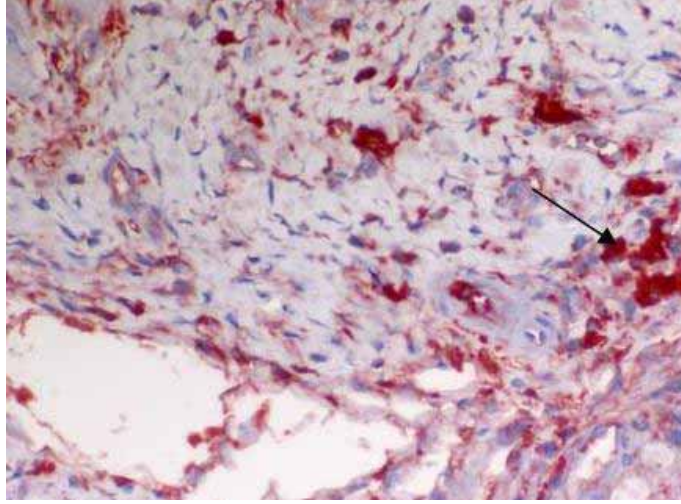
DuraGen ile Suramin $p=0,002$

Suramin ile SF $p=0,0001$

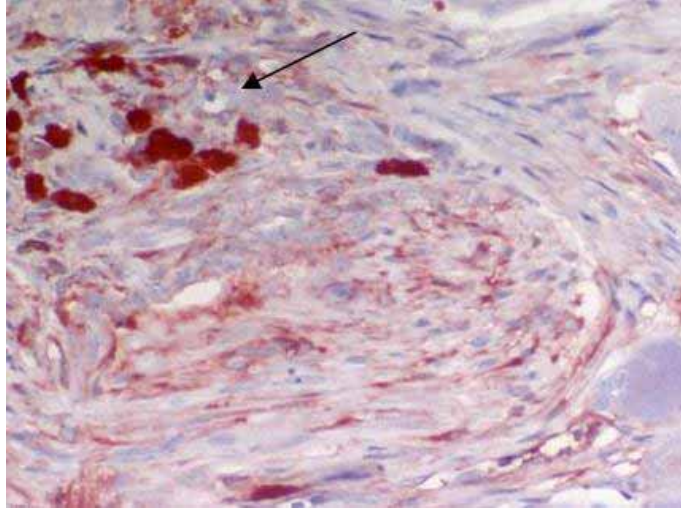
(Mann-Whitney U testi)

Suramin ile DMSO $p=0,002$

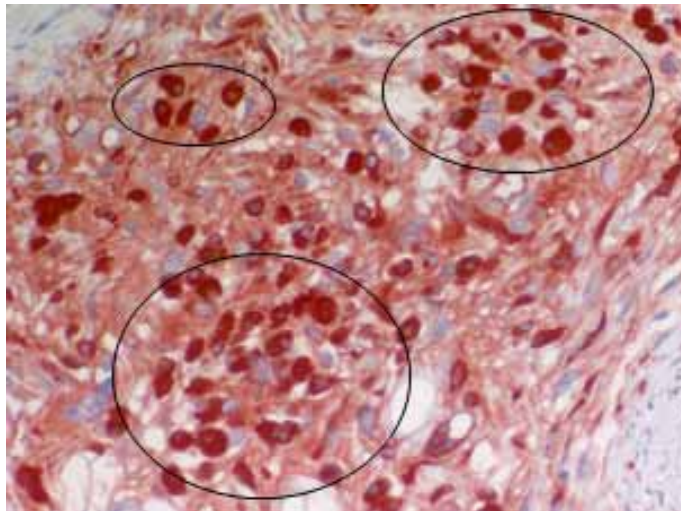
Genistein ile SF $p=0,005$



Şekil 40. Suramin grubunda makrofajlarda sitoplazmik MAC 387 ekspresyonu (x 40)



Şekil 41. Genistein grubunda makrofajlarda sitoplazmik MAC 387 ekspresyonu (x 40)



Şekil 42. SF grubunda makrofajlarda sitoplazmik MAC 387 ekspresyonu (x 40)

4. 2. MEKANİK İNCELEME BULGULARI

4. 2. 1. Kas ve konjonktiva dokuları arasındaki yapışıklık

Sütür ayarlaması amacı ile konjonktiva dokusu, kas yüzeyinden ayrıldığında kas ve konjonktiva dokuları arasında gözlemlenen ve 0 ile 4 arasında derecelendirilen yapışıklık düzeyi çalışma grupları ve zaman dilimleri arasında karşılaştırılmıştır. Bulgular Tablo-14' de gösterilmiştir. Tüm gruplarda fibrozis düzeyinin çalışma günleriyle paralel olarak arttığı gözlenmiştir. İnceleme yapılan tüm günlerde DuraGen ve suramin gruplarında diğer gruplarla karşılaştırıldığında fibrozis düzeyinin düşük olduğu görülmüştür. Gruplar arası karşılaştırmada 2. ve 7. günde istatistiksel anlamlı bir sonuç izlenmiştir. Bu farkın hangi gruptan kaynaklandığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiş ve farkın DuraGen ve suramin gruplarında fibrozisin az olmasından kaynaklandığı görülmüştür. Ondördüncü günde en düşük değer DuraGen grubunda izlenmiş ancak gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir. Üçüncü hafta bitiminde tüm gruplarda yoğun yapışıklık saptanmıştır.

Tablo 14. Kas ve konjonktiva dokuları arasındaki yapışıklığın dağılımı

FİBROZİS KAS/KONJONKTİVA	2. GÜN	7. GÜN	14. GÜN	21. GÜN	p*
DURAGEN	0,83±0,40	1,50±0,83	2,66±0,81	3,33±0,51	0,003
SURAMİN	0,80±0,44	2,20±0,44	3,40±0,54	3,58±0,54	0,002
GENİSTEİN	1,16±0,40	3,10±0,75	3,66±0,51	4,00±0,0	0,002
SERUM FİZYOLOJİK	1,75±0,62	2,75±0,62	3,58±0,51	3,66±0,49	0,0001
DİMETİLSÜLFOKSİT	1,33±0,51	3,00±0,0	3,33±0,51	4,00±0,0	0,001
p®	0,007	0,002	0,104	0,056	

* Friedman varyans analizi

® Kruskal Wallis varyans analizi

4. 2. 2. Kas ve sklera dokuları arasındaki yapışıklık

Sütür ayarlaması amacıyla dokular üst rektus bölgesinde açıldığında üst rektus kası ve altta bulunan sklera dokusu arasında saptanan yapışıklık çalışma grupları ve günler arasında karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Tablo 15’ de gösterilmiştir. Kas ve sklera dokuları arasındaki yapışıklıkta 2. ve 7. günde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür. Bu farkın hangi gruptan kaynaklandığı Mann-Whitney U testi ile değerlendirildiğinde farkın hem 2, hem de 7. günde genistein ve DMSO gruplarında yapışıklığın az olmasından kaynaklandığı görülmüştür. DMSO 14. günde de istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte gruplar içinde en düşük değere sahiptir. Bu nedenle bu etkinin DMSO’ e bağlı olabileceği düşünülmüştür. Tüm gruplarda zaman içinde gelişen yapışıklık artışı istatistiksel olarak anlamlı izlenmiştir.

Tablo 15. Kas ve sklera dokuları arasındaki yapışıklığın dağılımı

FİBROZİS KAS/SKLERE	2.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	21.GÜN	p*
DURAGEN	0,83±0,40	1,50±0,83	1,83±0,75	2,50±1,04	0,046
SURAMİN	0,80±0,44	2,00±0,70	1,60±0,54	2,80±0,44	0,012
GENİSTEİN	0,16±0,40	0,83±0,40	2,50±1,37	4,00±0,0	0,001
SERUM FİZYOLOJİK	1,00±0,60	1,83±0,71	2,33±1,07	2,41±0,99	0,001
DİMETİLSÜLFOKSİT	0,16±0,40	0,66±0,51	1,16±0,40	4,00±0,0	0,001
p®	0,010	0,006	0,113	0,647	

* Friedman varyans analizi

® Kruskal Wallis varyans analizi

4.2.3. Kas çekme kuvveti

DuraGen grubundaki tüm gözlerde 2, 7, 14 ve 21. günlerde, suramin grubunda 2, 7 ve 14. günlerde tüm gözlerle, 21. günde ise 6 gözün 3 tanesinde ölçüm mümkün olmuştur. Genistein grubunda ise, 2 ve 7. günde 6 gözün tamamına, 14. günde ise 6 gözün 5 tanesine ayarlama yapılmış, 21. günde ise 6 gözün hiçbirisinde kas çekme kuvveti ölçümü mümkün olmamıştır. SF ve DMSO gruplarında 2, 7 ve 14. günlerde tüm gözlerde ölçüm yapılırken, 21. günde hiçbir gözde ölçüm yapılamamıştır. Kas çekme kuvveti düzeyleri değerlendirildiğinde gruplar arasında 14. gün ve 21. günde anlamlı fark görülmüştür. Bu farkın 14. gün suramin ve DuraGen, 21. gün ise DuraGen grubundan kaynaklandığı gözlenmiştir. DuraGen grubu dışındaki tüm gruplarda zaman içindeki değişim anlamlı, ancak DuraGen grubunda yakın ölçüm değerleri nedeniyle anlamlı çıkmamıştır. Sütür ayarlaması sırasında hassas ölçüm aletleri (gpp-8, API Canada) ile ölçülen kuvvet istatistiksel değerlendirmeyi kolaylaştırmak için 1 mm hareketi sağlayan gram cinsinden güç miktarı olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo-16' da gösterilmiştir.

Tablo 16. Kas çekme kuvveti ölçümünün dağılımı

KAS ÇEKME KUVVETİ (GRAM/MM)	2.GÜN	7.GÜN	14.GÜN	21.GÜN	p*
DURAGEN	23,16±7,70	31,41±7,90	29,68±8,31	33,80±8,54	0,217
SURAMİN	17,00±3,46	25,50±5,25	32,75±8,53	54,58±14,74	0,007
GENİSTEİN	13,20±4,14	36,88±7,50	58,16±25,08	---	0,015
SERUM FİZYOLOJİK	16,58±6,31	29,33±10,36	53,44±16,42	---	0,0001
DİMETİLSÜLFOKSİT	15,00±4,00	35,16±9,78	41,54±6,96	---	0,006
p®	0,070	0,056	0,006	0,015	

* Friedman varyans analizi

® Kruskal Wallis varyans analizi

5. TARTIŞMA

Ayarlanabilir sütürlerle Şaşılık cerrahisi, geleneksel sabit sütür yöntemine oranla, sonuçları ve reoperasyon gerekliliği yönünden daha başarılıdır.^{6,27,28} Ayarlanabilir dikiş cerrahisinde bazı yazarlar geç dönemde ayarlama yapılmasının başarıyı arttırdığını vurgulamışlardır.^{9,22,30,31} Bu durum, ancak, cerrahinin kaçınılmaz bir sonucu olan dokular arasındaki yapışıklığın azaltılması ile mümkün olacaktır. Çalışmamızda geç dönemde sütür ayarlamasını sağlayabilmek için yara iyileşmesini geciktirici ve dokular arasında yapışıklığa engel olacağını düşündüğümüz üç ayrı ajanın dokuda yara iyileşmesi üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Tavşan gözünde yaptığımız deneysel çalışmada, üst rektus kasına geriletme uygulandıktan sonra suramin, genistein ve DuraGen bariyer matriks kullanılan üç çalışma grubu ve DMSO ve SF kullanılan iki kontrol grubu doku adezyonu ve ayarlanabilirliğin geciktirilmesi yönünden karşılaştırılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız antiadeziv ve antiproliferatif özelliklere sahip suramin ve genistein ile seller bariyer matriks olarak kullanılan DuraGen gerek deneysel çalışmalarda gerekse klinikte daha önce bu amaçla kullanılmamıştır.

Sütür ayarlamasını geciktirebilmek amacıyla kullanılan ajanlar arasında bariyer matriksler önemli bir yere sahiptir. Hwang ve Chang^{18,48} deneysel çalışmalarında tavşan gözünde ayarlanabilir sütür cerrahisi gerçekleştirerek bir antimetabolit ajan olan 5-FU ve bir bariyer matriks olan Interceed' in etkisini araştırmışlardır. Bu alışmada, 5-FU, 5-FU + Interceed ve 5-FU + Interceed + Viscoat kullanılan üç grup oluşturularak kas gerginliği ve ayarlama süresi değerlendirilmiştir. 5-FU grubunda, 1. haftada dört gözün  tanesinde ayarlama yapılabilmiş, 2. ve 3. haftada ise hiçbir gözde ayarlama mümkün olmamıştır. 5-FU + Interceed grubunda, 1. haftada beş gözün  tanesinde, 2. haftada dört gözün bir tanesinde ayarlama yapılabilmiş, 3. haftada ise ayarlama yapılamamıştır. 5-FU + Interceed + Viscoat grubunda ise, 1. haftada beş gözün dört tanesinde, 2. haftada dört gözün bir tanesinde ayarlama yapılırken, 3. haftada hiçbir gözde ayarlama mümkün

olmamıştır. Yazarlar bir diğer deneysel tavşan çalışmasında Interceed ve poliglaktin 910 vikril ağ bariyerin ayarlama süresi ve doku yapışıklıkları üzerine etkinliğini araştırılmışlardır. Interceed grubunda bulunan beş gözün dördünde 1. haftada ayarlama yapılabildiği görülmüştür. Bu grupta 2. haftada ancak 1 gözde ayarlama mümkün olmuştur, 3. haftada hiçbir gözde ayarlama yapılamamıştır. Poliglaktin 910 vikril ağ bariyer kullanılan beş gözün üç tanesinde 1. haftada ayarlama yapılabildiği, 2. ve 3. haftada ise hiçbir gözde ayarlama yapılamamıştır.

Choi ve ark¹⁹ tavşan gözünde ayarlanabilir sütür cerrahisinde fibroblastların yara bölgesine göçünü ve kollajen yapımını azaltarak dokular arasında yapışıklıkların oluşmasını engelleyen antiadeziv bariyer olan ADCON-L' in etkinliğini değerlendirdikleri bir çalışmada ADCON-L' in, BSS kullanılan kontrol grubuna göre üstün olduğunu göstermişlerdir. Çalışma sonucunda postoperatif yapışıklıkların azaldığı ve sütür ayarlamasının kolaylaştığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada postoperatif 7. günde ADCON-L kullanılan tüm gözlerde, BSS grubunda ise 13 gözün 6 tanesinde ayarlama mümkün olmuştur.

Shokida⁹ ayarlanabilir sütür cerrahisinde ayarlama süresini geciktirmeyi hedefleyerek, insanlarda kas ve sklera dokuları arasına silikon bant yerleştirmiş, ayarlama işleminden sonra silikon bant çıkarılmıştır. Shokida çalışmasında ayarlama işlemini postoperatif 11 gün sonra kadar geciktirdiğini bildirmiştir.

Nonantijenik ve noninflamatuvar özellikte olan ve dokular arasında bir film tabaka oluşturan sodyum hyaluronat şaşılık cerrahisinde hem klinikte hem deneysel olarak kullanılmıştır. Clorfeine ve ark⁴⁷ dokular arasındaki yapışıklıkları önleyebilmek amacıyla 14 konsekütif şaşılık hastasında sodyum hyaluronat kullanmışlar ve postoperatif yapışıklıkları azalttığını belirtmişlerdir. Searl ve ark¹¹ tarafından 7 tavşanın 14 gözünde sodyum hyaluronat kullanılarak mekanik ve histopatolojik incelemeler sonucunda % 1' lik sodyum hyaluronatın postoperatif yapışıklıkları azaltabileceği sonucuna varılmıştır.

Kim ve ark¹⁴ deneysel çalışmalarında poliüretan film tabaka kullanarak, bu bariyer tabakanın ayarlamayı geciktirme ve dokular arası yapışıklığı önleme üzerine etkisini araştırmışlardır. Oluşturulan 2 çalışma grubundan birisinde sadece poliüretan

film tabaka, ikinci grupta poliüretan film tabaka ile deksametazon kullanılmıştır. Bu çalışmada 4. haftada poliüretan film tabaka ile deksametazon kullanılan tavşanların tamamında, sadece poliüretan film tabaka kullanılan tavşanların % 90' ında ayarlama mümkün olmuştur. Yine her 2 grupta, gözlerin % 90' ında ayarlama postoperatif 6 haftaya kadar geciktirilebilmiştir.

Özkan ve ark²⁰ bir deneysel tavşan çalışmasında şaşılık cerrahisinde dokular arasında oluşan yapışıklıkları önleyebilmek için Seprafilm membran kullanmışlardır. Sonuçta kas, konjonktiva ve sklera dokuları arasında oluşan yapışıklıkların Seprafilm membran ile azaldığını bildirmişlerdir.

Lee ve ark¹⁶ deneysel çalışmalarında PTFE/PLGA kullanarak sütür ayarlamasını 3 ve 5. haftada gerçekleştirdiklerini ifade etmişlerdir. PTFE kullanılan grupta 3. haftada 8 gözün 5 tanesinde, 5. hafta sonunda ise 10 gözün 5 tanesinde ayarlama yapılabilmektedir. PTFE/PLGA kullanıldığında ise, hem 3, hem de 5. haftada 10 gözün 8' inde ayarlama mümkün olmuştur.

Gedik ve ark⁷² deneysel çalışmalarında 3 ayrı çalışma grubunda ADCON-L, konvansiyonel ve polimer kaplı lipozom kullanarak, şaşılık cerrahisinde fibrozis üzerine etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Sonuçta ADCON-L' in postoperatif fibrozisi azalttığını, konvansiyonel ve polimer kaplı lipozom uygulamalarının ise adezyonları önlemede etkili olmadığını ifade etmişlerdir.

Çalışmamızda daha önce oftalmolojide hiç kullanımı olmayan ve yoğunluklu olarak kraniyal ve spinal cerrahide dura defektlerinin tamirinde kullanılan DuraGen bariyer matriks, konjonktiva-kas ve kas-sklera arasındaki yapışıklıkları önlemek amacı ile kullanılmıştır. Bu grupta yer alan gözlerin tamamında 2, 7, 14 ve 21. günlerde ayarlama yapılabilmek ve kas çekme kuvveti ölçülebilmektedir. Bu ölçüm sonucunda 2 ve 7. günlerde gruplar arası fark izlenmemiş, fakat 14 ve 21. günlerde anlamlı bir fark görülmüştür. Hem 14, hem de 21. günlerde en kolay ölçüm DuraGen grubunda yapılmıştır. Yirmibirinci günde, kas çekme kuvveti ölçümünün mümkün olduğu iki grup olan, suramin ve DuraGen grupları karşılaştırıldığında, ölçüm DuraGen grubunda suramin grubuna göre anlamlı olarak düşük izlenmiştir. İmmünohistokimyasal incelemede damar endoteli ve stromal yangısal infiltratta b-

FGF ekspresyonu DuraGen grubunda, SF grubundan anlamlı olarak daha düşük çıkmıştır. Bu sonuç DuraGen' in mekanik bariyer etkisinin yanısıra antifibroblastik aktiviteye de sahip olduğu izlenimini yaratmıştır. Ancak HE boyası ile, kas dokusu içinde dev hücre sayısı en fazla DuraGen grubunda görülmüş ve bu, DuraGen matriksin bir yabancı cisim reaksiyonu yarattığı şeklinde yorumlanmıştır.

Dokular arasındaki yapışıklığı azaltarak daha geç dönemde sütür ayarlaması yapılabilmesi amacıyla kullanılmış bir diğer ilaç grubu antifibroblastik etkiye sahip ajanlardır.

Cengiz ve ark¹⁰ 47 tavşan gözünde ayarlanabilir sütür cerrahisi uygulamış, fibrozisin önlenmesi amacıyla Mit-C ve Viscoat' un etkisini karşılaştırmışlardır. Yazarlar, intraoperatif 0,4 mg / ml Mit-C kullanımının özellikle 1. hafta olmak üzere postoperatif periyotta yapışıklığı azalttığını, Viscoat' un ise yapışıklık ve ayarlama üzerine etkili olmadığını bildirmişlerdir.

Oh ve ark¹³ tarafından yapılan, ekstraoküler kas cerrahisinde postoperatif yara iyileşmesi ve doku yapışıklığı üzerine Mit-C' nin etkisinin araştırıldığı 24 gözü kapsayan bir tavşan çalışmasında, 0,5 mg / ml dozunda 1 dk ve 5 dk süreyle Mit-C uygulanan her iki çalışma grubunda da kollagen lif proliferasyonu azalmasının, dengeli tuz solüsyonu kullanılan kontrol grubuna göre daha iyi olduğu görülmüştür. Yine aynı şekilde b-FGF ekspresyonunun azalması her iki grupta kontrol grubuna göre üstün bulunmuştur. Ancak 1 dk ile 5 dk süreli Mit- C uygulanması arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu sonuçlarla Mit-C' nin topikal kullanımı ekstraoküler kas cerrahisinde yapışıklıkları azaltabilir yorumu yapılmıştır.

Mahindrakar ve ark⁷³ tarafından travma, retina dekolman cerrahisi, reoperasyona bağlı olarak gelişmiş 16 restriktif şaşılık hastasında 0,2 mg / ml Mit-C intraoperatif olarak kullanılmıştır. Sonuçta ameliyatta Mit-C kullanılmasının güvenli olduğu ve postoperatif yapışıklıkları azaltabileceği ileri sürülmüştür.

Postoperatif yapışıklıkları önlemek amacıyla kullanılan diğer bir ajan daunorubisin olmuştur. Dadeya ve ark¹² 24 hastayı kapsayan çalışmalarında intraoperatif % 0,02 dozunda daunorubisin kullanmışlardır. Çalışma sonucunda

yapışıklıkların önlenmesinde daunorubisin kontrol grubuna göre üstün bulunmuş ve intraoperatif % 0,02 daunorubisinin 3 dakika süreyle kullanımı önerilmiştir.

Öksüz ve ark⁷⁴ deneysel çalışmaları yapışıklıkları azaltarak sütür ayarlamasını geciktirmeyi hedefleyerek, 5-FU ve Mit-C kullanmışlardır. Çalışmanın sonucunda bu antifibroblastik ilaçların postoperatif 2. haftaya kadar rahat bir şekilde ayarlama yapılabilmesine yardımcı olduğunu ifade etmişlerdir.

Özerdem ve ark⁷⁵ deneysel şaşılık cerrahisi modelinde, politetrafloroetilen film, Mit-C ve streptokinazın etkilerini araştırmışlar ve her 3 ajanın da postoperatif fibrozisi azaltmadığını ifade etmişlerdir. Kantitatif pasif zorlu düksiyon testlerine göre 3 ajanın da mekanik kısıtlılığı azaltmadığını belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda yara iyileşmesini geciktirmek amacı ile kullandığımız suramin ve genistein preparatlarının şaşılık ameliyatlarında kullanımına literatürde rastlanmamıştır. Suramin ile ilgili çalışmalar daha çok glokom cerrahisinde güvenilir bir adjuvan ajan bulabilmek amacıyla yapılmıştır.

Mietz ve ark⁵⁵ tarafından yapılan bir tavşan çalışmasında trabekülektomide Mit-C ile suraminin yara iyileşmesi üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. Suramin uygulanan gözlerde trabekülektomi fistülünün Mit-C grubuna göre daha uzun süre açık kaldığı görülmüştür. Aynı çalışmada suraminin toksik etkiler bakımından Mit-C' den daha güvenilir olduğu sonucuna varılmıştır. Yazarlar bir diğer çalışmalarında komplike glokomu olan 10 insan gözünde trabekülektomi yaparak suramin ve Mit-C etkinliğini kıyaslamışlardır. Bu çalışmada suramin ile Mit-C kıyaslandığında tedavi açısından başarı düzeyi benzer, kistik bleb gelişimi, ciddi hipotoni, koroid dekolmanı gibi komplikasyonlar açısından ise suramin daha üstün bulunmuştur.⁵⁶ Akman ve ark tavşan gözünde intraoperatif suramin 250 mg/mlt 2 dk ve Mit-C 0,4 mg/mlt 2 dk kullandıkları deneysel çalışmalarında postoperatif bleb açık kalma zamanını her iki grupta yaklaşık olarak eşit bulmuşlardır. Bu çalışmada immünhistokimyasal çalışma yapılarak fibroblastik aktivite ve inflamatuvar yanıt araştırılmış ve her iki grupta da fibrozis ve selülarite kontrol grubundan daha az bulunmuştur.⁵⁷

Oftalmolojide genisteinin kullanımı daha çok anti-anjiojenik etkisi için olmuştur. İsoflavonoidlerin antianjiojenik etkilerinin araştırıldığı bir deneysel çalışmada b-FGF aracılığı ile uyarılmış kornea vaskülarizasyonu üzerine etkili olduğu görülmüş, genistein ve diğer isoflavonoidlerin anti-anjiojenik etki ile hücre döngüsünü durdurduğu gösterilmiştir.⁶²

Bir tavşan deneysel cerrahi modelinde intravitreal uygulanan genisteinin retina pigment epitel iyileşmesini bozucu etkisi ve koriokapiller rejenerasyonun inhibisyonuna önemli etkisi olduğu gösterilmiştir. Buradan yola çıkılarak genistein gibi tirozin kinaz inhibitörlerinin koriokapiller neovaskülarizasyon tedavisinde gelecekte farmakolojik ajan olarak kullanılabilceği yorumu yapılmıştır.⁶¹ İsoflavonoidlerin fare meme kanseri hücrelerinde VEGF ve TGF- β ekspresyonunu azalttığı görülmüştür.⁶³

Çalışmamızda suramin grubunda 2, 7 ve 14. günlerde tüm gözlere, 21. günde ise 6 gözün 3 tanesine ayarlama yapılarak kas çekme kuvveti ölçülebilmıştır. Genistein grubunda ise, 2 ve 7. günde 6 gözün tamamına, 14. günde ise 6 gözün 5 tanesine ayarlama yapılmış, 21. günde ise 6 gözün hiçbirisinde kas çekme kuvveti ölçümü mümkün olmamıştır. Suramin grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında, 14. Gün ölçümlerinde DuraGen grubu ile birlikte suramin grubu ölçümleri en başarılıdır ve diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlıdır. Yirmibirinci günde ayarlamının yapılabildiği 2 gruptan DuraGen ve suramin karşılaştırıldığında suramin grubu ölçümlerinin DuraGen grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde başarısız olduğu izlenmiştir. Genistein grubunda, kas çekme kuvveti ölçümleri ve ayarlamının yapılabildiği 2, 7 ve 14. günlerden 2 ve 7. günlerde istatistiksel olarak fark görülmemiş, 14. günde ise genistein grubunun sonuçları diğer gruplara oranla anlamlı olarak olumsuz izlenmiştir. HE boyasıyla kas dokusunda dev hücre incelendiğinde en az dev hücrenin genistein grubunda olduğu görülmüştür. İmmünohistokimyasal incelemede, genistein grubunda, konjonktiva epitelinde, damar endotelinde ve stromal yangısal infiltratta b-FGF ekspresyonu en az düzeydedir. Ayrıca damar endoteli ve stromal yangısal infiltratta VEGF ekspresyonu da anlamlı düzeyde düşük izlenmiştir. Ek olarak bu grupta makrofaj belirteci MAC 387 sitoplazmik ekspresyonu da anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır. Bu bulgularla

genistein grubunda immünohistokimyasal olarak büyüme faktörlerinin ve enflamasyonun etkin şekilde baskılandığı görülmüş olmasına karşın bu veriler mekanik bulgularla uyumlu bulunmamıştır. Suramin grubunun immünohistokimyasal incelemesinde ise konjonktiva epitelinde, damar endotelinde ve stromal yangısal infiltratta b-FGF ekspresyonu anlamlı düzeyde düşük izlenmiştir. Bunun yanında VEGF ekspresyonu sonuçlarına bakıldığında, konjonktiva epitelinde hiç ekspresyonun olmadığı, damar endotelinde anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmektedir. Yine MAC 387 sitoplazmik ekspresyonu da en az suramin grubundadır. Bu sonuçlar suraminin güçlü bir antianjiyogenik ve antiproliferatif ajan olduğunu desteklemektedir.

Çalışmamızda ayrıca kas-konjonktiva ve kas-sklera dokuları arasındaki yapışıklık düzeyi değerlendirilmiştir. Yapışıklığın derecelendirilmesinde Hwang ve Chang'ın çalışmalarında kullandıkları sınıflama kullanılmış ve yapışıklığın düzeyine göre 0 ile 4 arasında değer verilmiştir.¹⁸ Benzer sınıflamanın kullanıldığı Choi ve ark¹⁹ ile Cengiz ve ark¹⁰'nın çalışmalarında saptadıkları yapışıklık değerleri Tablo 17'de verilmiştir. Yazarların doku yapışıklığı değerlendirmelerinin farklı olabileceği dikkate alınmakla birlikte çalışmamızda DuraGen ve suramin ile elde ettiğimiz 1. hafta sonuçlarının ADCON-L ile benzerlik gösterdiği söylenebilir. Mit-C ve Viscoat'a göre daha az yapışıklık izlenmiştir. Üçüncü haftada ise benzer sonuçlarla karşılaşılmıştır.

Tablo 17. Kas-konjonktiva ve kas-sklera yapışıklıklarının literatürle karşılaştırılması

	Kas-konjonktiva	Kas-sklera	Kas-konjonktiva	Kas-sklera
	1.hafta	1.hafta	3.hafta	3.hafta
Choi ve ark ¹⁹ (ADCON-L)	1,87±0,77	2,33±0,49	---	---
Cengiz ve ark ¹⁰ (Mit-C)	3,50±0,54	2,50±0,83	3,16±0,75	3,16±0,75
Cengiz ve ark ¹⁰ (Viscoat)	3,66±0,51	2,66±0,81	3,83±0,40	3,33±0,81
Çalışmamız (DuraGen)	1,50±0,83	1,50±0,83	3,33±0,51	2,50±1,04
Çalışmamız (Suramin)	2,20±0,44	2,00±0,70	3,58±0,54	2,80±0,44
Çalışmamız (Genistein)	3,10±0,75	0,83±0,40	4,00±0,0	4,00±0,0

Kas ve konjonktiva dokuları arasındaki yapışıklık miktarının değerlendirilmesinde, ortalama yapışıklık değerlerini göz önüne aldığımızda, tüm günlerde suramin ve DuraGen gruplarında yapışıklığın kontrol gruplarından ve genistein çalışma grubundan daha az olduğu görülmüştür. Bu fark 2. ve 7. günlerde anlamlı bulunmuş, 14 ve 21. günlerde ise anlamlı fark izlenmemiştir. Bunun nedeni çalışma günlerinin ilerlemesiyle, diğer gruplardan daha az olmasına rağmen, suramin ve DuraGen gruplarında da fibrozisin artması nedeniyle aradaki farkın azalmasına bağlanmıştır. Kas ve sklera dokuları arasındaki yapışıklık değerlendirildiğinde ise yapışıklığın tüm gruplarda, çalışma ilerledikçe arttığı ancak suramin ve DuraGen gruplarında cerrahi diseksiyon yapılamayacak düzeylere gelmediği görülmüştür. Genistein grubunda ise özellikle 21. günde kas ve sklera dokuları arasındaki yapışıklığın cerrahi diseksiyona izin vermeyecek kadar fazla olduğu izlenmiştir.

Çalışmamız, hem mekanik olarak kas çekme kuvveti, kas-konjonktiva ve kas-sklera dokuları arasındaki yapışıklığın ölçülmesi, hem de histopatolojik ve immünohistokimyasal bulguları birarada değerlendirmesi açısından önemlidir.

Daha önce yapılmış olan benzer çalışmalarda histopatolojik incelemeler olmakla birlikte, immünohistokimyasal değerlendirme sadece bir çalışmada yapılmıştır.¹³ Bu nedenle immünohistokimyasal değerlendirme verilerini bu konudaki diğer literatür çalışmaları ile detaylı şekilde karşılaştırma olanağı bulunamamıştır.

6. SONUÇLAR

1. Mekanik ölçümler ve immünohistokimyasal boyamalar birlikte değerlendirildiğinde suraminin fibrozisi ve dokular arasındaki yapışıklıkları azaltan etkin bir ajan olduğu görülmüştür. Suramin ayarlanabilir sütürle ekstraoküler kas cerrahisinde yapışıklıkları azaltarak daha geç dönemde ayarlama yapılabilmesi için alternatif bir adjuvan ajan olabilir.
2. Genistein b-FGF ve VEGF' ün dokudaki ekspresyonunu etkin bir şekilde baskılamaktadır. İmmünohistokimyasal sonuçlara göre fibrozisin ve dokular arasındaki yapışıklıkların az olması beklenirken, mekanik ölçüm sonuçları ve klinik gözlemlerimiz bunu desteklememiştir.
3. DuraGen grubunda suramin ve genistein grubu kadar iyi olmamakla birlikte SF kontrol grubuna göre b-FGF ve VEGF ekspresyonunda azalma izlenmiştir. Mekanik ölçüm sonuçlarında ayarlanmanın geciktirilmesi açısından DuraGen' in en başarılı grup olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Sanaç AŞ. Şaşılık ve Tedavisi, Ankara, Pelin Ofset, 2001.
2. Morris RJ, Luff AJ. Adjustable sutures in squint surgery. Br J Ophthalmol 1992;76:560-2.
3. Wright KW. Practical aspects of the adjustable suture technique for strabismus surgery. Int Ophthalmol Clin 1989;29:10-5.
4. Elibol O. Şaşılık cerrahisinde ayarlanabilir sütün. T Klin Oftalmol 1994;3:78-83.
5. Pratt-Johnson JA. Adjustable suture strabismus surgery: a review of 255 consecutive cases. Can J Ophthalmol 1985;20:105-9.
6. Weston B, Enzenauer RW, Kraft SP, Gayowsky GR. Stability of the postoperative alignment in adjustable-suture strabismus surgery. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 1991;28:206-11
7. Fells P. Adjustable Suture. Eye 1988;2:33-5.
8. Dochety PTC. Paralytic strabismus correction by adjustable suture technique. Br J Ophthalmol 1984;68:353-59.
9. Shokida MF. Use of a silicone sheet for delayed adjustable strabismus surgery. Ophthalmic Surg 1993;24:486-8.
10. Cengiz Y, Altintas O, Manav Ay G, Caglar Y. Comparison of the effectiveness of mitomycin-C and Viscoat on delayed adjustable strabismus surgery in rabbits. Eur J Ophthalmol 2005;15:530-5.

11. Searl SS, Metz HS, Lindahl KJ. The use of sodium hyaluronate as a biologic sleeve in strabismus surgery. *Ann Ophthalmol* 1987;19:259-62.
12. Dadeya S, Kamlesh, Fatima S. Preliminary results of intraoperative daunorubicin in strabismus surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2002;39:340-4.
13. Oh SY, Park DW, Chang BL. The effect of mitomycin-C on the healing process in rabbit extraocular muscle surgery. *Ophthalmic Surg Lasers* 1999;30:305-9.
14. Kim JH, Jeong SY, Jung MH, Hwang JM. Use of polyurethane with sustained release dexamethasone in delayed adjustable strabismus surgery. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1450-4.
15. Nguyen KD, Lee DA. Effect of steroids and nonsteroidal antiinflammatory agents on human ocular fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33:2693-2701.
16. Lee MJ, Jin SE, Kim CK, Choung HK, Jeoung JW, Kim HJ, Choe G, Hwang JM. Slow-releasing tranilast in polytetrafluoroethylene/polylactide-co-glycolide laminate delays adjustment after strabismus surgery in rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:699-704.
17. Lee DA, Lee TC, Cortez AE. Effects of mithramycin, mitomycin, daunorubicin and bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:2136-2144.
18. Hwang JM, Chang BL. Combined effect of Interceed and 5-fluorouracil on delayed adjustable strabismus surgery. *Br J Ophthalmol* 1999;83:788-791.
19. Choi MY, Auh S, Choi DG, Chang BL. Effect of ADCON-L on adjustable strabismus surgery in rabbits. *Br J Ophthalmol* 2001;85:80-84.

20. Özkan SB, Kır E, Çulhacı N, Dayanır V. The Effect of Seprafilm on Adhesions in Strabismus Surgery-An Experimental Study. *J AAPOS* 2004;8:46-9.
21. Hwang JM, Chang BL. Combined effect of polytetrafluoroethylene and 5-fluorouracil on delayed adjustable strabismus surgery. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2000;37:163-7.
22. Bleik JH, Karam VY. Comparison of the immediate with the 24-hour postoperative prism and cover measurements in adjustable muscle surgery: is immediate postoperative adjustment reliable? *J AAPOS* 2004;8:528-33.
23. Jampolsky A. Current techniques of adjustable strabismus surgery. *Am J Ophthalmol* 1979;88:406-18.
24. Jampolsky A. Strabismus reoperation techniques. *Trans Sect Ophthalmol Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1975;79:704-17.
25. Chow PC. Stability of one-stage adjustable suture for the correction of horizontal strabismus. *Br J Ophthalmol* 1989;73:541-6.
26. Ruben ST, Elston JS. One stage adjustable sutures: practical aspects. *Br J Ophthalmol* 1992;76:675-7.
27. Buffenn AN. Adjustable suture use in strabismus surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2005;16:294-7.
28. Kraft SP, Jacobson ME. Techniques of adjustable suture strabismus surgery. *Ophthalmic Surg* 1990;21:633-40.
29. Eustis HS, Hesse RJ. Conjunctival reaction using adjustable sutures: a comparison of the cinch and bow knot methods. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1993;30:149-53.

30. Howard CW, Smith AG. Use of adjustable suture: A helpful modification. *Ann Ophthalmol* 1986;18:70-3.
31. McNeer KW. Adjustable sutures of the vertical recti. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1982;19:259-64.
32. Franklin SR, Hiatt RL. Adjustable sutures in strabismus surgery. *Ann Ophthalmol* 1989;21:285-9.
33. Koçak-Altıntaş A, Koçak-Midillioğlu İ, Duman S. Ayarlanabilir sütün tekniğinde ayarlama insidansı ve etkinliği. *MN Oftalmoloji* 2001;8:179-183.
34. Akar S, Gökyiğit B, Utine CA, Yılmaz ÖF. Şaşılık operasyonlarında ayarlanabilir sütün tekniğinin etkinliği. *T Oft Gaz* 2004;33:303-309.
35. Spierer A. Adjustment of sutures 8 hours vs 24 hours after strabismus surgery. *Am J Ophthalmol* 2000;129:521-4.
36. Ögüt MS, Onal S, Demirtaş S. Adjustable suture surgery for correction of various types of strabismus. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2007;38:196-202.
37. Wagner RS, Nelson LB. Complications following strabismus surgery. *Int Ophthalmol Clin* 1985;25:171.
38. Hunt TK. Basic principles of wound healing. *J Trauma* 1990;30 :122-128.
39. Williams PL, Warwick R, Dayson M, Bannister LH. *Gray's Anatomy*, 1989, 37. Baskı, 70-84.
40. Cross KJ, Mustoe TA. Growth factors in wound healing. *Surg Clin N Am* 2003;83:531-545.

41. Cohen IK, Diegelmann RF, Yager DR, et al. Wound care and wound healing. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC eds. Principles of surgery 7th ed. New York, MC Graw Hill, 1999:263-295.
42. Moulin V. Growth factors in skin wound healing. *Eur J Cell Biol* 1995;68:1-7.
43. Köveker GB. Growth factors in clinical practice. *JCP* 2000;54:590-593.
44. Carrico TJ, Mehrhof AI, Cohen IK. Biology of wound healing. *Surg Clin North Am* 1984;64:721-733.
45. Witte MB, Barbur A. General principles of wound healing. *Surg Clin of North America* 1997;77:509-528.
46. O’Kane S, Ferguson MW. Transforming growth factor beta and wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:63-78.
47. Clorfeme GS, Parker WT. Use of healon in eye muscle surgery with adjustable sutures. *Ann Ophthalmol* 1987;19:215-217.
48. Hwang JM, Chang BL. Use of physical barriers for delayed adjustable strabismus surgery: the effect of Interceed and polyglactin 910 mesh. *Br J Ophthalmol* 1996;30:759-762.
49. Stein CA. Suramin: a novel antineoplastic agent with multiple potential mechanism of action. *Cancer Res* 1993;53:2239-2248.
50. Grossman SA, Phuphanich S, Lesser G, Rozental J, Grochow LB, Fisher J, Piantadosi S. New approaches to brain tumor therapy CNS consortium. Toxicity, efficacy, and pharmacology of suramin in adults with recurrent high-grade gliomas. *J Clin Oncol* 2001;19:3260-3266.

51. Small EJ, Meyer M, Marshall ME, Reyno LM, Meyers FJ, Natale RB, Lenehan PF, Chen L, Slichenmyer WJ, Eisenberger M. Suramin therapy for patients with symptomatic hormone-refractory prostate cancer: result of a randomized phase III trial comparing suramin plus hydrocortisone to placebo plus hydrocortisone. *J Clin Oncol* 2000;18:1440-1450.
52. Arbuck SG, Sorensen JM, Christian MC, Ho P, Pluda JM, Cheson BD. New drugs in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 1997;1:119-128.
53. La Rocca RV, Stein CA, Danesi R, Cooper MR, Uhrich M, Myers CE. A pilot study of suramin in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Cancer* 1991;67:1509-1513.
54. Hemady RK, Sinibaldi VJ, Eisenberger MA. Ocular symptoms and signs associated with suramin sodium treatment for metastatic cancer of the prostate. *Am J Ophthalmol* 1996;121:291-296.
55. Mietz H, Chevez-Barrios P, Feldman RM, Lieberman MW. Suramin inhibits wound healing following filtering procedures for glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1998;82:816-820.
56. Mietz H, Krieglstein GK. Suramin to enhance glaucoma filtering procedures: a clinical comparison with mitomycin. *Ophthalmic Surg Lasers* 2001;32:358-369.
57. Akman A, Bilezikçi B, Küçükerdönmez C, Demirhan B, Aydın P. Suramin modulates wound healing of rabbit conjunctiva after trabeculectomy: Comparison with mitomycin C. *Curr Eye Res* 2003;26:37-43.
58. Mietz H, Chevez-Barrios P, Lieberman MW, Wendt M, Gross R, Basinger SF. Decorin and suramin inhibit ocular fibroblast collagen production. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:399-403.

59. Sartani G, Silver PB, Strassmann G, Chan CC, Caspi RR. Suramin treatment suppresses induction of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in rodents. *Curr Eye Res* 1995;14:887-896.
60. Bocci G, Danesi R, Benelli U, Innocenti F, Di Paola A, Fogli S, Del Tacca M. Inhibitory effect of suramin in rat models of angiogenesis in vitro and in vivo. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999;43:205-212.
61. Majji AB, Hayashi A, Kim HC, Grebe RR. Inhibition of Choriocapillaris Regeneration with Genistein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:1477-1486.
62. Jousseaume AM, Rohrschneider K, Reichling J, Kirchhof B, Kruse FE. Treatment of Corneal Neovascularization with Dietary Isoflavonoids and Flavonoids. *Exp Eye Res* 2000;71:483-487.
63. Shao ZM, Wu J, Shen ZZ and Barsky SH. Genistein exerts multiple suppressive effects on human breast carcinoma cells. *Cancer Res* 1998;58:4851-7.
64. Huang R, Shi F, Lei T, Song Y, Hughes CL, Liu G. Effect of the isoflavone genistein against galactose-induced cataracts in rats. *Exp Biol Med* 2007;232:118-125.
65. DuraGen Plus Adezyon Bariyer Matriks kullanım klavuzu. Integra Lifesciences Corporation. Plainsboro, NJ, USA.
66. Narotam PK, Jose S, Nathoo N, Taylon C, Vora Y. Collagen matrix (DuraGen) in dural repair: Analysis of a new modified technique. *Spine* 2004;29:2861-2867.
67. Danish SF, Samdani A, Hanna A, Storm P, Sutton L. Experience with acellular human dura and bovine collagen matrix for duraplasty after posterior fossa decompression for Chiari malformations. *J Neurosurg (1 Suppl Pediatrics)* 2006;104:16-20.

68. Del Maestro R, Thaw HH, Bjork J, Planker M, Arfors KE. Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol Scand* 1980;492:91-119.
69. De La Torre JC, Nelson N, Sutherland RJ, Pappas BA. Reversal of ischemic induced chronic memory dysfunction in aging rats with a free radical scavenger glycolytic intermediate combination. *Brain Research* 1988;779:285-288.
70. Skrypuch OW, Tokarewicz AC, Willis NR. Effect of dimethyl sulfoxide on a model of corneal alkali injury. *Can J Ophthalmol* 1987;22:17-20.
71. Brandtzaeg P, Jones DB, Flavell DJ, Fagerholl MK. Mac 387 antibody and detection of formalin resistant myelomonocytic L1 antigen. *J Clin Pathol* 1988;41:963-70.
72. Gedik Ş, Sanaç AŞ. Deneysel şaşılık cerrahisi modelinde ADCON-L, konvansiyonel ve polimer kaplı lipozom uygulamalarının mekanik ve histopatolojik etkileri. Uzmanlık Tezi, 2001, Ankara.
73. Mahindrakar A, Tandon R, Menon V, Sharma P, Khokhar S. Effectiveness of mitomycin C in reducing reformation of adhesions following surgery for restrictive strabismus. *Journal of Pediatric Ophthalmology and Strabismus* 2001;38:131-135.
74. Öksüz H, Hacıyakupoğlu GH. Şaşılık cerrahisinde ayarlanabilir sütün tekniği kullanılarak Mitomisin C ve 5-Fluorourasil'in etkinliğinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, 2002, Adana.
75. Özerdem U, Sanaç AŞ. Deneysel şaşılık cerrahisi modelinde politetrafloroetilen film, mitomisin C ve streptokinaz uygulamalarının mekanik ve histopatolojik etkileri. Uzmanlık Tezi, 1997, Ankara.