

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**İNTRAVİTREAL ENJEKSİYON YAPILAN HASTALARDA
TEKRARLAYAN POVİDON İYOT UYGULAMASININ İNFLAMATUAR VE
SİTOLOJİK ETKİSİ**



UZMANLIK TEZİ

Dr. Ersin AKBULUT

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Hakan ÖZDEMİR

**Bu tez, Bezmialem Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından
20210217 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

Mart 2022

Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakóltesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tıpta uzmanlık öğrencisi Ersin AKBULUT, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “İntravitreal Enjeksiyon Yapılan Hastalarda Tekrarlayan Povidon İyot Uygulamasının İnflamatuvar ve Sitolojik Etkisi” başlıklı tezini jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Mehmet Hakan ÖZDEMİR**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mehmet Hakan ÖZDEMİR**
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Betül TUĞCU
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Prof. Dr. Fevzi ŞENTÜRK
İstanbul Medipol Üniversitesi

Doç. Dr. Jülide Canan UMURHAN AKKAN
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

BEYAN FORMU

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Ersin AKBULUT

TEŞEKKÜR

İhtisasım süresince kendimi geliştirmemde desteğini hiç esirgemeyen, her daim sahip olduğu bilim aşkını bizlerle paylaşan, medikal ve paramedikal sohbetleriyle bana yol gösteren, beraber çalışmaktan gurur duyduğum tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Hakan ÖZDEMİR'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden her zaman faydalandığım, birlikte çalışmaktan keyif aldığım çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. İbrahim Arif KOYTAK'a, Prof. Dr. Betül TUĞCU'ya, Prof. Dr. Mustafa Kemal ARICI'ya, Doç. Dr. Jülide Canan UMURHAN AKKAN'a, Doç. Dr. Ahmet ELBAY'a, Doç. Dr. Fadime NUHOĞLU'na;

Tezimin hazırlık sürecinde büyük emeği geçen Sayın Dr. Emine Rümeysa HEKİMOĞLU'na, Dr. Ebru HACIOSMANOĞLU'na;

Varlıklarıyla bana her zaman güven veren, akademik olarak beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, meslek hayatımda ve özel hayatımda bana rehber olan, benim için her zaman bir abi abla olacak, kliniğimizin çok kıymetli uzmanları Sayın Uzm. Dr. Furkan KIRIK'a ve Uzm. Dr. Cansu EKİNCİ'ye;

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, iş yerinde aile ortamı yaratan, her zaman yanımda olan ve beraber vakit geçirmekten keyif aldığım, kliniğimizin çalışkan ve üstün nitelikli tüm asistanlarına;

Klinikte her türlü işimizi kolaylaştıran, fedakâr ve çalışkan tüm hemşire, tıbbi sekreter ve personel arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca desteklerini hiç esirgemeyen, varlıklarıyla bana mutluluk veren, onlara layık olmayı umduğum çok sevgili aileme;

Bana olan sevgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, varlığıyla kendimi şanslı hissettiğim, çok sevgili güzel eşim Ece AKBULUT'a;

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ersin AKBULUT

İÇİNDEKİLER

BEYAN FORMU.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
KISALTMALAR.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TÜRKÇE ÖZET.....	xi
İNGİLİZCE ÖZET.....	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Konjonktiva	5
2.1.1 Konjonktiva anatomisi ve embriyolojisi.....	5
2.1.2 Konjonktiva histolojisi ve fizyolojisi.....	6
2.1.2.1 Bulber konjonktiva.....	6
2.1.2.2 Forniks konjonktiva.....	6
2.1.2.3 Palpebral (tarsal) konjonktiva.....	7
2.1.3 Konjonktiva vasküler anatomisi.....	7
2.1.4 Konjonktiva inervasyonu.....	7
2.1.5 Konjonktival goblet hücresi.....	8
2.2 Kornea.....	9
2.2.1 Kornea epiteli.....	10
2.2.2 Bowman tabakası.....	11
2.2.3 Stroma tabakası.....	11
2.2.4 Descemet membranı.....	12
2.2.5 Kornea endoteli.....	12
2.2.6 Kornea vasküler anatomisi.....	12
2.2.7 Kornea inervasyonu.....	13
2.3 Kuru Göz.....	13
2.3.1 Gözyaşı.....	13
2.3.2 Lakrimal fonksiyonel ünite.....	14
2.3.3 İnflamatuar mekanizmalar.....	15
2.4 Retina.....	15
2.4.1 Retina anatomisi ve embriyolojisi.....	15
2.4.2 Retina histolojisi ve fizyolojisi.....	16
2.4.2.1 İç limitan membran.....	18
2.4.2.2 Sinir lifi tabakası.....	18
2.4.2.3 Ganglion hücre tabakası.....	18
2.4.2.4 İç pleksiform tabakası.....	18
2.4.2.5 İç nükleer tabaka.....	18
2.4.2.6 Dış pleksiform tabaka.....	19
2.4.2.7 Dış nükleer tabaka.....	19
2.4.2.8 Dış limitan membran.....	19

2.4.2.9 Fotoreseptör tabakası.....	19
2.4.2.10 Retina pigment epiteli.....	20
2.5 Vitreus.....	23
2.6 Yaşa bağlı makula dejenerasyonu.....	24
2.6.1 Risk faktörleri.....	24
2.6.2 Patofizyolojisi ve sınıflandırılması.....	25
2.6.3 Tedavi.....	26
2.6.3.1 Argon lazer fotokoagülasyon.....	26
2.6.3.2 Fotodinamik tedavi.....	26
2.6.3.3 Makula cerrahisi.....	27
2.6.3.4 Potansiyel tedaviler.....	27
2.7 Anti-VEGF tedavisi.....	28
2.7.1 Pegaptanib.....	29
2.7.2 Bevacizumab.....	29
2.7.3 Ranibizumab.....	30
2.7.4 Aflibercept.....	31
2.7.5 Brolucizumab.....	31
2.7.6 İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonuna bağlı komplikasyonlar.....	32
2.7.6.1 Endoftalmi.....	32
2.7.6.2 Steril intraoküler inflamasyon.....	35
2.7.6.3 Regmatojen retina dekolmanı.....	36
2.7.6.4 Subkonjonktival hemoraji.....	36
2.7.6.5 Göz İçi basınç artışı.....	37
2.7.6.6 Sistemik komplikasyonlar.....	37
2.8 Povidon İyot.....	38
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	40
3.1 İntravitreal Enjeksiyon Prosedürü.....	41
3.2 Schirmer Testi.....	42
3.3 Korneal Boyanma Skorlaması.....	43
3.4 Gözyaşı Kırılma Zamanı.....	44
3.5 OSDI Anketi.....	45
3.6 Konjonktival İmpresyon Sitolojisi.....	46
3.6.1 Örnek alımı.....	47
3.6.2 Örneklerin boyanması.....	48
3.6.3 Örneklerin değerlendirilmesi.....	49
3.7 Gözyaşında Sitokin Analizi.....	51
3.7.1 Örnek alımı.....	51
3.7.2 Örneklerin analizi.....	52
3.8 İstatistiksel Analiz.....	53
4. BULGULAR.....	54
4.1 Gözyaşı Film Parametreleri.....	55
4.2 Oküler Yüzeye Bağlı Gelişen Semptomların Değerlendirilmesi.....	56
4.3 Konjonktival İmpresyon Sitolojisi Analizi.....	56
4.4 Gözyaşında Sitokin Analizi.....	58
4.5 Korelasyon Analizi.....	61

4.6 Enjeksiyon Sayılarının Analizi.....	63
4.7 Enjekte Edilen İlaç Moleküllerinin Analizi.....	63
5. TARTIŞMA.....	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	80
7. KAYNAKLAR.....	81



KISALTMALAR

YBMD	: Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
FDA	: Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi
PVI	: Povidon İyot
ESCRS	: Avrupa Katarakt ve Refraktif Cerrahi Derneği
VIP	: Vazoaktif İntestinal Peptid
LFU	: Lakrimal Fonksiyonel Ünite
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör-Alfa
RPE	: Retina Pigment Epiteli
MMP	: Matriks Metalloproteinazlar
IRBP	: İnterstisyel Retinal Bağlayıcı Protein
PDGF	: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
TIMP	: Matris Metalloproteazın Doku İnhibitörü
PEDF	: Pigment Epitelinden Türetilen Faktör
KNVM	: Koroidal Neovasküler Membran
PKV	: Polipoidal Koroidal Vaskülopati
PIGF	: Plasental Büyüme Faktörü
HIF-1	: Hipoksi İle İndüklenebilir Faktör-1
PDT	: Fotodinamik Tedavi
PPV	: Pars Plana Vitrektomi
GİB	: Göz İçi Basınç
OSDI	: Oküler Yüzey Hastalık İndeksi, Ocular Surface Disease Index
BAK	: Benzalkonyum Klorür
PAS	: Periyodik Asit Schiff
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IVI	: Enjeksiyon Olan Gözler, Intravitreal Injection
NIVI	: Enjeksiyon Olmayan Gözler, Non-Intravitreal Injection

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 : YBMD tedavisinde kullanılan anti-VEGF molekülleri.....	29
Tablo 3.1 : Çalışmada kullanılan PAS- Hematoksilen Protokolü.....	49
Tablo 3.2 : Konjonktiva impresyon sitolojisi için Nelson evrelemesi.....	50
Tablo 4.1: Çalışmaya dahil edilen grupların dağılımı.....	54
Tablo 4.2: Katılımcıların demografik özellikleri.....	54
Tablo 4.3: IVI, NIVI ve kontrol grupları arasında oküler yüzeyi farklı açılardan değerlendiren 8 parametrenin karşılaştırılması.....	60
Tablo 4.4: 8 parametrenin Goblet hücre sayısı ve IL-1 β /IL-6 ile korelasyonu.....	62
Tablo 4.5: Enjeksiyon sayılarının oküler yüzey parametrelerine göre korelasyon analizi.....	63
Tablo 4.6: IVI grubu içerisinde 3 farklı ilaç molekülünün karşılaştırılması.....	64

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 : Korneaskleral limbustan fornixe olan uzaklıklar, sağ göz.....	5
Şekil 2.2 : Goblet hücrelerinin oküler yüzeydeki dağılımı.....	9
Şekil 2.3: Korneanın histolojik kesiti.....	10
Şekil 2.4 : Lakrimal fonksiyonel ünite.....	14
Şekil 2.5 : Retina tabakalarının organizasyonu.....	17
Şekil 2.6 : Solda renkli fundus fotoğrafında sert ve yumuşak drusenler, sağda aynı gözün kıızılötesi fundus otofloresans görüntüsü.....	25
Şekil 2.7 : Absorbe olmaya başlamış subkonjonktival kanama.....	36
Şekil 3.1 : Oxford oküler yüzey skorlaması.....	44
Şekil 3.2 : OSDI anketi, Türkçe çevirisi.....	46
Şekil 3.3 : Filtre kağıdının asimetrik kesimi.....	48
Şekil 4.1: Gözyaşı kırılma süreleri analizi.....	55
Şekil 4.2: Konjonktival Goblet hücre sayıları.....	57
Şekil 4.3: Kontrol grubuna ait impresyon sitoloji örneği. Siyah oklar: Goblet hücreleri (normal sayı ve morfolojide), Yıldızlar: poligonal şekilli, yuvarlak çekirdekli epitel hücrelerinin döşediği alanlar (Evre 0) (PAS+Hematoksilen, X100).....	57
Şekil 4.4: IVI grubuna ait impresyon sitoloji örneği. Goblet hücresi yok, epitel hücreleri arasında azalmış hücrel adezyon (siyah yıldızlar), katlanmış (kırmızı oklar) ve piknotik çekirdekli epitel hücreleri (siyah oklar) (Evre 3) (PAS+Hematoksilen, X100).....	58
Şekil 4.5: Gözyaşında IL-1 β (pg/ml) analiz sonuçları.....	59
Şekil 4.6: Gözyaşında IL-6 (pg/ml) analiz sonuçları.....	59
Şekil 4.7: IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin korelasyonu.....	61
Şekil 4.8: Goblet hücre sayısının IL-1 β ve IL-6 seviyeleri ile korelasyon analizi....	62

İNTRAVİTREAL ENJEKSİYON YAPILAN HASTALARDA TEKRARLAYAN POVIDON İYOT UYGULAMASININ İNFLAMATUAR VE SİTOLOJİK ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada tekrarlayan povidon iyot (PVI) uygulamasının intravitreal enjeksiyon yapılan hastaların gözyaşı film parametrelerine ve hayat kalitesine etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır. Ayrıca tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler yüzeye etkisini inflamatuvar ve sitolojik açıdan değerlendirerek toksisitenin daha iyi anlaşılması hedeflenmektedir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya tek taraflı intravitreal enjeksiyon uygulanan yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) hastaları ile sağlıklı bireyler dahil edildi. YBMD hastalarının son 1 yılda en az 3 defa intravitreal enjeksiyon olan gözleri IVI (intravitreal injection) grubunu, enjeksiyon olmayan diğer gözleri NIVI (non-intravitreal injection) grubunu oluşturdu. Sağlıklı bireylerin çalışmaya dahil edilen tek gözleri ise kontrol grubu olarak belirlendi. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcıların oküler yüzeyi muayene sırasında gözyaşı kırılma zamanı (GKZ), Schirmer testi ve Oxford boyanma skoru ile tetkik edildi. Katılımcıların oküler yüzeye bağlı şikâyetleri oküler yüzey hastalık indeksi (OSDI) anketi ile değerlendirildi. Ayrıca konjonktival impresyon sitolojisi ve gözyaşında inflamatuvar sitokin [interlökin (IL)-1 β ve IL-6] analizi için de örnek alındı.

Bulgular: Çalışmada 52 YBMD hastasının 104 gözü (52 IVI, 52 NIVI) ile 51 sağlıklı bireyin 51 kontrol gözü yer almıştır. IVI grubunun NIVI ve kontrol grubuna göre GKZ anlamlı derecede daha düşük (sırasıyla $p=0.011$, $p=0.008$), Oxford boyanma skoru anlamlı derecede daha yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0.011$, $p=0.009$). Schirmer testinde ise en düşük sonuç IVI grubunda (13.85 ± 10.56 mm) izlenmiş olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0.161$). IVI grubunun OSDI skoru (36.81 ± 19.49) kontrol grubuna (27.93 ± 15.4) göre anlamlı derecede yüksek izlenmiştir ($p=0.03$). NIVI grubunun OSDI skoru (29.31 ± 17.5) IVI grubuna göre daha düşük tespit edilmekle birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.078$). Konjonktival impresyon sitolojisi analizinde IVI grubunun NIVI ve kontrol grubuna göre Goblet hücre sayısının anlamlı derecede daha düşük (sırasıyla $p=0.027$, $p<0.001$), Nelson evrelemesi sonucunun ise anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$). Gözyaşında sitokin analizi sonucunda IVI ve NIVI grubunun kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek IL-1 β ve IL-6 seviyelerine sahip olduğu izlenmiştir ($p<0.05$). Enjeksiyon sayısının ve uygulanan ilaç molekülünün ise değerlendirilen parametreler ile anlamlı bir ilişkisi tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Sonuç: Tekrarlayan PVI uygulamasının oküler yüzey üzerine sitotoksik hasar vererek goblet hücre kaybına ve epitel hücrelerinde skuamöz metaplaziye neden olduğu görülmüştür. Bunun sonucunda hastalarda gözyaşı film tabakasının stabilitesinin bozulduğu ve oküler yüzeyle bağlı semptomların geliştiği saptanmıştır. Çalışmamızda sitokin analizinden elde edilen sonuçlar YBMD patogenezinde inflamatuvar mekanizmaların yer aldığına işaret etmektedir. Ancak YBMD'ye bağlı gelişen bu inflamasyon nedeniyle de PVI ajanının inflamatuvar etkisininin gösterilemediğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Povidon iyot, İntıvıtreal enjeksiyon, İmpresyon sitolojisi, Oküler yüzey, IL-1β, IL-6

INFLAMMATORY AND CYTOLOGICAL EFFECT OF REPEATED APPLICATION OF POVIDONE IODINE IN PATIENTS UNDERGOING INTRAVITREAL INJECTION

SUMMARY

Objectives: The aim of this study is to investigate the effects of repeated povidone-iodine (PVI) administration on the tear film parameters and quality of life of patients who received intravitreal injection. In addition, by evaluating the inflammatory and cytological effects of repeated PVI exposure on the ocular surface, it is aimed to better understand the toxicity.

Materials and Methods: Patients with age-related macular degeneration (AMD) who received unilateral intravitreal injection and healthy individuals were included in the study. The eyes of the patients with AMD who had at least 3 intravitreal injections in the last 1 year constituted the IVI group, and the fellow eyes of the patients who did not have the injection constituted the NIVI group. The control group consisted of one eye of healthy individuals. The ocular surface of all participants included in the study was examined with tear break-up time (BUT), Schirmer test and Oxford staining score during examination. Ocular surface-related complaints of the participants were evaluated with the ocular surface disease index (OSDI) questionnaire. In addition, samples were also taken for conjunctival impression cytology and analysis of inflammatory cytokines [interleukin (IL)-1 β and IL-6] in tears.

Results: The study included 104 eyes (52 IVI, 52 NIVI) of 52 AMD patients and 51 control eyes of 51 healthy subjects. BUT was found to be significantly lower in the IVI group compared to the IVI group and NIVI group ($p=0.011$, $p=0.008$, respectively), and the Oxford staining score was significantly higher ($p=0.011$, $p=0.009$, respectively). In the Schirmer test, the lowest result was observed in the IVI group (13.85 ± 10.56 mm), although there was no statistically significant difference between the groups ($p=0.161$). The OSDI score of the IVI group (36.81 ± 19.49) was significantly higher than the control group (27.93 ± 15.4) ($p=0.03$). Although the OSDI score of the NIVI group (29.31 ± 17.5) was lower than the IVI group, there was no statistically significant difference between the groups ($p=0.078$). In the conjunctival impression cytology analysis, it was found that the IVI group had a significantly lower number of Goblet cells ($p=0.027$, $p<0.001$, respectively) and a significantly higher Nelson staging result ($p<0.001$, $p<0.001$, respectively) compared to the NIVI and control groups. As a result of cytokine analysis in tears, IVI and NIVI groups had significantly higher IL-1 β and IL-6 levels compared to the control group ($p>0.05$). There was no significant relationship between the number of injections and the injected drug molecule with the evaluated parameters ($p>0.05$).

Conclusion: Repeated application of PVI causes cytotoxic damage to the ocular surface, resulting in goblet cell loss and squamous metaplasia of epithelial cells. As a result, it was observed that the stability of the tear film was impaired and symptoms related to the ocular surface developed in the patients. The results obtained from cytokine analysis in our study indicate that inflammatory mechanisms are involved in the pathogenesis of AMD. However, we think that the inflammatory effect of the PVI agent could not be demonstrated due to this inflammation due to caused by AMD.

Keywords: Povidone iodine, Intravitreal injection, Impression cytology, Ocular surface, IL-1 β , IL-6



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Yaşa bağımlı makula dejenerasyonu (YBMD) koroid, Bruch membran ve retina pigment epitel kompleksinin dejenerasyonu ile seyreden progresif bir hastalıktır. Özellikle ileri yaştaki bireyleri etkileyen bu hastalık ciddi görme kaybına neden olabilmektedir. YBMD gelişmiş ülkelerde 60 yaş üstü bireylerde legal körlüğün en sık nedenidir. Wong ve ark.'nın 2014 yılında yaptığı meta-analizde YBMD prevalansı %8,7 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada YBMD tanılı hasta sayısının 2020'de 196 milyon, 2040'ta ise 288 milyon olacağı öngörülmüştür. 2020 yılında Li ve ark.'nın 60 yaş üstü bireylerde yaptığı meta-analizde ise Avrupa toplumunda erken-orta YBMD prevalansı %25.3, ileri YBMD prevalansı %2.4 olarak bildirilmiştir. Yapılan prevalans çalışmalarında da görüldüğü gibi sık izlenen bir hastalık olan YBMD için en önemli ve değiştirilemez risk faktörü ise yaştır. Yaşla birlikte YBMD görülme sıklığı eksponansiyel olarak artar. Rudnicka ve ark.'nın 50 yaş ve üstü bireylerde yaptığı analizde her on yılda bir YBMD görülme sıklığının yaklaşık 4 katına çıktığı gösterilmiştir[1-5].

YBMD non-neovasküler form (kuru tip) ve neovasküler form (yaş tip, eksudatif) olmak üzere makuladaki lezyonun yapısına göre sınıflandırılabilir. Neovasküler tip YBMD, non-neovasküler tip YBMD'ye göre daha nadir görülüp YBMD olgularının %10'unu oluşturur. Ancak kuru tipe göre daha agresif ve hızlı seyreder. Neovasküler YBMD, koroidden dış retinaya uzanan yeni damar oluşumu ile karakterizedir. Yeni oluşan bu damarlar immatür ve anormal yapıda olmaları nedeniyle seröz sıvı sızdırabilir veya kanayabilir. Retina altına ya da içine sızan seröz sıvı ciddi görme kaybına neden olur[6, 7].

Neovasküler YBMD tedavisinde argon lazer fotokoagülasyon, fotodinamik tedavi, makula cerrahisi gibi birçok farklı prosedür uygulanmıştır. Ancak 2000’li yılların başından sonra intravitreal anti-VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü) molekülünün YBMD tedavisinde kullanılmasıyla birlikte tedavi yaklaşımları tamamen değişmiştir. Günümüzde diğer tedavi modalitelerinin endikasyonları oldukça sınırlı kalmış iken anti-VEGF neovasküler tip YBMD için standart tedavi prosedürü haline gelmiştir[4, 8, 9].

Neovasküler YBMD tedavisinde kullanılan ilk anti-VEGF ajan 2004 yılında FDA (Food and Drug Administration, Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanan pegaptanib molekülüdür. Pegaptanib molekülünü daha önceleri kanser tedavisinde kullanılan bevacizumab molekülü takip etmiştir. Günümüzde bevacizumab ile beraber yaygın kullanılan diğer iki anti-VEGF ajanı ise ranibizumab ve aflibercept molekülleridir. Randomize klinik çalışmalar sonucunda bu iki ajanın diğer tedavi modalitelerine göre görme keskinliğinde daha az kayıp ve daha fazla kazanç sağladığı net bir şekilde gösterilmiştir. Bunun sonucunda ranibizumab 2006, aflibercept 2011 yılında FDA onayı almıştır. YBMD dışında diyabetik retinopati ve retinal ven tıkanıkları gibi vasküler patolojilerde de yaygın olarak kullanılan anti-VEGF tedavisinin etkinliği klinik randomize çalışmalar ile kanıtlanmıştır. Bu başarılı tedavi için yeni anti-VEGF ajan arayışı sürmekte olup 2019 yılında FDA tarafından daha önceki moleküllere göre daha küçük boyutta (26 kDa) olup etkinliği daha uzun süreli olan brolucizumab klinik pratikte kullanım için onay almıştır[10-18].

YBMD, diyabetik retinopati, retinal ven oklüzyonu tedavilerinde devrim yaratan intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu oftalmolojide en yaygın uygulanan tedavi prosedürlerinden biri haline gelmiştir. YBMD ve diyabetik retinopati hastalıklarının kronik seyri nedeniyle bu tedavi prosedürünün etkili olabilmesi için uzun süreli ve tekrarlayan anti-VEGF enjeksiyonuna ihtiyaç duyulabilmektedir. Bunun yanında zamanla artan diyabet ve YBMD tanılı hasta sayısı da anti-VEGF enjeksiyonu sayısının artmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda son yıllarda intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sayıları oldukça hızlı artmış olup ilerleyen yıllarda da bu artışın süreceği öngörülmektedir[3, 17-23].

Tüm tıbbi girişimlerde olduğu gibi intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sonucunda da istenmeyen komplikasyonlar gelişebilir. Artan enjeksiyon sayıları da

bu komplikasyonlar ile karşılaşma ihtimalimizi artırır. Bu komplikasyonlardan en yıkıcı olanı ve geri dönüşümsüz, ağır görme kayıpları ile sonuçlanabileni endoftalmidir. Yapılan meta-analizlere göre endoftalmi sıklığı yaklaşık % 0.019-1.6 aralığındadır. İntravitreal enjeksiyon sonrasında görülen bu ciddi komplikasyonun önlenmesi veya görülme sıklığının azaltılabilmesi için alınması gereken önlemler tartışma konusudur. Enjeksiyon öncesinde steril örtü ve kapak spekulumu kullanımının endoftalmi riskini önlemedeki etkinliği bu tartışma konularından biridir. Yine yaygın kullanılan işlem öncesi veya sonrası profilaktik topikal antibiyotik kullanımının intravitreal enjeksiyon sonrası görülen endoftalmi riskini azaltmaya anlamlı bir etkisi olmadığını hatta oküler yüzeydeki antibiyotik direncini artırarak endoftalmi riskini arttırdığını söyleyen çalışmalar mevcuttur. Oküler yüzey üzerine %5 povidon iyot (PVI) uygulanması ise tartışma konusu olmayan ve randomize klinik çalışmalarda endoftalmi riskini azalttığı gösterilmiş olan bir prosedürdür [24-30].

PVI geniş spektrumlu, düşük maliyetli bir antiseptik ve dezenfektandır. Bu nedenle 1950'li yıllardan bu yana preoperatif deri ve mukoza üzerinde antiseptik ajan olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Katarakt cerrahisi sonrası endoftalmi riskini oldukça anlamlı şekilde azalttığı görülen PVI, Avrupa Katarakt ve Refraktif Cerrahi Derneğinin (ESCRS) kılavuzunda da yer alarak katarakt cerrahisi öncesi rutin kullanıma girmiştir. Katarakt cerrahisinde etkinliğini ve güvenliğini ispatlayan PVI, intravitreal enjeksiyon uygulamalarının başlamasıyla retina uzmanları tarafından da enjeksiyon öncesi antiseptik olarak tercih edilmiştir. Randomize klinik çalışmalarda da intravitreal enjeksiyon öncesi PVI uygulamanın diğer profilaksi yöntemlerine göre çok daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca PVI uygulamasına bağlı bildirilmiş anafilaktik reaksiyon veya antimikrobiyal direnç yoktur. Yapılan randomize klinik çalışmaların sonuçları göz önüne alınarak retina uzmanları tarafından intravitreal enjeksiyon için hazırlanmış kılavuzlarda da işlem öncesi PVI uygulamasının önemi vurgulanmıştır. Tüm bunların sonucunda PVI uygulaması, intravitreal enjeksiyon öncesi rutin bir prosedür halini almıştır [19, 29, 31-36].

İntravitreal anti-VEGF olan hastalara tedavinin etkinliği için uzun süreler boyunca tekrarlayan enjeksiyonlar yapılabilmektedir. Bunun sonucunda da hastanın oküler yüzeyi defalarca PVI ajanına maruz kalmaktadır. Tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler yüzey üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalar sınırlı

sayıdadır. Onlardan biri olan Saedon ve ark.'nın yaptığı çalışmada intravitreal enjeksiyon nedeniyle tekrarlayan PVI uygulanan hastalarda oküler yüzeyin olumsuz etkilendiği ve kuru göz şikayetlerinin geliştiği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise Verrecchia ve ark. oküler yüzeye uygulanan PVI nedeniyle intravitreal enjeksiyon sonrası 1. günde hastaların hayat kalitesinin olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir. Yine yapılan hücre kültürü ve hayvan çalışmalarında PVI uygulamasının kornea ve konjonktiva üzerine sitotoksik etkisi gösterilmiştir. Ancak bizim bilgimize göre intravitreal enjeksiyon yapılan hastalarda tekrarlayan PVI uygulamasının oküler yüzeydeki inflamatuvar ve sitolojik etkisini değerlendiren bir araştırma daha önce yapılmadı[37-40].

Çalışmamız tekrarlayan PVI maruziyetinin hastaların gözyaşı film parametrelerine ve hayat kalitesine etkisini aynı hastanın enjeksiyon olan ve olmayan gözünü karşılaştırarak incelemeyi amaçlamaktadır. Ayrıca tekrarlayan PVI uygulamasının olası etkisini diğer oküler yüzey parametrelerine ilaveten inflamatuvar ve sitolojik açıdan değerlendirerek toksisitenin daha iyi anlaşılması hedeflenmektedir.

2.GENEL BİLGİLER

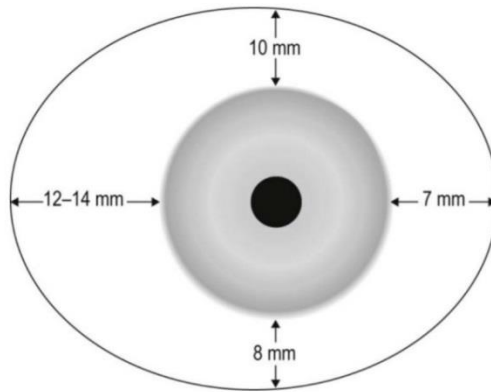
2.1 Konjonktiva

2.1.1 Konjonktiva anatomisi ve embriyolojisi

Konjonktiva, korneaskleral limbustan başlayıp göz kapak kenarlarına kadar uzanan sklerayı ve göz kapaklarının iç yüzeyini örten mukozal bir dokudur[41].

Konjonktiva, optik vezikül bölgesindeki yüzey ektodermi ve nöral krest dokularından kaynaklanır. 8. haftada göz kapakları yüzey ektodermi kırımlarından oluşur ve birbirine kaynaşır. Konjonktiva, kapakların arka yüzeyi boyunca yüzey ektodermi ve nöral krest dokusundan gelişir. Konjonktival fornikslerdeki epitelin tomurcuklanması ile 12. haftada superotemporalde lakrimal bez, alt ve üst fornikslerde Wolfring ve Krause'nin aksesuar lakrimal bezleri oluşur[42, 43].

Konjonktiva kapak kenarında ve limbusta sıkı yapışık olup geri kalan yerlerde gevşek bir halde olup forniks yapısını oluşturur. Bu bölgedeki gevşek yapıya sahip fazlalık konjonktiva gözün ve göz kapaklarının bağımsız hareketine olanak sağlar. Erişkin bir bireyde kornea dahil konjonktival kesenin toplam yüzey alanı bir göz için ortalama 16 cm²'dir (Şekil 2.1) [41, 44].



Şekil 2.1 : Korneaskleral limbustan fornikse olan uzaklıklar, sağ göz[41].

2.1.2 Konjonktiva histolojisi ve fizyolojisi

Konjonktiva birbiyle devamlılık gösteren 3 anatomik bölgeden oluşur:

1. Bulber (oküler) konjonktiva
2. Forniks konjonktiva
3. Palpebral (tarsal) konjonktiva

2.1.2.1 Bulber konjonktiva

Bulber konjonktiva düzensiz bir şekilde düzenlenmiş, keratinize olmayan, çok katlı epitel hücrelerinden oluşan 6-9 katmandan oluşur. Epitel hücrelerinin altında bazal membran ve gevşek bir stroma yer alır. Bulber konjonktivadaki epitel hücrelerinin çoğunluğunu, goblet hücrelerinin çevresinde yerleşmiş küboidal yapıdaki hücreler oluşturur. Mukus üretiminde görev alan goblet hücreleri konjonktival epitelyal bazal hücrelerin %5-10'unu oluşturur. Parasempatik uyarı ile salgı yaparlar ve çoğunluğu apokrin karakterdedir. Bunun dışında konjonktiva epiteli içerisinde suprabazal yerleşimli melanosit, lenfosit ve Langerhans hücreleri yer alır[41, 45-47].

Konjonktiva epitel hücrelerin apikal kısmındaki sıkı bağlantılar (tight junctions) ve desmozom seçici bir bariyer oluşturur. Böylece konjonktiva dışarıdan gelen enfeksiyöz ajanlara karşı bariyer görevi görürken oftalmik ilaçların emiliminde de anahtar rol oynar[48]. Yine apikal kısımda bulunan epitel hücrelerinin yüzeyini kaplayan şekerden zengin glikokaliks tabakası, hidrofilik yapısıyla gözyaşı film tabakasını göz yüzeyinde tutma açısından önemlidir[49].

2.1.2.2 Forniks konjonktiva

Forniks konjonktivası keratinize olmayan, çok katlı epitel hücrelerinden oluşan 3 kat hücre tabakası içerir. Palpebral ve bulber konjonktivadan farklı olarak daha çok silindirik yapıdaki epitel hücrelerinden oluşur. Yine farklı olarak kalın bir stromaya (substantia propria) sahiptir. Bu kalın stroma yüzeyel lenfoid tabaka ve derin fibröz tabaka olmak üzere ikiye ayrılır. Yüzeyel tabaka gevşek bir bağ doku içerisinde lenfosit, mast ve nötröfil içerirken derin fibröz tabaka damar ve sinir yapılarını içerir. Ayrıca derin fibröz tabaka Krause aksesuar gözyaşı bezlerini de

içerir. Alt fornikte yaklaşık 6-8 iken üst fornikte yaklaşık 40 adet Krause gözyaşı bezi vardır. Aksesuar bu bezler gözyaşının aköz komponentine katkı sağlarlar[41, 50].

2.1.2.3 Palpebral (tarsal) konjonktiva

Palpebral konjonktiva keratinize olmayan, çok katlı epitel hücrelerinden oluşur. Forniks konjonktivasından farklı olarak daha çok bulber konjonktivadaki gibi küboidal yapıdaki hücrelerden oluşur, ama burdaki hücreler bulber konjonktivaya göre daha küçüktür. Epitel kalınlığı üst kapakta 2-3 kat iken alt kapakta 4-5 kattır. Forniks konjonktivasında da olan ama çoğunlukla palpebral konjonktivada yer alan özel bir oluşum da Henle kriptleridir. Bu yapı yalancı salgı bezi görüntüsü oluşturacak şekilde bir araya gelmiş müsin üreten goblet hücrelerinden oluşur[41, 51, 52].

2.1.3 Konjonktiva vasküler anatomisi

Konjonktivadaki arteryel kan akımını oftalmik arterin terminal dalları (dorsal, nazal, frontal, supraorbital, lakrimal) sağlar. Fasiyal arter ise konjonktivanın vaskülarizasyonunda diğer bir yardımcı kaynaktır. Venöz dönüş palpebral konjonktivada post-tarsal venler aracılığıyla derin anterior fasiyal venler ve pterigoid pleksus ile olur. Bulber konjonktivada ise episkleral venöz pleksus aracılığıyla intraskleral venöz pleksus ile venöz dönüş sağlanır[53, 54].

Konjonktivanın lenfatik dolaşımı göz kapaklarının lenfatik dolaşımına katılır ve medialde submandibuler lenf noduna, lateralde preauriküler lenf noduna drene olur[41, 54].

2.1.4 Konjonktiva inervasyonu

Konjonktivanın duyuşal inervasyonu trigeminal sinirin oftalmik dalından (lakrimal, supraorbital, supratroklear ve infraorbital) gelen serbest sinir uçları ile sağlanır. Konjonktivanın taktıl sensitivitesinin eşik değeri korneaya göre 100 kat daha fazladır. Konjonktivanın kendi içerisinde ise en az duyarlı alan perilimbal alan iken en duyarlı alan marjinal palpebral konjonktivadır. Ayrıca konjonktiva parasempatik ve sempatik sinir liflerini içerir. Aksesuar gözyaşı bezleri ve goblet

hücreleri VIP (vazoaktif intestinal peptid) içeren parasempatik sinir lifleri tarafından inerve edilir[41, 55-57].

2.1.5 Konjonktival goblet hücresi

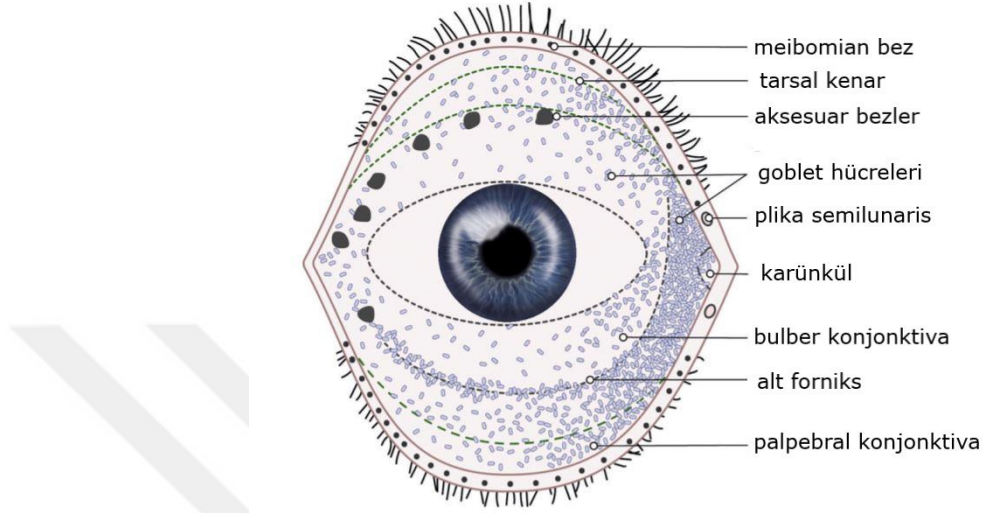
Konjonktival goblet hücreleri müsin üretimi için özelleşmiş epitelyal hücrelerdir. Bu özelleşmiş tek hücre apokrin karakterde bir salgı bezi gibi çalışarak gözyaşı film tabakasındaki müsinin çoğunluğunu üretir. Bazal membran ile temas halinde olan goblet hücreleri içerdiği müsin salgı granüllerinin apikal yerleşimi nedeniyle dolgun kadeh görünümlü hücrelerdir, ismini de kadeh görünümünden almıştır. Hücrenin nükleusu ve diğer organelleri bazal bölgede yerleşmiş olup az miktarda sitoplazma hücre zarının altında ince bir hat olarak izlenir. Goblet hücreleri etrafındaki epitel hücrelerine sıkı bağlantılar ile bağlıdır. Bu sıkı bağlantılarda goblet hücreleri tarafından üretilen claudin adlı protein görev alır[41, 44, 58, 59].

Goblet hücreleri sempatik ve parasempatik sinirler ile inerve edilir. VIP ve asetilkolin nörotransmitterleri ile uyarılan goblet hücreleri müsin salgılar. Müsin protein iskeleti serin, treonin ve prolin tekrarlarından oluşan yoğun glikolize edilmiş bir glikoproteindir. İnsan goblet hücrelerinin salgıladığı temel müsin MUC5AC molekülüdür. Bunun yanında insan goblet hücreleri MUC2 ve MUC16 molekülü de salgılar. Ama bu salgılar oran olarak MUC5AC molekülüne göre çok daha düşük düzeydedir[60-64].

Konjonktival kök hücreler bipotent karakterde olup müsin üreten goblet hücresine veya yüzey epitel hücresine dönüşebilir. Konjonktival kök hücreler konjonktivada dağınık halde bulunur. Yapılan çalışmalarda bipotent bu kök hücrelerin sıklıkla fornikslerde (özellikle alt forniks) ve medial kantusta daha yoğun bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca bipotent kök hücreler dışında goblet hücrelerinin yüzey epitel hücrelerinden de farklılaşarak oluşabileceğini bildiren araştırmalar mevcuttur. Bu goblet hücresine farklılaşma sürecinin nasıl tetiklendiği ve sürecin nasıl işlediği henüz net değildir[65-67].

Goblet hücreleri konjonktiva içerisinde homojen dağılım göstermez. Alt nazal bulber konjonktiva ve tarsal konjonktivada daha yoğun iken temporal ve limbal bölgede daha seyrek yerleşmiştir (Şekil 2.2). Sağlıklı bir gözde goblet hücre yoğunluğu interpalpebral bulber konjonktivada 443 ± 266 hücre/mm², alt tarsal

konjonktivada $1,972 \pm 862$ hücre/mm² olarak bildirilmiştir. Keratokonjonktivit sicca, oküler pemfigoid, Steven-Johnson Sendromu, kimyasal maruziyet, A vitamini eksikliği, androjen eksikliği gibi durumlarda goblet hücre yoğunluğunda azalma olur[68-70].

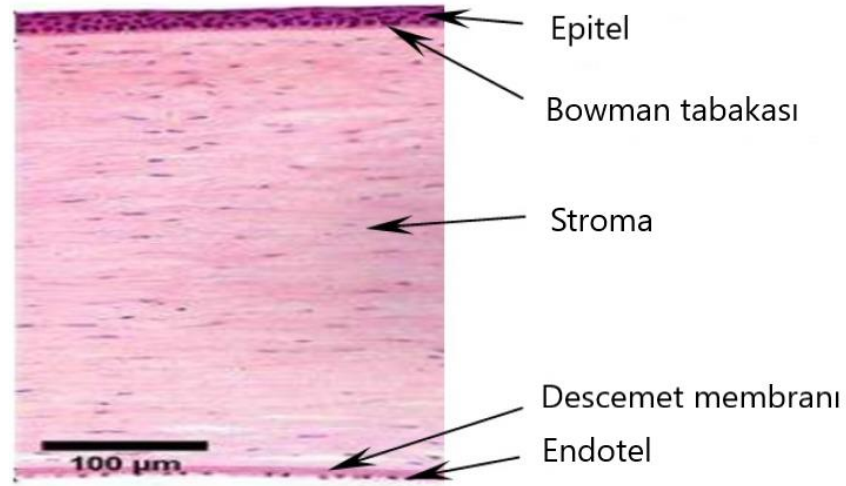


Şekil 2.2 : Goblet hücrelerinin oküler yüzeydeki dağılımı[71].

2.2 Kornea

Kornea avasküler saydam bir bağ dokudur. Korneanın ön yüzeyi asferik ve konveks yapıdadır. Yetişkin bir insanda korneanın çapı horizontalde yaklaşık 11-12 mm, vertikalde yaklaşık 9-11 mm'dir. Kalınlığı ise santralde ortalama 0.5 mm'dir. Korneanın kalınlığı periferde gittikçe artar, periferde kalınlık yaklaşık 0.7 mm'ye ulaşır. Korneanın yüzey eğriliği de sabit değildir, merkezde en büyük iken periferde doğru azalır. Korneanın 3 mm merkezi optik bölgesinde eğrilik yarıçapı 7.5 ile 8.0 mm arasındadır. Kornea üzerindeki gözyaşı film tabakası ile beraber gözün ilk refraktif yüzeyini oluşturur. Bu refraktif güç (40-44 diyoptri), tüm gözdeki refraktif gücün yaklaşık 2/3'ünü oluştur[72-76].

Kornea üçü hücresel (epitel, stroma, endotel), ikisi ara yüz (Bowman tabakası ve Descemet membranı) olmak üzere 5 katmandan oluşur (Şekil 2.3)[77].



Şekil 2.3: Korneanın histolojik kesiti[77].

2.2.1 Kornea epiteli

Embriyolojik olarak kornea epiteli yüzey ektoderminden kaynaklanır (6. hafta). Kornea epiteli keratinize olmayan, çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Yaklaşık kalınlığı 50 µm olup total kornea kalınlığının %10'unu oluşturur. Epitel kalınlığı kornea tüm yüzeyi boyunca sabittir. Kornea epiteli 5-6 sıra hücreden oluşur ve 3 farklı hücre tipi içerir. Bunlar yüzeyden derine göre sırasıyla yüzeyel epitel hücreleri, kanatsız (wing) hücreler ve kolumnar bazal hücrelerdir[73, 76, 78].

Yüzey epitel hücreleri, 2-3 sıra düz, poligonal yapıdaki keratinize olmayan hücrelerden oluşur. Ancak A vitamini eksikliği gibi patolojik durumlarda keratinize olabilir. Yüzey epitelinin hücre membranlarının apikal kısımları parmağa benzer uzantılar oluşturur. Mikrovillus denilen bu yapıların arasını glikoprotein ve glikolipid molekülleri doldurur. Yüzeydeki şeker yapıdaki glikokaliks tabakası korneanın ön yüzeyinin hidrofilik yapısını sağlar. Yüzey epitel hücreleri birbirine desmozom ve sıkı bağlantılar ile bağlıdır. Bu bağlar sayesinde oküler yüzeyde dışardan gelen yabancı moleküllere karşı bariyer oluşmuş olur. Bu bağlantıların dolayısıyla epitelin sağlamlığı klinik olarak da floresein boya testinde boyanın penetre olamamasıyla gösterilebilir[41, 45, 79, 80].

Yüzey epitel hücrelerinin altında ise yassı, kanada benzer şekilleri nedeniyle wing hücreleri olarak isimlendirilen hücreler 2-3 sıralı şekilde dizilir. Kanatsız hücreler, kornea epitelinin diğer hücrelerinde olduğu gibi desmozom yapıları ile birbirine bağlıdır[41].

Bazal hücreler, kolumnar yapıda tek sıra hücre tabakasından oluşur. Diğer iki hücre tipinden farklı olarak kornea epitelinin bölünebilme yeteneğine sahip tek hücre grubudur. Bazal hücreler önce kanatsı hücreye sonrasında ise yüzeyel epitel hücresine dönüşür. Bu derin bazal hücrelerden başlayıp yüzeye doğru düzenli involüsyon, apoptozis (programlanmış hücre ölümü) ve deskuamasyon süreci ortalama 7-10 gün sürer. Böylece yaklaşık 1 haftada kornea epiteli kendini yeniler. Bazal hücreler altındaki epitel bazal membranı yer alır. Bazal membran çoğunlukla tip IV kollajen ve lamininden oluşur. Bazal hücreler bu membrana tip VII kollajen ve hemidesmozomlar ile bağlantılıdır[76, 81, 82].

2.2.2 Bowman tabakası

Bowman tabakası veya Bowman membranı, yaklaşık 12-15 µm kalınlığında stromanın anterior kısmında yer alan kollajen ve proteoglikanlardan oluşan hücre içermeyen bir yapıdır. Gerçek bir membran yapısından çok stromanın anterior kısmına verilen isimdir. Stromadan daha küçük kollajen fibriller içerir, çoğunlukla içerdiği kollajenler tip I ve tip III kollajendir. Bowman tabakasının klinik önemi rejenerasyon kapasitesi yoktur ve hasar aldığında skar ile iyileşir[41, 83, 84].

2.2.3 Stroma tabakası

Stroma nöral krestin 7. haftada göçü ile gelişir. Stromadaki baskın hücre keratositlerdir. İğ şeklindeki bu hücreler stromadaki lameller arasına dağılmıştır ve birbirine hücresel uzantıları ile temas halindedir. Bu temas noktalarında neksus (gap junction) denilen hücreler arası bağlantılar içerirler. Keratositlerin yenilenme süresi yaklaşık 2-3 yıldır. Keratositlerin görevi ekstrasellüler matriksi oluşturmak ve devamlılığını sağlamaktır. Stromanın %2-3'ünü keratositler oluşturken geri kalanını kollajenler ve proteoglikanlar oluşturur. Stromada baskın kollajen tip I kollajen iken az miktarda da olsa tip III, tip V ve tip VI kollajen de yer alır. Düzenli olarak sıralanmış kollajen lifleri çevresindeki ekstrasellüler matriks ile lamel yapısını oluşturur. Yaklaşık 200-250 lamel kornea yüzeyine paralel bir şekilde sıralanmış olup komşu lamele göre kollajen lifleri dik şekilde uzanmıştır. Bu organizasyon sayesinde kornea optik geçirgenliğini sağlar. Proteoglikanlarda ise baskın olan (yaklaşık %65'i) keratan sülfattır. Keratan sülfat dışında stroma kondroitin sülfat ve dermatan sülfat içerir[41, 85-91].

2.2.4 Descemet membranı

Endotel hücreleri tarafında intrauterin (8. hafta) üretilmeye başlanır. Doğumda yaklaşık 3 μm kalınlığındayken yaşla beraber kalınlığı artmaya devam eder ve yetişkinlikte kalınlığı yaklaşık 8-10 μm ' ye ulaşır. Tip VIII kollajen, kısa zincirli, fibriller olmayan bir kollajendir ve descemet zarının ana bileşenidir[73, 92-95].

2.2.5 Kornea endoteli

Kornea endotel hücreleri hekzagonal (altıgen) şekilde olup descemet membranın posteriorunda tek sıra halinde sıralanır. Embriyolojik olarak nöral krestten köken almıştır. Korneal endotel hücrelerinin proliferasyon yeteneği yoktur ve endotel hücre yoğunluğu da yaşla birlikte azalır. Doğumda 3500 hücre/ mm^2 olan kornea endotel hücre yoğunluğu her sene yaklaşık %0.6 azalır. Herhangi bir endotel hasarında endotel hücresi kendini yenileyemediği için hasarlı bölgeyi komşu sağlam endotel hücreleri genişleyerek ve yer değiştirerek kapatırlar. Bunu endotel hücreleri boyutunu artırarak (polimegatizm) ve hekzagonal yapısının bozarak (polimorfizm) gerçekleştirebilirler. Sağlıklı bir korneada, endotel hücrelerinin yaklaşık %70-80'i altıgendir. Bu altıgen yapının bozulması veya hücre boyutunun artması endotel hücrelerinin fonksiyonlarına zarar verir[96-100].

Endotel hücreleri, stromanın görece dehidrate kalmasını sağlayan iyon taşıma sistemleri içerir. Bu aktif iyon taşıma sistemleri ATP harcayarak stroma (134 mEq/L) ile aköz sıvı (143 mEq/L) arasında osmotik Na gradienti oluşturur. Bu osmotik gradient suyun stromadan aköze pasif geçişini sağlar[41, 101].

2.2.6 Kornea vasküler anatomisi

Kornea vücuttaki nadir avasküler dokulardan biridir. Ancak metabolik aktif hücreler içeren korneanın da ATP üretmesi için glikoza ve oksijene ihtiyacı vardır. Kornea ihtiyacı olan glikozu aköz sıvıdan, oksijeni ise gözyaşı film tabakasından difüzyon yolu ile alır. Bu nedenle gözyaşı film tabakasının atmosfer ile direk teması önemlidir. Düşük gaz geçirgenliğine sahip olan kontakt lenslerde oksijenin yetersiz difüzyonu, korneal hipoksiye ve korneal ödeme neden olabilir[102-104].

2.2.7 Kornea inervasyonu

Kornea, vücuttaki en yoğun innerve edilen ve en hassas dokulardan biridir. Korneadaki sinir ucu yoğunluğu deridekinden yaklaşık 300-400 kat daha fazladır. Korneanın bu yoğun duysal innervasyonu trigeminal sinirin ilk dalı olan oftalmik sinirin siliyer dalından sağlanır. Kalın gövdeler halinde stromaya giren sinir lifleri anteriora doğru ince dallar vererek stroma içinde pleksiform bir yapı oluşturur. Bu yapıdan çıkan sinirler bowman tabakasını delerek bazal epitel hücrelerinin altında yoğun bir nöronal ağ oluştururlar[105-108].

2.3 Kuru Göz

Oküler sistemde ilk refraktif yüzey korneanın anteriorunda yer alan gözyaşı film tabakasıdır. Gözyaşının optik olarak saydam ve düzenli bir yüzey oluşturmak yanında sürtünmeyi azaltma, korneayı besleme, eksternal enfeksiyöz ajanlar ve yabancı maddelerden koruma gibi fonksiyonları vardır. Bu fonksiyonlarının korunması sağlıklı bir göz ve net bir görüş için elzemdir[41].

2.3.1 Gözyaşı

Sağlıklı bir yetişkinde gözyaşı volümü yaklaşık 6-7 µl'dir. Bu sıvı stabil olmayıp nazolakrimal kanal yoluyla drene olarak veya buharlaşarak kayba uğrar. Bu kaybı karşılamak için dakikada yaklaşık 1.2 µl gözyaşı üretimi olur. Gözyaşının yenilenme hızı ortalama dakikada %16'dır[109, 110].

Gözyaşının içeriği oküler yüzeyin durumuna göre değişmekle birlikte sağlık bir gözde gözyaşı 6–10 mg/ml protein içerir. Lizozim, IgA, albümin, laktoferrin bu proteinlerden önde gelenlerdir. Gözyaşı protein dışında elektrolit de içerir ve bunların konsantrasyonu seruma göre farklılık gösterir. Potasyum ve klor seruma göre daha yüksek konsantrasyonda bulunurken glukoz daha düşük konsantrasyondadır[111-113].

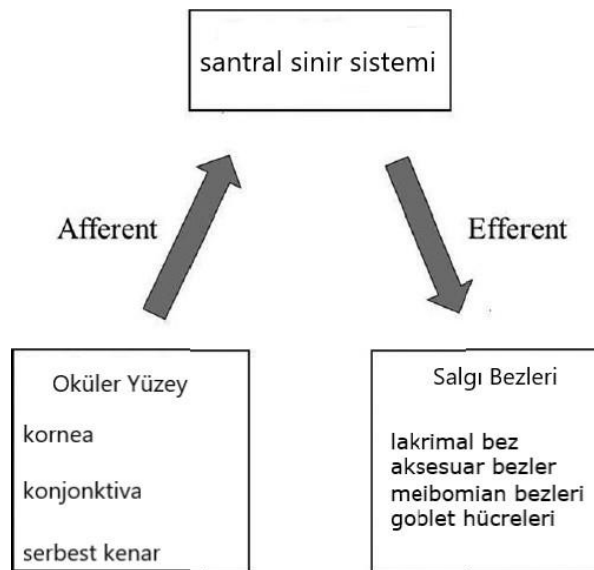
Gözyaşının içeriğine göre değişen osmolaritesi sağlıklı bir durumdayken ortalama 296.5±9.8 mOsm/L'dir. Versura ve ark.'nın yaptığı çalışmada kuru göz hastalığının şiddeti artıkça gözyaşı osmolaritesi de kademeli olarak arttığı gösterilmiştir. Gözyaşı osmolaritesi hafif kuru gözde 298.1±10.6, orta şiddetli kuru gözde 306.7±9.5, ağır kuru gözde 314.4±10.1 olarak bildirilmiştir. Gözyaşı

osmolaritesinin değişmesi kuru gözün patofizyolojisinde yer alan temel etkenlerden biridir[114].

2.3.2 Lakrimal fonksiyonel ünite

Gözyaşı film tabakasının volümünün ve osmolaritesinin olması gereken değerlerde tutulması sağlıklı bir oküler yüzey için elzemdir. Gözyaşının homeostasisi lakrimal fonksiyonel ünite (lacrimal functional unit, LFU) tarafından sağlanır. LFU lakrimal bezler, oküler yüzey (kornea, konjonktiva ve kapak kenarı) ve bunları birbirine bağlayan sinirlerden oluşur. LFU afferent ve efferent yolakları olan bir refleks arkını oluşturur. Oküler yüzeyden uyarıları alan trigeminal sinir afferent yolu oluştururken salgı bezlerini (lakrimal bez, aksesuar bezler, meibomian bezleri ve goblet hücreleri) uyaran parasempatik sinirler efferent yolu oluşturur (Şekil 2.4)[115-118].

DEWS II (Dry Eye Workshop, Kuru Göz Çalışması) kuru gözü, oküler semptomların eşlik ettiği gözyaşı homeostasisinin bozulduğu multifaktöriyel bir oküler yüzey hastalığı olarak tanımlamıştır. LFU mekanizmasındaki herhangi bir aksaklık gözyaşı homeostasisini bozarak osmolarite artışına neden olur. Dengesi bozulmuş gözyaşı film tabakası oküler yüzeyde inflamasyonu tetikler. Bunun sonucunda proinflamatuvar sitokinler salınır, apoptozis indüklenir. Hasar görmüş oküler yüzey LFU mekanizmasına zarar vererek yeni bir döngü başlatır. Bu döngünün kırılması kuru gözün tedavisinin kilit noktasıdır[116, 117, 119, 120].



Şekil 2.4 : Lakrimal fonksiyonel ünite[118].

2.3.3 İnflamatuar mekanizmalar

Kuru göz hastalığının temelinde hiperosmolarite ve onun tetiklediği inflamasyon vardır. Baudouin ve ark. patofizyolojisinde inflamatuvar süreçlerin baskın rol oynadığı kuru göz hastalığını kısır bir döngü (vicious circle) olarak tariflemiştir. Kendi kendini besleyen bu döngüde hiperosmolarite oküler yüzeyde inflamasyona neden olur. Oküler yüzeyden salınan interlökin-1 (IL-1), IL-6, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), matriks metalloproteinazlar (özellikle MMP-9) inflamatuvar hücrelerin oküler yüzeyde toplanmasını ve aktifleşmesine neden olur. İnflamatuar hücreler de yine salgıladıkları proinflamatuvar ve apoptotik mediatörler ile bu süreci hızlandırır. Salgılanan mediatörlerin ve hiperosmolaritenin doğrudan etkisi ile yüzey epitel hücresi ve goblet hücresi ölümü gerçekleşir. Yüzey epitel hücresi ve goblet hücresi ölümü yani müsin kaybı oküler yüzeyde gözyaşı film tabakasının dengesini bozar. Bu da gözyaşının hiperosmolaritesini artırıp kısır döngüyü tamamlar. Baudouin ve ark. sonradan bu kısır döngüye meibomian bez disfonksiyonunu içeren yeni bir kısır döngüye daha dahil etmiştir[117, 119, 121-125].

Gözyaşında artmış inflamatuvar sitokinlerin gösterilmesi kuru gözde inflamatuvar mekanizmaların patogeneze rol oynadığını desteklemiştir. Pflugfelder ve ark.'nın çalışmasında Sjögren hastalığına bağlı kuru gözü olan hastaların gözyaşında IL-1 α , IL-6, IL-8 ve TNF- α sitokinleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Lam ve ark.'nın yaptıkları çalışmada da kuru gözü olan hastalarda gözyaşında inflamatuvar sitokinler yüksek bulunmuş olup hastalığın şiddeti ile korele olduğu gösterilmiştir[124, 126, 127].

2.4 Retina

2.4.1 Retina anatomisi ve embriyolojisi

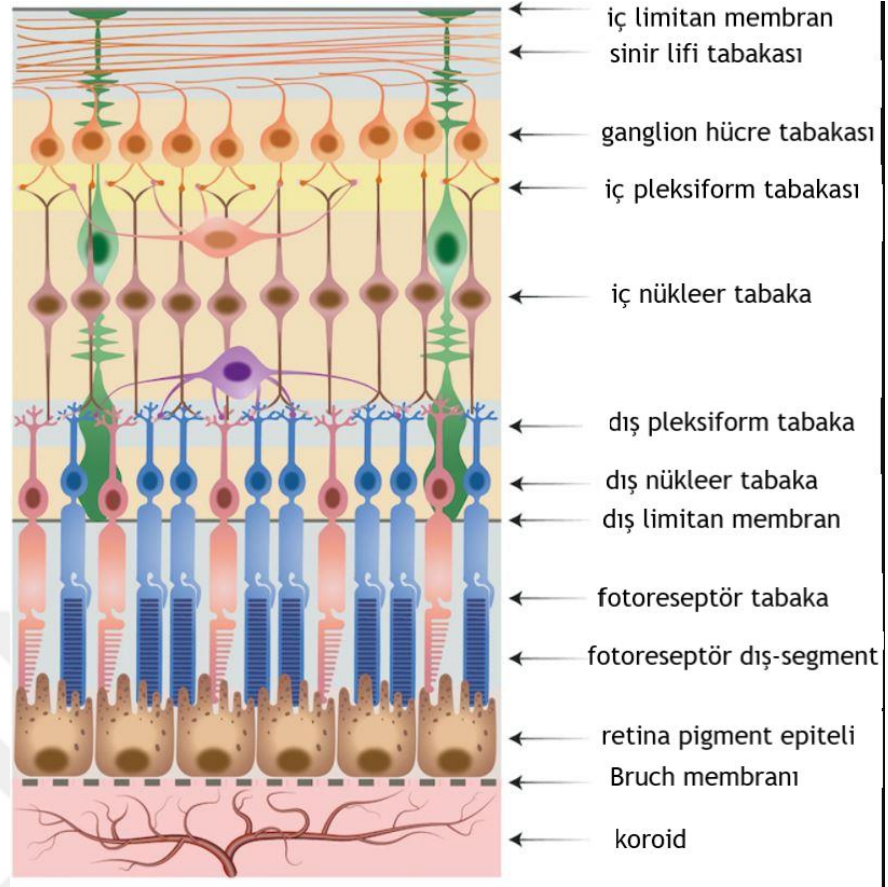
Retina gözün en iç yüzeyinde yerleşmiş, ışığa duyarlı, ağ şeklindeki özel bir dokudur. Işığın algılanması ve nöronal sinyal halinde beyne iletilmesi için farklılaşmış hücre gruplarından oluşur. Retinanın embriyolojik gelişimi nöral tüpün iki yanından invajine olan optik veziküllerin oluşmasıyla başlar. Oluşan ilkel optik veziküller kendi üzerine katlanarak optik kabı oluşturur. Optik kap tek sıra halinde iki hücre katmanından oluşur. Dış tabaka pigment granülleri içerir ve retina pigment

epitelini oluşturur. İç tabaka ise sonradan bölünerek çok katlı hale gelir ve nrosensoriyel retinayı oluşturur. Nörosensoriyel retinanın gelişimi içten dışa doğru ilerler, yani önce ganglion hücreleri en son da fotoreseptör hücrelerin gelişimi tamamlanır[128, 129].

Retina anatomik olarak santral retina (makula, arka kutup, area santralis, makula lutea) ve periferik retina olmak üzere ikiye ayrılır. Santral retina, fovea merkezli çapı yaklaşık 6 mm olan dairesel alandır. Santral alan dışında kalan ve ora serrataya kadar uzanan alan ise periferik retina olarak isimlendirilir. Retinanın ora serratadan ora serataya genişliği yaklaşık 43 mm'dir. Makula ortalama 1000 mm² olan toplam retina alanın yalnızca yaklaşık %3'ünü oluşturur, geriye kalan %97'sini periferik retina oluşturur[45, 130, 131].

2.4.2 Retina histolojisi ve fizyolojisi

Makula yüksek oranda karotenoid pigment içerir, bu nedenle de makula lutea ya da Türkçe isimlendirilmesiyle sarı nokta olarak adlandırılır. Histolojik farklılık olarak makula iki-üç kat ganglion hücre takabası içerirken sinir lifi tabakası içermez. Makulanın merkezinde 1,5 mm çapındaki bölgeye fovea denilmektedir. Yaklaşık bir optik disk çapında olan bu bölgede yoğun bir şekilde koni hücreleri varken rod hücreleri yer almaz. Foveanın merkezinde ise 0,35mm çapında foveola denilen retinal kapiller içermeyen bölge yer alır. Foveola ganglion hücre tabakası ve i nükleer tabaka içermez. Makulanın tam merkezindeki yaklaşık 150-200 m çapındaki çukur şeklindeki alana ise umbo (clivus) denilmektedir. Bu bölge içerdiği yüksek sayıdaki koni hücresiyle görme keskinliğinin en iyi olduğu noktadır[132, 133].



Şekil 2.5 : Retina tabakalarının organizasyonu[134].

Retina kompleks görme olayının gerçekleşebilmesi için histolojik olarak farklılaşmış hücre gruplarından oluşur. Birbiriyle sıkı ilişkiler içinde olan bu hücre grupları içten dışa doğru şu şekilde organize olmuştur (Şekil 2.5):

- İç limitan membran
- Sinir lifi tabakası
- Ganglion hücre tabakası
- İç pleksiform tabakası
- İç nükleer tabaka
- Dış pleksiform tabaka
- Dış nükleer tabaka
- Dış limitan membran
- Fotoreseptör tabakası
- Retina pigment epiteli

2.4.2.1 İç limitan membran

Müller hücrelerinin uzantılarından oluşur. Embriyolojik gelişim sürecine retinanın sağlıklı gelişmesinde önemli rol oynar. Retina ile vitreus için bazal membran görevi görür[135]. Vitreomaküler arayüzü etkileyen bozuklukların patofizyolojisinde hücresel proliferasyon için bir iskele görevi görebildiği düşünüldüğü için bu hastalıkların cerrahisinde iç limitan membranın (İLM) soyulmasının daha başarılı sonuçlar vereceği bildirilmiştir[136].

2.4.2.2 Sinir lifi tabakası

Ganglion hücrelerinin aksonları tarafından oluşturulan tabakadır. Perifer retinada daha ince iken optik diske yaklaştıkça kalınlığı artar. Peripapiller bölgede kalınlığının ölçülmesi optik nöropatilerin (örneğin glokom) tanınmasını ve takibini sağlar[137].

2.4.2.3 Ganglion hücre tabakası

Genelde tek sıra ganglion hücre gövdelerinden oluşan bu tabakanın kalınlığı makulaya doğru artar. Foveaya doğru 8-10 sıra hücre kalınlığındadır. Komşu ganglion hücreleri müller hücrelerinin glial uzantıları ile ayrılır. Multipolar ganglion hücreleri, bipolar ve amakrin hücreler ile sinaps yapmaktadır[138].

2.4.2.4 İç pleksiform tabakası

Görsel yoldaki ikinci sıra ve üçüncü sıra nöron arasındaki sinaps yeridir. Bipolar hücrelerin aksonları ile ganglion hücrelerinin dendritleri arasındaki sinaptik bağlantılardan oluşur. Ayrıca bu iki hücre grubunun amakrin hücreler ile yaptığı bağlantılar da bu tabakada yer alır[138].

2.4.2.5 İç nükleer tabaka

İç nükleer tabaka horizontal hücrelerin, bipolar hücrelerin, amakrin hücrelerin ve müller hücrelerin gövde ve nükleuslarından oluşur. Amakrin hücrelerin çekirdekleri iç pleksiform tabakaya yakın yerleşmiş iken horizontal hücrelerin çekirdekleri dış pleksiform tabakaya yakın yerleşmiştir[138, 139].

2.4.2.6 Dış pleksiform tabaka

Dış pleksiform tabaka retinal fotoreseptör hücrelerin aksonlarıyla horizontal hücrelerin ve bipolar hücrelerin sinaps yaptıkları bölgedir[140]. Makula bölgesinde konilerin aksonları oblik bir seyir izleyerek foveadan dışa doğru uzar. Burada dış pleksiform tabaka daha kalın izlenir ve Henle tabakası olarak isimlendirilir. Henle tabakası, anatomik konumu ve histolojik yapısı nedeniyle kanama ve eksüda birikimi için yatkın bir bölgedir[141, 142].

2.4.2.7 Dış nükleer tabaka

Dış nükleer tabaka rod ve koni hücre nükleuslarını içerir. Koni hücre gövdeleri rod hücrelerine göre daha büyüktür ancak koni hücrelerinin dış lifleri daha kısa olması nedeniyle dış limitan membrana daha yakın yerleşmişlerdir. Koni hücre nükleusları dış limitan membranın üzerinde tek kat olarak dizilmiştir. Rod hücre nükleusları ise koni hücre gövdelerinin üzerinde birkaç kat halinde sıralanmıştır. Dış nükleer tabaka optik diskin nazal kenarında 8-9 katlı iken diskin temporal kenarında 4 sıra kalınlığındadır. Fovea ise 10 kat koni hücre kalınlığı ile en kalın olduğu yerdir[138, 143].

2.4.2.8 Dış limitan membran

Gerçek bir membran olmayan dış limitan membran, homotipik (müller hücresi-müller hücresi) ve heterotipik (fotoreseptör-müller hücresi) hücreler arası bağlantılardan oluşur[144]. Dış limitan membranın retinanın yapısı desteklemede mekanik bir destek olduğu düşünülmektedir[145].

2.4.2.9 Fotoreseptör tabakası

Fotoreseptörler, retinada bulunan ve ışığı fotokimyasal reaksiyonlar sonucunda fizyolojik süreçleri uyaran elektrik sinyallerine dönüştüren özel nöronlardır. Fotoreseptörler görmenin gerçekleşmesinde birincil nöronlardır. İki tip fotoreseptör hücre vardır. Bunlardan ilki loş ışıktaki görmeyi (skotopik görme) sorumlu rod hücreleri, ikincisi ise parlak ışıktaki görmeyi (fotopik görme) sorumlu olan koni hücreleridir. Koni hücrelerinin rod hücrelerine kıyasla ışığa 100 kat daha az hassas olmaları ve ışık uyarısına cevaplarının daha hızlı olması parlak ışıktaki görmeyi sağlar[133, 146].

Fotoreseptör hücreler dış segment, iç segment, nükleus ve sinaptik terminal olmak üzere 4 kısımdan oluşur. Işık ile ilk karşılaşan ve fotokimyasal reaksiyonların başladığı yer dış segmenttir. İç segment ise protein sentezi ve ATP sentezinden sorumlu kısımdır. Fotoreseptörlerin sinaptik terminalinde özelleşmiş bir organel olan ribbon yer alır. Bu bölgeden glutamat salınımı gerçekleşir ve ikincil nöronlar uyarılır[133, 143].

2.4.2.10 Retina pigment epiteli

Retina pigment epitel (RPE) hücreleri, fotoreseptör hücreler ile birlikte ışığı algılayan ve ışığa duyarlı olan iki hücreden biridir. Bu iki hücre tipi yumuşakçalardan yüksek omurgalılara kadar birlikte yer alıp görme fonksiyonu için aralarındaki ilişki elzemdir. Embriyonik gelişimde de RPE ve nöronal retinanın sağlıklı şekilde farklılaşması birbirlerinden gelen sinyallere bağlıdır. İki tabaka arasındaki bu iletişim kesildiğinde RPE'nin kendi kendine çok katmanlı retina benzeri bir yapı oluşturduğu görülmüştür[147-150].

RPE, altıgen şeklinde tek sıra hücre tabakasından oluşur. Hücreler arasında sıkı bağlantılar yer alır. Her bir RPE yaklaşık 30-45 adet fotoreseptör hücresi ile bağlantılıdır. RPE hücrelerinin apikal kısmındaki mikrovillus yapısı sayesinde RPE ve fotoreseptör hücreleri birbirine kenetlenmiştir. Fotoreseptörlerin ışığa duyarlı dış bölümleri ile koroidin arasında yer alması nedeniyle RPE'nin retina fizyolojisinde çok önemli görevleri vardır[151, 152]:

Işık emilimi-oksidatif stresten koruma

Melanin granülleri ile yüklü RPE hücreleri saçılan ışığı absorbe ederek optik sistemin kalitesini artırır. Retina üzerine düşen ışık retinada foto-oksidatif yüke neden olur. Retinada oluşan bu foto-oksidatif yüke koroidin yüksek oksijen içeriği de katkı sağlar. Retinayı foto-oksidatif hasardan korumak için RPE içerdği melanin ve karotenoidler ile ışığı absorbe eder. Işığın melanin tarafından emilimi RPE-koroid kompleksinin sıcaklığını 40° C üzerinde kadar çıkarabilir. Oluşan bu ısı artışı yüksek koroid perfüzyonu ile retinadan uzaklaştırılır. Ayrıca hücre içi enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar oluşan serbest radikalleri temizleyerek RPE-fotoreseptör kompleksinin devamlılığını sağlar. Yaşlanmayla birlikte fagozom yıkım ürünleri (lipofuskin) RPE hücrelerinde birikmeye başlar ve foto-oksidatif savunma

mekanizması zayıflar. Bunun sonucunda oluşan oksidatif hasarın YBMD patofizyolojisinde yer aldığı düşünülmektedir[152-159].

Fotoreseptör dış segment fagositozu

Işığa duyarlı fotoreseptör dış segmentlerinde foto-oksidatif hasar sonucu reaktif oksijen radikalleri birikir. Fotoreseptörlerin fonksiyonunu koruması için RPE tahrip olmuş ve dökülmüş fotoreseptör dış segmentlerini fagosite eder. Fotoreseptör dış segmentinin tüm uzunluğunu yenilemek yaklaşık on bir gün sürer. Bu, sabahları gerçekleşen ve ışıkla tetiklenen diurnal düzenli bir süreçtir. Sirkadiyen ritim dışında bu süreç RPE-fotoreseptör dış segment kompleksi arasında reseptör düzeyinde de kontrol edilen bir süreçtir. RPE üzerinde bu süreci düzenleyen 3 reseptör tanımlanmıştır. Bunlar: CD36, receptor-tyrosinekinase c-mer (MerTK) and $\alpha V\beta 5$ integrin[160-166].

Vizüel pigment yenilenmesi

Görme siklusu ışığın rodopsin ile reaksiyona girmesiyle başlar. Rodopsin, rodlarda opsin, konlarda iodopsin ile bir tür kromofor olan 11-cis retinalden oluşur. Bir fotonun absorpsiyonundan sonra, 11-cis retinal konformasyonunu all-trans retinal olarak değiştirir. Görme siklusunun devam etmesi için all-trans retinal yeniden izomerize edilmesi gereklidir. Fotoreseptörler, all-trans retinali yenilemek için bir izomeraz içermediği için izomerizasyon RPE'de gerçekleşir. Bu amaçla all-trans retinal RPE'ye iletilir, 11-cis retinal olarak yeniden izomerize edilir ve fotoreseptörlere geri iletilir. Bu kompleks reaksiyonlar zinciri vizüel siklusu oluşturur. Işıkla reaksiyon sonucu oluşan all-trans retinal, fotoreseptörün hücre zarına bağlı bir retinol-dehidrogenaz tarafından all-trans retinole indirgenir ve subretinal boşluğa iletilir. Burada bir taşıyıcı protein olan IRBP'ye (interstisyel retinal bağlayıcı protein) bağlanır ve RPE'ye taşınır. RPE'ye gelen all-trans retinol üç enzimden oluşan bir kompleks tarafından 11-cis retinale dönüştürür. Bu kompleks, LRAT (lesitin:retinol transferaz), RPE65 (65 kDa'lık RPE proteini) ve RDH5'ten (11-cis-retinol dehidrogenaz) oluşur. Sonrasında oluşan 11-cis retinal fotoreseptör arası matrikse geçerek IRBP aracılığıyla fotoreseptörlere taşınır. Böylece yeni bir uyarana hazır hale gelmiş olur görsel siklus[167-171].

Sitokin ve büyüme faktörlerinin salgılanması

RPE patolojik ve sağlıklı koşullarda komşu dokularla iletişime girmek ve onların metabolizmasını düzenlemek için birçok sitokin [ATP, fas-L, fibroblast büyüme faktörleri (FGF-1, FGF-2, FGF-5), dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), siliyer nörotrofik faktör (CNTF), platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), VEGF, lens epitelinden türetilen büyüme faktörü (LEDGF), interlökin, matris metalloproteaz doku inhibitörü (TIMP) ve pigment epitelinden türetilen faktör (PEDF)] salgılar. Sağlıklı koşullarda RPE'den sürekli salgılanan, komşu dokularının devamlılığı için gerekli olan sitokinler ise apikal kısımdan salgılanan PEDF ve bazal kısımdan salgılanan VEGF/TIMP'dir. Apikal kısımdan salgılanan PEDF, fotoreseptör üzerinde antiapoptotik ve antianjiojenik etkileri olan nörotrofik faktördür. VEGF/TIMP ise koroid vasküler endotel hücrelerinin devamlılığı ve koryokapillarisin fenestre yapısını korumak için gerekli sitokinlerdir[172-175].

Avasküler dış retinanın sağlanmasında da RPE'den salınan sitokinler görev alır. PEDF ve endostatinin antianjiojenik etkisiyle subretinal alanın avasküleritesi RPE tarafından sağlanır. PEDF makulada periferik retinaya göre 10 kat daha yoğun bulunur[133].

Dış kan-retina bariyeri

Retinanın kendi içindeki hassas biyokimyasal mekanizmalarının sağlıklı çalışması için kan-retina bariyeri gereklidir. İç kan-retina bariyerini non-fenestre retinal vasküler endotel hücrelerinin arasındaki sıkı bağlantılar oluşturur, ayrıca müller hücrelerinin uzantıları da bu bariyeri destekler. Dış kan retina bariyerini ise altıgen şekilli tek sıra dizilmiş RPE hücrelerinin arasındaki sıkı bağlantılar ile oluşur. Bu bariyer koroid tarafındaki sistemik etkilerden iç retinayı izole eder. Retinanın immün ayrıcalığının gelişmesinde rol oynar. Ayrıca subretinal alan ve koroid arasında serbest madde geçişini önleyip iki yönlü moleküllerin oldukça seçici bir şekilde taşınmasına olanak sağlar[133, 176-179].

Transepitelyal transport

İki yönlü çalışan bu transport sistemi kandan retinaya besin taşınmasını sağlarken subretinal alandaki su, iyon ve metabolitlerin koroid dolaşımı ile

uzaklaştırılmasını sağlar. Metabolik olarak aktif olan fotoreseptörlerin devamlılığını sürdürebilmesi için enerjiye, dolayısıyla glukoza ihtiyacı vardır. Bu ihtiyaç RPE hücrelerinin apikal ve bazolateral membranında yer alan glukoz taşıyıcı sistemleri olan GLUT1 ve GLUT3 ile karşılanır. Subretinal alandan suyun ve metabolik artıkların koroid dolaşımına atılması aktif taşıma sistemleriyle gerçekleşir. RPE hücrelerinin apikal zarında yer alan Na^+/K^+ -ATPaz (sodyum- potasyum adenosin trifosfataz) pompası iyonların ve suyun aktif taşınmasında görev alır. Ayrıca RPE hücrelerinin hem bazolateral membran hem de apikal membranında yer alan aquaporin-1 suyun transepitelyal transportunu sağlar[180-184].

İmmün sistem

RPE iki yolla retinaya immün ayrıcalık sağlar. Birincisi dış kan-retina bariyeri ile mekanik olarak sistemik kan dolaşımından retinayı ayırır. İkincisi salgıladığı sitokinler ile immünomodülasyon salgılar. Bu amaçla RPE hücreleri immün sistemi düzenleyen IL-8, kompleman faktör H (CFH) ve monosit kemotaktik protein-1 (MCP1) üretirler[175-177, 185-187].

2.5 Vitreus

Vitreus, cam anlamına gelen Latince "vitrum" kelimesinden köken almıştır. Lens ile retina arasındaki jel kıvamındaki saydam bu yapının hacmi 4 ml olup gözün yaklaşık %80'ini oluşturur. Vitreus içeriğinin yaklaşık %98-99'unu su oluşturur. Su dışında vitreus hyaluronik asit başta olmak üzere glikozaminoglikan ve kollajen fibriller içerir. Kollajen fibriller vitreusun en önemli protein yapısıdır. Vitreustaki baskın kollajen tip-2 kollajendir. Vitreus içerdiği su ve protein yapı sayesinde göze hacim sağlar ve mekanik destek inşa eder[188-190].

Vitreus anatomik olarak 3 kısımda incelenir: vitreus tabanı, kortikal (periferik) vitreus ve kor (santral) vitreus. Vitreus tabanı ora serratanın 1,5-2 mm anteriorundan başlayıp yine ora serratanın 1-3 mm posterioruna doğru uzanan bir yapıdır. Vitreus tabanın genişliği yaşla birlikte ora serratadan ekvatora doğru genişler. Kortikal vitreus yoğun kollajen fibril ve hyaluronik asit içerir. Vitreusu retinadan ayıran kısımdır. Kor vitreus ise hacim olarak vitreusun en büyük kısmını oluşturur ve santralde yer alır[191, 192].

Vitreusun yaşla birlikte yapısı bozulur ve likefikasyon (sıvılaşma) gerçekleşir. Takiben gelişen arka vitre dekolmanın sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi önemlidir. Bu sürecin herhangi bir aşamasında yaşanan bir problem görmeyi tehdit eden vitreomakuler ara yüzey hastalıklarına neden olabilir[193, 194].

2.6 Yaşa bağlı makula dejenerasyonu

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) koroidin, Bruch membranın ve RPE'nin progresif dejenerasyonu sonucu gelişen, santral görme kaybı ile sonuçlanan bir hastalıktır. YBMD gelişmiş ülkelerde özellikle 60 yaş üstü bireylerde legal körlüğün en sık nedenidir. 2014 yılında Wong ve ark.'nın yaptıkları sistematik derleme ve meta-analizde YBMD prevelansı %8.7 bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada YBMD olan hasta sayısının 2020'de 196 milyon, 2040'ta ise 288 milyon olacağı tahmin edilmiştir[2, 3, 195]. Li ve ark.'nın 2020 yılında yaptıkları meta-analizde 60 yaş üstü Avrupa toplumunda YBMD prevelansını değerlendirmiştir. Sonuç olarak erken veya orta düzeyde YBMD için %25.3 ve ileri YBMD için ise %2.4 olarak bildirilmiştir[5].

2.6.1 Risk faktörleri

İleri görme kaybıyla sonuçlanan ve toplumda sık görülen progresif seyirli bir hastalık olan YBMD için risk faktörlerinin bilinmesi ve önlenebilir olup olmadığının araştırılması elzemdir. Chakravarthy ve ark.'nın yaptıkları meta-analizde ileri evre YBMD için risk faktörleri değerlendirilmiştir. Sonuç olarak ileri yaş, geçirilmiş katarakt cerrahisi, sigara kullanımı ve ailede YBMD öyküsünü ileri YBMD için yüksek riskli olarak bildirmişlerdir. Yüksek vücut-kitle indeksi, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalık öyküsü ise orta düzeyde risk olarak ilişkilendirilmiştir. İleri YBMD için etnik köken, cinsiyet, diyabet, kolesterol ve trigliserid düzeyleri gibi faktörlerin kanıt düzeyini ise tutarsız olarak değerlendirmişlerdir[196].

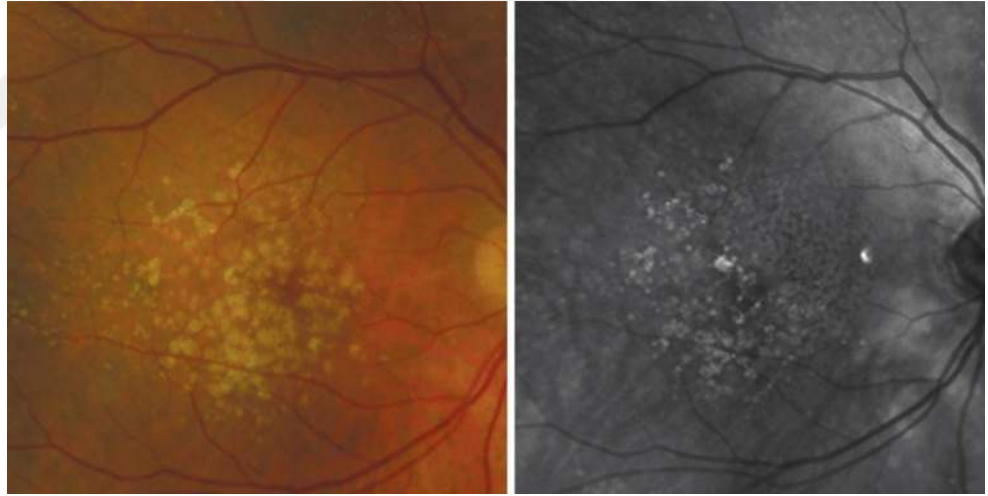
Bu risk faktörlerinden en önemlisi ve ne yazık ki değiştirilemez olanı ileri yaştır. Yaşla birlikte YBMD'nin görülme sıklığı eksponansiyel olarak artar. Her on yılda YBMD insidansının 4 katına çıktığı gösterilmiştir[1]. Yine başka bir çalışmada her on yılda olasılık oranının (odds ratio,OR) 4.2 arttığı bildirilmiştir[197].

Yapılan çalışmalarda YBMD'nin kalıtım ile sıkı bir bağı olduğu gösterilmiştir. İleri YBMD'nin genetik ile olan ilişkisi %71 olarak tahmin

edilmektedir[198]. YBMD gibi kompleks bir hastalığın bu sıkı ilişkiye rağmen kalıtımının %50'den fazlasının iki lokus tarafından ilişkilendirilmesi ilginçtir. Bu iki lokus 1. kromozom (1q CFH) ve 10. kromozomun uzun kolunda (10q ARMS2/HTRA1) yer alır[199].

2.6.2 Patofizyolojisi ve sınıflandırılması

YBMD farklı şekillerde sınıflandırılabilse de klinik pratiğe de uygun olarak temelde 2 formu vardır: non-neovasküler form (kuru tip) ve neovasküler form (yaş tip, eksudatif). Kuru tip YBMD hastalığın en sık görülen formudur. Yaklaşık %90'ını kapsayan bu form görece daha yavaş ilerler. Diğer bir formu olan yaş tip YBMD olguların %10'unu oluşturur. Kuru tipe göre daha hızlı ve agresif seyreder. Koroidden köken alan dış retinaya doğru gelişen yeni damar oluşumu ile karakterizedir. Oluşan bu yeni damarlar olgunlaşmamış ve anormal yapıda olmaları nedeniyle sıvı sızdırabilir veya kanayabilir. Yaş tip YBMD tedavi edilmemesi halinde ciddi görme kaybına yol açar[6, 7].



Şekil 2.6 : Solda renkli fundus fotoğrafında sert ve yumuşak drusenler, sağda aynı gözün kıızılötesi fundus otofloresans görüntüsü[200].

YBMD'nin patofizyolojisi henüz netleşmemekle birlikte kompleks ve iç içe geçmiş birçok mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan ilki ve üzerinde en çok çalışılanı drusendir. Drusen, RPE ile Bruch membranı arasındaki ekstrasellüler metabolik birikintilerdir. Ekstrasellüler matrikste biriken bu depozitler RPE fonksiyonlarını bozduğu gibi RPE hücrelerinde yaşlanmayla birlikte lipofuskin birikimi de RPE hücrelerinin metabolizmasını bozarak ekstrasellüler aralıkta

metabolik artık birikimine neden olur. Benzer patofizyoloji ile gelişse de klinik prognoz açısından farklı olan sert ve yumuşak olmak üzere 2 tip drusen vardır (Şekil 2.6). Sert drusen fundus muayenesinde sarı renkli noktalar şeklinde izlenir. İyi sınırlı ve 63 µm'den küçüktür. Sıklıkla kuru tip YBMD lezyonudur, yumuşak drusene göre daha iyi prognoza sahiptir. Yumuşak drusen daha soluk renktedir ve boyutları değişken olmakla birlikte sıklıkla 63 µm'den büyüktür. Yumuşak drusenlerin sayısının artması, boyutun büyümesi veya birleşmesi neovasküler tip YBMD için risk faktörü oluşturur. Bu nedenle kuru tip YBMD hastalarının kontrollerinde mevcut ve yeni gelişen drusenlerin takibi önemlidir. Drusen dışında YBMD patogenezinde yaşlanmayla bozulan retinal kan akımı, genetik yatkınlık, immün mekanizmalar, bozulmuş lipid metabolizması, kronik inflamasyon ve oksidatif stres sorumlu tutulmaktadır[7, 201, 202].

2.6.3 Tedavi

YBMD progresif görme kaybıyla giden ve hastaların yaşam kalitesini önemli derecede düşüren bir hastalıktır. Tedavi yaklaşımları risk faktörlerinden uzak durulmasından cerrahi olarak retina translokasyonuna kadar geniş bir spektrumdadır. Bu tedavilerin kimisi günümüzde artık terk edilmişken kimisi ise henüz klinik çalışma aşamasındadır. Neovasküler tip YBMD için günümüzde artık standart tedavi olarak yerleşmiş olan intravitreal anti-VEGF tedavisinin dışındaki diğer tedavi modaliteleri[195]:

2.6.3.1 Argon lazer fotokoagülasyon

Termal lazer fotokoagülasyon ile koroidal neovasküler membranın (KNVM) ablasyonudur. Bu destrüktif tedavi ekstrafoveal yerleşimli klasik KNVM lezyonlarında nadiren de olsa kullanılmaktadır[203].

2.6.3.2 Fotodinamik tedavi

Fotodinamik tedavi (PDT) oftalmolojide kullanılmadan önce ilk olarak bazı kanser tedavilerinde kullanılmıştır. 1990'lı yıllarda oftalmolojide kullanılmaya başlayan tedavide fotosensitif bir ajan olan verteporfin kullanılır. İntravenöz yolla verilen ilaç selektif olarak neovasküler dokuda toplanır. Bu selektif etki kanda LDL ile taşınan ilaca karşı neovasküler dokuda yüksek sayıda LDL reseptörünün bulunmasıyla sağlar. Dokuda biriken ilacın termal etkisi olmayan diod lazer ile

aktive edilmesiyle serbest radikaller açığa çıkar. Ortaya çıkan sitotoksik ürünler endotel hasarı oluşturarak neovasküler dokuda vazooklüzyona neden olur. Anti-VEGF tedavisi ile YBMD tedavisinde arka planda kalan bu tedavinin polipoidal koroidal vaskülopati (PKV) olgularında anti-VEGF ile kombine kullanımı hala güncel tedavi yöntemidir[110, 204, 205].

2.6.3.3 Makula cerrahisi

YBMD'nin cerrahi tedavisi submaküler hemorajinin temizlenmesini, subretinal KNVM'nin çıkarılmasını ve maküler translokasyonu içerir. Bu zorlu tedaviler öncesinde hastayı doğru değerlendirmek yarar-zarar dengesi açısından elzemdir[206].

2.6.3.4 Potansiyel tedaviler

YBMD patogenezinde rol oynayan kompleman sistemin önemli elemanları olan C3 ve C5 proteinlerinin inhibasyonu ile hastalığın progresyonunun önlenmesi amaçlanmaktadır. Bu mekanizma üzerinden birçok molekül denenmekle beraber etkinliği gösterilmiş ve klinik çalışmaları devam eden moleküller sınırlıdır. Onlardan biri olan pegcetacoplan, selektif bir C3 inhibitörüdür. Faz-2 çalışmasında aylık intravitreal olarak pegcetacoplan yapılan hastalar ile sahte enjeksiyon yapılan hastalar kıyaslandığında coğrafik atrofi lezyonlarında 12 ay sonunda %29 daha düşük büyüme oranı gösterilmiştir. Pegcetacoplan molekülünün faz-3 çalışmaları devam etmektedir. Diğer bir molekül C5 proteini inhibe eden avacincaptad pegol'dür. Faz-2 çalışmasında sahte enjeksiyon ile kıyaslandığında 12 aylık zaman diliminde coğrafik atrofi lezyonunda büyüme oranında %27.4'lük bir azalma göstermiştir. Umut vadeden bu moleküllerin faz-3 sonuçları beklenmektedir[207-209].

İnsan kök hücrelerinden elde edilmiş sağlıklı RPE hücrelerinin, fonksiyonunu yitirmiş RPE hücrelerinin yerine nakledilmesi diğer bir çalışma alanıdır. Radtke ve ark.'nın yaptığı çalışmada nöral retinal progenitör hücre tabakası implantasyonu yapılan 10 hastanın (6 tanesi retinitis pigmentosa, 4 tanesi YBMD) 7'sinde görme artışı elde edilmiştir[210]. Yine submaküler cerrahi ile kombine otolog RPE hücre transplantasyonlarında başarılı sonuçlar elde edilmiştir[211, 212].

2.7 Anti-VEGF tedavisi

Neovasküler YBMD yeni damar oluşumu ile giden ve santral görmeyi çok ciddi azaltan bir antidedir. Burada oluşan yeni damarlar düzensiz şekilde dallanmış, heterojen yapıda, yüksek VEGF reseptörünü sahip, geçirgenliği fazla patolojik yapılardır. Patolojik damarlardan makula altına sızan seröz sıvı veya kan görmeyi ciddi derecede olumsuz etkiler. Hızlı progresyon gösteren ve geri dönüşü olmayan hasarlar bırakabilen bu durumda patolojik damar gelişiminin önlenmesi tedavide anahtar rol oynamaktadır[8, 9].

Anjiyogenez, vaskülogenez ile daha önceden oluşmuş damarlardan tomurcuklanma ile yeni damar dallarının oluşmasıdır. Retinal anjiyogenez anne karnında embriyo iken başlar, doğum sonrası devam eder. Anjiyogenez fizyolojik olduğu gibi patolojik de gelişebilir. Anjiyogenez süreci VEGF, plasental büyüme faktörü (PIGF), anjiyopoietin, PDGF- β , hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) ve birçok başka dışardan gelen sinyaller ile düzenlenen kompleks bir yolaktır. Düşük oksijen HIF-1'in indüklenmesine neden olur, HIF-1 VEGF dahil olmak üzere birçok proteinin transkripsiyonunu düzenler. Artan VEGF patolojik anjiogenezi uyarır. Aynı zamanda VEGF, vasküler hücre adezyon molekülü-1'in (VCAM-1) ekspresyonu sağlayarak lökosit hücrelerinin toplanmasını ve inflamatuvar bir sürecin başlamasına neden olur[11, 213-216].

2000'li yılların başından sonra oftalmolojide anti-VEGF molekülünün tedavi amacıyla kullanılmasıyla birlikte neovasküler YBMD tedavisinde çığır açıldı. İlk kullanılan molekül olan pegaptanib ile başlayan bu yeni tedavi trendi bevacizumab, ranibizumab ve aflibercept gibi başka anti-VEGF ajanlarla devam etmiştir (Tablo 2.1). Bu başarılı tedavide yeni molekül arayışı sürmektedir. Yeni anti-VEGF molekülleri ile tedavinin daha etkili ve uzun süreli olması amaçlanmaktadır[195, 217-219].

Tablo 2.1 : YBMD tedavisinde kullanılan anti-VEGF molekülleri[11].

	Pegaptanib	Bevacizumab	Ranibizumab	Aflibercept
Molekül yapısı	RNA aptameri	IgG-1 monoklonal antikor	Hümanize antikor fragmanı	Füzyon proteini
Hedef	VEGF-165	VEGF-A	VEGF-A	VEGF-A/B PIGF
Molekül ağırlığı	40 kDa	148 kDa	48 kDa	115 kDa
Fc parçası	Yok	Var	Yok	Var
FDA onayı	2004	Yok	2006	2011

2.7.1 Pegaptanib

Neovasküler YBMD tedavisinde kullanılan ilk anti-VEGF ajandır. 2004 yılında YBMD tedavisi için FDA tarafından onaylanmıştır. Pegaptanib yapı olarak 28 nükleotidden oluşan 40 kDa boyutunda bir RNA (Ribonükleik asit) aptameridir. Sadece VEGF-165'in A izoformuna ekstrasellüler ortamda bağlanıp onun etki göstermesini engeller[11, 12, 220, 221].

Pegaptanib'in etkinliğini değerlendiren 1186 hasta ile yapılan VISION çalışmasında (VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization) 1. yılın sonunda 0.3 mg pegaptanib ile tedavi edilen hastaların %70'i, kontrollerin ise %55'i üç sıradan az görme kaybı yaşadığı gösterilmiştir[222].

2.7.2 Bevacizumab

Bevacizumab oftalmolojide kullanılmadan önce kanser hastalarında intravenöz yolla uygulanmakta olan bir tedavi ajanıdır. 2005 yılından sonra 1.25 mg/0.05 ml dozunda intravitreal olarak neovasküler YBMD tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. FDA tarafından onaylanmayan bevacizumab, 2005 yılından günümüze kadar diyabetik retinopati ve neovasküler tip YBMD tedavisinde endikasyon dışı (off-label) olarak oftalmologlar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yaygın kullanımın bir nedeni de diğer anti-VEGF moleküllerine göre daha düşük maliyetli olmasıdır. Bevacizumab humanize IgG-1 izotipinde tam bir monoklonal antikordur.

148 kDa'lık bu anti-VEGF ajanı pegaptanib'ten farklı olarak VEGF-A'nın tüm alt tiplerine bağlanır ve onu inhibe eder[223-226].

Endikasyon dışı kullanılan bevacizumab molekülünün FDA onaylı ranibizumab ile karşılaştıran randomize klinik çalışmalarda (non-inferiority trials), bevacizumab ajanının daha az etkin olmadığını gösterilmiştir[10, 227, 228].

2.7.3 Ranibizumab

Ranibizumab 2006 yılında FDA tarafından onaylanmış günümüzde çok yaygın kullanılan bir anti-VEGF ajanıdır. Ranibizumab molekülü, Fc kısmından yoksun bir 48-kDa rekombinant hümanize immünoglobulin G1κ izotip monoklonal antikor fragmanıdır. Bu monoklonal antikor fragmanı VEGF-A'nın tüm alt tiplerine yüksek afinite gösterir[195, 229, 230].

Ranibizumab molekülünün klinik etkinliğini değerlendiren ve sonuçlarıyla neovaküler YBMD tedavisinde onay almasını sağlayan iki önemli randomize klinik çalışma: ANCHOR ve MARINE çalışmalarıdır. MARINE çalışması aylık 0.3 mg ranibizumabın, 0.5 mg ranibizumabın ve sahte enjeksiyonun okült ve klasik KNVM hastalarındaki etkinliklerini kıyaslamıştır. 12 ay sonunda aylık 0.5 mg ranibizumab alan gruptaki hastaların %94.6'sında 15 harften daha az kayıp var iken sahte enjeksiyon olan kontrol grubunda bu oran %62.2'dir. Yine aylık 0.5 mg ranibizumab enjeksiyonu olan hastaların %33.8'inde görme keskinliği 15 harf veya üstünde artış olurken kontrol grubundaki hastalarda bu oran yalnızca %5'tir. 3 grubun görme keskinliği değişimi kıyaslandığında aylık 0.3 mg ranibizumab grubunda ortalama 6.5 harf, 0.5 mg ranibizumab grubunda ortalama 7.2 harf artış olmuşken, kontrol grubunda ortalama 10.4 harf azalma görülmüştür[11, 13].

Diğer bir önemli çalışma olan ANCHOR çalışmasında predominant klasik KNVM olan hastalarda ranibizumabın PDT'ye göre etkinliği değerlendirilmiştir. Hastalar 0.3 mg ranibizumab enjeksiyon ve sahte PDT, 0.5 mg ranibizumab enjeksiyon ve sahte PDT, sahte enjeksiyon ve PDT olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Sonuç olarak 15 harften daha az kayıp olan hasta oranı 0.5 mg ranibizumab grubunda %96.4 iken PDT grubunda %64.3 olarak bildirilmiştir. 15 harf veya üstünde harf kazanımı ise 0.5 mg ranibizumab grubunda %40.3, PDT grubunda %5.6'tır. 0.3 mg ranibizumab, 0.5 mg ranibizumab ve PDT gruplarının ortalama görme keskinliği

değişimine bakılırsa sırasıyla 8.5 harf artış, 11.3 harf artış, 9.5 harf kayıp bildirilmiştir. Bu klinik randomize çalışma ranibizumabın klasik KNVM tedavisinde PDT'ye göre üstünlüğünü bariz bir şekilde ortaya koymuştur[14].

2.7.4 Aflibercept

Aflibercept 2011 yılında FDA tarafından onaylanmış ve VEGF'e yüksek afinitesi nedeniyle öne çıkan bir anti-VEGF ajanıdır. Aflibercept molekülü, IgG monoklonal antikorun Fc kısmı ile VEGF-1 ve VEGF-2 reseptörün (VEGFR-1 ve VEGFR-2) VEGF'e yüksek afinite gösteren ligand bağlayıcı ekstrasellüler komponentinin birleşmesiyle oluşan bir füzyon proteindir. 115 kDa'lık bu füzyon proteini VEGF-A, VEGF-B ve PlGF için tuzak reseptör gibi davranarak onların fonksiyonunu inhibe eder[15, 230, 231].

Afliberceptin kendisinden önce çıkan anti-VEGF molekülü ile kıyaslayan iki değerli ve benzer dizayna sahip klinik randomize çalışma mevcuttur. Aflibercept molekülünün etkinlik ve güvenliğini değerlendiren bu çalışmalar VIEW 1 ve VIEW 2'dir (VEGF Trap-Eye: Investigation of Efficacy and Safety in Wet AMD). 2419 aktif KNVM lezyonu olan YBMD hastası 1:1:1:1 şeklinde 4 gruba randomize edilmiştir. Bu gruplar: 4 haftada bir 0.5 mg aflibercept (0.5q4), 4 haftada bir 2 mg aflibercept (2q4), 3 aylık yükleme dozu takiben 8 haftada bir 2 mg aflibercept (2q8) ve 4 haftada bir 0.5 mg ranibizumab (Rq4) uygulanan hastalardan oluşmuştur. Çalışmanın primer sonlanımı 52. Haftada görme keskinliğinde 15 harften daha az kayıp olan hastaların ranibizumab grubuyla kıyaslanması şeklinde belirlenmiştir. Sonuç olarak her 3 grupta da aflibercept molekülünün ranibuzama göre daha az etkin olmadığını gösterilmiştir (VIEW-1: 2q4 95.1%, 0.5q4 95.9%, 2q8 95.1%; VIEW-2: 2q4 95.6%, 0.5q4 96.3%, 2q8 95.6%; iki çalışmada da Ranibizumab 94.4%)[15].

2.7.5 Brolucizumab

Brolucizumab tek zincirli insanlaştırılmış monoklonal antikor fragmanıdır (scFv). 2019 yılında FDA tarafından onaylanan brolucizumab sadece 26 kDa'lık boyutu ile daha önceki anti-VEGF moleküllerine göre daha küçüktür. Küçük moleküler yapının doku penetrasyonunu artırdığı ve aynı miktarda daha fazla molar doz sağladığı bildirilmiştir. Bunun da brolucizumabın diğer anti-VEGF

moleküllerine göre doku üzerinde daha uzun etkili ve daha güçlü bir etki oluşturmayı sağladığı düşünülmektedir[195, 232, 233].

Brolucizumabın etkinliğini değerlendiren ve onu aflibercept ile kıyaslayan iki pivot klinik randomize çalışma HAWK ve HARRIER çalışmalarıdır. HAWK çalışmasında brolucizumab 3 mg, brolucizumab 6 mg ve aflibercept 2 mg grupları varken HARRIER çalışmasında sadece brolucizumab 6 mg ve aflibercept 2 mg grupları vardır. 1817 hasta ile yapılan bu çalışmaların sonucunda 3 yükleme dozunu takiben 3 ay arayla brolucizumab enjeksiyonu yapılan hastaların (q12w) 2 ay arayla aflibercept yapılan hastalara göre 48 hafta sonunda görsel fonksiyon açısından daha kötü olmadığı gösterilmiştir[16].

Uzun etkili olması nedeniyle umut vadeden bu tedavi ile ilgili 2020 yılının başından itibaren şiddetli intraoküler inflamasyon ve retinal oklüziv vaskülit olguları bildirilmeye başlamıştır. Bildirilen bu komplikasyonlara bağlı hastalarda ağır görme kayıpları gelişmiştir. Hatta bazı araştırmacılar tarafından bu yeni molekülü büyük vaatler ile piyasaya sürülen ama sonrasında gelen uçak kazaları nedeniyle hayal kırıklığı yaratan Boeing 737 MAX uçağına benzeten eleştiri yazıları yayınlanmıştır. Bu inflamasyonun etiyolojisi ve tedavisi ile ilgili çalışmalar hala sürmektedir[232, 234-236].

2.7.6 İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonuna bağlı komplikasyonlar

YBMD, diyabetik retinopati, retinal ven oklüzyonu tedavilerinde devrim yaratan anti-VEGF moleküllerinin her tıbbi uygulama gibi bazı istenmeyen durumlara sebep olma olasılıkları vardır. Bu hastalıkların doğal seyri nedeniyle hastalar uzun süreli ve tekrarlayan anti-VEGF enjeksiyonuna ihtiyaç duyarlar. Enjeksiyon sayılarının artmasıyla da istenmeyen ve bazılarında ciddi görme kaybı olan komplikasyonların gerçekleşme olasılığı artar.

2.7.6.1 Endoftalmi

Endoftalmi tanım olarak göz içi dokuların inflamatuvar hastalığıdır. Burada bahsedeceğimiz enfeksiyöz endoftalmi ise göz içi dokuların bakteri veya mantar gibi patojenler tarafından invazyonu sonucu gelişen inflamatuvar durumdur. Endoftalmiler eksojen ve daha nadiren olmakla birlikte endojen kaynaklı gelişebilir. Eksojen endoftalmiler geçirilmiş oküler cerrahi sonrası, penetran oküler travmaya sekonder

veya oküler yüzey enfeksiyonun ilermesi nedeniyle gelişebilir. Endojen endoftalmiler ise bakteriyemi veya fungemiye bağlı gözün enfeksiyöz ajan ile iltihaplanması sonucu oluşur[237, 238].

Endoftalmi anti-VEGF enjeksiyonuna bağlı gelişen en ciddi komplikasyonlardan biridir ve ağır görme kayıplarına neden olabilir. İntravitreal enjeksiyon sonrası endoftalmi insidansı ile ilgili literatürde çok farklı sonuçlar bildirilmiştir. Çok merkezli klinik çalışmaları inceleyen meta-analizlere dayanarak ortalama % 0.019-1.6 aralığında kabul edilebilir[24, 239].

İntravitreal enjeksiyon sonrası gelişen endoftalmi için risk faktörleri ve alınması gereken önlemler ile ilgili yapılmış bazı çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Buna karşın sonuçların net olduğu ve ortak görüş birliğine varılan önlenabilir risk faktörleri de mevcuttur. Onlardan biri enjeksiyon öncesi konjonktiva üzerine %5 PVI uygulanmasıdır. Tartışmalı konulardan biri kapak spekulumu ve steril örtü kullanılmasıdır. Kapak spekulumu ve steril örtü kullanımının endoftalmi riskini değiştirmediklerini bildiren yayınlar olsa da kapak spekulumu kullanımının iğnenin kapak ve kirpiklere temasını önleyeceği için tavsiye edilmektedir. Yine yapılan çalışmalarda intravitreal enjeksiyon sonrası gelişen kültür pozitif endoftalmilerde etken olarak streptokok tespit edilme oranı göz içi cerrahilere sekonder endoftalmilere göre 3 kat daha sıktır. Bunun sorumlusu olarak orofaringeal floradan damlacık yolu ile bulaş görülmektedir. Damlacık yolu ile bulaşı önlemek için enjeksiyon sırasında cerrahi maske takılması ve konuşmaktan sakınılması gerektiği bildirilmiştir. Enjeksiyon sonrası topikal antibiyotik kullanılması da tartışmalı bir konudur. Topikal antibiyotik kullanılmasının oküler yüzeydeki bakterileri azalttığı kesin olarak gösterilmekle birlikte bunun endoftalmi riskine anlamlı bir etkisi olmadığını savunanlar mevcuttur. Hatta bazı araştırmacılar antibiyotik kullanımının oküler floradaki antibiyotik direncini artırarak endoftalmi riskini arttırdığını ifade etmektedir[24-27, 30, 31, 240].

Endoftalmi hastalarındaki en belirgin semptom şiddetli oküler ağrı ve görmede azalmadır. Literatüre bakıldığında semptomların başlaması intravitreal enjeksiyonu takiben ortalama 2.5 gün (1-6 gün aralığında) sonra gerçekleşmektedir. Hastanın enjeksiyondan sonra başvuru süresi ise yaklaşık 3-4 gün (1-15 gün aralığında) sonradır. Diğer bir bulgu olan hipopiyon sıklığı Shah ve ark.'nın 23

endoftalmi hastasıyla yaptığı çalışmada %78 olarak gösterilmiştir. Aynı çalışmada 1-6 gün aralığında hastaların hepsinde oküler ağrı ve vitrit gözlenmiştir (ortalama 3.4 gün)[26, 241, 242].

İntravitreal enjeksiyon sonrası görülen diğer bir komplikasyon olan steril intraoküler inflamasyon enfeksiyöz endoftalmi ile ayırıcı tanıya girer. Enjeksiyon sonrası gelişen inflamatuvar sürecin steril bir inflamasyon mu yoksa enfeksiyöz bir inflamasyon mu ayrımı tedavi yaklaşımını tamamen değiştireceği için bu ayrımı yardım edecek her semptom değerlidir. Bu açıdan enfeksiyöz endoftalimde ağrının steril intraoküler inflamasyona göre daha sık ve şiddetli görülmesi önemlidir. Yine enfeksiyöz endoftalimde hastaların %80'inden fazlasının görme keskinliği 20/100'den daha düşük iken steril intraoküler inflamasyonda görme kaybı daha hafif olup daha çok bulanık görme şeklindedir. Chong ve ark. steril intraoküler inflamasyonda görme bulanıklığını oranını %78 olarak bildirmişlerdir[242-246].

Etken olarak literatürde en sık koagülaz negatif stafilokok tespit edilmiştir. Bunu streptokok türleri izlemiştir. McCannel ve ark.'nın yaptığı meta-analiz çalışmasında koagülaz negatif stafilokok etkeninin görülme sıklığı %65.4 olarak bildirilmiştir. Hoevenaars ve ark. ise daha önce bildirilmiş 12 retrospektif vaka serisini derleme olarak yayınlamaya koagülaz negatif stafilokok oranını %58.5 olarak bildirmişlerdir. Daha önce bahsedildiği gibi intravitreal enjeksiyon sonrası gelişen endoftalmilerde etken olarak streptokok tespit edilme oranı göz içi cerrahilere sekonder endoftalmilere göre 3 kat daha sıktır. Bunda orofaringeal floradan damlacık yolu ile bulaş sorumlu tutulmaktadır. Yine göz içi cerrahilerden farklı olarak *Propionibacterium acnes* intravitreal enjeksiyon sonrası endoftalmilerde oldukça nadir izlenir[24, 242, 247, 248].

Enfeksiyöz endoftalmi takip ve tedavisinde farklı kılavuzlar yayınlanmış olmakla birlikte henüz ortak bir görüş birliği elde edilmemiştir. Çok merkezli prospektif bir çalışma olan Endophthalmitis Vitrectomy Study (EVS), intravitreal antibiyotik enjeksiyonundan önce pars plana vitrektominin (PPV) vizyon artışına etkisini değerlendirmiştir. Sonuç olarak başlangıçta sadece ışık algısı olan (P+) hasta grubunda ciddi görme kaybının PPV olmayan gruba göre %47'den %20'ye düştüğü bildirilmiştir. Başlangıçtaki görme seviyesi el hareketi veya daha iyi olan hastalarda ise öncelikle PPV yapılmasında anlamlı fayda görülmediği ifade

edilmiştir. Bu çalışma anlamlı olmakla birlikte katarakt sonrası endoftalmi hastalarında yapılmıştır. İntravitreal enjeksiyon hastalarında daha önce bahsedildiği gibi enfeksiyöz etkenler farklılık göstermektedir. İntravitreal enjeksiyon sonrası daha sık görülen Streptokokal endoftalmilerin daha şiddetli ilerlediği ve sonuçlarının daha kötü olduğu bildirilmiştir. Diğer bir önemli nokta çalışma 1995 yılında yapıldığı için gelişen PPV teknik ve cihazları nedeniyle günümüzde farklı sonuçlar elde edilebileceği öngörülebilir. Günümüzde kabul edilen görüş ise ciddi görme kaybı olan, hızlı progresyon gösteren veya kültürde streptokokal etken izlenen olgularda erken PPV'nin görsel prognoz açısından daha yararlı olduğudur[248-250].

2.7.6.2 Steril intraoküler inflamasyon

Steril intraoküler inflamasyon tanım olarak göz içi dokuların enfeksiyöz olmayan nedenlerden dolayı inflamasyonudur. İntravitreal enjeksiyon sonrası akut başlayan bu tablo topikal-intravitreal antibiyotik tedavisi veya PPV cerrahisi olmadan düzelir. Tüm intravitreal ajanlardan sonra görülebilecek bu steril reaksiyonun insidansı literatürde %0.02-0.37 aralığında bildirilmiştir[251-253].

Hastanın şikâyetleri endoftalmiye göre daha erken başlar, intravitreal enjeksiyondan sonraki 1. gün ile 7. gün arasında ortaya çıkar. Yine şiddetli ağrı, ağır görme kaybı, hipopiyon endoftalmiye göre daha az sıklıkla bildirilmiş olup ayırıcı tanıda önemlidir. Greenberg ve ark.'nın yaptığı çok merkezli çalışmada 66 hastanın 68 gözü yer almıştır. Bu hastalarda en sık görülen semptom %93 ile bulanık görme olmuştur. Bunu %60 ile uçuşma ve %44 ile ağrı takip etmiştir. Hastaların %44'ü ağrı tariflemesine rağmen şiddetli ağrı yakınması olan hasta oranı sadece %6'dır. Aynı çalışmada bulgu olarak en sık vitrit gösterilmiştir. Hastaların %24'ünde sadece vitrit, %16'sında sadece ön kamara reaksiyonu, %60'ında ise hem vitrit hem ön kamara reaksiyonu gözlenmiştir. Endoftalmi hastalarından farklı olarak siliyer enjeksiyon (%10), hipopiyon (%4), fibrin reaksiyon (%3) oldukça nadir görülen bulgular şeklinde bildirilmiştir[243, 254].

Steril intraoküler inflamasyonda enflamatuar sürecin baskılanması ile görme keskinliği çoğunlukla eski haline geri döner, çok az bir hastada görmede anlamlı derecede azalma gerçekleşir. Tedavinin temelini topikal steroid oluştururken bazı hastalarda ilave sistemik steroid kullanımı gerekebilir. İnflamasyonun gerilemesi literatürde 2 hafta ile 12 hafta arasında bildirilmiştir. Ortalama olarak ise Chong ve

ark.'nın yaptığı çalışmada 37 ± 5 gün, Greenberg ve ark.'nın yaptığı çalışmada 34 gün olarak gösterilmiştir[243, 251, 255, 256].

2.7.6.3 Regmatojen retina dekolmanı

Nadir görülen ama görme kaybıyla sonuçlanabilen ciddi bir komplikasyondur. İntravitreal enjeksiyona sekonder regmatojen retina dekolmanı insidansı %0-0.67 aralığında bildirilmiştir. Patofizyolojisinde intravitreal enjeksiyonun arka vitre dekolmanını tetiklemesi veya hatalı enjeksiyon uygulaması sorumlu tutulmaktadır. Enjeksiyon sırasında giriş yerine (limbustan 3.5-4 mm posterior) dikkat edilmesi, küçük lümenli iğne kullanılması riski azaltan faktörlerdir. Prognozu ise regmatojen retina dekolmanı tanısı konulduğundaki makulanın durumu belirler[257-259].

2.7.6.4 Subkonjonktival hemoraji

Yaygın görülen bir komplikasyon olan subkonjonktival kanama, genellikle ciddi oküler sorunlara neden olmasa bile hasta açısından endişe verici bir tablodur (Şekil 2.7). Literatürde görülme sıklığı %10 olarak bildirilmiştir. Aynı çalışmada asetilsalisilik asit kullanan hastalarda ise bu oran yaklaşık olarak %17'dir[260].

Mason ve ark.'nın 2010 yılında yaptığı çalışmada antikoagülan kullanımının oküler hemorajik komplikasyonlar açısından risk faktörü olup olmadığı araştırılmıştır. Sonuç olarak antikoagülan ilaç kullanımının hemorajik komplikasyonlar açısından ilave bir risk oluşturmadığı gösterilmiştir. Ayrıca antikoagülan ilacın kesilmesinin tromboembolik olay ihtimalini arttırdığı da düşünüldüğünde intravitreal tedavi için antikoagülan ilacın kesilmemesi gerektiği belirtilmiştir[261].



Şekil 2.7 : Absorbe olmaya başlamış subkonjonktival kanama[262].

Başka bir çalışmada ise daha önce hipertansiyon öyküsü olması ve enjeksiyon sırasında sistolik tansiyonun enjeksiyon öncesi tansiyona göre anlamlı artması subkonjonktival hemoraji için risk faktörü olarak gösterilmiştir. Araştırmacılar subkonjonktival hemorajiyi önlemek için özellikle hipertansiyonu olan hastaların enjeksiyon sırasında kaygılarının azaltılması gerektiği görüşündedir[263].

2.7.6.5 Göz İçi basınç artışı

İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sonrası akut bir göz içi basınç (GİB) artışı oluşur. Gismondi ve ark.'nın yaptığı çalışmada enjeksiyon öncesi ortalama GİB değeri 16.3 ± 3.0 mm Hg olarak ölçülen hastaların enjeksiyon sonrası 5. saniyede kontakt yöntemle (TonoPen) ölçülen ortalama GİB değeri 44.1 ± 10.6 mm Hg'dır. 30. dakikadan sonra ise başlangıç GİB değerine gerilediği gösterilmiştir[264].

İntravitreal enjeksiyon sonrası GİB artışı genellikle geçici ve tedavi gerektirmeyen bir durum olmasına rağmen fazla sayıda enjeksiyon olan hastalarda sürekli bir GİB artışı olabileceğini bildiren yayınlar mevcuttur. Sürekli GİB yüksekliğinin patofizyolojisi net olmamakla birlikte tekrarlayan akut GİB artışları, aköz dışı akımın bozulması, inflamatuvar süreçler (trabekülit), tekrarlayan travma gibi olası nedenler suçlanmaktadır[265-267].

2.7.6.6 Sistemik komplikasyonlar

Sistemik olarak ortaya çıkan istenmeyen bir durum ile intravitreal enjeksiyon arasında nedensel bir bağ kurmak zordur. Ayrıca intravitreal enjeksiyon olan hastalar ile bu nedensel bağı araştıran bir çalışma yapmak katılımcıların sonuçları etkileyebilecek birçok sistemik dış etkene (kronik hastalıklar, kullanılan ilaçlar) sahip olması dolayısıyla güçtür[268].

İntravitreal enjeksiyonun yapılan çalışmalarda oküler olmayan hemorajik komplikasyonlara (gastrointestinal kanamalar, vajinal kanamalar, ekimoz, subdural hematoma) neden olabileceği bildirilmiştir. Ancak miyokard enfarktüsü ve serebrovasküler olay riskinde anlamlı bir artış gösterilmemiştir[259, 268].

2.8 Povidon İyot

Povidon iyot (PVI) 1950'li yıllardan bu yana kullanılan geniş spektrumlu, düşük maliyetli bir antiseptik ve dezenfektandır. PVI deri ve mukoza üzerinde preoperatif antiseptik ajan olarak kullanılması yanında kontamine yara tedavisinde de kullanılır. PVI diatomik yapıdaki iyot ve polivinilpirolidondan (povidon) oluşur. Polimer yapıdaki povidon, iyot için taşıyıcı görevi görür. PVI suda çözünür bir iyodofordur (ortama iyot salan ajan). PVI ortama salınan iyot ile antiseptik ve dezenfektan özelliğini gösterir[32, 269-271].

Ortama salınan iyot küçük moleküler yapısı sayesinde dokulara ve mikroorganizmalara hızla penetre olur. Penetre olan iyot bulunduğu ortamdaki proteinleri, yağları, nükleik asitleri okside ederek yıkımına yol açar. Hasar görmüş bakteri ve virüs membran proteinleri sayesinde PVI mikrobisidal etkisi göstermiş olur. Çok geniş bir etki spektrumuna sahip olan PVI çoklu ilaç direnci olan bakterilere, *Pseudomonas aeruginosa*'ya, *Mycobacterium tuberculosis*'e, mantarlara, virüslere ve protozalara etkilidir. PVI sporlara karşı etkili olmadığı kabul edilse de uzun süreli PVI uygulamasının bazı sporlarda etkili olduğu gösterilmiştir[32, 271-273].

İyodun göz üzerine etkisi ilk olarak 1951'de gösterilmiştir, çalışmada cilde iyodun uygulanması sonucunda oküler florada azalma olduğu bildirilmiştir. PVI'nın seyreltilmiş şekilde konjonktival kese irigasyonu yaparak antiseptik amaçla kullanılması ilk Kiffney ve ark. tarafından 1966 yılında tariflenmiştir. Isenberg ve ark. ile Apt ve ark. topikal PVI'nın oküler yüzeydeki bakterisidal etkisini kontrollü klinik çalışma ile gösteren ilk araştırmacılarıdır. PVI grubunda bakteri kolonileri kontrol grubuna göre oldukça anlamlı bir şekilde %91 oranında azaldığı gösterilmiştir. Bu çalışmalardan sonra PVI, preoperatif profilaksi amacıyla oftalmolojide cerrahi uygulamalarda yer almaya başlamıştır[274-276].

PVI'nın intraoküler cerrahi öncesi profilakside kullanımının etkinliğini değerlendiren bir çalışma Speaker ve ark. tarafından 1991 yılında New York'ta katarakt ameliyatı geçiren 8000 hasta ile yapılmıştır. PVI kullanan hastalardaki endoftalmi oranı %0.06 iken diğer gruptaki endoftalmi oranı %0.24 olarak bildirilmiştir. Katarakt cerrahisi öncesi endoftalmi profilaksisi için PVI artık standart bir uygulama halini almıştır. Yapılan çalışmalar endoftalmi profilaksi için kullanılan

teknikler arasında en yüksek kanıt düzeyine sahip ajanın PVI olduğunu göstermiştir. ESCRS de hazırladığı kılavuzda katarakt ameliyatı öncesi en az 3 dakika PVI'nın kornea, konjonktiva ve perioküler cilde uygulanmasını önermiştir[33, 34, 277].

Katarakt cerrahisinde ortaya çıkan sonuçlar intravitreal enjeksiyon öncesinde PVI kullanımı retina uzmanlarının tercih etmesine neden olmuştur. Ayrıca profilakside topikal antibiyotik kullanımının enfeksiyöz endoftalminin önlenmesine katkı sağlamadığı hatta aksine risk faktörü olduğunu bildiren yayınlar varlığı retina uzmanlarının PVI'yı profilakside tek tercihi haline getirmiştir. 2016 yılında Bhavsar ve ark.'nın yaptığı randomize kontrollü klinik çalışmada profilakside PVI uygulanmayan hastalar ile profilakside topikal antibiyotik almayan hastaların endoftalmi riskindeki artış araştırılmıştır. Sonuç olarak profilakside PVI uygulanmamasının endoftalmi riskini anlamlı arttırdığı görülmüşken topikal antibiyotik için bu durum geçerli değildir. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak intravitreal enjeksiyon prosedüründen profilaktik antibiyotik kullanımın PVI uygulanması şartıyla çıkarılmasının güvenli olabileceğini ifade etmiştir[29, 35].

Başka bir çalışmada PVI veya iyot içeren herhangi bir ajana alerjisi olan hastalara intravitreal enjeksiyon öncesi profilakside PVI uygulanmamıştır. 2 merkezli yapılan çalışmada PVI uygulanan ve uygulanmayan tüm hastalardaki toplam endoftalmi oranı %0.019 olarak bulunmuştur. PVI uygulanmayan hastalardaki endoftalmi oranı ise %9.4 gibi yüksek bir değerdir. Bunun üzerine Peden ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada PVI hassasiyeti olan hastalarda seyreltilmiş PVI kullanımının endoftalmi profilaksisi için etkili ve güvenli bir yöntem olduğunu gösterilmiştir.[36, 278].

Topikal PVI uygulaması için bildirilmiş anafilaktik reaksiyon veya antimikrobiyal direnç yoktur. Diğer profilaksi ajanlarına göre hem daha ekonomik hem daha etkili olan PVI oftalmolojide uzun yıllardır antiseptik olarak kullanımını sürdürmektedir[32, 36].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırma prospektif, tek merkezli, gözlemsel çalışma olarak dizayn edildi. Çalışmaya Ocak 2021 ile Ocak 2022 tarihleri arasında Bezmialem Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvurmuş dahil edilme ve dışlama kriterlerini karşılayan 103 hastanın 155 gözü dahil edildi. Bu hastaların 52'si (104 göz) gözüne tek taraflı intravitreal enjeksiyon olan hastalar, 51'i (51 göz) ise daha önce intravitreal enjeksiyon olmamış sağlıklı kontrol grubudur.

Çalışmaya dahil edilen tüm hastaların kontrol grubu dahil detaylı oftalmolojik muayenesi ön segmenti ve arka segmenti içerecek şekilde yapıldı. Muayene sırasında korneal boyanma skoruna, Schirmer testine ve gözyaşı kırılma zamanına bakıldı. Konjonktiva impresyon sitolojisi ve gözyaşında sitokin analizi için de örnek alındı. Ayrıca 12 sorudan oluşan OSDI (Ocular Surface Disease Index) anketi ile hastaların kuru göz semptomları sorgulandı. Muayene sırasında saptanan bulgular ve yaş, cinsiyet, bilinen oküler veya oküler olmayan hastalık öyküsü kaydedildi.

İntravitreal enjeksiyon olan hastaların muayeneleri son enjeksiyonlarından 1 ay sonra gerçekleştirildi. Muayene sırasında hastaların hangi gözden enjeksiyon olduğu, enjeksiyon zamanları, altta yatan patolojileri ve uygulanan anti-VEGF molekülleri not edildi. Hastaların intravitreal enjeksiyon sayıları son 1 yıl ve son 3 yıl içerisinde oldukları enjeksiyonlar hesaplanarak iki farklı şekilde analiz edildi.

Çalışmaya intravitreal enjeksiyon olan ve olmayan gözleri dahil edilen 52 çalışma hastası ve birer gözü dahil edilen 51 sağlıklı kontrol katıldı. Çalışma hastaları için:

Dahil edilme kriterleri

1. YBMD tanısıyla intravitreal enjeksiyon olan hastalar
2. Son 1 yılda aynı gözden en az 3 defa intravitreal enjeksiyon yapılması
3. Diğer gözünün daha önce intravitreal enjeksiyon olmaması veya son enjeksiyonun üzerinden en az 3 yıl geçmesi
4. 3 yıldan uzun süreli takip
5. 18 yaş üstü ve bilgilendirilmiş gönüllü onam formunun onaylanması

Dışlama kriterleri

1. Son 3 yılda intravitreal enjeksiyon dışında geçirilmiş oküler cerrahi
2. YBMD dışında glokom, üveit gibi ek oküler hastalık varlığı
3. Oküler yüzeyi etkileyen bilinen sistemik hastalık öyküsü (Sjögren, romatoid artrit gibi)
4. Oküler yüzeye herhangi topikal ilaç kullanımı
5. Muayene sırasında aktif enfeksiyon veya inflamasyon

Sağlıklı kontrol grubu polikliniğe başvuran refraktif kusur dışında ek oküler hastalığı olmayan (YBMD dahil) hastalardan oluşturuldu. Bu hastaların oküler yüzeyi etkileyen bilinen sistemik hastalığı olmamasına ve herhangi oftalmik ilaç kullanmamasına dikkat edildi. Kriterlere uyan ve bilgilendirmiş gönüllü onam formunu kabul eden 51 hasta kontrol grubuna dahil edildi.

Çalışmaya katılan tüm hastalara araştırma hakkında bilgi verildi ve bilgilendirilmiş gönüllü onam formu açıklanarak imza alındı. Çalışma öncesinde Bezmialem Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (30.12.2020, Karar No: 16/7). Çalışma Helsinki Bildirgesi ve İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu'na uygun olarak yürütüldü.

3.1 İntravitreal Enjeksiyon Prosedürü

Tüm intravitreal enjeksiyonlar bu işlem için özel dizayn edilmiş enjeksiyon odasında steril şartlarda yapılmıştır. İşlem öncesi ilk olarak oküler yüzeye topikal anestezi amacıyla %0.5'lik proparakain solüsyonu (Alcaine®, Alcon) damlatıldı. Sonrasında perioküler cilde ve göz kapağına antiseptik amacıyla %10 PVI uygulandı. Enjeksiyon olacak göz steril örtü ile örtüldü ve göze blefarosta takıldı. Enjeksiyon

öncesinde %5 PVI ajanı oküler yüzeye uygulandı. 2 dakika beklenildikten sonra 30 gauge iğne ile limbusun 3.5-4.00 mm gerisinden üst temporel kadrandan anti-VEGF molekülü enjekte edildi. Enjeksiyon sonrasında tüm hastalara 5 gün boyunca günde 5 kez kullanılmak üzere %0.3 ofloksasin (Exocin®, Allergan) reçete edildi.

3.2 Schirmer Testi

Schirmer testi, 1903 yılından günümüze kadar gelmiş uygulaması basit bir testtir. Aköz yetmezliğe bağlı kuru göz tanısı ve takibinde yaygın olarak kullanılır. Ama meibomian bez disfonksiyonu gibi gözyaşı volümünün azalmasından daha çok yapısının bozulması ile giden evaporatif tip kuru gözde tanıda yetersiz kalmaktadır[279].

Schirmer testi için şerit şeklindeki filtre kâğıdı (5*35 mm) çentik kısmından katlanarak alt kapağın temporal üçte birlik kısmına kanca gibi yerleştirilir. 5 dakika sonunda Schirmer kâğıdı alınarak ıslanan kısmın uzunluğu mm cinsinden kaydedilir. Bu test öncesinde topikal anestezi kullanılarak veya kullanılmadan yapılabilir. Anestezi kullanılmadan yapılan ve daha yaygın kullanılan teste Schirmer I denilmektedir. Schirmer I testinde bazal ve refleks gözyaşı üretimi değerlendirilir. Daha sonradan çıkan ve topikal anestezi ile yapılan test ise Schirmer II olarak isimlendirilmiştir. Schirmer II testinde sadece bazal gözyaşı üretimi ölçülür[41, 279, 280].

Schirmer testi ile kuru göz tanısı için kesin bir tanısal eşik değeri önerilmemiştir. 5 dakika sonunda Schirmer kâğıdında 10 mm üstünde ıslaklık normal değeri olarak kabul edilirken 5 mm altında ıslaklık ise kuru göz lehine düşündürmektedir[280].

Çalışmaya katılan tüm hastalara topikal anestezi kullanılmadan Schirmer kâğıdı (Bio Schirmer®, Biotech) ile Schirmer I testi yapıldı. Serin ve ark.'nın çalışmasında Schirmer testinin hastanın gözü kapalı iken yapılmasının sonuçları daha tutarlı hale getirdiği gösterilmiştir[281]. Buna istinaden çalışmamızda Schirmer I testi hastaların gözü kapalı şekilde uygulanmıştır. Sonuçlar sağ ve sol göz şeklinde mm cinsinden not edilmiştir.

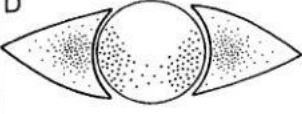
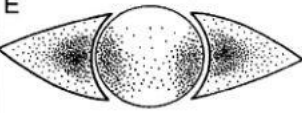
3.3 Korneal Boyanma Skorlaması

Sağlıklı bir oküler yüzey suda çözünür boyalar ile boyanma göstermez. Eğer yüzey epitel hücrelerinin duvarları hasar görürse veya komşu hücreler ile arasındaki sıkı bağlantılar yıkılırsa o zaman oküler yüzeyde boyanma izlenir. Ayrıca kornea epitel hücrelerini koruyan müsin katmanı bozulursa da yine korneal boyanma izlenir[41, 280].

Korneal boyanmanın değerlendirilmesi için sıklıkla üç boya kullanılır: rose bengal, lissamin yeşili ve floresein. Bunlardan korneal yüzeyin bütünlüğünü değerlendirmede en sık kullanılanı floresein boyadır. Floresein sağlıklı epitel hücresinin lipid tabakasından geçemez, ancak hücreler arası sıkı bağlantılarda veya hücre duvarındaki glikokaliks tabakasında hasar olması durumunda boya penetre olup korneal boyanma izlenir[282, 283].

Oküler yüzeyin boyanmasını derecelendirmek için yaygın olarak 3 sınıflandırma sistemi kullanılır: van Bijsterveld sistemi, National Eye Institute/Industry Workshop kılavuzu ve Oxford skalası. Bu 3 sistemden birinin diğerlerine üstünlüğü gösterilmemiştir[279].

Çalışmada floresein emdirilmiş kâğıt (Fluoro Touch®, Madhu Instruments) hastaların alt forniksine değdirilerek gözyaşının boyanması sağlandı. Hastalardan boyanın oküler yüzey üzerinde dağılması için gözlerini aç kapa yapması istendi. Sonrasında ise biyomikroskopun kobalt mavisi filtresi altında kornea ve konjonktivanın boyanması değerlendirildi. Oküler yüzeyin boyanması Bron ve ark. tarafından tanımlanan Oxford skalasına göre derecelendirildi (Şekil3.1)[284].

PANEL	evre	sözel ifade
A 	0	boyanma yok
B 	I	minimal
C 	II	hafif
D 	III	orta
E 	IV	belirgin
>E	V	şiddetli

Şekil 3.1 : Oxford oküler yüzey skorlaması[284].

3.4 Gözyaşı Kırılma Zamanı

Gözyaşı kırılma zamanı (break-up time, BUT) oküler yüzeydeki gözyaşı film tabakasının stabilitesini değerlendiren bir testtir. Göz kapağının hareketi ile kornea yüzeyinde oluşan gözyaşı film tabakası zamanla incelir ve lokalize kuru noktalar oluşmaya başlar. Tam bir göz kırpması ile kornea yüzeyinde oluşan ilk kuru noktanın görülmesi arasında süreye gözyaşı kırılma zamanı denilmektedir[285].

Gözyaşı film stabilitesini korneanın kendisine ait patolojiler ve gözyaşı film tabakasının herhangi bir komponentine ait bozukluklar etkileyebilir. Aköz gözyaşı tabakasının yetersiz olması ya da lipid tabakadaki eksiklik nedeniyle gözyaşının hızlı buharlaşması gözyaşı film tabakasının stabilitesini bozar. Sekretuar ve membran ilişkili müsin eksikliği gözyaşının korneal yüzeyde tutunmasını zorlaştırır ve gözyaşı film tabakasının hızlı buharlaşmasına yol açıp korneada kuru noktaların daha hızlı oluşmasına neden olur. Bu nedenle gözyaşı kırılma zamanı hem evaporatif tip kuru gözde hem de aköz yetmezliğe bağlı kuru gözde kısalmıştır[286, 287].

Gözyaşı kırılma zamanı testi subjektif ölçüm içermesi ve uygulanan floresein volümüne göre sonucun değişebilmesi nedeniyle eleştirilse de testin sonucu 10 saniyeden daha az çıkması halinde gözyaşı film tabakası stabilitesinin bozulduğu genel görüş olarak kabul edilmektedir[280, 288].

Çalışmada hastaların gözyaşı floresein emdirilmiş kâğıt ile boyandıktan sonra boyanın oküler yüzeyde yayılması için iki üç defa hastaların gözünü kırpması istendi. Sonrasında ise son göz kırpma ile ilk korneal kuru noktanın oluşması arasındaki süre ölçülüp not edildi.

3.5 OSDI Anketi

Kuru göz hastalarının semptomlarının takibi hastalığın progresyonu ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesi için önemlidir. Ancak sözel ifade edilen bu şikayetlerin kayıt altına alınması ve kantitatif olarak derecelendirilmesi zordur. Bu amaçla hastaların kuru göze bağlı gelişebilecek oküler şikâyetlerini sorgulayan anketler ortaya çıkmıştır[280].

20'den fazla anket bildirilmiştir. Bu anketlerden en yaygın kullanılanı oküler yüzey hastalık indeksi (Ocular Surface Disease Index, OSDI) anketidir. OSDI dışındaki testlerden olan DEQ-5 21 maddeden oluşan Dry Eye Questionnaire (DEQ) testinin 5 maddeye indirilmiş şeklidir. Kısa ve ayırt edici olması ile ön plana çıkan test 2009 yılında Chalmers ve ark. tarafından geliştirilmiştir. Yine kısa bir anket olan Schein yaşlı popülasyon için geliştirilmiş bir testtir. Bunlar dışında National Eye Institute's Visual Function Questionnaire (NEI VFQ-25), McMonnies Questionnaire, Contact Lens Dry Eye Questionnaire (CLDEQ), Standard Patient Evaluation of Eye Dryness Questionnaire (SPEED) diğer görece sık kullanılan anketlerdir[289-291].

1997 yılında tasarlanan OSDI, 12 maddeden oluşan ve kuru göz çalışmalarında en sık kullanılan ankettir. Bu 12 maddenin 3'ü oküler semptomları, 6'sı görme ile ilgili rahatsızlıkları, kalan diğer 3'ü de çevresel tetikleyicileri sorgulamaktadır. Katılımcılardan soruları 0 ile 4 puan arasında değişen 5 seçenek arasından cevaplamaları istenmektedir. Katılımcının anketteki soruya hiçbir zaman cevabının karşılığı 0 puan iken her zaman cevabının karşılığı ise 4 puana denk gelmektedir. OSDI skoru tüm sorulardan elde edilen puanları 25 ile çarpılmasıyla elde edilen sonucun cevaplanan soru sayısına bölünmesiyle elde edilir. OSDI

skoruna göre kuru göz semptom şiddet skalası 0-12 için normal, 13-22 için hafif, 23-32 puan için orta, 33 ve üzeri için ağır olarak tanımlanmıştır[289, 292, 293].

Çalışmaya katılan hastalara anket ile ilgili bilgi verildikten sonra kendilerine uygun gördükleri soruları cevaplamaları istendi. Çalışmada OSDI anketinin Türkçeye çevrilmiş şekli kullanılmıştır (Şekil 3.2)[294, 295]. Çalışmaya iki gözü de dahil edilen intravitreal enjeksiyon olan hastalardan soruları sağ ve sol gözü için ayrı ayrı olacak şekilde cevaplaması istendi. Kontrol grubunda ise böyle bir ayırım yapılmadan tek bir anket cevaplandırılmıştır.

Geçen hafta boyunca aşağıdakilerden herhangi birini yaşadınız mı?					
	Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman
1. Gözler ışığa hassas	4	3	2	1	0
2. Gözlerde batma hissi	4	3	2	1	0
3. Gözlerde ağrı ya da yanma	4	3	2	1	0
4. Görmenin bulanıklaşması	4	3	2	1	0
5. Görme azlığı	4	3	2	1	0
Geçen hafta boyunca gözünüzdeki problemler aşağıdaki aktivitelerinizi engelledi mi?					
	Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman
6. Uzun süreli okuma	4	3	2	1	0
7. Gece araba kullanma	4	3	2	1	0
8. Bilgisayarda çalışma	4	3	2	1	0
9. Televizyon izleme	4	3	2	1	0
Geçen hafta boyunca aşağıdaki durumlarda gözünüzde rahatsızlık hissettiniz mi?					
	Her zaman	Sıklıkla	Ara sıra	Nadiren	Hiçbir zaman
10. Rüzgarda	4	3	2	1	0
11. Düşük nemli (çok kuru) yerlerde	4	3	2	1	0
12. Klimalı yerler	4	3	2	1	0

Şekil 3.2 : OSDI anketi, Türkçe çevirisi[294].

3.6 Konjonktival İmpresyon Sitolojisi

İmpresyon sitolojisi dokudan doğrudan örnek alınarak hücre düzeyinde incelenmesine olanak sağlayan çok değerli minimal invaziv bir tekniktir. Bu teknik oküler yüzeyde çalışılmak istenen yere nitroselüloz filtre kâğıdını uygulayarak o bölgeden yüzeyel 2-3 kat hücre tabakası elde edilmesini sağlar[296].

Egbert ve ark. tarafından 1977 yılında tanımlanan bu teknik daha sonra çok defa modifiye olup günümüze kadar ulaşmıştır. Egbert ve ark.'nın konjonktival goblet hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında bu tekniği basit bir biyopsi olarak ifade etmişlerdir. Gelişen teknikle birlikte impresyon sitolojisinin araştırma alanı genişlemiştir. Alınan örnekler histolojik, immünohistokimyasal ve moleküler testler ile incelenip oküler yüzey hastalıklarının değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir. Kuru göz başta olmak üzere limbal kök hücre yetmezliği, oküler yüzey neoplazileri,

vernal konjonktivit, spesifik enfeksiyonlar (*Acanthamoeba keratiti*) impresyon sitolojisinin tanı ve takipte kullanıldığı alanlardır[296-298].

İmpresyon sitolojisi tekniği ile alınan hücrelerin mikroskop altında histolojik olarak incelenmesiyle skuamöz metaplazi ve goblet hücre kaybının görülmesi oküler yüzey patolojileri açısından önemlidir. Sıklıkla kuru gözde izlenen bu tablo kuru göz dışında kimyasal maruziyetlerde, A vitamini eksikliğinde ve çeşitli topikal ilaçlara (prezervan olarak benzalkonyum klorür içeren, BAK) sekonder gelişebilir[298, 299].

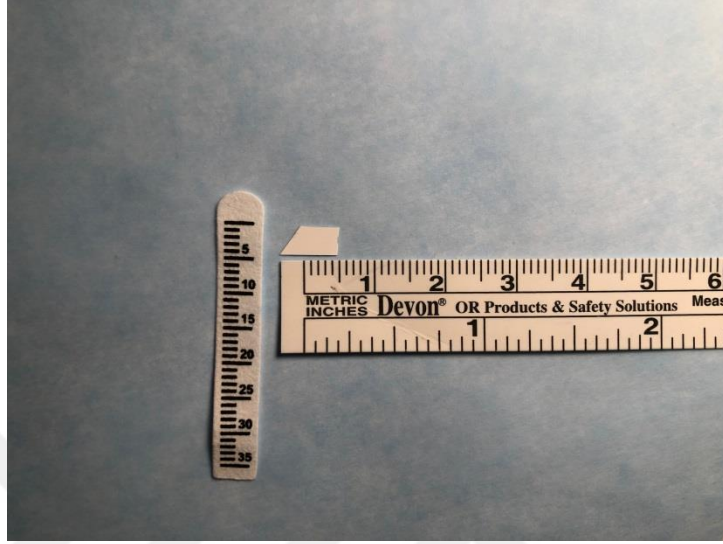
3.6.1 Örnek alımı

Örnek alımı için kullanılan filtre kâğıdı hücrelerin tutunması için üzerinde gözenekler (pore) içerir. Bu gözeneklerin çapı değişkendir ve uygun gözenek çapını seçmek önemlidir. Büyük gözenekli filtre kâğıdı daha çok örnek toplanmasına olanak sağlarken detayların seçilmesini zorlaştırır, küçük gözenekli filtre kâğıdı ise daha iyi bir çözünürlük sağlarken toplanan hücre sayısının yetersiz kalmasına neden olabilir. Çoğu araştırmacı gözenek boyutunu 0.025-0.45 µm arasında tercih ederken Martinez ve ark.'nın yaptığı çalışmada 0.22 µm gözenek boyutunda en iyi sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir[300, 301].

Filtre kâğıdı oküler yüzeye uygulanmadan önce istenen boyutta ve şekilde kesilir. Bu kesim şekli araştırmacılar arasında farklı olmakla birlikte asimetrik şekiller seçilir. Böylece oküler yüzeyden alınan örneğin kâğıt üzerindeki yerleşimi standart olur. Ayrıca örneğin incelenmesi aşamasında kâğıdın hangi yüzeyinde hücre olduğunun örneği çalışan tarafından bilinmesi sağlar[302, 303].

Çalışmamızda 0.22 µm gözenek boyutunda nitroselüloz filtre kâğıdı (MF-Millipore® Membrane Filter, Merck Millipore) kullanıldı. Filtre kâğıtları işlem öncesinde Tseng ve ark. tarafından tariflendiği gibi asimetrik kesildi. 5*5 mm boyutlarında kare şeklindeki kâğıdın bir ucu uzun bırakılarak asimetrik bir şekil elde edilmiştir (Şekil 3.3)[303]. Bu asimetrik uç hem işlem sırasında kâğıdın bu bölgeden rahatça tutulmasını sağlayıp manipülasyonu kolaylaştırdı hem de örneğin hangi yüzeyde kalacağını belirlemeye olanak sağladı. Çalışmada hastalara yapılacak işlem açıklandıktan sonra öncelikle %0.5'lik proparakain oftalmik damla (Alcaine®, Alcon) damlatıldı. Sonrasında önceden kesilmiş filtre kâğıtları künt uçlu dişsiz penset ile tutularak hastanın temporal bulber konjonktivasına 3-5 saniye hafif

baskıyla uygulandı. Asimetrik uçtan yakalanan filtre kağıdı oküler yüzeyden alınarak 0.1 cc fiksatif solüsyon (%95 etanol, %1 formalin) eklenen eppendorf tüplere konuldu. Alınan impresyon sitoloji örnekleri çalışılana kadar bu solüsyon içerisinde +4 derecede saklandı.



Şekil 3.3 : Filtre kağıdının asimetrik kesimi[303].

3.6.2 Örneklerin boyanması

İmpresyon sitolojisi ile ilgili ilk çalışmalardan bu yana yaygın kullanılan boyama periyodik asit Schiff (PAS)/hematoksilen tekniğidir. Bu yöntemde PAS goblet hücrelerini boyamak için, hematoksilen ise epitel hücreleri boyamak için kullanılır. PAS/hematoksilen dışında PAS/Papanicolau, alcian blue, modifiye Wright, PAS/Giemsa gibi boyama protokolleri de mevcuttur[298, 304, 305].

Çalışmamızda PAS/hematoksilen boyama yöntemi kullanıldı (Tablo 3.1). PAS ticari kit (M101646.0001, Merck Millipore) olarak temin edildi, Mayer'in hematoksileni ise Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarında hazırlandı.

Tablo 3.1 : Çalışmada kullanılan PAS- Hematoksilen Protokolü.

Ksilol	2 defa 15 dakika
%96 alkol- %96 alkol- %80 alkol	3 defa 10 dakika
Distile su	3 defa 5 dakika
Periyodik asit	5 dakika
Distile su	3 defa 5 dakika
Schiff	4 dakika
Distile su	3 defa 5 dakika
Süzülmüş hematoksilen	25 dakika
Distile su	3 defa 5 dakika
Asit alkol	1 dakika
Distile su	3 defa 5 dakika
Amonyaklı su	1 dakika
Distile su	3 defa 5 dakika
%80 alkol- %96 alkol- %96 alkol	3 defa 1 dakika
Ksilol	5 dakika

3.6.3 Örneklerin değerlendirilmesi

İmpresyon sitolojisi tekniği ile alınan konjonktival yüzey epitel hücreleri ve goblet hücreleri oküler yüzeyi histolojik olarak incelemeye olanak sağlar. Oküler yüzeydeki patolojilerde skuamöz metaplazi ve goblet hücre sayısında azalma izlenir. Bu patolojik değişiklikleri derecelendirmek için birçok evreleme yöntemi tanımlanmıştır. Bunlardan iyi bilinenleri Nelson, Tseng, Adam ve Blades sınıflandırmalarıdır[280, 306].

İlk sınıflandırma yöntemi 1983 yılında Nelson ve ark. tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra Nelson 1988 yılında daha önce tanımlanan bu evreleme sistemini geliştirerek günümüzde kullandığımız şekline getirmiştir. Yaygın olarak kullanılan bu evreleme sistemi, incelenen örneği epitel hücrelerinin histolojik görüntülerine (nükleus sitoplazma oranı, nükleusun morfolojisi, sitoplazmanın eozinofilik boyanması) ve goblet hücrelerinin sayısına göre evre 0 ile evre 3 arasında derecelendirir (Tablo 3.2). Bunun sonucunda evre 0-1 normal kabul edilirken evre 2-3 anormal kabul edilmektedir[305, 307].

Çalışmamızda PAS/Hematoksilen yöntemi kullanılarak boyanan nitroselüloz asetat kâğıtları Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalında yer alan Histolojik Görüntüleme Merkezinde ışık mikroskopunda (Nikon, Eclipse 920248, USA) değerlendirildi. Görüntüler mikroskop kamerası (Nikon, DS-Fi2-U3) aracılığıyla bilgisayar ortamına aktarıldı. 40' lık objektif altında 5 ayrı alanda yüzey epitel hücrelerinin çekirdek sitoplazma oranı, çekirdeğinin

histolojik özellikleri (büyüklüğü ve şekli), sitoplazmasının eozinofilik olarak boyanma derecesi ve goblet hücrelerin şekli, sayısı, PAS ile boyanması iki histolog tarafından bağımsız olarak değerlendirildi. Değerlendirme sonucu Nelson evresi ve goblet hücre sayısı şeklinde rapor edilerek kaydedildi.

Alınan örneklerin değerlendirilmesi aşamasında objektif bir sonuç elde edilmesi amacıyla hangi örneklerin intravitreal enjeksiyon olan göze ait olduğu bilgisi histologlar ile paylaşılmadı. Örnekler bias oluşmasını engellemek için sadece nümerik olarak etiketlendi.

Tablo 3.2 : Konjonktiva impresyon sitolojisi için Nelson evrelemesi[305].

	Morfoloji	Sitoplazma boyanması	Nükleus / Sitoplazma	Goblet Sayısı	Goblet Morfolojisi	Goblet PAS Boyanması
Evre-0	Küçük, yuvarlak	Eozinofilik	1:2	Bol sayıda (>500 goblet hücre/mm ²)	Dolgun, oval	Yoğun
Evre-1	Hafif büyük, hafif poligonal	Eozinofilik	1:3	Hafif azalmış	Dolgun, oval	Yoğun
Evre-2	Daha büyük, daha poligonal	Değişken	1:5	Az sayıda	Küçük, sınırları belirsiz	Azalmış
Evre-3	Çok büyük, poligonal	Bazofilik	>1:6	Çok az sayıda (<100 goblet hücre/mm ²)	Az sayıda hücre, belirsiz	Çok az

3.7 Gözyaşında Sitokin Analizi

Kuru göz hastalığının patofizyolojisinde inflamatuvar süreçler etkin rol oynar. Gözyaşında artan osmolarite oküler yüzeyde inflamasyona neden olup oküler yüzeyden inflamatuvar sitokinlerin salınmasını tetikler. Artmış inflamasyon gözyaşı film tabakasının homeostasisini bozarak osmolarite artışına neden olur. Böylece oküler yüzeyde inflamatuvar süreçlerin anahtar rol oynadığı kısır bir döngü oluşur. Gözyaşında inflamatuvar sitokinlerin analizi, kuru göz hastalığındaki mekanizmaların nasıl çalıştığının daha iyi anlaşılabilmesini sağlamaktadır. Ayrıca hastalığın şiddeti ile inflamatuvar sitokinlerin korele olduğu gösterilmiştir. Bu da hastalığın takibinde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde gözyaşında sitokin analizini kullanılabilir bir yöntem haline getirmiştir[117, 119, 124].

Literatürde kuru göz hastalarında gözyaşında artmış inflamatuvar sitokinler insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Bu çalışmalarda oküler yüzeydeki inflamatuvar süreçlerde temel rol oynamaları nedeniyle sıklıkla IL-1, IL-6, IL-10, TNF- α , İnterferon gama (IFN γ) ve MMP-9 araştırılmıştır. Çalışmamızda incelediğimiz oküler patolojinin daha iyi değerlendirilebilmesi için literatürde daha önce kuru göz hastalarında artmış olduğu ve hastalığın şiddeti ile korelasyonu gösterilmiş olan interlökin 1-beta (IL-1 β) ve IL-6 tercih edilmiştir[127, 308-313].

3.7.1 Örnek alımı

Gözyaşı örneği almak için farklı teknikler önerilmiştir: kapiller tüp, Schirmer kağıdı, polivinil asetat (PVA) sünger, selüloz asetat kağıtları. Bunlardan en sıklıkla kullanılanları kapiller tüp ve Schirmer kâğıdıdır. Bu iki tekniğin birbirlerine karşı üstünlükleri ile ilgili çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. Choy ve ark. kapiller tüpün daha az invaziv olduğunu, Schirmer kâğıdının daha çok oküler irritasyon yarattığını bildirmişlerdir. Posa ve ark. ise kapiller tüp ile gözyaşı örneği almanın belli bir pratik gerektirdiği ve Schirmer kağıdına göre daha zor bir yöntem olduğunu ifade etmişlerdir. Aynı çalışmada kapiller tüp ile gözyaşı toplanması sırasında hastaların uyarılara karşı sık göz kırpmaları veya cam tüp ile gözde yapılan işlem sırasında korkup geri çekilmeleri prosedürü uzattığı bildirilmiştir. Aksine Schirmer ile gözyaşı toplamının daha az invaziv olduğu ve hastalara daha az rahatsızlık verdiği belirtilmiştir. Ayrıca testin prosedürü gereği 5 dakikalık bekleme süresinde hastanın tıbbi geçmişi gibi kayıtların not edilmesine olanak sağlaması zaman kazancı olarak

değerlendirilmiştir. İki gözyaşı toplama yönteminin etkinliğine bakıldığında ise oküler patolojileri analiz etmede ikisinin de etkili olduğu gösterilmiştir. İki yöntemle elde edilmiş gözyaşı örneklerindeki protein miktarının karşılaştırılmasında da sonuçların benzer olduğu görülmüştür[308, 314-319].

Çalışmada gözyaşı örneği almak için kolay uygulanabilirliği ve zaman tasarrufu sağlaması nedeniyle Schirmer kâğıdı tercih edildi. Schirmer I testi sırasında kullanılan kâğıt aynı zamanda gözyaşı örneği için kullanılmış oldu. Böylece Schirmer testi hem gözyaşının miktarını ve hem de içeriğini değerlendiren bir teknik olarak çalışmada yer aldı.

Topikal anestezi kullanılmadan alt kapağın temporal üçte birlik kısmına yerleştirilen Schirmer kâğıdının 5. dakikada ıslaklığı mm cinsinden not edildi. Sonrasında oküler yüzeyden alınan Schirmer kâğıdı ıslaklığın bittiği yerden kesilerek işlem öncesinde önceden soğutulan ve nümerik olarak etiketlenen steril eppendorf tüplere yerleştirildi. Schirmer kâğıdı konulan eppendorf tüpler -80°C 'deki dondurucuya taşınmadan önce buz kalıbında saklandı. Örneklerin transfer süreci 30 dakikayı aşmadı. Gözyaşı örnekleri sitokin analizi yapılana kadar -80°C 'deki dondurucuda muhafaza edildi.

3.7.2 Örneklerin analizi

Schirmer kâğıdına alınan ve -80°C 'de saklanan gözyaşı örneklerini ekstrakte etmek için 0.5 M NaCl ve %0.5 Tween-20 içeren ekstraksiyon tamponu hazırlandı. Ekstraksiyon tamponu her bir örneğe 30 $\mu\text{l}/\text{mm}$ ilave edildi. Sonrasında buz üzerinde 3 saat inkübe edilen Schirmer kâğıtları iyice süzülerek ekstraksiyon tamponu içinden gözyaşı örnekleri toplandı. Son olarak 100xg'de (Bağıl santrifüj kuvvet-RCF) 10 saniye santrifüj edilen örnekler ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) işleminde kullanıldı.

IL-6 ve IL-1 β analizleri için ELISA ticari kiti (sırasıyla E-EL-H0102 ve E-EL-0149, Elabscience) temin edildi. Analiz işlemi kitin üreticisi tarafından belirlenmiş protokole uygun şekilde gerçekleştirildi. Örnekler 96 kuyulu plakalara (well plate) 100 μl hacimde verilerek 90 dakika 37°C 'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyulardaki örnekler dökülerek kuyulara 100 μl biyotinlenmiş antikor/antijen ilave edilip tekrar 1 saat 37°C 'de bekletildi. Üst sıvı aspire edilerek 3

kez yıkama tamponu ile yıkandı. Sonrasında 100 µl HRP (horseradish peroxidase) konjugatı eklenerek 30 dakika 37°C’de inkübe edildi. Üst sıvı aspire edilerek 5 kez yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyulara 90 µl substrat solüsyonu ilave edildi ve 15 dakika 37°C’de inkübe edildi. Ardında üzerine 50 µl durdurma (stop) solüsyonu eklenerek örneklerin 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri (OD, optical density) ELISA cihazı ile okundu. Standartlar kullanılarak standart eğri çizildi ve örneklerdeki IL-6 ve IL-1β miktarları tayin edildi. Çalışmada örneklerin daha doğru analiz edilebilmesi için her bir örnek duplicate (çift değerlendirme) olarak analiz edildi.

3.8 İstatistiksel Analiz

Niceliksel değişkenlerin davranışları merkezileştirme ve varyans ölçümleri kullanılarak belirtildi: Ortalama $\pm$ SS. Ki-kare testi, kategorik değişkenler arasındaki oranlar veya ilişkiler arasındaki farkları belirlemek için kullanıldı. Grup ortalamalarının davranış farklılıklarını göstermek için; normallik ve eş-dağılımlık varsayımlarının karşılandığı durumlarda Student T-testi (grup sayısı=2) ve ANOVA Testi (grup sayısı>2), karşılanmadığı durumlarda ise Kruskal-Wallis H Testi (grup sayısı>2) ve Mann-Whitney U Testi (grup sayısı=2) parametrik olmayan yöntemleri kullanıldı. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni post hoc düzeltme yöntemi kullanıldı. Herhangi iki sayısal değişkenin birbiri arasındaki korelasyonu hesaplamada, veriler normal dağılıma sahip olmadığı için parametrik olmayan Spearman's Rank Correlation testi kullanıldı. Tüm olgular için istatistiksel anlamlılık $p = 0,05$ olarak belirlenmiştir. İstatistiksel analizler IBM SPSS (Windows için Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi, Sürüm 21.0, Armonk, NY, IBM Corp.) paket programı ile sağlandı.

4. BULGULAR

Çalışmaya 52 tek taraflı intravitreal enjeksiyon olan YBMD hastası ile 51 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. 52 hastanın tekrarlayan intravitreal enjeksiyon olan gözleri IVI (intravitreal injection), enjeksiyon olmayan gözleri NIVI (non-intravitreal injection) grubunu oluşturdu. 51 sağlıklı gönüllü katılımcının çalışmaya dahil edilen bir gözleri ise kontrol grubu olarak belirlendi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Çalışmaya dahil edilen grupların dağılımı.

Parametre	Grup	n (%)
Grup	IVI	52 (33.5%)
	NIVI	52 (33.5%)
	KONTROL	51 (32.9%)

Intravitreal enjeksiyon olan YBMD hastalarının yaş ortalaması 71.27 ± 8.59 iken sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması 69.45 ± 8.27 idi. Çalışmaya dahil edilen kişilerin demografik özellikleri Tablo 4.2’de özetlenmiştir. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet dağılımları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir (sırasıyla $p=0.276$, $p=0.629$).

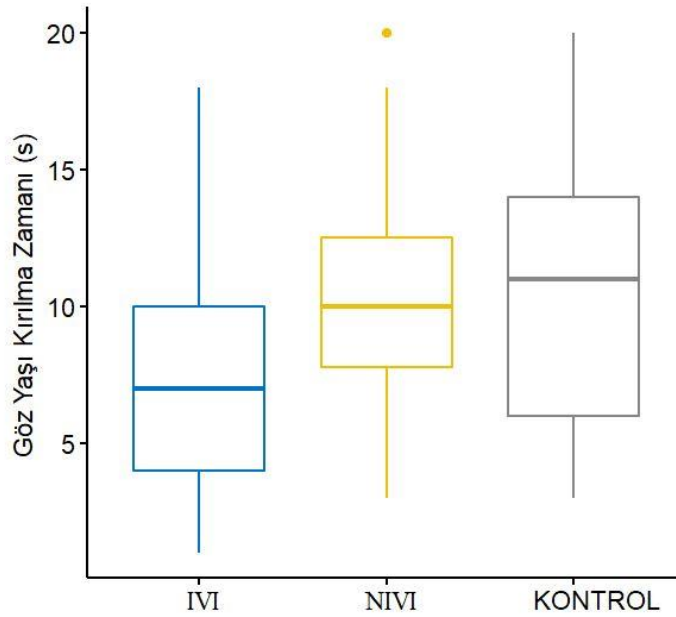
Tablo 4.2: Katılımcıların demografik özellikleri.

	IVI (52)	Kontrol (51)	P
Yaş	71.27 ± 8.59	69.45 ± 8.27	0.276
Cinsiyet	E 18 (34.6%)	E 21 (41.2%)	0.629
	K 34 (65.4%)	K 30 (58.8%)	

4.1 Gözyaşı Film Parametreleri

Çalışmaya dahil edilen 103 katılımcının 155 gözü oküler yüzeyi değerlendiren 3 gözyaşı film parametresi ile değerlendirildi: gözyaşı kırılma zamanı, Schirmer testi, Oxford boyanma skoru. Schirmer testinde gruplar arasında anlamlı fark yok iken gözyaşı kırılma zamanı ve Oxford boyanma skoru analizlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0.161$, $p=0.003$, $p=0.003$).

Gözyaşı kırılma zamanı IVI grubunda 7.71 ± 4.16 s, NIVI grubunda 10.25 ± 4.49 s, kontrol grubunda 10.37 ± 4.61 s olarak bulunmuştur. Şekil 4.1’de grupların gözyaşı kırılma zamanlarının dağılımı gösterilmiştir. Gruplar arasında post hoc analiz yapıldığında IVI grubunun gözyaşı kırılma zamanının NIVI ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (sırasıyla $p=0.011$, $p=0.008$).



Şekil 4.1: Gözyaşı kırılma süreleri analizi.

Oxford skalası, oküler yüzeyin boyanmasına göre 0 (boyanma yok) ile 5 (şiddetli boyanma) arasında evrelendirilir. Oxford boyanma skoru IVI grubunda 1.27 ± 0.99 , NIVI grubunda 0.75 ± 0.84 , kontrol grubunda 0.73 ± 0.8 olarak bulunmuştur. IVI grubu istatistiksel olarak NIVI ve kontrol grubuna göre Oxford skalasında istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0.011$, $p=0.009$).

3 grup arasında Schirmer testinde en düşük değer 13.85 ± 10.56 mm ile IVI grubunda olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=0.161$). IVI grubu dışında, NIVI grubunda 14.27 ± 9.83 mm, kontrol grubunda 15.78 ± 7.56 mm olarak ölçölmüştür.

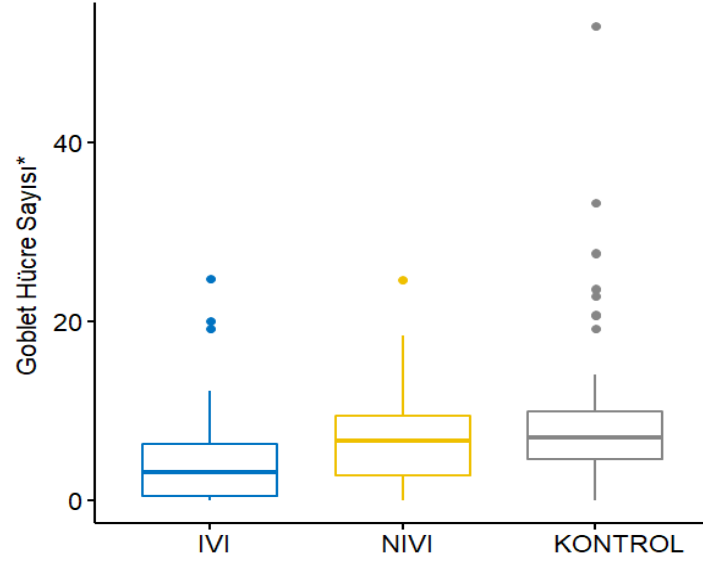
4.2 Oküler Yüzeye Bağlı Gelişen Semptomların Değerlendirilmesi

Çalışmaya dahil edilen katılımcıların kuru göze bağlı gelişebilecek oküler şikayetlerini değerlendirmek için Türkçeye çevirilmiş OSDI anketi kullanıldı. OSDI skorunun gruplar arasındaki dağılımı analiz edildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmiştir ($p=0.024$). En yüksek OSDI skoru 36.81 ± 19.49 ile IVI grubunda saptanmıştır, onu 29.31 ± 17.5 ile NIVI grubu izlemiştir. En düşük OSDI skoru ise 27.93 ± 15.4 ile kontrol grubunda izlenmiştir. IVI grubunun OSDI skoru kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.03$). NIVI grubunun OSDI skoru, IVI grubu ve kontrol grubu ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmemiştir (sırasıyla $p=0.078$, $p=0.916$).

4.3 Konjonktival İmpresyon Sitolojisi Analizi

Nitroselüloz filtre kâğıdı ile alınan konjonktival impresyon sitoloji örneği PAS-Hematoksilen yöntemi ile boyanarak 40'lık objektif altında incelendi. Epitel hücrelerinin ve Goblet hücrelerinin histolojik özelliklerine göre Nelson evrelemesi yapıldı. Örneklerin analiz sonuçları Nelson evresi ve Goblet hücre sayısı olarak kaydedildi. Grupların istatistiksel olarak analizinde hem Nelson evreleri hem Goblet hücrelerinin dağılımda oldukça anlamlı farklılık gözlemlenmiştir (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$).

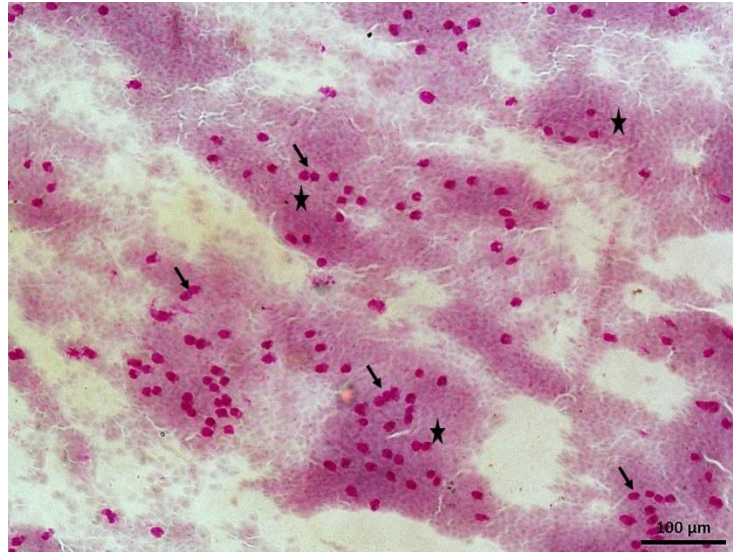
Goblet hücre sayısı ($40\times$ büyütmede, 5 farklı alanın ortalaması) IVI grubunda 4.53 ± 5.47 , NIVI grubu 6.8 ± 5.4 , kontrol grubu 9.64 ± 9.42 olarak bulunmuştur. Şekil 4.2'de ortalama Goblet hücre sayılarının gruplardaki dağılımı gösterilmiştir. Post hoc analizde IVI grubunun Goblet hücre sayısının NIVI ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğu saptanmıştır (sırasıyla $p=0.027$, $p<0.001$). NIVI ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.481$).



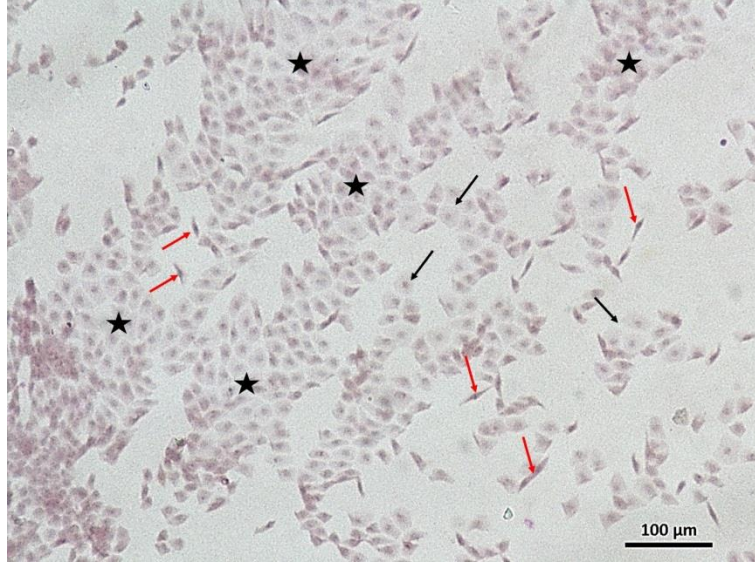
*40× büyütmede, 5 farklı alanın ortalaması

Şekil 4.2: Konjonktival Goblet hücre sayıları.

Nelson evrelemesi IVI grubunda 0.88 ± 0.81 , NIVI grubunda 0.37 ± 0.66 , kontrol grubunda 0.1 ± 0.36 bulunmuştur. Gruplar arası post hoc analizde Goblet hücre sayısı analizinde olduğu gibi IVI grubuyla NIVI ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlenmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$). IVI grubunda diğer gruplardan farklı olarak evre-3 dahil olmak üzere her evreden örnek izlenmiştir. Diğer gruplara kıyasla epitel hücrelerinin boyutunun arttığı, nükleus/sitoplazma oranının ve goblet hücre sayısının azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).



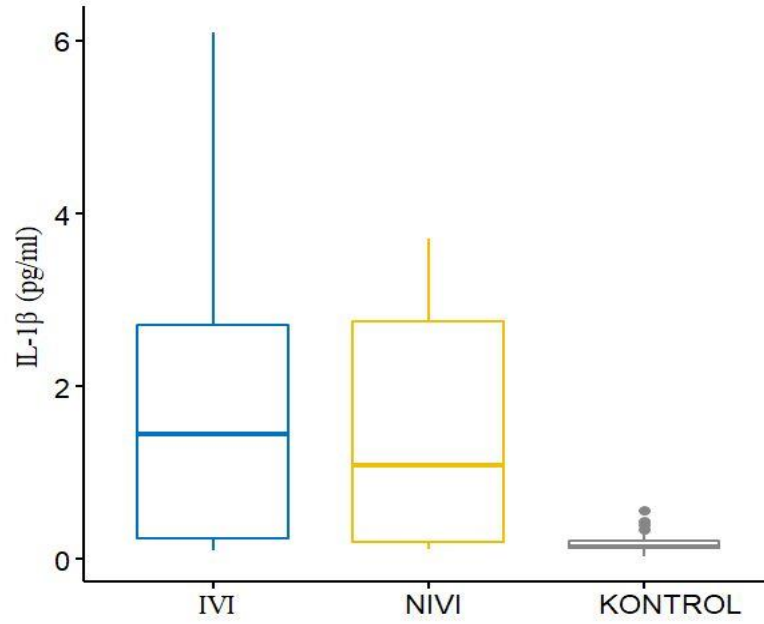
Şekil 4.3: Kontrol grubuna ait impresyon sitoloji örneği. Siyah oklar: Goblet hücreleri (normal sayı ve morfolojide), Yıldızlar: poligonal şekilli, yuvarlak çekirdekli epitel hücrelerinin döşediği alanlar (Evre 0) (PAS+Hematoxylin, X100)



Şekil 4.4: IVI grubuna ait impresyon sitoloji örneği. Goblet hücresi yok, epitel hücreleri arasında azalmış hücresel adezyon (siyah yıldızlar), katlanmış (kırmızı oklar) ve piknotik çekirdekli epitel hücreleri (siyah oklar) (Evre 3) (PAS+Hematoksilen, X100)

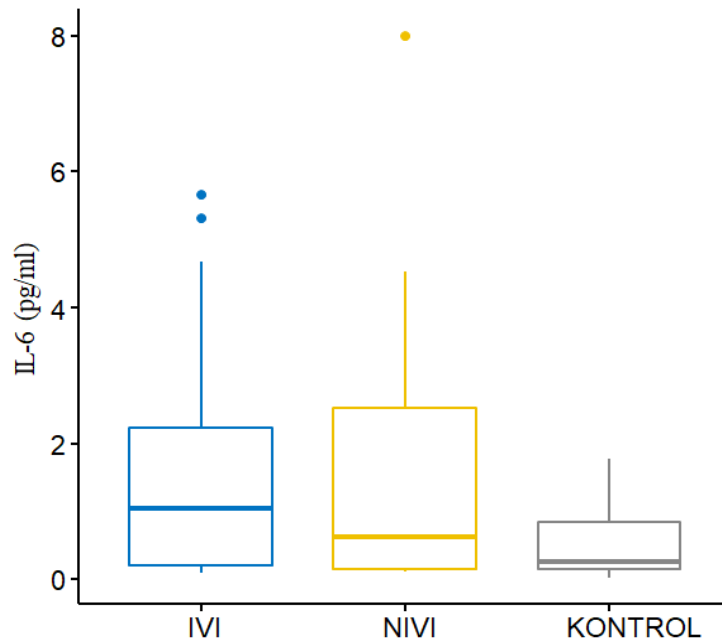
4.4 Gözyaşında Sitokin Analizi

Schirmer kâğıdı ile toplanan gözyaşı örneğinde ELISA ile IL-1 β ve IL-6 analizi yapıldı. Hem IL-1 β hem IL-6 için gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p = 0.009$). IL-1 β seviyesi IVI grubunda 1.62 ± 1.35 pg/ml, NIVI grubunda 1.37 ± 1.15 pg/ml, kontrol grubunda 0.18 ± 0.09 pg/ml olarak saptanmıştır. IL-1 β düzeylerinin gruplar içinde dağılımı Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Post hoc analizde yapıldığında IVI ve NIVI grubunun kontrol grubuna göre oldukça anlamlı derecede daha yüksek IL-1 β seviyelerine sahip olduğu izlenmiştir (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$).



Şekil 4.5: Gözyaşında IL-1 β (pg/ml) analiz sonuçları.

IL-6 düzeyi IVI grubunda 1.45 ± 1.48 pg/ml, NIVI grubunda 1.42 ± 1.57 pg/ml, kontrol grubunda 0.56 ± 0.55 pg/ml olarak tespit edilmiştir. IL-6 düzeylerinin gruplar içinde dağılımı Şekil 4.6'da gösterilmiştir. IL-1 β analizinde olduğu gibi IVI ve NIVI grubunun IL-6 düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p=0.014$, $p=0.042$).



Şekil 4.6: Gözyaşında IL-6 (pg/ml) analiz sonuçları.

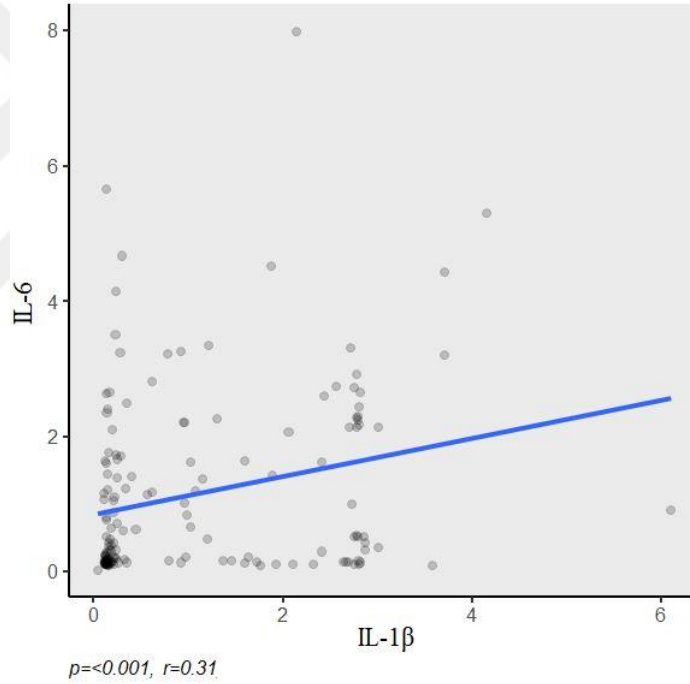
Çalışmaya dahil edilen toplam 103 katılımcı gözyaşı film tabakası, konjonktival impresyon sitolojisi ve gözyaşında sitokin analizi ile ayrıntılı olarak değerlendirildi. Ayrıca kuru göz semptom sorgulaması yapılarak hastaların oküler yüzeye bağlı gelişen şikayetleri kantitatif olarak skorlanmaya çalışıldı. Toplam 8 parametre ile değerlendirilen 3 grup arasında Schirmer skoru dışında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$). 3 grubun daha önce bahsedilen tüm parametrelerdeki sonuçları Tablo 4.3'te özetlenmiştir.

Tablo 4.3: IVI, NIVI ve kontrol grupları arasında oküler yüzeyi farklı açılardan değerlendiren 8 parametrenin karşılaştırılması.

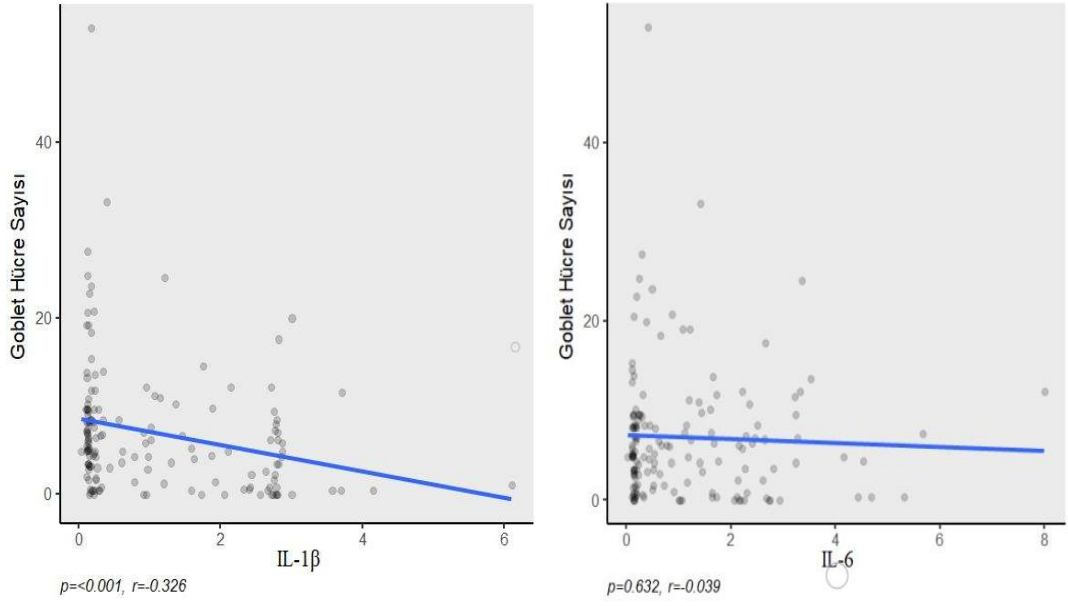
	IVI (52)	NIVI (52)	KONTROL (51)	p
GKZ (s)	7.71 ± 4.16	10.25 ± 4.49	10.37 ± 4.61	0.003
	7 (1 - 18)	10 (3 - 20)	11 (3 - 20)	
Goblet Sayısı	4.53 ± 5.47	6.8 ± 5.4	9.64 ± 9.42	<0.001
	3.1 (0 - 24.8)	6.6 (0 - 24.6)	7 (0 - 53)	
IL-1β (pg/ml)	1.62 ± 1.35	1.37 ± 1.15	0.18 ± 0.09	<0.001
	1.44 (0.11 - 6.1)	1.09 (0.12 - 3.71)	0.15 (0.04 - 0.57)	
IL-6 (pg/ml)	1.45 ± 1.48	1.42 ± 1.57	0.56 ± 0.55	0.009
	1.05 (0.1 - 5.67)	0.63 (0.11 - 8)	0.27 (0.03 - 1.77)	
Nelson Evresi	0.88 ± 0.81	0.37 ± 0.66	0.1 ± 0.36	<0.001
	1 (0 - 3)	0 (0 - 2)	0 (0 - 2)	
OSDI Skoru	36.81 ± 19.49	29.31 ± 17.5	27.93 ± 15.4	0.024
	35.71 (0 - 82.14)	26.79 (0 - 82.14)	25 (0 - 58.33)	
Oxford Evresi	1.27 ± 0.99	0.75 ± 0.84	0.73 ± 0.8	0.003
	1 (0 - 4)	1 (0 - 3)	1 (0 - 3)	
Schirmer (mm)	13.85 ± 10.56	14.27 ± 9.83	15.78 ± 7.56	0.161
	12 (1 - 35)	11 (1 - 35)	16 (5 - 35)	
Ortalama ± SS / Medyan (Minimum-Maksimum); GKZ: Gözyaşı kırılma zamanı. İstatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) sonuçlar koyu belirtildi				

4.5 Korelasyon Analizi

Çalışmada değerlendirilen parametrelerin Goblet sayısı ve IL-1 β /IL-6 sitokinleri ile korelasyon analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda IL-1 β ile IL-6 arasında da pozitif korelasyon bulunmuştur ($r= 0.31$, $p<0.001$) (Şekil 4.7). IL-1 β ile Goblet hücre sayısı arasında negatif yönde korelasyon saptanırken IL-6 ile Goblet hücre sayısı arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki izlenmemiştir (sırasıyla $r= -0,326$, $p<0.001$; $r= -0.039$, $p=0.632$) (Şekil 4.8). Ancak Goblet hücrelerini ve yüzey epitel hücrelerini değerlendiren Nelson evrelemesi ile IL-6 arasında ise pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır ($r= 0.167$, $p= 0.038$). Diğer parametrelerin korelasyon sonuçları Tablo 4.4’te gösterilmiştir.



Şekil 4.7: IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin korelasyonu.



Şekil 4.8: Goblet hücre sayısının IL-1 β ve IL-6 seviyeleri ile korelasyon analizi.

Tablo 4.4: 8 parametrenin Goblet hücre sayısı ve IL-1 β /IL-6 ile korelasyonu.

	Goblet Hücre Sayısı		IL-1 β		IL-6	
	r	p*	r	p*	r	p*
GKZ**	0.1	0.215	-0.056	0.485	-0.131	0.104
Goblet Sayısı	1	0.0001	-0.326	0.0001	-0.039	0.632
IL-1 β	-0.326	0.0001	1	0.0001	0.31	0.0001
IL-6	-0.039	0.632	0.31	0.0001	1	0.0001
Nelson Evresi	-0.774	0.0001	0.385	0.0001	0.167	0.038
OSDI Skoru	-0.14	0.081	0.018	0.827	0.021	0.798
Oxford Evresi	-0.132	0.101	0.087	0.281	0.231	0.004
Schirmer	0.143	0.075	-0.023	0.779	-0.099	0.22
*Spearman korelasyon testi, p < 0.05 sonuçlar koyu belirtildi						
**Gözyaşı kırılma zamanı						

4.6 Enjeksiyon Sayılarının Analizi

Çalışmada tek taraflı intravitreal enjeksiyon olan hastaların son 1 yıl ve son 3 yıl içerisinde oldukları enjeksiyon sayıları tespit edilmiştir. Hastalara son 1 yılda 4.85 ± 1.87 (minimum 3, maksimum 9), son 3 yılda 10.92 ± 5.15 (minimum 3, maksimum 23) enjeksiyon yapılmıştır. Enjeksiyon sayılarının oküler yüzey parametreleri ile ilişkisine bakılmıştır, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Oxford evresi ile son 1 yıldaki enjeksiyon sayısı hariç) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Enjeksiyon sayılarının oküler yüzey parametrelerine göre korelasyon analizi.

	Enjeksiyon Sayısı-1 yıl		Enjeksiyon Sayısı-3 yıl	
	r	p*	r	p*
GKZ**	0.136	0.337	0.059	0.676
Goblet Sayısı	-0.027	0.852	0.033	0.814
IL-1 β	-0.245	0.08	-0.078	0.583
IL-6	-0.031	0.825	-0.211	0.134
Nelson Evresi	-0.017	0.906	-0.024	0.866
OSDI Skoru	-0.003	0.983	0.202	0.152
Oxford Evresi	-0.307	0.027	-0.103	0.466
Schirmer	0.241	0.085	0.089	0.529
*Spearman korelasyon testi, p <0.05 sonuçlar koyu belirtildi				
**Gözyaşı kırılma zamanı				

4.7 Enjekte Edilen İlaç Moleküllerinin Analizi

Çalışmada IVI grubuna intravitreal enjeksiyon sırasında 3 farklı molekül (aflibercept, bevacizumab, ranibizumab) verilmiştir. IVI grubu içerisinde subgrup analizi yapılarak verilen ilaç molekülünün sonuçlara etkisi değerlendirilmiştir. İlaç molekülleri arasında tüm oküler yüzey parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: IVI grubu içerisinde 3 farklı ilaç molekülünün karşılaştırılması.

İlaç (n)	IVA(21)	IVB (7)	IVR (24)	p
GKZ (s)	8.29 ± 4.63 8 (1 - 18)	8.43 ± 4.35 7 (4 - 15)	7.0 ± 3.73 7 (3 - 18)	0.529
Goblet Sayısı	3.55 ± 3.73 2 (0 - 12.2)	7.83 ± 8.5 5.8 (0 - 24.8)	4.43 ± 5.59 2.5 (0 - 20)	0.526
IL-1β (pg/ml)	1.61 ± 1.59 1.3 (0.11 - 6.1)	1.05 ± 0.89 0.94 (0.12 - 2.72)	1.79 ± 1.21 2.02 (0.11 - 4.15)	0.374
IL-6 (pg/ml)	1.5 ± 1.53 1.17 (0.1 - 4.68)	1.38 ± 1.09 1.2 (0.14 - 3.23)	1.42 ± 1.58 0.69 (0.13 - 5.67)	0.919
Nelson Evresi	1.0 ± 0.89 1 (0 - 3)	0.43 ± 0.53 0 (0 - 1)	0.92 ± 0.78 1 (0 - 2)	0.277
OSDI Skoru	39.68 ± 17.85 42.86 (0 - 75)	29.88 ± 12.77 33.33 (5 - 45.83)	36.32 ± 22.38 36.61 (0 - 82.14)	0.517
Oxford Evresi	1.1 ± 1.0 1 (0 - 3)	0.86 ± 0.38 1 (0 - 1)	1.54 ± 1.06 1.5 (0 - 4)	0.173
Schirmer (mm)	15.86 ± 11.45 12 (2 - 35)	18.57 ± 9.5 19 (5 - 35)	10.71 ± 9.43 8.5 (1 - 35)	0.079
IVA: aflibercept, IVB: bevacizumab, IVR: ranibizumab; GKZ: Gözyaşı kırılma zamanı Ortalama ± SS / Medyan (Minimum–Maksimum)				

5. TARTIŞMA

YBMD koroid, Bruch membran ve RPE'nin ilerleyici dejenerasyonu ile seyreden yaygın bir hastalıktır. Makuladaki bu progresif dejenerasyona sekonder ağır santral görme kayıpları gelişmektedir. İlerleyen yaşla birlikte YBMD görülme sıklığı artar. Bu nedenle özellikle yaşlı popülasyonu etkileyen bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda gelişmiş ülkelerde 60 yaş üstü bireylerde legal körlüğün en sık nedeni olarak gösterilmektedir[1, 3, 4, 320]. YBMD'nin iki alt formu olup tedavi yaklaşımlarına da buna göre değişir. Onlardan yaygın olanı kuru tip YBMD için farklı tedavi arayışları sürmekle beraber güncel yaklaşım nöroproteksiyon amacıyla nutrisyonel destektir[321]. Daha nadir ancak daha agresif seyreden yaş tip YBMD ise koroidden köken alıp dış retinaya doğru uzanan neovaskülarizasyon ile karakterizedir. Bu yeni oluşan damarlar maturasyonunu tamamlamadığı için düzensiz yapıdadır ve geçirgenliği fazladır. İmmatür damarlardan sızan seröz sıvı veya kan retina altına veya içine sızarak santral görmeyi ciddi şekilde düşürür[7]. Neovasküler tip YBMD tedavisi için argon lazer fotokoagülasyon, PDT, makula cerrahisi gibi farklı yöntemler kullanılmıştır. Ancak 2000'li yılların başında anti-VEGF molekülünün oftalmolojide kullanılmasıyla tüm tedavi yaklaşımları değişmiş olup anti-VEGF neovasküler tip YBMD için standart tedavi haline almıştır. Daha sonraları anti-VEGF molekülünün diyabetik retinopati ve retinal ven oklüzyonu üzerindeki başarılı etkilerinin gösterilmesiyle anti-VEGF tedavisinin endikasyonu genişlemiştir[8, 9, 17, 18, 195]. Günümüzde intravitreal anti-VEGF prosedürü oftalmolojide en yaygın uygulamalardan biri haline gelmiştir. Artan YBMD ve diyabet hasta sayısı düşünüldüğünde de enjeksiyon sayılarının ilerleyen zamanlarda daha da çok artacağı aşikardır.

İntravitreal anti-VEGF tedavisinin oldukça tatmin edici sonuçlarına rağmen enjeksiyon sonrası istenmeyen oküler komplikasyonlar gelişebilir. Bu komplikasyonlardan görece nadir olmasına karşın sonuçları en ağır olanı endoftalmidir. İntravitreal enjeksiyon sonrası endoftalmi görülme sıklığı meta-analizlerde yaklaşık % 0.019-1.6 olarak bildirilmiştir. Endoftalmi gelişmemesi için enjeksiyon öncesi ve sonrası farklı koruyucu önlemler alınmaktadır. Alınan bu

önlemlerden bazılarının etkinliği tartışmalı olsa da işlem öncesi %5 PVI uygulanması ortak görüş birliği sağlanmış bir yöntemdir[19, 24, 25, 28].

İlk olarak 1950’li yıllarda kullanılmaya başlanan PVI, oldukça etkili bir antiseptik ve dezenfektan olması nedeniyle günümüzde hala yaygın kullanımını sürdürmektedir. PVI molekülü iyodofor yapıdadır, yani ortama iyot salar. Ortama salınan iyot mikroorganizmaların içerdiği proteinleri, yağları ve nükleik asitleri okside ederek mikrobisidal etki gösterir. Oldukça geniş etki spektrumuna sahip olan PVI molekülünün oftalmolojide antiseptik amacıyla kullanımı ilk olarak 1966 yılında Kiffney ve ark. tarafından tariflenmiştir. PVI ajanının oküler yüzeydeki etkinliğini kontrollü klinik çalışmayla ilk göstren araştırmacılar ise Isenberg ve ark. ile Apt ve ark. olmuştur[269, 270, 274, 276, 322].

Literatürde oküler cerrahi öncesi PVI uygulamanın endoftalmi riskini azalttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan biri 1991 yılında Speaker ve ark. tarafından katarakt ameliyatı olan 8000 hasta ile yapılmıştır. Çalışmada preoperatif PVI uygulanan hastalar ile uygulanmayan hastaların işlem sonrası endoftalmi görülme oranları değerlendirilmiştir. Sonuç olarak PVI uygulanan gruptaki endoftalmi oranı %0.06 iken PVI uygulanmayan gruptaki endoftalmi oranı %0.24 olarak bulunmuştur[33]. Ciulla ve ark.’nın yaptığı katarakt cerrahisi sonrası gelişen endoftalmi için profilaksi yöntemlerini değerlendiren sistematik literatür derlemesinde sadece PVI uygulanmasının kanıt düzeyi II seviyesine ulaşabilmiştir[323]. ESCRS kılavuzunda da PVI ajanının en az 3 dakika kornea, konjonktiva ve perioküler cilde uygulanması yer almıştır[34]. Bunların neticisinde preoperatif PVI uygulanması oftalmolojide yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonlarının başlamasıyla işlem öncesi endoftalmi profilaksisi için daha önceden diğer oftalmik girişimlerde etkinliği kanıtlanmış olan PVI ajanı tercih edilmiştir. 2010 yılında Amerika’da retina uzmanları arasında yapılan anket çalışmasında intravitreal enjeksiyon öncesi PVI kullananların oranı %99’dan daha yüksek olarak bulunmuştur[35]. Daha sonra yapılan klinik çalışmalar ile endoftalmi profilaksisindeki etkinliğini kanıtlayan PVI, kılavuzlarda da yer alarak enjeksiyon öncesi yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır[19]. O çalışmalardan biri olan Modjtahedi ve ark.’nın yaptığı 2 merkezli çalışmada PVI veya iyot içeren herhangi bir ajana alerjisi olan hastalara enjeksiyon

öncesi profilakside PVI uygulanmamıştır. Çalışmada PVI uygulanan ve uygulanmayan tüm hastalardaki toplam endoftalmi oranı %0.019 olarak bulunmuşken PVI uygulanmayan hastalardaki endoftalmi oranı ise %9.4 olarak bulunmuştur[278]. Bu konuda yapılmış güncel çalışmalardan biri 2020 yılında Mulcahy ve ark. tarafından 2709 hastanın dahil edildiği araştırmadır. Çalışmada PVI hassasiyeti bulunan hastaların bir kısmına PVI uygulanmamış bir kısmına da azaltılmış PVI prosedürü uygulanmıştır. Sonuç olarak standart PVI prosedürü uygulanan hastalardaki endoftalmi oranı azaltılmış PVI veya PVI içermeyen profilaksi prosedürlerine göre anlamlı derecede daha düşük olarak tespit edilmiştir[324]. Endoftalmi profilaksisinde topikal antibiyotiklerin etkinliğinin tartışmalı olması PVI uygulamasının önemini artırmaktadır. 2014 yılında yapılan CATT (Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials) çalışma grubunun sunduğu sonuçlarda enjeksiyon öncesi veya sonrası topikal antibiyotik kullanımının endoftalmi riskini azaltmadığı bildirilmiştir. Yine 2016 yılında Bhavsar ve ark.'nın yaptığı randomize kontrollü klinik çalışmada profilakside PVI uygulanmayan hastalar ile profilakside topikal antibiyotik almayan hastaların endoftalmi riskindeki artış değerlendirilmiştir. Sonuç olarak PVI uygulanmaması endoftalmi riskini artırırken antibiyotik uygulanmamasının endoftalmi riskini artırmadığı gösterilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlara bakarak PVI uygulamak şartıyla profilakside topikal antibiyotik uygulamasının kaldırılmasının güvenli olacağını ifade etmişlerdir[29]. Hatta intravitreal enjeksiyon sonrası gereksiz topikal antibiyotik kullanımının konjonktiva florasındaki antibiyotik direncini artırarak daha yıkıcı sonuçlara neden olabileceğini bildiren çalışmalar yapılmıştır[30]. Topikal PVI uygulaması için ise bildirilmiş antimikrobiyal direnç yoktur[32].

Diğer profilaksi ajanlarına göre hem daha ekonomik hem daha etkili olan PVI oftalmolojide uzun yıllardır antiseptik olarak kullanımını sürdürmektedir. Ancak her oküler veya oküler olmayan ilaç gibi toksik ve terapötik doz aralığı vardır. Terapötik pencere içinde kalırken en az toksik etkiye maruz kalmak için optimum doz ve sürenin belirlenmesi önemlidir. Bu aralığın belirlenmesi için in vivo ve in vitro birçok çalışma yapılmasına rağmen optimuma ulaşıldığını söylemek güçtür[325].

Shibata ve ark. yaptıkları laboratuvar çalışmasında PVI molekülünün insan korneal epitel hücreleri üzerindeki toksik etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda PVI molekülünün kornea epitel hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olduğu

görülmüştür. Bu sitotoksik etkinin uygulanan iyodun konsantrasyonuna göre doz bağımlı olarak değiştiği gösterilmiştir. PVI ajanın sahip olduğu düşük pH (3.0-5.5) ve ozmolaritenin de kornea epitel hücreleri üzerinde sitotoksik etki yarattığı belirtilmiştir. Ayrıca PVI ürünün içerdiği lauromacrogol isimli yüzey aktif maddesinin de doz bağımlı olarak epitel hücrelerine sitotoksik hasar verdiği çalışmada bulunmuştur[40]. Başka bir çalışmada Jiang ve ark. farklı konsantrasyonlarda PVI uygulamasının tavşan korneası üzerindeki toksik etkisini incelemişlerdir. Çalışmada korneal epitel ve endotel hasarı doz bağımlı olarak arttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar %5 ve %2.5 PVI konsantrasyonlarında görülen ciddi epitel hasarı nedeniyle %1 ve %0.5 PVI konsantrasyonlarının görece daha güvenli olduğunu ifade etmişlerdir[326]. Berkelman ve ark.'nın yaptıkları çalışmada daha fazla seyreltilmiş PVI solüsyonunun daha hızlı bakterisidal etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu şaşırtıcı sonucun nedeni serbest iyodun seyreltilmiş PVI solüsyonundan daha kolay salınabilmesidir. Ancak burada dikkat edilmesi gereken serbest iyot reaksiyona girdikten sonra hızla etkisini kaybeder. Yani %0.1-1.0 gibi düşük konsantrasyonlarda serbest iyot hızla salınır ancak bakterisidal etkiyi sürdürmek için tekrardan PVI uygulamasına gerek duyar. %2.5-10 gibi yüksek derişimlerde ise bakterisidal etki daha geç başlar ama tekrar uygulamaya gerek kalmadan inaktif olan iyot yerine yeni serbest iyon salınımı uygulanan PVI solüsyonundan devam eder[327].

PVI ajanının toksisitesinin uygulanan doz dışında maruziyet süresine göre de değiştiğini bildiren çalışmalar yapılmıştır. 2020 yılında Kim ve ark. %5 PVI solüsyonunu tavşanların oküler yüzeyine farklı sürelerde (1 dk, 3dk, 10 dk) uygulayarak fosfat tampon tuz çözeltisi (PBS) uygulanmış kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Çalışmada oküler yüzeyi değerlendirmek için Schirmer testi, Rose Bengal boyama, korneal floresein boyama, konjonktival impresyon sitolojisi ve biyopsi alınarak immünofloresan boyama yapılmıştır. İmmünofloresan boyama ile goblet hücrelerinin salgıladığı temel müsin olan MUC5AC molekülüne bakılmıştır. Bu oldukça kapsamlı çalışmanın sonucunda kontrol grubuna göre Schirmer testi dışında diğer parametrelerde bozulma izlenmiştir. Bu toksisitenin de maruziyet süresine bağlı olarak arttığı gösterilmiştir. Araştırmacılar PVI maruziyetine bağlı gelişen goblet hücre kaybına ve oküler yüzey parametrelerindeki bozulmalara bakarak oftalmik cerrahiler sonrası sıklıkla görülen kuru göz hastalığının önemli

nedenlerinden birinin PVI ajanı olabileceğini ifade etmişlerdir[39]. Pels ve ark. ise PVI ajanının donör kornea üzerindeki etkinlik ve toksisitesini değerlendirerek güvenli aralığı bulmayı amaçlamışlardır. Sonucunda 2 dakika boyunca 5 mg/ml PVP-I solüsyonu uygulamanın donör korneaya zarar vermeden yeterli bakterisidal etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Daha yüksek dozlarda veya sürelerde ilave bir bakterisidal etkinlik kazanılmamasının yanında kornea üzerinde toksik etkiye neden olduğu gösterilmiştir[328].

PVI ajanının dozu ve uygulama süresi artıkça oküler toksisitesinde artış olduğunun görülmesiyle düşük doz ve kısa süreli uygulamalar gündeme gelmiştir. Ancak kompanse edilebilir oküler yan etkiler ile kıyaslandığında artmış endoftalmi riski kabul edilemez. Ferguson ve ark. katarakt cerrahisi öncesi %5 PVI ile %1 PVI uygulamasının etkinliğini kıyaslamışlardır. Sonuç olarak bakterisidal etkinliğin anlamlı derecede %5 PVI uygulamasında daha fazla olduğu gösterilmiştir[329]. Başka bir çalışmada da intravitreal enjeksiyon öncesi 15 saniye ile 30 saniye PVI uygulamalarının etkinliği karşılaştırılmıştır. Friedman ve ark.'nın yaptığı bu randomize kontrollü klinik çalışmada %5 PVI 30 saniye uygulandığında konjonktival floradaki bakteri sayısı anlamlı derecede azalırken 15 saniye uygulamada anlamlı bir azalma izlenmemiştir[330].

Bu çalışmalardan da anlaşılabileceği gibi her ne kadar doz ve uygulama süresi artıkça oküler yan etkiler artsa da belli bir doz ve sürenin altı antiseptik olarak güvenli görülmemektedir. Bu nedenle kılavuzlarda önerilen efektif doz ve sürelerde PVI uygulaması önemlidir. Burada araştırılması gereken bu olası toksik etkinin hastanın oküler yüzeyine ne derece hasar verdiği ve bu hasarın kalıcılığıdır. Eğer bu hasar hastada oküler yüzey şikâyetlerine neden olacak düzeyde ise tedavi edilmesi hastanın hayat kalitesi açısından elzemdir. Oküler girişimler sonrası hastalarda görülen oküler yüzey şikâyetlerinin ne kadarının PVI maruziyetine bağlı geliştiğinin belirlenmesi zordur. Özellikle geçirilmiş bir katarakt cerrahisi sonrası gelişen kuru göz hastalığının etiolojisini belirlemek olanaksızdır. İşlem öncesi ve sonrası kullanılan ilaçlar, cerrahiye sekonder gelişen inflamatuvar yanıt, korneal sinirlerin kesilmesi, mikroskop ışığına bağlı gelişen fototoksikite gibi preoperatif, intraoperatif ve postoperatif birçok faktör oküler yüzeyi etkileyip patofizyolojide yer almaktadır[331-333].

PVI ajanının oküler yüzeydeki istenmeyen etkilerini belirlemede katarakt cerrahisine göre intravitreal enjeksiyon patolojiye dahil olan daha az faktör olması nedeniyle daha elverişlidir. Ayrıca tekrarlayan uygulamaların istenmeyen olası etkilerin daha çok ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir[334]. İntravitreal enjeksiyon tedavisinde de katarakt cerrahisinden farklı olarak PVI maruziyeti sıklıkla uzun yıllar boyunca birden çok kez olmaktadır. Ama yine de intravitreal enjeksiyon sonrası saptanan kuru göz şikayetlerini sadece PVI maruziyetine bağlamak doğru olmaz. İntravitreal enjeksiyon tedavisi olan hastalar sıklıkla ileri yaştadır ve ileri yaş kuru göz için bilinen önemli bir risk faktörüdür[335]. Yine YBMD etiyolojisinde inflamatuvar süreçlerin etkili olduğu ve oküler inflamasyonun oküler yüzeyi olumsuz etkilediği bilinmektedir[7]. Endoftalmi profilaksisinde etkinliği kanıtlanmamış olsa da sıklıkla enjeksiyon sonrası kısa süreli topikal antibiyotik verilmektedir. Kullanılan topikal damlaların BAK içeriği oküler yüzeye sitotoksiktir. Ancak çalışmalarda gösterildiği gibi BAK maruziyetine bağlı gelişen toksisite uzun süreli kullanımlarda oluşur ve ilacın bırakılmasıyla kısmen geriler[336]. Pan ve ark.'nın fareler üzerinde yaptıkları çalışmada VEGF molekülünün periferik korneal sinirlerin rejenerasyonunu sağlayarak korneanın iyileşmesinde rol oynadığı gösterilmiştir[337]. Bu da bize intravitreal enjeksiyon işleminde uygulanan anti-VEGF molekülünün dahi enjeksiyon sonrasında görülen oküler yüzey şikayetlerinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Tabi tekrarlayan PVI toksisitesi ile kıyaslandığında diğer faktörlerin oküler yüzey üzerindeki etkisi tartışmalı olsa da yadsınamaz.

İntravitreal enjeksiyon yapılan hastalarda olası PVI bağlı oküler toksisitenin araştırılması diğer oftalmik girişimlere göre daha elzemdir. Çünkü bu hastalar uzun süreler boyunca tekrarlayan enjeksiyonlar nedeniyle birçok kez PVI ajanına maruz kalmaktadır. Kronik maruziyet olası toksisiteyi artırarak hastalarda oküler yüzeye bağlı şikâyetlere neden olabilir. Bu şikâyetler hastanın hayat kalitesi bozabilir ve hastanın tedaviye uyumunu azaltabilir. Böyle bir durum özellikle YBMD hastalarında geri dönüşü olmayan görme kayıplarıyla sonuçlanabilir[6]. Bu nedenle enjeksiyon hastalarının işlem sonrası oküler yüzeye bağlı şikayetlerinin iyi takip edilmesi ve doğru tedavi edilmesi önemlidir. Bu da ancak tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler yüzey üzerindeki etkisinin iyi anlaşılması ile mümkündür.

Literatürde PVI kullanımına bağlı gelişen oküler yüzey değişikliklerini ve kuru göz semptomlarını değerlendiren klinik çalışmalar mevcuttur. Ridder ve ark.

%5 PVI uygulamasının ilk 24 saatteki oküler yüzeye ve hastanın görmesine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda PVI uygulama öncesine göre anlamlı derecede korneal boyanmada artış, kontrast duyarlılığında azalma ve kuru göz şikayetlerinde artış gözlemlenmiştir[338]. Dohlman ve ark. ise 2019 yılında intravitreal enjeksiyondan hemen sonra enjeksiyon olan ve olmayan gözü karşılaştırmışlardır. Sonuç olarak enjeksiyondan 20 dakika sonra enjeksiyon olan gözde korneal epitelyopati ve kuru göz şikayetleri görülmüştür[339]. Ancak bu iki çalışmada da PVI ajanının akut dönemdeki etkileri değerlendirilmiştir. Burada önemli olan ise tekrarlayan maruziyetlerin oküler yüzey üzerinde yaptığı kronik hasarın ve bu hasarın hastaların hayat kalitesine etkisinin araştırılmasıdır. PVI uygulama sonrası akut dönemde gelişen kısa süreli bir oküler yüzey bozukluğu endoftalmi riski karşısında kabul edilebilir. Ancak tekrarlayan PVI uygulamasına sekonder gelişen oküler yüzeydeki kronik hasar ve kuru göz semptomları göz ardı edilemez. Bu kronik oküler yüzey rahatsızlığı zaten görme düzeyi oldukça düşük olan hastaların hayat kalitesini uzun süren tedavileri boyunca daimi olarak bozabilir. Ayrıca tedaviye uyumu da azaltarak hastalarda kalıcı görme kayıplarına neden olabilir. Bu nedenle özellikle intravitreal enjeksiyon hastalarında tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler yüzeye etkisinin klinik araştırmalar ile incelenmesi önemlidir. Ancak oftalmoloji pratiğinde oldukça yer kaplayan bu prosedür ile ilgili yapılmış klinik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Onlardan biri Saedon ve ark.'nın tek taraflı intravitreal enjeksiyon hastaları ile yaptıkları çalışmadır. Çalışmaya son enjeksiyonunun üzerinden 3 aydan az süre geçmiş ve en az 3 enjeksiyon yapılmış YBMD hastaları dahil edilmiştir. Çalışmanın sonucunda hastaların enjeksiyon olan gözlerindeki Oxford oküler yüzey boyanma skoru ve Schein kuru göz anket skoru enjeksiyon olmayan gözlerinde göre daha yüksek bulunmuştur. Gözyaşı osmolariteleri arasında ise anlamlı bir fark izlenmemiştir. Araştırmacılar enjeksiyon olan gözdeki oküler yüzey bozukluğunu tekrarlayan PVI uygulaması ile ilişkilendirmişlerdir[37]. Polat ve ark. 2021 yılında 45 intravitreal enjeksiyon hastası ile 28 sağlıklı kontrol grubunu dahil ettikleri çalışmalarında tekrarlayan enjeksiyon uygulamasının oküler yüzeye etkisini değerlendirmişlerdir. Enjeksiyon grubunun gözyaşı kırılma zamanının kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük, OSDI skorunun ise daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çalışmada infrared meibografi ile meibomian bezleri değerlendirilmiş ve enjeksiyon olan gözde meibomian bezi kaybı saptanmıştır. İntravitreal enjeksiyon olan gözlerdeki bu

değişimleri yazarlar tekrarlayan PVI ve topikal antibiyotik uygulaması nedeniyle gerçekleştiğini ifade etmişlerdir[340]. Verrecchia ve ark.'nın yaptığı 3 merkezli prospektif çalışmada, 219 hastanın enjeksiyon olan ve olmayan gözlerinin gözyaşı kırılma zamanı ve gözyaşı menisküs yüksekliği kıyaslanmıştır. Ayrıca enjeksiyon olan gözlerin enjeksiyon öncesi OSDI skoru ile enjeksiyondan 1 gün sonraki OSDI skoru karşılaştırılmıştır. Hastaların enjeksiyon sonrasında OSDI skorunda anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. İntravitreal enjeksiyon yapılan göz ile tedavi uygulanmayan gözün karşılaştırılmasında ise gözyaşı kırılma zamanı enjeksiyon olan tarafta anlamlı olarak daha düşük iken gözyaşı menisküs yüksekliğinde anlamlı fark görülmemiştir[38]. Ancak Ulutaş ve ark. literatürdeki diğer çalışmalardan farklı olarak tekrarlayan intravitreal enjeksiyonun oküler yüzeyi etkilemediğini bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalarında tek taraflı enjeksiyon yapılan hastaların enjeksiyon olan ve olmayan gözleri kıyaslandığında gözyaşı kırılma zamanı, Oxford oküler yüzey skoru, Schirmer test sonuçları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Sadece OSDI skoru enjeksiyon olan gözde anlamlı derecede yüksek bulunmuştur[341]. Diğer çalışmalara göre daha az enjeksiyon sayısına (4.06 ± 1.7) sahip hastaların çalışmada yer alması sonucun bu şekilde çıkmasında rol oynamış olabileceği düşünülmektedir.

İntravital enjeksiyon nedeniyle tekrarlayan PVI maruziyeti oldukça geniş bir hasta popülasyonu ilgilendirmektedir. Olası bir PVI toksisitesinin oldukça geniş bir hasta grubuna etkisi olacaktır. Ayrıca bu hasta grubu yaş ve mevcut oküler durumları nedeniyle kuru göz hastalığının daha sık görüldüğü bir popülasyondur[335]. Bu nedenle oküler yüzeyde oluşabilecek ilave bir hasar, kuru göze bağlı şikâyetlerin artmasına ve hastaların hayat kalitesinin bozulmasına neden olabilir. Literatürde bu konuda yapılmış çalışmalar sınırlı sayıda olup daha önce bahsedildiği gibi farklı sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmalara dahil edilen hastaların mevcut oküler hastalıklarının dağılımı, yaş aralığı, enjeksiyon sıklığı gibi birçok faktör bu farklı sonuçlardan sorumlu tutulabilir. Yine alınan kontrol grubunun özellikleri ve yapılan çalışmaların dizaynı elde edilen sonuçlarda farklılığa neden olabilir. Biz çalışmamızda 52 tek taraflı intravitreal enjeksiyon olan hastanın 104 gözü ile 51 sağlıklı gönüllünün 51 gözünü dahil ettik. Çalışmaya dahil edilen 52 hasta YBMD tanısıyla 3 yıldan uzun süreli takipli oküler yüzeyi etkileyen bilinen sistemik hastalık öyküsü olmayan hastalardır. İntravitreal enjeksiyonun sıklıkla tedavide kullanıldığı

diğer bir grup olan diyabetik retinopati tanılı hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Literatürde tekrarlayan PVI maruziyetini inceleyen diğer çalışmalarda alt grup analizi yapıldığında diyabetik retinopati ve YBMD hastaları arasında anlamlı fark bulunmamıştır[38, 340]. Ancak diyabetes mellitusun kuru göz hastalığına neden olduğu ve sıklıkla birliktelik gösterdiği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir[342, 343]. Bu nedenle oküler yüzeye bilinen bir etkisi olan diyabetin elde edilen sonuçların yanlış yorumlanmasına neden olmaması için diyabetik retinopatili tanılı hastalar çalışma dışında tutulmuştur. Çalışmamızda tekrarlayan PVI ajanının etkisini daha iyi gösterebilmek için tek taraflı enjeksiyon olan hastaların enjeksiyon olan ve olmayan gözleri karşılaştırıldı. Böylece sistemik hastalık, yaş, mevcut oküler durum gibi sonuçları etkileyebilecek faktörlerin etkisi en aza indirildi. Ayrıca OSDI skoru gibi subjektif testlerde aynı hastanın iki gözünü ayrı ayrı değerlendirmesinin katılımcı kaynaklı farklılıkları azalttığını düşünüyoruz. Yapılan çalışmalarda da araştırmanın dizaynı ve istatistiği doğru yapılması şartıyla kontrol grubu olarak hastanın diğer gözünün kullanılmasının istatistiksel olarak geçerli bir yöntem olduğu gösterilmiştir[344, 345]. Çalışmamızda enjeksiyon yapılan ve yapılmayan intravitreal enjeksiyon hastalarına ilave olarak sağlık kontrol grubu da dahil edilmiştir. Böylece hastanın mevcut oküler hastalığının veya tekrarlayan PVI uygulamasının enjeksiyon olmayan gözdeki olası etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmaya katılan tüm katılımcıların oküler yüzeyi muayene sırasında gözyaşı kırılma zamanı, Schirmer testi ve Oxford boyanma skoru ile tetkik edildi. Katılımcıların oküler yüzeye bağlı şikâyetleri OSDI anketi ile değerlendirildi. Ayrıca tekrarlayan PVI uygulamasının oküler yüzeydeki inflamatuvar ve sitolojik etkisini incelemek için gözyaşında inflamatuvar sitokin analizi ve konjonktival impresyon sitolojisi tekniği ile histolojik inceleme yapıldı. Bizim bilgimize göre intravitreal enjeksiyon hastalarında tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler yüzeydeki etkisini inflamatuvar ve sitolojik açıdan değerlendiren başka bir çalışma daha önce yapılmadı. Çalışmamızda oküler yüzeyin birçok farklı parametre ile kapsamlı olarak değerlendirilmesinin PVI ajanının toksisitesinin daha iyi anlaşılmasında yararlı olacağını düşünüyoruz.

Katılımcıların gözyaşı filmi muayene sırasında gözyaşı kırılma zamanı, Schirmer testi ve Oxford boyanma skoru ile değerlendirildi. IVI grubunun NIVI ve kontrol grubuna göre gözyaşı kırılma zamanının daha düşük, Oxford boyanma

skorunun ise daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Schirmer testinde ise en düşük sonuç IVI grubunda izlenmiş olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Gözyaşı kırılma zamanı gözyaşı film tabakasının stabilitesini değerlendiren bir parametredir. Gözyaşı film stabilitesini korneaya ait patolojiler veya gözyaşı film tabakasının herhangi bir komponentine ait bozukluklar etkileyebilir. Lipid tabakadaki bozukluğa bağlı gözyaşının hızlı buharlaşması veya aköz yetmezlik gözyaşı film stabilitesinin bozabilir. Ayrıca sekretuar ve membran ilişkili gibi müsin eksikliğine bağlı gözyaşının korneal yüzeyde tutunamaması da gözyaşının stabilitesine zarar verir. Bu nedenle hem evaporatif tip hem de aköz yetmezliğe bağlı kuru gözde gözyaşı kırılma zamanı azalır. Gözyaşı kırılma zamanından farklı olarak Schirmer testi ise aköz yetmezlik ile giden kuru göz tanısı ve takibinde başarılı iken evaporatif tip kuru gözde güvenilirliği tartışmalıdır[279, 280]. Çalışmamızda IVI grubunun gözyaşı kırılma zamanı NIVI ve kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük saptanırken, Schirmer test sonuçları arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Bu durum tekrarlayan PVI toksisitesinin aköz tip yerine evaporatif tipte kuru göze neden olduğunu düşündürmektedir. Topikal oftalmik ilaçların prezervan olarak içerdiği BAK ajanının toksisitesi evaporatif tip kuru gözün iyi bilinen bir nedenidir[346]. Tekrarlayan PVI toksisitesi de BAK maruziyeti gibi gözyaşı volümünü etkilemekten çok oküler yüzey hücrelerine doğrudan toksik hasar vererek gözyaşı film kalitesine zarar verdiğini düşünmekteyiz. PVI ajanının oküler yüzeyi örten korneal ve konjonktival epitel hücrelerine hasar verdiğini düşüncesini Oxford boyanma sonuçları da desteklemektedir. Suda çözünür boyalar ile sağlıklı bir oküler yüzeyde boyanma izlenmez. Ancak yüzey epitel hücreleri hasar görmesi, komşu epitel hücreleriyle arasındaki bağlantıların zayıflaması veya epitel hücrelerini koruyan müsin tabakanın bozulması durumunda oküler yüzeyde boyanma görülür[282, 283]. Bu boyanmanın derecelendirildiği Oxford skalası sonuçlarına göre IVI grubunun skoru anlamlı derecede daha yüksek bulunmuş iken NIVI ve kontrol grubu arasında anlamlı fark izlenmemiştir. Literatürdeki diğer çalışmalara baktığımızda gözyaşı kırılma zamanını Polat ve ark. sağlıklı kontrol grubu ile intravitreal enjeksiyon uygulanan YBMD hastalarında karşılaştırmışlardır. Verrecchia ve ark. ise tek taraflı intravitreal enjeksiyon olan hastalarının enjeksiyon olan ve olmayan gözleri arasında gözyaşı kırılma zamanını değerlendirmişlerdir. İki çalışmada da bizim sonuçlarımıza paralel şekilde enjeksiyon olan gözlerde gözyaşı kırılma zamanının azaldığı tespit edilmiştir[38, 340]. Oxford oküler yüzey

boyanma skoru ise Saedon ve ark. tarafından tek taraflı intravitreal enjeksiyon olan hastalarda bakılmış olup bizim çalışmamızdakine benzer şekilde enjeksiyon olan gözde diğer göze göre anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir[37]. Literatüre baktığımızda oküler yüzeyi değerlendirmede Schirmer testinin daha az sıklıkla tercih edildiği görülmektedir. Ulutaş ve ark.'nın çalışmasında enjeksiyon olan göz ile olmayan göz arasında Schirmer test sonucu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ancak çalışmada Schirmer testi dışında Oxford boyanma skoru ve gözyaşı kırılma zamanı sonuçları arasında da anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Daha önce bahsedildiği gibi diğer çalışmalara kıyasla daha az enjeksiyon sayısına (4.06 ± 1.7) sahip hastaların çalışmada yer alması sonucun bu şekilde çıkmasında rol oynamış olabilir[341]. Kim ve ark.'nın tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmada ise bizim sonuçlarımıza paralel şekilde %5 PVI maruziyeti sonrası Rose Bengal boyanma ve korneal floresein boyanma artarken Schirmer testinin etkilenmediği gösterilmiştir[39]. Bu sonuçlara bakarak PVI uygulaması sonrası oküler yüzey epitel hücrelerinin ve gözyaşı film tabakasının olumsuz etkilendiğini aşikârdır. Ayrıca gözyaşı film tabakasındaki bu etkilenmenin aköz komponente bağlı gelişmediği de söylenebilir.

Literatüre baktığımızda intravitreal enjeksiyon çalışmalarının sıklıkla enjekte edilen ilaç molekülü veya ilacın retinadaki etkisi üzerine yapıldığı görülmektedir. Tedavinin başarısını değerlendirirken hastanın hayat kalitesine etkisinin geri planda kaldığını düşünmekteyiz. Ancak gerçek yaşamda hastanın bozulan oküler yüzeyine bağlı gelişen şikâyetler tedavi uyumunu azaltabilir. Bu durumda da hastaya vereceğimiz ilaç molekülünün veya tedavi protokolünün bir önemi kalmamaktadır. Bu nedenle tekrarlayan intravitreal enjeksiyonların hastalarda meydana getirdiği oküler şikâyetleri takip etmek ve raporlamak önemlidir. Literatürde tekrarlayan intravitreal enjeksiyon sonrası hastaların oküler şikâyetlerini OSDI anketi veya başka anketler ile sorgulayan sınırlı sayıda çalışmada hastaların hayat kalitesinin bariz bir şekilde etkilendiği ortak olarak gözlemlenmiştir[37, 38, 339, 340]. Bizim çalışmamızda da 36.81 ± 19.49 gibi yüksek bir OSDI skoruyla IVI grubu kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. NIVI grubunun OSDI skoru 29.31 ± 17.5 ile IVI grubuna göre daha düşük saptanmakla birlikte iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Hastaların gözde batma, yanma, bulanık görme gibi şikâyetlerini sorgulayan bu anketleri yaparken bir

gözdeki patolojinin diğer gözde de oküler semptomlara neden olabileceğini öngörmekteyiz. Ayrıca hastaların mevcut oküler şikâyetlerini sağ ve sol göz şeklinde ayrıştırıp sorulara cevap vermesinin oldukça zorlayıcı olduğu da aşîkârdır. Bu nedenle iki gözün ayrı ayrı olarak sorgulandığı bu anketlerde bizim çalışmamızda olduğu gibi bir gözün diğer gözün sonuçlarını etkileyebileceğini düşünmekteyiz. Bu etkilenme sonucunda sağlıklı gözde şikâyetler olduğundan yüksek saptanabileceği gibi hasta gözde de sağlıklı gözün kompensasyonu nedeniyle daha düşük saptanabilir.

Çalışmamızda hastaların oküler yüzeyini örten yüzeyel epitel hücrelerinden örnek alıp mikroskop altında hücresel düzeyde incelememize olanak sağlayan konjonktival impresyon sitolojisi tekniğı kullanılmıştır[296]. Alınan örneklerin analizinde IVI grubunun NIVI ve kontrol grubuna göre Goblet hücre sayısının anlamlı derecede düşük, Nelson evrelemesi sonucunun ise anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca IVI grubuna ait örnekler incelendiğinde epitel hücreleri arasındaki bağlantıların zayıfladığı, hücrelerin nükeus/sitoplazma oranları azalacak şekilde büyüdüğü izlenmiştir. Hücresel düzeyde yapılan bu analizler PVI maruziyetinin etki mekanizmasının ve çalışmamızda elde ettiğimiz diğer sonuçların daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Oküler yüzeyin floresein ile boyanma göstermesi için yüzey epitel hücrelerinin kendisinin veya komşu hücreler ile arasındaki bağlantıların zarar görmesi gerektiğı daha önce bahsedilmişti. İmpresyon sitolojisi analizi neden IVI grubunda Oxford korneal boyanma skorunun daha yüksek saptandığını bizlere açıklamaktadır. Yine histolojik incelemede IVI grubunda müsin üreten Goblet hücre sayısında azalma, gözyaşı film tabakası analizinde ortaya çıkan PVI toksisitesinin evaporatif tip kuru göze neden olduğu düşüncesini desteklemektedir. Bizim bilgimize göre tekrarlayan intravitreal enjeksiyon yapılan hastalarda konjonktival impresyon sitolojisi yöntemi ile PVI toksisitesine daha önce başka bir klinik çalışmada bakılmadı. Kim ve ark. tavşanlar üzerinde yaptıkları hayvan çalışmasında PVI maruziyeti sonrası impresyon sitolojisi ile Goblet hücre sayısını ve immünofloresan boyama ile goblet hücrelerinin salgıladığı temel müsin olan MUC5AC molekülünü değerlendirmişlerdir. Sonucunda bizim çalışmamızda olduğu gibi PVI uygulanan gözlerde Goblet hücre sayısının azaldığı tespit edilmiştir[39]. Tüm bu histolojik analizlerin sonucunda tekrarlayan PVI

uygulamasının oküler yüzey üzerine sitotoksik hasar vererek goblet hücre kaybına ve epitel hücrelerinde skuamöz metaplaziye neden olduğu ifade edilebilir.

Konjonktival impresyon sitolojisi gibi gözyaşında inflamatuvar sitokin analizi de bizim bilgimize göre tekrarlayan intravitreal enjeksiyon yapılan hastalarda PVI toksisitesini değerlendirmek için daha önce bakılmamıştır. Kuru göz hastalığının patofizyolojisinde inflamatuvar mekanizmaların yer aldığı bilinmektedir. Kuru göz hastalarından alınan gözyaşı örneklerinde de artmış inflamatuvar sitokinlerin varlığı bu ilişkiyi desteklemektedir[312, 347]. Ayrıca kuru göz dışında üveit hastalarında ve kronik topikal ilaç kullanan glokom hastalarında da gözyaşında inflamatuvar sitokin artışı gösterilmiştir[348, 349]. Yani gözde inflamasyona neden olan herhangi bir patoloji gözyaşında artmış inflamatuvar sitokin artışı olarak saptanabilir. Bu patoloji kuru gözde olduğu gibi hiperosmolarite veya glokom hastalarında olduğu gibi BAK içeren topikal ilaçlar olabilir. Hatta üveit hastalarında olduğu gibi otoimmünite dahi olabilir. Çalışmamızda tekrarlayan PVI toksisitesinin etki mekanizmasını daha iyi anlayabilmek için katılımcıların gözyaşında IL-1 β ve IL-6 analizi yapıldı. Sonuçların daha doğru analiz edilebilmesi için her bir örnek duplicate (çift değerlendirme) olarak analiz edildi. Sonucunda IVI ve NIVI grubunun kontrol grubuna göre oldukça anlamlı derecede daha yüksek IL-1 β ve IL-6 seviyelerine sahip olduğu izlenmiştir. Ayrıca IL-1 β ile IL-6 arasında da pozitif korelasyon bulunmuştur. IL-1 β seviyesi IVI ve NIVI grubunda sırasıyla 1.62 ± 1.35 pg/ml, 1.37 ± 1.15 pg/ml iken kontrol grubunda 0.18 ± 0.09 pg/ml olarak saptanmıştır. IL-6 seviyesi de IVI grubunda 1.45 ± 1.48 pg/ml, NIVI grubunda 1.42 ± 1.57 pg/ml, kontrol grubunda ise 0.56 ± 0.55 pg/ml olarak tespit edilmiştir. IVI ve NIVI grubunda sitokin seviyelerinin kontrol grubuna göre oldukça yüksek bulunması PVI toksisitesi yerine etiyojisinde inflamasyonun yer aldığı YBMD'ye bağlı olabileceği düşüncesini ortaya çıkarmaktadır. Literatürde YBMD patolojisinde immün sistemin önemli bir rol oynadığı gösteren birçok çalışma mevcuttur[350, 351]. Hatta bazı çalışmalarda YBMD otoimmün bir hastalık olarak isimlendirilmiştir[352]. Kompleman sistemin ve inflamatuvar sitokinlerin patogeneizde yer aldığının gösterilmesiyle kompleman sisteminde yer alan C3 ve C5 proteinlerinin inhibasyonu ile hastalığın progresyonunu önlemeyi amaçlayan potansiyel tedaviler dahi geliştirilmiştir[207, 209]. YBMD hastalarında yapılan çalışmalarda sıklıkla interlökin seviyesi aköz hümör, vitreus ve kanda ölçülmüştür. Bizim bilgimize göre YBMD hastalarında gözyaşında artmış IL-1 β ve IL-6 düzeyi

daha önce bildirilmemiştir. Literatürdeki diğer çalışmalarda farklı sonuçlar bildirilmekle birlikte çoğunlukla bizdeki sonuçlara paralel şekilde YBMD hastalarından alınan aköz hümr, vitreus ve kan örneklerinde IL-1 β ve IL-6 seviyesi artmış olarak saptanmıştır[351, 353]. Çalışmayı dizayn ederken IVI ve NIVI grubuna ilave olarak sağlıklı kontrol grubunun dahil edilmesi böyle bir sonucun ortaya konmasına olanak sağlamıştır. Ayrıca çalışmada IVI grubunun IL-1 β ve IL-6 seviyeleri NIVI grubuna göre daha yüksek bulunmuştur, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. YBMD'nin oküler yüzeyde oluşturduğu inflamasyonun yanında PVI toksisitesine bağlı inflamatuvar sitokin artışının maskelenmiş olabileceğini düşünmekteyiz. İleride daha geniş hasta gruplarını içeren başka çalışmalar ile PVI ajanına bağlı inflamatuvar sitokin artışı gösterilebilir.

Çalışmada YBMD hastalarının enjeksiyon sayıları son 1 yıl ve son 3 yıl içerisinde oldukları enjeksiyonlar hesaplanarak iki farklı şekilde analiz edildi. PVI maruziyeti sonrası dokunun kendini onarmasının ne kadar sürdüğü veya dokunun kendini yenileme kapasitesi ön görülemediği için oküler patolojinin daha iyi anlaşılabilmesi için enjeksiyon sayıları iki şekilde değerlendirildi. Ancak son 1 yıldaki enjeksiyon sayısı ile Oxford evresi arasındaki zayıf korelasyon dışında enjeksiyon sayıları ile oküler yüzey parametreleri ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir. Enjeksiyon sayısının korelasyonunun değerlendirildiği diğer çalışmalardan Verrecchia ve ark.'nın çalışmasında enjeksiyon sayısı ile OSDI skoru arasında anlamlı bir ilişki izlenmemiştir[38]. Polat ve ark. ise değerlendirdikleri parametrelerin az bir kısmında enjeksiyon sayısı ile zayıf düzeyde bir korelasyon ilişkisi tespit etmişlerdir[340]. Bazı hastalarda çok sayıda maruziyet sonrası görülen tablonun bazı hastalarda çok daha az sayıda enjeksiyon sonrası izlenmesi hastanın enjeksiyon öncesi oküler yüzey durumuna ve dokuların rejenerasyon kapasitesine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca dokularının kendini yenileme kapasitesinin kişiye göre farklılık göstermesinin de bu sonuçlarda etkili olduğunu düşünmekteyiz. Kim ve ark.'nın yaptıkları hayvan çalışmasında 10 dakikadan kısa süreli tek seferlik PVI maruziyeti sonrası dokuların 7. günde kendini yenilemeye başladığı ve Goblet hücre sayısının arttığı gösterilmiştir[39]. Tekrarlayan maruziyet sonrası dokuların uzun dönemde kendi yenileme kapasitesinin analizi için benzer çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmada intravitreal enjeksiyon sırasında verilen ilaç molekülünün oküler yüzey üzerine etkisi IVI grubu içerisinde subgrup analizi yapılarak incelenmiştir. Uygulanan 3 farklı ilaç molekülü arasında tüm oküler yüzey parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Elde edilen sonuçlar literatürdeki sınırlı sayıdaki çalışmayla benzer olup enjekte edilen ilaç molekülünün ne olduğunun oküler yüzey üzerine anlamlı bir etkisi olmadığı gösterilmiştir[38].

Çalışmamız bazı limitasyonlara sahiptir. Bunlardan ilki tekrarlayan PVI ajanının oküler yüzeydeki inflamatuvar etkisinin değerlendirilmesinde sadece IL-1 β ve IL-6 sitokinlerinin analiz edilmesidir. Çalışmamızda maliyet etkililik analizi düşünülerek literatürde daha önce kuru göz gibi oküler yüzey hastalıklarında artmış olduğu birçok kez gösterilmiş olan IL-1 β ve IL-6 kullanılmıştır[354]. Diğer bir eksikliğimiz ise standart prosedürden farklı doz ve sürelerde tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler toksisitesinin değerlendirilememesidir. Ancak bu değerlendirmenin etik nedenlerden dolayı öncelikle in vitro modellerde veya hayvan çalışmalarında yapılması daha uygun görünmektedir. Kliniğimizde kısa süreli de olsa enjeksiyon sonrası topikal antibiyotik kullanılmaktadır. BAK maruziyetine bağlı gelişen toksisitenin uzun süreli kullanımlarda olduğu ve ilacın bırakılmasıyla kısmen gerilediği gösterilmiş olsa da bu durum çalışmamızın eksikliği olarak sayılabilir[336, 355]. Son olarak çalışmaya dahil edilen katılımcı sayısının az olması elde edilen sonuçlardan genelleme yapılmasını kısıtlamaktadır. Bunun için daha yüksek katılımcı sayısının olduğu ve daha fazla parametrenin birlikte değerlendirildiği gelecekteki çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tekrarlayan PVI maruziyetinin oküler yüzey üzerine sitotoksik hasar vererek goblet hücre kaybına ve epitel hücrelerinde skuamöz metaplaziye neden olduğu saptanmıştır. Bunun sonucunda gözyaşı film tabakasının stabilitesinin bozulduğu ve hastalarda oküler yüzeye bağlı semptomların geliştiği izlenmiştir. Ayrıca çalışmada YBMD hastalarının enjeksiyon olan ve olmayan gözlerindeki interlökin seviyesi kontrol grubuna göre oldukça yüksek tespit edilmiştir. Bu sonuç YBMD patogeneğinde inflamatuvar mekanizmaların yer aldığı düşüncesini destekleyen bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

İntravitreal tedavi nedeniyle tekrarlayan PVI uygulamasının oküler yüzey üzerinde sitotoksik hasar meydana getirdiği saptanmış olmakla birlikte PVI ajanının endoftalmi profilaksisinde etkili ve güvenli bir antiseptik olduğu gerçeği göz ardı edilemez. Bu nedenle retina uzmanlarınca PVI maruziyetinin oküler yüzeyde kronik bir hasara neden olabileceğinin farkında olunmalı ve bu hasara sekonder gelişen kuru göz şikâyetleri erken tanınmalıdır. Böylece bu şikâyetlerin hastaların tedaviye olan uyumuna ve hayat kalitesine zarar vermeden doğru tedavi yaklaşımlarıyla giderilmesi mümkün kılınır.

7. KAYNAKLAR

1. Rudnicka, A. R., Kapetanakis, V. V., Jarrar, Z., Wathern, A. K., Wormald, R., Fletcher, A. E., ve ark. (2015). Incidence of Late-Stage Age-Related Macular Degeneration in American Whites: Systematic Review and Meta-analysis. *American journal of ophthalmology*, 160(1), 85-93.e83.
2. Ferris, F. L., 3rd. (1983). Senile macular degeneration: review of epidemiologic features. *American journal of epidemiology*, 118(2), 132-151.
3. Wong, W. L., Su, X., Li, X., Cheung, C. M., Klein, R., Cheng, C. Y., ve ark. (2014). Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global health*, 2(2), e106-116.
4. Fleckenstein, M., Keenan, T. D. L., Guymer, R. H., Chakravarthy, U., Schmitz-Valckenberg, S., Klaver, C. C., ve ark. (2021). Age-related macular degeneration. *Nature reviews Disease primers*, 7(1), 31.
5. Li, J. Q., Welchowski, T., Schmid, M., Mauschwitz, M. M., Holz, F. G. ve Finger, R. P. (2020). Prevalence and incidence of age-related macular degeneration in Europe: a systematic review and meta-analysis. *The British journal of ophthalmology*, 104(8), 1077-1084.
6. Wong, T. Y., Chakravarthy, U., Klein, R., Mitchell, P., Zlateva, G., Buggage, R., ve ark. (2008). The natural history and prognosis of neovascular age-related macular degeneration: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Ophthalmology*, 115(1), 116-126.
7. Ambati, J. ve Fowler, B. J. (2012). Mechanisms of age-related macular degeneration. *Neuron*, 75(1), 26-39.
8. Spaide, R. F., Jaffe, G. J., Sarraf, D., Freund, K. B., Sadda, S. R., Staurengi, G., ve ark. (2020). Consensus Nomenclature for Reporting Neovascular Age-Related Macular Degeneration Data: Consensus on Neovascular Age-Related Macular Degeneration Nomenclature Study Group. *Ophthalmology*, 127(5), 616-636.
9. Schmidt-Erfurth, U., Chong, V., Loewenstein, A., Larsen, M., Souied, E., Schlingemann, R., ve ark. (2014). Guidelines for the management of neovascular age-related macular degeneration by the European Society of Retina Specialists (EURETINA). *The British journal of ophthalmology*, 98(9), 1144-1167.
10. Chakravarthy, U., Harding, S. P., Rogers, C. A., Downes, S. M., Lotery, A. J., Wordsworth, S., ve ark. (2012). Ranibizumab versus bevacizumab to treat neovascular age-related macular degeneration: one-year findings from the IVAN randomized trial. *Ophthalmology*, 119(7), 1399-1411.
11. Fogli, S., Del Re, M., Rofi, E., Posarelli, C., Figus, M. ve Danesi, R. (2018). Clinical pharmacology of intravitreal anti-VEGF drugs. *Eye (Lond)*, 32(6), 1010-1020.
12. Ng, E. W. ve Adamis, A. P. (2006). Anti-VEGF aptamer (pegaptanib) therapy for ocular vascular diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1082, 151-171.

13. Rosenfeld, P. J., Brown, D. M., Heier, J. S., Boyer, D. S., Kaiser, P. K., Chung, C. Y., ve ark. (2006). Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine*, 355(14), 1419-1431.
14. Brown, D. M., Kaiser, P. K., Michels, M., Soubrane, G., Heier, J. S., Kim, R. Y., ve ark. (2006). Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine*, 355(14), 1432-1444.
15. Heier, J. S., Brown, D. M., Chong, V., Korobelnik, J. F., Kaiser, P. K., Nguyen, Q. D., ve ark. (2012). Intravitreal aflibercept (VEGF trap-eye) in wet age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 119(12), 2537-2548.
16. Dugel, P. U., Koh, A., Ogura, Y., Jaffe, G. J., Schmidt-Erfurth, U., Brown, D. M., ve ark. (2020). HAWK and HARRIER: Phase 3, Multicenter, Randomized, Double-Masked Trials of Brolucizumab for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*, 127(1), 72-84.
17. Nguyen, Q. D., Brown, D. M., Marcus, D. M., Boyer, D. S., Patel, S., Feiner, L., ve ark. (2012). Ranibizumab for diabetic macular edema: results from 2 phase III randomized trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology*, 119(4), 789-801.
18. Brown, D. M., Campochiaro, P. A., Singh, R. P., Li, Z., Gray, S., Saroj, N., ve ark. (2010). Ranibizumab for macular edema following central retinal vein occlusion: six-month primary end point results of a phase III study. *Ophthalmology*, 117(6), 1124-1133.e1121.
19. Avery, R. L., Bakri, S. J., Blumenkranz, M. S., Brucker, A. J., Cunningham, E. T., Jr., D'Amico, D. J., ve ark. (2014). Intravitreal injection technique and monitoring: updated guidelines of an expert panel. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 34 Suppl 12, S1-s18.
20. Wong, T. Y. ve Scott, I. U. J. N. E. J. o. M. (2010). Retinal-vein occlusion. 363(22), 2135-2144.
21. Nicholson, B. P., Schachat, A. P. J. G. s. A. f. C. ve Ophthalmology, E. (2010). A review of clinical trials of anti-VEGF agents for diabetic retinopathy. 248(7), 915-930.
22. Campbell, R. J., Bronskill, S. E., Bell, C. M., Paterson, J. M., Whitehead, M. ve Gill, S. S. (2010). Rapid expansion of intravitreal drug injection procedures, 2000 to 2008: a population-based analysis. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 128(3), 359-362.
23. Grzybowski, A., Told, R., Sacu, S., Bandello, F., Moisseiev, E., Loewenstein, A., ve ark. (2018). 2018 Update on Intravitreal Injections: Euretina Expert Consensus Recommendations. *Ophthalmologica*, 239(4), 181-193.
24. McCannel, C. A. (2011). Meta-analysis of endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents: causative organisms and possible prevention strategies. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 31(4), 654-661.
25. Falavarjani, K. G. ve Nguyen, Q. D. (2013). Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. *Eye (Lond)*, 27(7), 787-794.
26. Shah, C. P., Garg, S. J., Vander, J. F., Brown, G. C., Kaiser, R. S. ve Haller, J. A. (2011). Outcomes and risk factors associated with endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents. *Ophthalmology*, 118(10), 2028-2034.
27. Meredith, T. A., McCannel, C. A., Barr, C., Doft, B. H., Peskin, E., Maguire, M. G., ve ark. (2015). Postinjection endophthalmitis in the comparison of age-related macular degeneration treatments trials (CATT). *Ophthalmology*, 122(4), 817-821.
28. Scott, I. U. ve Flynn, H. W., Jr. (2007). Reducing the risk of endophthalmitis following intravitreal injections. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 27(1), 10-12.

29. Bhavsar, A. R., Glassman, A. R., Stockdale, C. R. ve Jampol, L. M. (2016). Elimination of Topical Antibiotics for Intravitreal Injections and the Importance of Using Povidone-Iodine: Update From the Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. *JAMA ophthalmology*, 134(10), 1181-1183.
30. Milder, E., Vander, J., Shah, C. ve Garg, S. (2012). Changes in antibiotic resistance patterns of conjunctival flora due to repeated use of topical antibiotics after intravitreal injection. *Ophthalmology*, 119(7), 1420-1424.
31. Yu, C. Q. ve Ta, C. N. (2012). Prevention of postcataract endophthalmitis: evidence-based medicine. *Current opinion in ophthalmology*, 23(1), 19-25.
32. Grzybowski, A., Kanclerz, P. ve Myers, W. G. (2018). The use of povidone-iodine in ophthalmology. *Current opinion in ophthalmology*, 29(1), 19-32.
33. Speaker, M. G. ve Menikoff, J. A. (1991). Prophylaxis of endophthalmitis with topical povidone-iodine. *Ophthalmology*, 98(12), 1769-1775.
34. Barry, P., Cordovés, L., Gardner, S. J. E. S. o. C. ve Surgeons, R. (2013). ESCRS guidelines for prevention and treatment of endophthalmitis following cataract surgery: data, dilemmas and conclusions. 1-16.
35. Green-Simms, A. E., Ekdawi, N. S. ve Bakri, S. J. (2011). Survey of intravitreal injection techniques among retinal specialists in the United States. *American journal of ophthalmology*, 151(2), 329-332.
36. Peden, M. C., Hammer, M. E. ve Suñer, I. J. (2019). DILUTE POVIDONE-IODINE PROPHYLAXIS MAINTAINS SAFETY WHILE IMPROVING PATIENT COMFORT AFTER INTRAVITREAL INJECTIONS. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 39(11), 2219-2224.
37. Saedon, H., Nosek, J., Phillips, J., Narendran, N. ve Yang, Y. C. (2017). Ocular surface effects of repeated application of povidone iodine in patients receiving frequent intravitreal injections. *Cutaneous and ocular toxicology*, 36(4), 343-346.
38. Verrecchia, S., Chiambaretta, F., Kodjikian, L., Nakouri, Y., El Chehab, H., Mathis, T., ve ark. (2021). A prospective multicentre study of intravitreal injections and ocular surface in 219 patients: IVIS study. *Acta ophthalmologica*, 99(8), 877-884.
39. Kim, S., Ahn, Y., Lee, Y. ve Kim, H. (2020). Toxicity of Povidone-iodine to the ocular surface of rabbits. *BMC Ophthalmology*, 20(1), 359.
40. Shibata, Y., Tanaka, Y., Tomita, T., Taogoshi, T., Kimura, Y., Chikama, T., ve ark. (2014). Evaluation of corneal damage caused by iodine preparations using human corneal epithelial cells. *Jpn J Ophthalmol*, 58(6), 522-527.
41. **Holland, E. J., Krachmer, J. H. ve Mannis, M. J.** (2011). *Cornea: Fundamentals, diagnosis and management*. MosbyElsevier.
42. **Rosen, D. ve Mahabadi, N.** (2021). Embryology, Optic Cup. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.

43. Tawfik, H. A., Abdulhafez, M. H., Fouad, Y. A. ve Dutton, J. J. (2016). Embryologic and Fetal Development of the Human Eyelid. *Ophthalmic plastic and reconstructive surgery*, 32(6), 407-414.
44. **Holland, E. J. ve Mannis, M. J.** (2002). *Ocular surface disease: medical and surgical management*. Springer.
45. **Forrester, J. V., Dick, A. D., McMenamin, P. G., Roberts, F. ve Pearlman, E.** (2016). Chapter 1 - Anatomy of the eye and orbit. İçinde J.V. Forrester, A.D. Dick, P.G. McMenamin, F. Roberts, E. Pearlman, (Ed.), *The Eye (Fourth Edition)* ss. 1-102.e102): W.B. Saunders.
46. Dartt, D. A. (2002). Regulation of mucin and fluid secretion by conjunctival epithelial cells. *Prog Retin Eye Res*, 21(6), 555-576.

47. Dartt, D. A., McCarthy, D. M., Mercer, H. J., Kessler, T. L., Chung, E.-H. ve Zieske, J. D. (1995). Localization of nerves adjacent to goblet cells in rat conjunctiva. *Current eye research*, 14(11), 993-1000.
48. Yang, J. J., Ueda, H., Kim, K. ve Lee, V. H. (2000). Meeting future challenges in topical ocular drug delivery: development of an air-interfaced primary culture of rabbit conjunctival epithelial cells on a permeable support for drug transport studies. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 65(1-2), 1-11.
49. Gipson, I. K. ve Argüeso, P. (2003). Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *International review of cytology*, 231, 1-49.
50. Mulay, K., Rasmussen, P. K., Aggarwal, E., Honavar, S. G. ve Heegaard, S. (2018). Accessory lacrimal gland tumours of the eye region. *Acta ophthalmologica*, 96(7), e772-e775.
51. **Knop, N. ve Knop, E.** (2002). The crypt system of the human conjunctiva. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 3* ss. 867-872): Springer.
52. Takahashi, Y., Watanabe, A., Matsuda, H., Nakamura, Y., Nakano, T., Asamoto, K., ve ark. (2013). Anatomy of secretory glands in the eyelid and conjunctiva: a photographic review. *Ophthalmic plastic and reconstructive surgery*, 29(3), 215-219.
53. Lockard, I. ve Debacker, H. S. J. J. o. t. S. C. M. A. (1967). Conjunctival circulation in relation to circulatory disorders. 63(6), 201-206.
54. **Shumway, C. L., Motlagh, M. ve Wade, M.** (2021). Anatomy, Head and Neck, Eye Conjunctiva. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.

55. Ruskell, G. L. (1985). Innervation of the conjunctiva. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*, 104 (Pt 4), 390-395.
56. Diebold, Y., Ríos, J. D., Hodges, R. R., Rawe, I. ve Dartt, D. A. (2001). Presence of nerves and their receptors in mouse and human conjunctival goblet cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42(10), 2270-2282.
57. Seifert, P. ve Spitznas, M. (1999). Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) innervation of the human eyelid glands. *Exp Eye Res*, 68(6), 685-692.
58. Gipson, I. K. (2016). Goblet cells of the conjunctiva: A review of recent findings. *Prog Retin Eye Res*, 54, 49-63.
59. Yoshida, Y., Ban, Y. ve Kinoshita, S. (2009). Tight junction transmembrane protein claudin subtype expression and distribution in human corneal and conjunctival epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(5), 2103-2108.
60. Ríos, J. D., Ghinelli, E., Gu, J., Hodges, R. R. ve Dartt, D. A. (2007). Role of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat conjunctival goblet cell secretion and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48(4), 1543-1551.
61. Gipson, I. K., Hori, Y. ve Argüeso, P. (2004). Character of ocular surface mucins and their alteration in dry eye disease. *The ocular surface*, 2(2), 131-148.
62. Inatomi, T., Spurr-Michaud, S., Tisdale, A. S., Zhan, Q., Feldman, S. T. ve Gipson, I. K. (1996). Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 37(8), 1684-1692.
63. McKenzie, R. W., Jumblatt, J. E. ve Jumblatt, M. M. (2000). Quantification of MUC2 and MUC5AC transcripts in human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41(3), 703-708.
64. Gipson, I. K., Spurr-Michaud, S. ve Tisdale, A. (2016). Human conjunctival goblet cells express the membrane associated mucin MUC16: Localization to mucin granules. *Exp Eye Res*, 145, 230-234.

65. Dhamodaran, K., Subramani, M., Ponnalagu, M., Shetty, R. ve Das, D. (2014). Ocular stem cells: a status update! *Stem Cell Res Ther*, 5(2), 56-56.
66. Stewart, R. M., Sheridan, C. M., Hiscott, P. S., Czanner, G. ve Kaye, S. B. (2015). Human Conjunctival Stem Cells are Predominantly Located in the Medial Canthal and Inferior Forniceal Areas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 56(3), 2021-2030.
67. Pellegrini, G., Golisano, O., Paterna, P., Lambiase, A., Bonini, S., Rama, P., ve ark. (1999). Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface. *The Journal of cell biology*, 145(4), 769-782.
68. Kessing, S. V. (1968). Mucous gland system of the conjunctiva. A quantitative normal anatomical study. *Acta Ophthalmol (Copenh)*, Suppl 95:91+.
69. Connor, C. G., Flockencier, L. L. ve Hall, C. W. (1999). The influence of gender on the ocular surface. *Journal of the American Optometric Association*, 70(3), 182-186.
70. Nelson, J. D. ve Wright, J. C. (1984). Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 102(7), 1049-1051.
71. Downie, L. E., Bandlitz, S., Bergmanson, J. P. G., Craig, J. P., Dutta, D., Maldonado-Codina, C., ve ark. (2021). BCLA CLEAR - Anatomy and physiology of the anterior eye. *Contact Lens and Anterior Eye*, 44(2), 132-156.
72. Mishima, S. (1968). Corneal thickness. *Surv Ophthalmol*, 13(2), 57-96.
73. DelMonte, D. W. ve Kim, T. (2011). Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of cataract and refractive surgery*, 37(3), 588-598.
74. Rüfer, F., Schröder, A. ve Erb, C. (2005). White-to-white corneal diameter: normal values in healthy humans obtained with the Orbscan II topography system. *Cornea*, 24(3), 259-261.
75. Feizi, S., Jafarinasab, M. R., Karimian, F., Hasanpour, H. ve Masudi, A. (2014). Central and peripheral corneal thickness measurement in normal and keratoconic eyes using three corneal pachymeters. *Journal of ophthalmic & vision research*, 9(3), 296-304.
76. Sridhar, M. S. (2018). Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*, 66(2), 190-194.
77. Casadessus, O., Georges, G., Lamoine, L., deumié, C. ve Hoffart, L. (2012). Light scattering from edematous human corneal grafts' microstructure: Experimental study and electromagnetic modelization. *Biomedical optics express*, 3, 1793-1810.
78. Farjo, A. A., McDermott, M. L. ve Soong, H. K., Year editör^editörler. Corneal Anatomy, Physiology, and Wound Healing2009 Published.
79. Yokoi, N. ve Kinoshita, S. (1995). Clinical evaluation of corneal epithelial barrier function with the slit-lamp fluorophotometer. *Cornea*, 14(5), 485-489.
80. PFISTER, R. R. (1973). The Normal Surface of Corneal Epithelium: A Scanning Electron Microscopic Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 12(9), 654-668.
81. Gipson, I. K., Spurr-Michaud, S. J. ve Tisdale, A. S. (1987). Anchoring fibrils form a complex network in human and rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 28(2), 212-220.
82. Bentz, H., Morris, N. P., Murray, L. W., Sakai, L. Y., Hollister, D. W. ve Burgeson, R. E. (1983). Isolation and partial characterization of a new human collagen with an extended triple-helical structural domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(11), 3168-3172.
83. **Pavelka, M. ve Roth, J.** (2010). Bowman's Layer. *Functional Ultrastructure* ss. 284-285): Springer.
84. Wilson, S. E. (2020). Bowman's layer in the cornea- structure and function and regeneration. *Exp Eye Res*, 195, 108033.
85. Freegard, T. J. (1997). The physical basis of transparency of the normal cornea. *Eye (Lond)*, 11 (Pt 4), 465-471.

86. Boote, C., Dennis, S., Newton, R. H., Puri, H. ve Meek, K. M. (2003). Collagen Fibrils Appear More Closely Packed in the Prepuillary Cornea: Optical and Biomechanical Implications. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 44(7), 2941-2948.
87. Maurice, D. M. (1970). The transparency of the corneal stroma. *Vision research*, 10(1), 107-108.
88. Fini, M. E. ve Stramer, B. M. (2005). How the cornea heals: cornea-specific repair mechanisms affecting surgical outcomes. *Cornea*, 24(8 Suppl), S2-s11.
89. Meek, K. M. ve Boote, C. (2004). The organization of collagen in the corneal stroma. *Exp Eye Res*, 78(3), 503-512.
90. Ueda, A., Nishida, T., Otori, T. ve Fujita, H. (1987). Electron-microscopic studies on the presence of gap junctions between corneal fibroblasts in rabbits. *Cell and Tissue Research*, 249(2), 473-475.
91. Funderburgh, J. L. (2000). Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function. *Glycobiology*, 10(10), 951-958.
92. **Hansen, N. U. B. ve Karsdal, M. A.** (2016). Chapter 8 - Type VIII Collagen. İçinde M.A. Karsdal, (Ed.). *Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin* ss. 61-65): Academic Press.
93. Gipson, I. K., Joyce, N. C. J. A., principles, J. s. ve Saunders/Elsevier, p. o. o. P. E. (2008). Anatomy and cell biology of the cornea, superficial limbus, and conjunctiva. 423-440.
94. Johnson, D. H., Bourne, W. M. ve Campbell, R. J. (1982). The ultrastructure of Descemet's membrane. I. Changes with age in normal corneas. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 100(12), 1942-1947.
95. Fitch, J. M., Birk, D. E., Linsenmayer, C. ve Linsenmayer, T. F. (1990). The spatial organization of Descemet's membrane-associated type IV collagen in the avian cornea. *The Journal of cell biology*, 110(4), 1457-1468.
96. Laule, A., Cable, M. K., Hoffman, C. E. ve Hanna, C. (1978). Endothelial cell population changes of human cornea during life. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 96(11), 2031-2035.
97. Bourne, W. M., Nelson, L. R. ve Hodge, D. O. (1997). Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 38(3), 779-782.
98. Rio-Cristobal, A. ve Martin, R. (2014). Corneal assessment technologies: current status. *Surv Ophthalmol*, 59(6), 599-614.
99. Beebe, D. C. ve Coats, J. M. (2000). The lens organizes the anterior segment: specification of neural crest cell differentiation in the avian eye. *Developmental biology*, 220(2), 424-431.
100. Polse, K. A., Brand, R. J., Cohen, S. R. ve Guillon, M. (1990). Hypoxic effects on corneal morphology and function. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31(8), 1542-1554.
101. Geroski, D. H., Matsuda, M., Yee, R. W. ve Edelhauser, H. F. (1985). Pump function of the human corneal endothelium. Effects of age and cornea guttata. *Ophthalmology*, 92(6), 759-763.
102. Sack, R. A., Beaton, A., Sathe, S., Morris, C., Willcox, M. ve Bogart, B. (2000). Towards a closed eye model of the pre-ocular tear layer. *Prog Retin Eye Res*, 19(6), 649-668.
103. Riley, M. V. (1969). Glucose and oxygen utilization by the rabbit cornea. *Exp Eye Res*, 8(2), 193-200.
104. Weissman, B. A., Fatt, I. ve Rasson, J. (1981). Diffusion of oxygen in human corneas in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 20(1), 123-125.
105. Oliveira-Soto, L. ve Efron, N. (2001). Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea*, 20(4), 374-384.
106. Hogan, M. J. J. A. a. ve textbook. (1971). Histology of the human eye.

107. Müller, L. J., Marfurt, C. F., Kruse, F. ve Tervo, T. M. (2003). Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res*, 76(5), 521-542.
108. Rózsa, A. J. ve Beuerman, R. W. (1982). Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain*, 14(2), 105-120.
109. Mishima, S., Gasset, A., Klyce, S. D., Jr. ve Baum, J. L. (1966). Determination of tear volume and tear flow. *Investigative ophthalmology*, 5(3), 264-276.
110. Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korbely, M., ve ark. (1998). Photodynamic therapy. *Journal of the National Cancer Institute*, 90(12), 889-905.
111. Berta, A. s. (1992). *Enzymology of the tears*. Boca Raton: CRC Press.
112. Lehrer, R. I., Xu, G., Abduragimov, A., Dinh, N. N., Qu, X. D., Martin, D., ve ark. (1998). Lipophilin, a novel heterodimeric protein of human tears. *FEBS letters*, 432(3), 163-167.
113. Van Haeringen, N. J. (1981). Clinical biochemistry of tears. *Surv Ophthalmol*, 26(2), 84-96.
114. Versura, P., Profazio, V. ve Campos, E. C. (2010). Performance of tear osmolarity compared to previous diagnostic tests for dry eye diseases. *Current eye research*, 35(7), 553-564.
115. Sullivan, B. D., Crews, L. A., Sönmez, B., de la Paz, M. F., Comert, E., Charoenrook, V., ve ark. (2012). Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. *Cornea*, 31(9), 1000-1008.
116. Stern, M. E., Gao, J., Siemasko, K. F., Beuerman, R. W. ve Pflugfelder, S. C. (2004). The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res*, 78(3), 409-416.
117. Bron, A. J., de Paiva, C. S., Chauhan, S. K., Bonini, S., Gabison, E. E., Jain, S., ve ark. (2017). TFOS DEWS II pathophysiology report. *The ocular surface*, 15(3), 438-510.
118. Bhavsar, A. S., Bhavsar, S. G. ve Jain, S. M. (2011). A review on recent advances in dry eye: Pathogenesis and management. *Oman journal of ophthalmology*, 4(2), 50-56.
119. Barabino, S., Chen, Y., Chauhan, S. ve Dana, R. (2012). Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease. *Prog Retin Eye Res*, 31(3), 271-285.
120. Craig, J. P., Nichols, K. K., Akpek, E. K., Caffery, B., Dua, H. S., Joo, C. K., ve ark. (2017). TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *The ocular surface*, 15(3), 276-283.
121. Springer, T. A. (1990). Adhesion receptors of the immune system. *Nature*, 346(6283), 425-434.
122. Baudouin, C. (2007). [A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface]. *Journal francais d'ophtalmologie*, 30(3), 239-246.
123. Baudouin, C., Messmer, E. M., Aragona, P., Geerling, G., Akova, Y. A., Benítez-del-Castillo, J., ve ark. (2016). Revisiting the vicious circle of dry eye disease: a focus on the pathophysiology of meibomian gland dysfunction. *The British journal of ophthalmology*, 100(3), 300-306.
124. Yamaguchi, T. (2018). Inflammatory Response in Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 59(14), Des192-des199.
125. Yeh, S., Song, X. J., Farley, W., Li, D. Q., Stern, M. E. ve Pflugfelder, S. C. (2003). Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 44(1), 124-129.
126. Pflugfelder, S. C., Jones, D., Ji, Z., Afonso, A. ve Monroy, D. (1999). Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Current eye research*, 19(3), 201-211.

127. Lam, H., Bleiden, L., de Paiva, C. S., Farley, W., Stern, M. E. ve Pflugfelder, S. C. (2009). Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *American journal of ophthalmology*, 147(2), 198-205. e191.
128. **Kolb, H.** (1995). Gross Anatomy of the Eye. İçinde H. Kolb, E. Fernandez, R. Nelson, (Ed.), *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center

Copyright: © 2021 Webvision .

129. **Bales, T. R., Lopez, M. J. ve Clark, J.** (2021). Embryology, Eye. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.

130. Quinn, N., Csincsik, L., Flynn, E., Curcio, C. A., Kiss, S., Sadda, S. R., ve ark. (2019). The clinical relevance of visualising the peripheral retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 68, 83-109.
131. **Kolb, H.** (1995). Simple Anatomy of the Retina. İçinde H. Kolb, E. Fernandez, R. Nelson, (Ed.), *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center

Copyright: © 2021 Webvision .

132. **Gouder, M.** (2020). Basic Anatomy, Embryology and Physiology of the Retina. ss. 1-8):
133. **Özdemir, H., Arf, S. ve Karaçorlu, M.** (2015). *Makula Hastalıklarında Optik kohorens Tomografi*. 1-11 s.
134. Ferrara, M., Lugano, G., Sandinha, M. T., Kearns, V. R., Geraghty, B. ve Steel, D. H. W. (2021). Biomechanical properties of retina and choroid: a comprehensive review of techniques and translational relevance. *Eye*, 35(7), 1818-1832.
135. Zhang, K. Y. ve Johnson, T. V. (2021). The internal limiting membrane: Roles in retinal development and implications for emerging ocular therapies. *Experimental Eye Research*, 206, 108545.
136. Tranos, P., Wickham, L., Dervenis, N., Vakalis, A., Asteriades, S. ve Stavrakas, P. (2017). The role of membrane-inner retina adherence in predicting simultaneous internal limiting membrane peeling during idiopathic epiretinal membrane surgery. *Eye*, 31(4), 636-642.
137. **Lamirel, C.** (2014). Optical Coherence Tomography. İçinde M.J. Aminoff, R.B. Daroff, (Ed.), *Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition)* ss. 660-668). Oxford: Academic Press.
138. **Remington, L. A.** (2012). Chapter 4 - Retina. İçinde L.A. Remington, (Ed.). *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System (Third Edition)* ss. 61-92). Saint Louis: Butterworth-Heinemann.
139. **Bringmann, A. ve Reichenbach, A.** (2009). Müller Cells. İçinde L.R. Squire, (Ed.). *Encyclopedia of Neuroscience* ss. 1083-1093). Oxford: Academic Press.
140. **Corbett, J. J. ve Chen, J.** (2018). Chapter 20 - The Visual System. İçinde D.E. Haines, G.A. Mihailoff, (Ed.), *Fundamental Neuroscience for Basic and Clinical Applications (Fifth Edition)* ss. 286-305.e281): Elsevier.
141. Lujan, B. J., Roorda, A., Knighton, R. W. ve Carroll, J. (2011). Revealing Henle's fiber layer using spectral domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52(3), 1486-1492.
142. **Joussen, A. M. ve Wolfensberger, T. J.** (2013). Chapter 28 - Mechanisms of Macular Edema and Therapeutic Approaches. İçinde S.J. Ryan, S.R. Sadda, D.R. Hinton, A.P. Schachat, S.R. Sadda, C.P. Wilkinson, et al., (Ed.), *Retina (Fifth Edition)* ss. 590-604). London: W.B. Saunders.

143. **Bertalmío, M.** (2020). Chapter 2 - The biological basis of vision: the retina. İçinde M. Bertalmío, (Ed.). *Vision Models for High Dynamic Range and Wide Colour Gamut Imaging* ss. 11-46): Academic Press.
144. Lee, W., Nöupuu, K., Oll, M., Duncker, T., Burke, T., Zernant, J., ve ark. (2014). The External Limiting Membrane in Early-Onset Stargardt Disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 55(10), 6139-6149.
145. Omri, S., Omri, B., Savoldelli, M., Jonet, L., Thillaye-Goldenberg, B., Thuret, G., ve ark. (2010). The outer limiting membrane (OLM) revisited: clinical implications. *Clin Ophthalmol*, 4, 183-195.
146. **Lamkin-Kennard, K. A. ve Popovic, M. B.** (2019). 4 - Sensors: Natural and Synthetic Sensors. İçinde M.B. Popovic, (Ed.). *Biomechatronics* ss. 81-107): Academic Press.
147. Rotmann, E. (1939). Der Anteil von Induktor und reagierendem Gewebe an der Entwicklung der Amphibienlinse. *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen*, 139(1), 1-49.
148. Rizzolo, L. J. (1997). Polarity and the development of the outer blood-retinal barrier. *Histology and histopathology*, 12(4), 1057-1067.
149. Marmorstein, A. D., Finnemann, S. C., Bonilha, V. L. ve Rodriguez-Boulan, E. (1998). Morphogenesis of the retinal pigment epithelium: toward understanding retinal degenerative diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 857, 1-12.
150. Lamb, T. D., Collin, S. P. ve Pugh, E. N., Jr. (2007). Evolution of the vertebrate eye: opsins, photoreceptors, retina and eye cup. *Nature reviews Neuroscience*, 8(12), 960-976.
151. **Thumann, G., Hoffmann, S. ve Hinton, D. R.** (2006). Cell biology of the retinal pigment epithelium. *Retina (Philadelphia, Pa)* ss. 137-152): Elsevier.
152. Young, R. W. (1971). The renewal of rod and cone outer segments in the rhesus monkey. *The Journal of cell biology*, 49(2), 303-318.
153. Beatty, S., Koh, H., Phil, M., Henson, D. ve Boulton, M. (2000). The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 45(2), 115-134.
154. Beatty, S., Boulton, M., Henson, D., Koh, H. H. ve Murray, I. J. (1999). Macular pigment and age related macular degeneration. *The British journal of ophthalmology*, 83(7), 867-877.
155. Winkler, B. S., Boulton, M. E., Gottsch, J. D. ve Sternberg, P. (1999). Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Molecular vision*, 5, 32.
156. Auker, C. R., Parver, L. M., Doyle, T. ve Carpenter, D. O. (1982). Choroidal blood flow. I. Ocular tissue temperature as a measure of flow. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 100(8), 1323-1326.
157. Parver, L. M. (1991). Temperature modulating action of choroidal blood flow. *Eye (Lond)*, 5 (Pt 2), 181-185.
158. Delori, F. C., Goger, D. G. ve Dorey, C. K. (2001). Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42(8), 1855-1866.
159. Schütt, F., Davies, S., Kopitz, J., Holz, F. G. ve Boulton, M. E. (2000). Photodamage to human RPE cells by A2-E, a retinoid component of lipofuscin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41(8), 2303-2308.
160. Bobu, C. ve Hicks, D. (2009). Regulation of retinal photoreceptor phagocytosis in a diurnal mammal by circadian clocks and ambient lighting. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(7), 3495-3502.
161. LaVail, M. M. (1976). Rod outer segment disc shedding in relation to cyclic lighting. *Exp Eye Res*, 23(2), 277-280.
162. Green, C. B. ve Besharse, J. C. (2004). Retinal circadian clocks and control of retinal physiology. *Journal of biological rhythms*, 19(2), 91-102.

163. Kevany, B. M. ve Palczewski, K. (2010). Phagocytosis of retinal rod and cone photoreceptors. *Physiology (Bethesda, Md)*, 25(1), 8-15.
164. Finnemann, S. C. (2003). Focal adhesion kinase signaling promotes phagocytosis of integrin-bound photoreceptors. *The EMBO journal*, 22(16), 4143-4154.
165. D'Cruz, P. M., Yasumura, D., Weir, J., Matthes, M. T., Abderrahim, H., LaVail, M. M., ve ark. (2000). Mutation of the receptor tyrosine kinase gene *Mertk* in the retinal dystrophic RCS rat. *Hum Mol Genet*, 9(4), 645-651.
166. Finnemann, S. C., Bonilha, V. L., Marmorstein, A. D. ve Rodriguez-Boulan, E. (1997). Phagocytosis of rod outer segments by retinal pigment epithelial cells requires $\alpha(v)\beta 5$ integrin for binding but not for internalization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 12932-12937.
167. Lamb, T. D. ve Pugh, E. N., Jr. (2004). Dark adaptation and the retinoid cycle of vision. *Prog Retin Eye Res*, 23(3), 307-380.
168. Baylor, D. (1996). How photons start vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(2), 560-565.
169. Baylor, D. A. ve Burns, M. E. (1998). Control of rhodopsin activity in vision. *Eye (Lond)*, 12 (Pt 3b), 521-525.
170. Okada, T., Ernst, O. P., Palczewski, K. ve Hofmann, K. P. (2001). Activation of rhodopsin: new insights from structural and biochemical studies. *Trends in biochemical sciences*, 26(5), 318-324.
171. **Strauss, O.** (1995). The Retinal Pigment Epithelium. İçinde H. Kolb, E. Fernandez, R. Nelson, (Ed.), *Webvision: The Organization of the Retina and Visual System*. Salt Lake City (UT): University of Utah Health Sciences Center

Copyright: © 2021 Webvision .

172. Strauss, O. (2005). The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiological reviews*, 85(3), 845-881.
173. Witmer, A. N., Vrensen, G. F., Van Noorden, C. J. ve Schlingemann, R. O. (2003). Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res*, 22(1), 1-29.
174. Ogata, N., Wang, L., Jo, N., Tombran-Tink, J., Takahashi, K., Mrazek, D., ve ark. (2001). Pigment epithelium derived factor as a neuroprotective agent against ischemic retinal injury. *Current eye research*, 22(4), 245-252.
175. Becerra, S. P., Fariss, R. N., Wu, Y. Q., Montuenga, L. M., Wong, P. ve Pfeffer, B. A. (2004). Pigment epithelium-derived factor in the monkey retinal pigment epithelium and interphotoreceptor matrix: apical secretion and distribution. *Exp Eye Res*, 78(2), 223-234.
176. Ishida, K., Panjwani, N., Cao, Z. ve Streilein, J. W. (2003). Participation of pigment epithelium in ocular immune privilege. 3. Epithelia cultured from iris, ciliary body, and retina suppress T-cell activation by partially non-overlapping mechanisms. *Ocular immunology and inflammation*, 11(2), 91-105.
177. Wenkel, H. ve Streilein, J. W. (2000). Evidence that retinal pigment epithelium functions as an immune-privileged tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41(11), 3467-3473.
178. Steinberg, R. H. (1985). Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Documenta ophthalmologica Advances in ophthalmology*, 60(4), 327-346.
179. Naylor, A., Hopkins, A., Hudson, N. ve Campbell, M. (2019). Tight Junctions of the Outer Blood Retina Barrier. *International journal of molecular sciences*, 21(1).

180. Ban, Y. ve Rizzolo, L. J. (2000). Regulation of glucose transporters during development of the retinal pigment epithelium. *Brain research Developmental brain research*, 121(1), 89-95.
181. Sugasawa, K., Deguchi, J., Okami, T., Yamamoto, A., Omori, K., Uyama, M., ve ark. (1994). Immunocytochemical analyses of distributions of Na, K-ATPase and GLUT1, insulin and transferrin receptors in the developing retinal pigment epithelial cells. *Cell structure and function*, 19(1), 21-28.
182. Hu, J. G., Gallemore, R. P., Bok, D., Lee, A. Y. ve Frambach, D. A. (1994). Localization of NaK ATPase on cultured human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 35(10), 3582-3588.
183. Miller, S. S. ve Steinberg, R. H. (1977). Active transport of ions across frog retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res*, 25(3), 235-248.
184. Stamer, W. D., Bok, D., Hu, J., Jaffe, G. J. ve McKay, B. S. (2003). Aquaporin-1 channels in human retinal pigment epithelium: role in transepithelial water movement. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 44(6), 2803-2808.
185. Relvas, L. J., Bouffieux, C., Marcet, B., Communi, D., Makhoul, M., Horckmans, M., ve ark. (2009). Extracellular nucleotides and interleukin-8 production by ARPE cells: potential role of danger signals in blood-retinal barrier activation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(3), 1241-1246.
186. Kim, Y. H., He, S., Kase, S., Kitamura, M., Ryan, S. J. ve Hinton, D. R. (2009). Regulated secretion of complement factor H by RPE and its role in RPE migration. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 247(5), 651-659.
187. Austin, B. A., Liu, B., Li, Z. ve Nussenblatt, R. B. (2009). Biologically active fibronectin fragments stimulate release of MCP-1 and catabolic cytokines from murine retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(6), 2896-2902.
188. Kishi, S. (2016). Vitreous anatomy and the vitreomacular correlation. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 60(4), 239-273.
189. **Dutta Majumder, P.** (2017). Anatomy of Vitreous. ss. 17-20):
190. Deemter, M. I. v., Pas, H. H., Kuijer, R., van der Worp, R. J., Hooymans, J. M. M. ve Los, L. I. (2009). Enzymatic Breakdown of Type II Collagen in the Human Vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(10), 4552-4560.
191. **Sebag, J.** (2010). Vitreous Anatomy, Aging, and Anomalous Posterior Vitreous Detachment. İçinde D.A. Dartt, (Ed.). *Encyclopedia of the Eye* ss. 307-315). Oxford: Academic Press.
192. Skeie, J. ve Mahajan, V. (2011). Dissection of Human Vitreous Body Elements for Proteomic Analysis. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 47.
193. Kishi, S. (2015). [The vitreous and the macula]. *Nippon Ganka Gakkai zasshi*, 119(3), 117-143; discussion 144.
194. Johnson, M. W. (2005). Perifoveal vitreous detachment and its macular complications. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 103, 537-567.
195. Fleckenstein, M., Keenan, T. D. L., Guymer, R. H., Chakravarthy, U., Schmitz-Valckenberg, S., Klaver, C. C., ve ark. (2021). Age-related macular degeneration. *Nature Reviews Disease Primers*, 7(1), 31.
196. Chakravarthy, U., Wong, T. Y., Fletcher, A., Piau, E., Evans, C., Zlateva, G., ve ark. (2010). Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmology*, 10(1), 31.
197. Rudnicka, A. R., Jarrar, Z., Wormald, R., Cook, D. G., Fletcher, A. ve Owen, C. G. (2012). Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalence in populations of European ancestry: a meta-analysis. *Ophthalmology*, 119(3), 571-580.

198. Seddon, J. M., Cote, J., Page, W. F., Aggen, S. H. ve Neale, M. C. (2005). The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 123(3), 321-327.
199. DeAngelis, M. M., Owen, L. A., Morrison, M. A., Morgan, D. J., Li, M., Shakoor, A., ve ark. (2017). Genetics of age-related macular degeneration (AMD). *Hum Mol Genet*, 26(R1), R45-R50.
200. **Despotovic, I. N. ve Ferrara, D.** (2018). 6.1.1 - Drusen. İçinde D.R. Goldman, N.K. Waheed, J.S. Duker, (Ed.), *Atlas of Retinal OCT: Optical Coherence Tomography* ss. 16-23): Elsevier.
201. Abdelsalam, A., Del Priore, L. ve Zarbin, M. A. (1999). Drusen in Age-Related Macular Degeneration: Pathogenesis, Natural Course, and Laser Photocoagulation–Induced Regression. *Survey of Ophthalmology*, 44(1), 1-29.
202. Young, R. W. (1987). Pathophysiology of age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol*, 31(5), 291-306.
203. Au Eong, K. G., Sanjay, S. ve Lim, S. C. (2006). Treatment of age-related macular degeneration. *Lancet (London, England)*, 368(9543), 1235.
204. Newman, D. K. (2016). Photodynamic therapy: current role in the treatment of chorioretinal conditions. *Eye (Lond)*, 30(2), 202-210.
205. Koh, A., Lee, W. K., Chen, L. J., Chen, S. J., Hashad, Y., Kim, H., ve ark. (2012). EVEREST study: efficacy and safety of verteporfin photodynamic therapy in combination with ranibizumab or alone versus ranibizumab monotherapy in patients with symptomatic macular polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 32(8), 1453-1464.
206. Votruba, M. ve Gregor, Z. (2001). Neovascular age-related macular degeneration: present and future treatment options. *Eye (Lond)*, 15(Pt 3), 424-429.
207. Liao, D. S., Grossi, F. V., El Mehdi, D., Gerber, M. R., Brown, D. M., Heier, J. S., ve ark. (2020). Complement C3 Inhibitor Pegcetacoplan for Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration: A Randomized Phase 2 Trial. *Ophthalmology*, 127(2), 186-195.
208. Kaushal, S., Grossi, F., Francois, C., Slakter, J. ve Group, A. S. (2009). Complement C3 inhibitor POT-4: Clinical Safety of Intravitreal Administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(13), 5010-5010.
209. Ammar, M. J., Hsu, J., Chiang, A., Ho, A. C. ve Regillo, C. D. (2020). Age-related macular degeneration therapy: a review. *Current opinion in ophthalmology*, 31(3), 215-221.
210. Radtke, N. D., Aramant, R. B., Petry, H. M., Green, P. T., Pidwell, D. J. ve Seiler, M. J. (2008). Vision improvement in retinal degeneration patients by implantation of retina together with retinal pigment epithelium. *American journal of ophthalmology*, 146(2), 172-182.
211. Binder, S., Krebs, I., Hilgers, R. D., Abri, A., Stolba, U., Assadoulina, A., ve ark. (2004). Outcome of transplantation of autologous retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration: a prospective trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 45(11), 4151-4160.
212. Ma, Z., Han, L., Wang, C., Dou, H., Hu, Y., Feng, X., ve ark. (2009). Autologous transplantation of retinal pigment epithelium-Bruch's membrane complex for hemorrhagic age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(6), 2975-2981.
213. Fearnley, G. W., Odell, A. F., Latham, A. M., Mughal, N. A., Bruns, A. F., Burgoyne, N. J., ve ark. (2014). VEGF-A isoforms differentially regulate ATF-2-dependent VCAM-1 gene expression and endothelial-leukocyte interactions. *Mol Biol Cell*, 25(16), 2509-2521.

214. Kim, I., Moon, S. O., Kim, S. H., Kim, H. J., Koh, Y. S. ve Koh, G. Y. (2001). Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), and E-selectin through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells. *The Journal of biological chemistry*, 276(10), 7614-7620.
215. Campochiaro, P. A. (2015). Molecular pathogenesis of retinal and choroidal vascular diseases. *Prog Retin Eye Res*, 49, 67-81.
216. Hughes, S., Yang, H. ve Chan-Ling, T. (2000). Vascularization of the human fetal retina: roles of vasculogenesis and angiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 41(5), 1217-1228.
217. Wong, T. Y., Liew, G. ve Mitchell, P. (2007). Clinical update: new treatments for age-related macular degeneration. *Lancet (London, England)*, 370(9583), 204-206.
218. Miller, J. W. (2016). VEGF: From Discovery to Therapy: The Champalimaud Award Lecture. *Translational vision science & technology*, 5(2), 9.
219. Yancopoulos, G. D. (2010). Clinical application of therapies targeting VEGF. *Cell*, 143(1), 13-16.
220. Viores, S. A. (2006). Pegaptanib in the treatment of wet, age-related macular degeneration. *International journal of nanomedicine*, 1(3), 263-268.
221. Ng, E. W., Shima, D. T., Calias, P., Cunningham, E. T., Jr., Guyer, D. R. ve Adamis, A. P. (2006). Pegaptanib, a targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease. *Nature reviews Drug discovery*, 5(2), 123-132.
222. Gragoudas, E. S., Adamis, A. P., Cunningham, E. T., Jr., Feinsod, M. ve Guyer, D. R. (2004). Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine*, 351(27), 2805-2816.
223. Krämer, I. ve Lipp, H. P. (2007). Bevacizumab, a humanized anti-angiogenic monoclonal antibody for the treatment of colorectal cancer. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 32(1), 1-14.
224. Ba, J., Peng, R.-S., Xu, D., Li, Y.-H., Shi, H., Wang, Q., ve ark. (2015). Intravitreal anti-VEGF injections for treating wet age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des Devel Ther*, 9, 5397-5405.
225. García-Quintanilla, L., Luaces-Rodríguez, A., Gil-Martínez, M., Mondelo-García, C., Maroñas, O., Mangas-Sanjuan, V., ve ark. (2019). Pharmacokinetics of Intravitreal Anti-VEGF Drugs in Age-Related Macular Degeneration. *Pharmaceutics*, 11(8).
226. Dakin, H. A., Wordsworth, S., Rogers, C. A., Abangma, G., Raftery, J., Harding, S. P., ve ark. (2014). Cost-effectiveness of ranibizumab and bevacizumab for age-related macular degeneration: 2-year findings from the IVAN randomised trial. *BMJ open*, 4(7), e005094.
227. Martin, D. F., Maguire, M. G., Ying, G. S., Grunwald, J. E., Fine, S. L. ve Jaffe, G. J. (2011). Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *The New England journal of medicine*, 364(20), 1897-1908.
228. Kodjikian, L., Souied, E. H., Mimoun, G., Mauget-Faÿsse, M., Behar-Cohen, F., Decullier, E., ve ark. (2013). Ranibizumab versus Bevacizumab for Neovascular Age-related Macular Degeneration: Results from the GEFAL Noninferiority Randomized Trial. *Ophthalmology*, 120(11), 2300-2309.
229. Singh, R. P. ve Kaiser, P. K. (2007). Role of ranibizumab in management of macular degeneration. *Indian J Ophthalmol*, 55(6), 421-425.
230. Fogli, S., Del Re, M., Rofi, E., Posarelli, C., Figus, M. ve Danesi, R. (2018). Clinical pharmacology of intravitreal anti-VEGF drugs. *Eye (Lond)*, 32(6), 1010-1020.
231. Sarwar, S., Bakbak, B., Sadiq, M. A., Sepah, Y. J., Shah, S. M., Ibrahim, M., ve ark. (2016). Fusion Proteins: Aflibercept (VEGF Trap-Eye). *Developments in ophthalmology*, 55, 282-294.

232. Tadayoni, R., Sararols, L., Weissgerber, G., Verma, R., Clemens, A. ve Holz, F. G. (2021). Brolucizumab: A Newly Developed Anti-VEGF Molecule for the Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmologica*, 244(2), 93-101.
233. Nguyen, Q. D., Das, A., Do, D. V., Dugel, P. U., Gomes, A., Holz, F. G., ve ark. (2020). Brolucizumab: Evolution through Preclinical and Clinical Studies and the Implications for the Management of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*, 127(7), 963-976.
234. Monés, J., Srivastava, S. K., Jaffe, G. J., Tadayoni, R., Albini, T. A., Kaiser, P. K., ve ark. (2021). Risk of Inflammation, Retinal Vasculitis, and Retinal Occlusion-Related Events with Brolucizumab: Post Hoc Review of HAWK and HARRIER. *Ophthalmology*, 128(7), 1050-1059.
235. Bauman, C. R., Spaide, R. F., Vajzovic, L., Freund, K. B., Walter, S. D., John, V., ve ark. (2020). Retinal Vasculitis and Intraocular Inflammation after Intravitreal Injection of Brolucizumab. *Ophthalmology*, 127(10), 1345-1359.
236. Rosenfeld, P. J. ve Browning, D. J. (2020). Is This a 737 Max Moment for Brolucizumab? *American journal of ophthalmology*, 216, A7-a8.
237. Durand, M. L. (2013). Endophthalmitis. *Clin Microbiol Infect*, 19(3), 227-234.
238. Sheu, S. J. (2017). Endophthalmitis. *Korean J Ophthalmol*, 31(4), 283-289.
239. Falavarjani, K. G. ve Nguyen, Q. D. (2013). Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. *Eye (Lond)*, 27(7), 787-794.
240. Scott, I. U. ve Flynn, H. W. J. (2007). Reducing the Risk of Endophthalmitis Following Intravitreal Injections. 27(1), 10-12.
241. Cox, J. T., Elliott, D. ve Sobrin, L. (2021). Inflammatory Complications of Intravitreal Anti-VEGF Injections. *Journal of clinical medicine*, 10(5).
242. Sachdeva, M. M., Moshiri, A., Leder, H. A. ve Scott, A. W. (2016). Endophthalmitis following intravitreal injection of anti-VEGF agents: long-term outcomes and the identification of unusual micro-organisms. *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, 6(1), 2.
243. Greenberg, J. P., Belin, P., Butler, J., Feiler, D., Mueller, C., Tye, A., ve ark. (2019). Aflibercept-Related Sterile Intraocular Inflammation Outcomes. *Ophthalmology Retina*, 3(9), 753-759.
244. Chong, D. Y., Anand, R., Williams, P. D., Qureshi, J. A. ve Callanan, D. G. (2010). CHARACTERIZATION OF STERILE INTRAOCULAR INFLAMMATORY RESPONSES AFTER INTRAVITREAL BEVACIZUMAB INJECTION. 30(9), 1432-1440.
245. Marticorena, J., Romano, V. ve Gómez-Ulla, F. (2012). Sterile endophthalmitis after intravitreal injections. *Mediators Inflamm*, 2012, 928123-928123.
246. Agrawal, S., Joshi, M. ve Christoforidis, J. B. (2013). Vitreous Inflammation Associated with Intravitreal Anti-VEGF Pharmacotherapy. *Mediators Inflamm*, 2013, 943409.
247. Hoevenaars, N. E., Gans, D., Missotten, T., van Rooij, J., Lesaffre, E. ve van Meurs, J. C. (2012). Suspected bacterial endophthalmitis following intravitreal anti-VEGF injection: case series and literature review. *Ophthalmologica*, 228(3), 143-147.
248. Durand, M. L. (2013). Endophthalmitis. *Clin Microbiol Infect*, 19(3), 227-234.
249. (1995). Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 113(12), 1479-1496.
250. Weiss, S. J., Adam, M. K., Gao, X., Obeid, A., Sivalingam, A., Fineman, M. S., ve ark. (2018). ENDOPHTHALMITIS AFTER PARS PLANA VITRECTOMY: Efficacy of Intraoperative Subconjunctival Antibiotics. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 38(9), 1848-1855.

251. Cox, J. T., Elliott, D. ve Sobrin, L. (2021). Inflammatory Complications of Intravitreal Anti-VEGF Injections. *Journal of clinical medicine*, 10(5), 981.
252. Daïen, V., Nguyen, V., Essex, R. W., Morlet, N., Barthelmes, D. ve Gillies, M. C. (2018). Incidence and Outcomes of Infectious and Noninfectious Endophthalmitis after Intravitreal Injections for Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*, 125(1), 66-74.
253. Marticorena, J., Romano, V. ve Gómez-Ulla, F. (2012). Sterile endophthalmitis after intravitreal injections. *Mediators Inflamm*, 2012, 928123.
254. Wickremasinghe, S. S., Michalova, K., Gilhotra, J., Guymer, R. H., Harper, C. A., Wong, T. Y., ve ark. (2008). Acute intraocular inflammation after intravitreal injections of bevacizumab for treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 115(11), 1911-1915.
255. Chong, D. Y., Anand, R., Williams, P. D., Qureshi, J. A. ve Callanan, D. G. (2010). Characterization of sterile intraocular inflammatory responses after intravitreal bevacizumab injection. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 30(9), 1432-1440.
256. Bakri, S. J., Larson, T. A. ve Edwards, A. O. (2008). Intraocular inflammation following intravitreal injection of bevacizumab. *Graefes's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 246(5), 779-781.
257. Storey, P. P., Pancholy, M., Wibbelsman, T. D., Obeid, A., Su, D., Borkar, D., ve ark. (2019). Rhegmatogenous Retinal Detachment after Intravitreal Injection of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor. *Ophthalmology*, 126(10), 1424-1431.
258. Meyer, C. H., Michels, S., Rodrigues, E. B., Hager, A., Mennel, S., Schmidt, J. C., ve ark. (2011). Incidence of rhegmatogenous retinal detachments after intravitreal antivascular endothelial factor injections. *Acta ophthalmologica*, 89(1), 70-75.
259. Tolentino, M. (2011). Systemic and ocular safety of intravitreal anti-VEGF therapies for ocular neovascular disease. *Surv Ophthalmol*, 56(2), 95-113.
260. Ladas, I. D., Karagiannis, D. A., Rouvas, A. A., Kotsolis, A. I., Liotsou, A. ve Vergados, I. (2009). Safety of repeat intravitreal injections of bevacizumab versus ranibizumab: our experience after 2,000 injections. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 29(3), 313-318.
261. Mason, J. O., 3rd, Frederick, P. A., Neimkin, M. G., White, M. F., Jr., Feist, R. M., Thomley, M. L., ve ark. (2010). Incidence of hemorrhagic complications after intravitreal bevacizumab (avastin) or ranibizumab (lucentis) injections on systemically anticoagulated patients. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 30(9), 1386-1389.
262. Tarlan, B. ve Kiratli, H. (2013). Subconjunctival hemorrhage: risk factors and potential indicators. *Clin Ophthalmol*, 7, 1163-1170.
263. Yun, C., Oh, J., Hwang, S. Y., Kim, S. W. ve Huh, K. (2015). Subconjunctival hemorrhage after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor. *Graefes's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv fur klinische und experimentelle Ophthalmologie*, 253(9), 1465-1470.
264. Gismondi, M., Salati, C., Salvetat, M. L., Zeppieri, M. ve Brusini, P. (2009). Short-term effect of intravitreal injection of Ranibizumab (Lucentis) on intraocular pressure. *Journal of glaucoma*, 18(9), 658-661.
265. Kahook, M. Y., Kimura, A. E., Wong, L. J., Ammar, D. A., Maycotte, M. A. ve Mandava, N. (2009). Sustained elevation in intraocular pressure associated with intravitreal bevacizumab injections. *Ophthalmic surgery, lasers & imaging : the official journal of the International Society for Imaging in the Eye*, 40(3), 293-295.
266. Hoang, Q. V., Mendonca, L. S., Della Torre, K. E., Jung, J. J., Tsuang, A. J. ve Freund, K. B. (2012). Effect on intraocular pressure in patients receiving unilateral intravitreal anti-vascular endothelial growth factor injections. *Ophthalmology*, 119(2), 321-326.

267. Good, T. J., Kimura, A. E., Mandava, N. ve Kahook, M. Y. (2011). Sustained elevation of intraocular pressure after intravitreal injections of anti-VEGF agents. *The British journal of ophthalmology*, 95(8), 1111-1114.
268. Schmucker, C., Loke, Y. K., Ehliken, C., Agostini, H. T., Hansen, L. L., Antes, G., ve ark. (2011). Intravitreal bevacizumab (Avastin) versus ranibizumab (Lucentis) for the treatment of age-related macular degeneration: a safety review. *The British journal of ophthalmology*, 95(3), 308-317.
269. **Magee, P.** (2010). 24 - Antiseptic drugs and disinfectants. İçinde J.K. Aronson, (Ed.). *Side Effects of Drugs Annual* Cilt 32, ss. 437-443): Elsevier.
270. Isenberg, S. J. (2003). The ocular application of povidone-iodine. *Community Eye Health*, 16(46), 30-31.
271. Lepelletier, D., Maillard, J. Y., Pozzetto, B. ve Simon, A. (2020). Povidone Iodine: Properties, Mechanisms of Action, and Role in Infection Control and Staphylococcus aureus Decolonization. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(9).
272. Lachapelle, J.-M., Castel, O., Casado, A. F., Leroy, B., Micali, G., Tennstedt, D., ve ark. (2013). Antiseptics in the era of bacterial resistance: a focus on povidone iodine. *10*(5), 579.
273. Rackur, H. (1985). New aspects of mechanism of action of povidone-iodine. *The Journal of hospital infection*, 6 Suppl A, 13-23.
274. Kiffney, G. T., Jr. ve Hattaway, A. C. (1966). Povidone-iodine as an ophthalmic antiseptic. *Surgical forum*, 17, 434-436.
275. Maumenee, A. ve Michler, R. J. P. C. O.-O. S. (1951). Sterility of the operative field after ocular surgery. *32*, 172-183.
276. Apt, L., Isenberg, S., Yoshimori, R. ve Paez, J. H. (1984). Chemical preparation of the eye in ophthalmic surgery. III. Effect of povidone-iodine on the conjunctiva. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*, 102(5), 728-729.
277. Schwartz, S. G., Flynn, H. W., Jr., Grzybowski, A., Relhan, N. ve Ferris, F. L., 3rd. (2016). Intracameral Antibiotics and Cataract Surgery: Endophthalmitis Rates, Costs, and Stewardship. *Ophthalmology*, 123(7), 1411-1413.
278. Modjtahedi, B. S., van Zyl, T., Pandya, H. K., Leonard, R. E., 2nd ve Elliott, D. (2016). Endophthalmitis After Intravitreal Injections in Patients With Self-reported Iodine Allergy. *American journal of ophthalmology*, 170, 68-74.
279. **Jeng, B. H.** (2013). 7 - Diagnostic Techniques in Ocular Surface Disease. İçinde E.J. Holland, M.J. Mannis, W.B. Lee, (Ed.), *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film* ss. 47-54). London: W.B. Saunders.
280. Wolffsohn, J. S., Arita, R., Chalmers, R., Djalilian, A., Dogru, M., Dumbleton, K., ve ark. (2017). TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *The ocular surface*, 15(3), 539-574.
281. Serin, D., Karsloğlu, S., Kyan, A. ve Alagöz, G. (2007). A simple approach to the repeatability of the Schirmer test without anesthesia: eyes open or closed? *Cornea*, 26(8), 903-906.
282. Feenstra, R. P. ve Tseng, S. C. (1992). Comparison of fluorescein and rose bengal staining. *Ophthalmology*, 99(4), 605-617.
283. Bron, A. J., Argüeso, P., Irkeç, M. ve Bright, F. V. (2015). Clinical staining of the ocular surface: Mechanisms and interpretations. *Progress in Retinal and Eye Research*, 44, 36-61.
284. Bron, A. J., Evans, V. E. ve Smith, J. A. (2003). Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. *Cornea*, 22(7), 640-650.
285. Lemp, M. A. (1973). Breakup of the tear film. *International ophthalmology clinics*, 13(1), 97-102.

286. Tsubota, K., Yokoi, N., Watanabe, H., Dogru, M., Kojima, T., Yamada, M., ve ark. (2020). A New Perspective on Dry Eye Classification: Proposal by the Asia Dry Eye Society. *Eye & contact lens*, 46 Suppl 1(1), S2-s13.
287. Sharma, A. ve Ruckenstein, E. (1985). Mechanism of tear film rupture and its implications for contact lens tolerance. *American journal of optometry and physiological optics*, 62(4), 246-253.
288. Shimazaki, J. (2018). Definition and Diagnostic Criteria of Dry Eye Disease: Historical Overview and Future Directions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 59(14), DES7-DES12.
289. Okumura, Y., Inomata, T., Iwata, N., Sung, J., Fujimoto, K., Fujio, K., ve ark. (2020). A Review of Dry Eye Questionnaires: Measuring Patient-Reported Outcomes and Health-Related Quality of Life. *Diagnostics (Basel)*, 10(8), 559.
290. Chalmers, R. L., Begley, C. G. ve Caffery, B. (2010). Validation of the 5-Item Dry Eye Questionnaire (DEQ-5): Discrimination across self-assessed severity and aqueous tear deficient dry eye diagnoses. *Contact lens & anterior eye : the journal of the British Contact Lens Association*, 33(2), 55-60.
291. Schein, O. D., Tielsch, J. M., Munöz, B., Bandeen-Roche, K. ve West, S. (1997). Relation between signs and symptoms of dry eye in the elderly. A population-based perspective. *Ophthalmology*, 104(9), 1395-1401.
292. Grubbs, J. R., Jr., Tolleson-Rinehart, S., Huynh, K. ve Davis, R. M. (2014). A review of quality of life measures in dry eye questionnaires. *Cornea*, 33(2), 215-218.
293. Walt, J., Rowe, M. ve Stern, K. J. D. I. J. (1997). Evaluating the functional impact of dry eye: the Ocular Surface Disease Index. 31(1436), b5.
294. Irkeç, M. T. ve Group, T. O. S. (2007). Reliability and Validity of Turkish Translation of the Ocular Surface Disease Index (OSDI) in Dry Eye Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48(13), 408-408.
295. Bayhan, H. A., Gürdal, C., Takmaz, T. ve Can, İ. (2010). Comparision of Lissamine Green and Rose Bengal in Dry Eye Diagnosis and Correlation Between Patient Symptoms and Clinical Tests. 40(1), 29-33.
296. Singh, R., Joseph, A., Umapathy, T., Tint, N. L. ve Dua, H. S. (2005). Impression cytology of the ocular surface. *The British journal of ophthalmology*, 89(12), 1655-1659.
297. Egbert, P. R., Lauber, S. ve Maurice, D. M. (1977). A simple conjunctival biopsy. *American journal of ophthalmology*, 84(6), 798-801.
298. Calonge, M., Diebold, Y., Sáez, V., Enríquez de Salamanca, A., García-Vázquez, C., Corrales, R. M., ve ark. (2004). Impression cytology of the ocular surface: a review. *Exp Eye Res*, 78(3), 457-472.
299. Kim, J. R., Oh, T. H. ve Kim, H. S. (2011). Effects of benzalkonium chloride on the ocular surface of the rabbit. *Jpn J Ophthalmol*, 55(3), 283-293.
300. Vadrevu, V. L. ve Fullard, R. J. (1994). Enhancements to the conjunctival impression cytology technique and examples of applications in a clinico-biochemical study of dry eye. *The CLAO journal : official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc*, 20(1), 59-63.
301. Martinez, A. J., Mills, M. B., Jaceldo, K. B., Tio, F. O., Aigbivbalu, I. B., Hilsenbeck, S. B., ve ark. (1995). Standardization of conjunctival impression cytology. *Cornea*, 14(5), 515-522.
302. Singh, R., Joseph, A., Umapathy, T., Tint, N. L. ve Dua, H. S. (2005). Impression cytology of the ocular surface. *The British journal of ophthalmology*, 89(12), 1655-1659.
303. Tseng, S. C. (1985). Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology*, 92(6), 728-733.
304. Adams, G. G., Dilly, P. N. ve Kirkness, C. M. (1988). Monitoring ocular disease by impression cytology. *Eye (Lond)*, 2 (Pt 5), 506-516.

305. Nelson, J. D. (1988). Impression cytology. *Cornea*, 7(1), 71-81.
306. Haller-Schober, E. M., Schwantzer, G., Berghold, A., Fischl, M., Theisl, A. ve Horwath-Winter, J. (2006). Evaluating an impression cytology grading system (IC score) in patients with dry eye syndrome. *Eye*, 20(8), 927-933.
307. Nelson, J. D., Havener, V. R. ve Cameron, J. D. J. A. o. o. (1983). Cellulose acetate impressions of the ocular surface: dry eye states. 101(12), 1869-1872.
308. Wei, Y., Gadaria-Rathod, N., Epstein, S. ve Asbell, P. (2013). Tear Cytokine Profile as a Noninvasive Biomarker of Inflammation for Ocular Surface Diseases: Standard Operating Procedures. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 54(13), 8327-8336.
309. VanDerMeid, K. R., Su, S. P., Krenzer, K. L., Ward, K. W. ve Zhang, J. Z. (2011). A method to extract cytokines and matrix metalloproteinases from Schirmer strips and analyze using Luminex. *Molecular vision*, 17, 1056-1063.
310. Barabino, S., Rolando, M., Chen, L. ve Dana, M. R. (2007). Exposure to a dry environment induces strain-specific responses in mice. *Exp Eye Res*, 84(5), 973-977.
311. Boehm, N., Riechardt, A. I., Wiegand, M., Pfeiffer, N. ve Grus, F. H. (2011). Proinflammatory cytokine profiling of tears from dry eye patients by means of antibody microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52(10), 7725-7730.
312. Yoon, K. C., Jeong, I. Y., Park, Y. G. ve Yang, S. Y. (2007). Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha levels in tears of patients with dry eye syndrome. *Cornea*, 26(4), 431-437.
313. Enríquez-de-Salamanca, A., Castellanos, E., Stern, M. E., Fernández, I., Carreño, E., García-Vázquez, C., ve ark. (2010). Tear cytokine and chemokine analysis and clinical correlations in evaporative-type dry eye disease. *Molecular vision*, 16, 862-873.
314. Stuchell, R. N., Feldman, J. J., Farris, R. L. ve Mandel, I. D. (1984). The effect of collection technique on tear composition. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 25(3), 374-377.
315. Stuchell, R. N., Feldman, J. J., Farris, R. L. ve Mandel, I. D. (1984). The effect of collection technique on tear composition. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 25(3), 374-377.
316. Small, D., Hevy, J. ve Tang-Liu, D. (2000). Comparison of tear sampling techniques for pharmacokinetics analysis: ofloxacin concentrations in rabbit tears after sampling with schirmer tear strips, capillary tubes, or surgical sponges. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics : the official journal of the Association for Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 16(5), 439-446.
317. Dumortier, G. ve Chaumeil, J. C. (2004). Lachrymal determinations: methods and updates on biopharmaceutical and clinical applications. *Ophthalmic research*, 36(4), 183-194.
318. Choy, C. K., Cho, P., Chung, W. Y. ve Benzie, I. F. (2001). Water-soluble antioxidants in human tears: effect of the collection method. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 42(13), 3130-3134.
319. Posa, A., Bräuer, L., Schicht, M., Garreis, F., Beileke, S. ve Paulsen, F. (2013). Schirmer strip vs. capillary tube method: non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid. *Annals of anatomy = Anatomischer Anzeiger : official organ of the Anatomische Gesellschaft*, 195(2), 137-142.
320. Ferris, F. L., 3rd, Wilkinson, C. P., Bird, A., Chakravarthy, U., Chew, E., Csaky, K., ve ark. (2013). Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 120(4), 844-851.
321. Güler, M., Gül, F. ve Kaya, M. (2017). Kuru Tip (Non-Neovasküler) Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonunda Nutrisyon Dışı Medikal Tedaviler Non-Nutritional Medical Treatments in Dry-Form (Non-Neovascular) Age Related Macular Degeneration.
322. Eggers, M. (2019). Infectious Disease Management and Control with Povidone Iodine. *Infectious diseases and therapy*, 8(4), 581-593.

323. Ciulla, T. A., Starr, M. B. ve Masket, S. (2002). Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery: an evidence-based update. *Ophthalmology*, 109(1), 13-24.
324. Mulcahy, L. T., Schimansky, S., Fletcher, E. ve Mohamed, Q. (2021). Post-injection endophthalmitis rates with reduced povidone-iodine prophylaxis in patients with self-reported iodine sensitivity. *Eye*, 35(6), 1651-1658.
325. Laude, A., Lim, J. W., Srinagesh, V. ve Tong, L. (2017). The effect of intravitreal injections on dry eye, and proposed management strategies. *Clin Ophthalmol*, 11, 1491-1497.
326. Jiang, J., Wu, M. ve Shen, T. (2009). The toxic effect of different concentrations of povidone iodine on the rabbit's cornea. *Cutaneous and ocular toxicology*, 28(3), 119-124.
327. Berkelman, R. L., Holland, B. W. ve Anderson, R. L. (1982). Increased bactericidal activity of dilute preparations of povidone-iodine solutions. *J Clin Microbiol*, 15(4), 635-639.
328. Pels, E. ve Vrensen, G. F. (1999). Microbial decontamination of human donor eyes with povidone-iodine: penetration, toxicity, and effectiveness. *The British journal of ophthalmology*, 83(9), 1019-1026.
329. Ferguson, A. W., Scott, J. A., McGavigan, J., Elton, R. A., McLean, J., Schmidt, U., ve ark. (2003). Comparison of 5% povidone-iodine solution against 1% povidone-iodine solution in preoperative cataract surgery antisepsis: a prospective randomised double blind study. *British Journal of Ophthalmology*, 87(2), 163.
330. Friedman, D. A., Mason, J. O., 3rd, Emond, T. ve McGwin, G., Jr. (2013). Povidone-iodine contact time and lid speculum use during intravitreal injection. *Retina (Philadelphia, Pa)*, 33(5), 975-981.
331. Sutcu, C., Fukuoka, H. ve Afshari, N. A. (2016). Mechanisms and management of dry eye in cataract surgery patients. *Current opinion in ophthalmology*, 27(1), 24-30.
332. Hwang, H. B. ve Kim, H. S. (2014). Phototoxic Effects of an Operating Microscope on the Ocular Surface and Tear Film. 33(1), 82-90.
333. Li, X. M., Hu, L., Hu, J. ve Wang, W. (2007). Investigation of dry eye disease and analysis of the pathogenic factors in patients after cataract surgery. *Cornea*, 26(9 Suppl 1), S16-20.
334. Mantelli, F., Tranchina, L., Lambiase, A. ve Bonini, S. (2011). Ocular surface damage by ophthalmic compounds. *Current opinion in allergy and clinical immunology*, 11(5), 464-470.
335. de Paiva, C. S. (2017). Effects of Aging in Dry Eye. *International ophthalmology clinics*, 57(2), 47-64.
336. Goldstein, M. H., Silva, F. Q., Blender, N., Tran, T. ve Vantipalli, S. (2021). Ocular benzalkonium chloride exposure: problems and solutions. *Eye*.
337. Pan, Z., Fukuoka, S., Karagianni, N., Guaiquil, V. H. ve Rosenblatt, M. I. (2013). Vascular endothelial growth factor promotes anatomical and functional recovery of injured peripheral nerves in the avascular cornea. *FASEB J*, 27(7), 2756-2767.
338. Ridder, W. H., 3rd, Oquindo, C., Dhamdhere, K. ve Burke, J. (2017). Effect of Povidone Iodine 5% on the Cornea, Vision, and Subjective Comfort. *Optometry and vision science : official publication of the American Academy of Optometry*, 94(7), 732-741.
339. Dohlman, T. H., Lertsuwanroj, B., D'Amico, D. J., Ciralsky, J. B. ve Kiss, S. (2019). Evaluation of signs and symptoms of ocular surface disease after intravitreal injection. 97(8), e1154-e1156.
340. Polat, O. A., Çetinkaya, Z., Evereklioglu, C., Karaca, Ç. ve Erkiliç, K. (2021). Effect of Repeated Topical Povidone-Iodine and Antibiotic Applications on Meibomian Glands and Ocular Surface Parameters in Patients With Repeated Intravitreal Injections. *Eye & contact lens*, 47(12), 651-654.

341. Ulutas, H. G. ve Yener, N. P. (2021). Effects of Intravitreal Injection on Ocular Surface and Anterior Segment Parameters. *Beyoglu eye journal*, 6(2), 84-89.
342. Zhang, X., Zhao, L., Deng, S., Sun, X. ve Wang, N. (2016). Dry Eye Syndrome in Patients with Diabetes Mellitus: Prevalence, Etiology, and Clinical Characteristics. *Journal of ophthalmology*, 2016, 8201053.
343. Manaviat, M. R., Rashidi, M., Afkhami-Ardekani, M. ve Shoja, M. R. (2008). Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. *BMC Ophthalmol*, 8, 10.
344. Cheng, C. Y., Liu, J. H., Chiang, S. C., Chen, S. J. ve Hsu, W. M. (2000). Statistics in ophthalmic research: two eyes, one eye or the mean? *Zhonghua yi xue za zhi = Chinese medical journal; Free China ed*, 63(12), 885-892.
345. Murdoch, I. E., Morris, S. S. ve Cousens, S. N. (1998). People and eyes: statistical approaches in ophthalmology. *The British journal of ophthalmology*, 82(8), 971-973.
346. (2007). The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). *The ocular surface*, 5(2), 75-92.
347. Acera, A., Rocha, G., Vecino, E., Lema, I. ve Durán, J. A. (2008). Inflammatory markers in the tears of patients with ocular surface disease. *Ophthalmic research*, 40(6), 315-321.
348. Kumar, A., Sharma, S. P., Agarwal, A., Gupta, V., Katoch, D., Sehgal, S., ve ark. (2021). Tear IL-6 and IL-10 levels in HLA-B27-Associated Uveitis and Its clinical Implications. *Ocular immunology and inflammation*, 29(2), 237-243.
349. Malvitte, L., Montange, T., Vejux, A., Baudouin, C., Bron, A. M., Creuzot-Garcher, C., ve ark. (2007). Measurement of inflammatory cytokines by multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs. *The British journal of ophthalmology*, 91(1), 29-32.
350. Cascella, R., Ragazzo, M., Strafella, C., Missiroli, F., Borgiani, P., Angelucci, F., ve ark. (2014). Age-related macular degeneration: insights into inflammatory genes. *Journal of ophthalmology*, 2014, 582842-582842.
351. Tan, W., Zou, J., Yoshida, S., Jiang, B. ve Zhou, Y. (2020). The Role of Inflammation in Age-Related Macular Degeneration. *Int J Biol Sci*, 16(15), 2989-3001.
352. Camelo, S. (2014). Potential Sources and Roles of Adaptive Immunity in Age-Related Macular Degeneration: Shall We Rename AMD into Autoimmune Macular Disease? *Autoimmune diseases*, 2014, 532487.
353. Kersten, E., Paun, C. C., Schellevis, R. L., Hoyng, C. B., Delcourt, C., Lengyel, I., ve ark. (2018). Systemic and ocular fluid compounds as potential biomarkers in age-related macular degeneration. *Survey of Ophthalmology*, 63(1), 9-39.
354. Roda, M., Corazza, I., Bacchi Reggiani, M. L., Pellegrini, M., Taroni, L., Giannaccare, G., ve ark. (2020). Dry Eye Disease and Tear Cytokine Levels-A Meta-Analysis. *International journal of molecular sciences*, 21(9).
355. Zhang, R., Park, M., Richardson, A., Tedla, N., Pandzic, E., de Paiva, C. S., ve ark. (2020). Dose-dependent benzalkonium chloride toxicity imparts ocular surface epithelial changes with features of dry eye disease. *The ocular surface*, 18(1), 158-169.