

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TAVŞANLARDA UYGULANAN DENEYSEL GLOKOM FİLTRAN CERRAHİSİ
SONRASI TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ NİNTEDANİB UYGULAMASININ SKAR
VE FİBROZİS OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN MİTOMİSİN-C İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ

ARŞ. GÖR. DR. REFREF YÜKSEL

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TAVŞANLARDA UYGULANAN DENEYSEL GLOKOM FİLTRAN CERRAHİSİ
SONRASI TİROZİN KİNAZ İNHİBİTÖRÜ NİNTEDANİB UYGULAMASININ SKAR
VE FİBROZİS OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİNİN MİTOMİSİN-C İLE
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK İNCELENMESİ

ARŞ. GÖR. DR. REFREF YÜKSEL

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF.DR. NURŞEN YÜKSEL

ETİK KURUL ONAYI: 27.02.2020 KOÜ HADYEK 2/8-2020

TEŞEKKÜR

Kliniğimiz ve üniversitemiz kurucularından olan, eğitimim sürecinde tanımdan onur ve gurur duyduğum çok değerli hocam Prof. Dr. Yusuf Çağlar' a, mesleki anlamda bizlerle tecrübelerini her zaman paylaşan ve biz asistanların herhangi bir sorunu olduğunda her zaman yardım eden, tez sürecimde her konuda bana çok yardımcı olan ve emeğini benden esirgemeyen anabilim dalı başkanımız ve tez danışmanı kıymetli hocam Prof. Dr. Nurşen Yüksel'e, cerrahi becerinin sabır, disiplin ve çok çalışmakla oluşabileceğini kendi meslek hayatıyla bize gösteren, cerrahi ve klinik eğitimimde çok büyük yeri olan , bilgi ve tecrübesi ile bana her konuda yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Veysel Levent Karabaş'a, çok kısa süre çalışma fırsatı bulsamda cerrahi eğitim ve meslek hayatıyla örnek olan sevgili hocam Doç. Dr. Berna Özkan'a, kendisiyle çalışma fırsatı bulmasamda gerek kişiliğiyle, gerek engin bilgi ve deneyimiyle her zaman bana örnek olan ve pek çok bilgi edindiğim; tez ve sınav sürecinde hep yanımda olan değerli hocam Prof.Dr. Özgül Altıntaş'a, asistanlığım süresince mesleki ve manevi her türlü konuda desteğini esirgemeyen ve eğitimimde büyük katkıları olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Dilara Pirhan'a, cerrahiye başladığım ilk zamanlarda sabırla yanımda olan, cerrahi ve klinik eğitimimde çok büyük katkıları olan ve her zaman desteğini yanımda hissettiğim çok değerli hocam Dr.Öğr. Üyesi Sevgi Subaşı' na, asistanlık sürecimde önce kıdemlim sonra da hocam olarak mesleki anlamda desteğini esirgemeyen, cerrahi ve klinik bilgisiyle bana yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Büşra Tuğan'a sonsuz şükran ve minnet duygularımı sunarım.

Tez sürecinde benden yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Yusufhan Yazır'a ve tez sürecinde bu tezi gerçekleştirebilmemi sağlayan ve maddi destekte bulunan Bilimsel Araştırmalar ve Proje Birimine (BAP) teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemi sağlayan, ömrüm boyunca layık olmaya çalışacağım babama, anneme, bu günlere gelmemde ve asistanlık sürecimde çok büyük katkıları olan ablam ve enişteme; her zaman beraber olduğum hem ikizim hem meslektaşım olan ve tüm meslek ve asistanlık hayatımda en büyük destekçim olan ikiz kardeşime sonsuz minnet duygularımı ve sevgilerimi sunarım.

Eğitimim boyunca beraber pek çok Őey paylaŐtıđımız, birlikte olmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarımlın her birine, kliniğimizde çalıŐan hemŐire ve personelimize desteklerinden ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Refref Yüksel



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZELGESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
GRAFİKLER LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. GLOKOM AÇISINDAN GÖZÜN EMBRİYOLOJİSİ.....	3
2.2. GLOKOM AÇISINDAN GÖZÜN ANATOMİSİ.....	3
2.3. GLOKOM AÇISINDAN GÖZÜN FİZYOLOJİSİ.....	4
3. GLOKOM VE SINIFLAMASI	5
3.1. PRİMER AÇIK AÇILI GLOKOM	5
3.1.1. Epidemiyoloji ve Prevelans	5
3.1.2. Risk Faktörleri	6
3.1.2.1. Yaş	6
3.1.2.2. İntraoküler Basınç.....	6
3.1.2.3. Vasküler Hastalıklar	6
3.1.2.4. Myopi.....	7
3.1.2.5. Irk.....	7
3.1.2.6. Aile Hikayesi ve Genetik Yatkınlık.....	7
3.1.3. PAAG de Tedavi.....	7
3.1.3.1. Tıbbi Tedavi	8
3.1.3.2.Lazer Trabeküloplasti	10
3.1.3.3. Cerrahi Tedavi	11
3.2. GLOKOM FİLTRASYON CERRAHİSİ ve KOMPLİKASYONLARI.....	12
3.2.1.Trabekülektomi.....	12
3.2.1.1. Cerrahi Teknik.....	13
3.2.2. Glokom Filtran Cerrahisi Komplikasyonları	14
3.2.2.1. İntraoperatif Komplikasyonlar	14

3.2.2.2. Erken Postoperatif Komplikasyonlar	15
3.2.2.3. Geç Postoperatif Komplikasyonlar	15
4. TRABEKÜLEKTOMİDE YARA İYİLEŞMESİ	15
4.1. YARA İYİLEŞMESİNİN EVRELERİ	15
4.1.1. İnflamasyon Evresi.....	15
4.1.2. Proliferasyon Evresi	16
4.1.3. Yeniden Şekillenme Evresi.....	17
4.2. YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ	17
4.2.1. Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)	18
4.2.2. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)	18
4.2.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF- β).....	18
4.2.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF).....	19
4.2.5. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF).....	19
5. GLOKOM CERRAHİSİNDE YARA İYİLEŞMESİ MODÜLASYONU.....	21
5.1. CERRAHİ TEKNİKTEKİ DEĞİŞİKLİKLER	21
5.2. ANTIİNFLAMATUAR AJANLAR; STEROİDLER VE NONSTEROİD ANTIİNFLAMATUAR İLAÇLAR.....	22
5.2.1. Kortikosteroidler	22
5.2.2. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar(NSAİDs)	23
5.3. ANTİFİBROTİK VE ANTİMETABOLİT İLAÇLAR	23
5.3.1. Mitomisin-C(MMC)	23
5.3.2. 5-Fluorourasil(5-FU)	24
5.4. BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SİTOKİNLERE ETKİ EDEN AJANLAR	25
5.5. AMNİYON ZARI UYGULAMASI.....	27
5.6. FİBRİNOLİTİK İLAÇLAR	27
5.7. YENİ JENERASYON İLAÇLAR; RHO KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ (ROCK)	27
6. NİNTEDANİB	29
7. GEREÇ VE YÖNTEM	31
7.1. FİBROBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNDE NİNTEDANİB UYGUN DOZUN BULUNMASI	31
7.2. İLAÇLARIN HAZIRLANIŞI.....	32

7.2.1. Nintedanibin Hazırlanışı.....	32
7.2.2. Mitomisin –C’nin Hazırlanışı	32
7.3. CERRAHİ ÖNCESİ HAZIRLIK	32
7.4. CERRAHİ TEKNİK.....	33
7.4. İntraoküler Basınç Ölçümü	35
7.5. Biomikroskopik Muayene ve Bleb Değerlendirilmesi	35
7.6. Patolojik İnceleme	36
7.6.1. Histopatolojik İnceleme.....	36
7.6.2. İmmünohistokimyasal Boyama	38
8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER.....	40
9. BULGULAR.....	41
9.1. FİBROBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNDE NİNTEDANİB UYGUN DOZUN BULUNMASI	41
9.2. Klinik Değerlendirme ve Komplikasyonlar	41
9.3. POSTOPERATİF GÖZ İÇİ BASINCI DEĞİŞİMLERİ	42
9.4. IBGAS SİSTEMİNE GÖRE BLEBLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	46
9.5. POSTOPERATİF FİLTRAN BLEBLER VE SAĞKALIM SÜRELERİ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	52
9.6. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME BULGULARI	54
9.6.1. Hematoksilen&Eozin (H&E) İnceleme Bulguları	54
9.6.2. Masson trikrom (MT) Boyama Bulguları.....	61
9.5. İMMÜNOHİSTOKİMYA İNCELEME BULGULARI.....	66
9.5.1. α -SMA İmmünohistokimyası.....	66
9.5.2. Tgf- B immünohistokimyası.....	70
9.5.3. MMP-2 İmmünohistokimyası.....	75
10. TARTIŞMA.....	81
11.SONUÇLAR.....	93
12. ÖZET.....	95
13. ABSTRACT.....	97
14. KAYNAKÇA.....	99

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZELGESİ

α-SMA	: Alfa smooth muscle actin
5-FU	: 5 Fluorourasil
ALT	: Argon Lazer Trabeküloplasti
CsA	: Siklosporin
DMSO	: Dimetilsülfoksit
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FGFR	: Fibroblast Büyüme Faktörü Reseptörü
GFC	: Glokom Filtran Cerrahi
GİB	: Göz İçi Basıncı
HE	: Hematoksilen Eozin
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
INF-a	: İnterferon Alfa
MIGS	: Minimal İnvaziv Glokom Filtran Cerrahisi
MLT	: Mikropulse Lazer Trabeküloplasti
MMC	: Mitomisin-C
MMP-2	: Matriks Metalloproteinaz 2
MMPs	: Matriks Metalloproteinazlar
NSAİDs	: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar
PAAG	: Primer Açık Açılı Glokom
PAKG	: Primer Açık Kapanması Glokomu
PDGF	: Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü
PDGFR	: Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü Reseptörü
PMNL	: Polimorfonükleer Lökosit
SF	: Serum Fizyolojik
SLT	: Selektif Lazer Trabeküloplasti
TGF-β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta

TGF-a	: Transforme Edici Büyüme Faktörü Alfa
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
tPA	: Doku Plazminojen Aktivatörü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGFR	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Primer Açık Açılı Glokomda Kullanılan Topikal İlaçlar ve Özellikleri(11)	10
Tablo 2. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri (74)	20
Tablo 3. Indiana Bleb Appearance Grading Scale (IBAGS)(136).....	35
Tablo 4. Kassem RR ve arkadaşlarının skorlama sistemi (137)	37
Tablo 5. Hilgert ve arkadaşlarının skorlama sistemi,2018 (138)	39
Tablo 6. Preoperatif ve postoperatif 1, 3, 5,7, 10, 14, 21 ve 28.gün GİB değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması.....	43
Tablo 7. Deneklerin postoperatif 1. güne göre ; postoperatif 3, 5, 7, 10, 14, 21 ve postoperatif 28.gün GİB değişimlerinin (farkların) Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C grupları arasında karşılaştırılması.....	45
Tablo 8. IBGAS Skoruna Göre Bleb yüksekliğinin 7, 14, 21 ve 28.gün değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması	47
Tablo 9. IBGAS Skoruna Göre Bleb Genişliğinin 7, 14, 21 ve 28.gün değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması	49
Tablo 10. IBGAS Skoruna Göre Bleb Vaskülarizasyonunun 7, 14, 21 ve 28.gün değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması	51
Tablo 11. Gruplardaki Bleb ömrünün karşılaştırılması.....	52
Tablo 12. Gruplardaki konjonktival vaskülarite ve inflamasyon değerlerinin karşılaştırılması	59
Tablo 13. Fibroblast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması	61
Tablo 14. Gruplardaki Subkonjonktival Fibrozis değerlerinin karşılaştırılması.....	65
Tablo 15. Gruplardaki A-SMA Boyanma oranları ve yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması	69
Tablo 16. Gruplardaki TGF-B Boyanma oranları ve yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması	74
Tablo 17. Gruplardaki MMP-2 Boyanma oranları ve yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması	79

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.** Nintedanibin kimyasal yapısı29
- Şekil 2.** Cerrahi işlemin basamakları34
- Şekil 3.** Postoperatif 1. gün, 3. gün, 7.gün, 14. Gün, 21.Gün ve 28.günde bleblerin makroskopik görünümü.....53
- Şekil 4.** Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Konjunktival epitelde devamlılık ve subkonjunktival dokuda sağlıklı morfoloji gözlemlenmektedir. Şekil 5A’da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil5B’de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. H&E, A,200X; B,400X magnifikasyon54
- Şekil 5** Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Subkonjunktival doku (siyah çerçeve) ve bleb bölgesi (sarı çerçeve) sırasıyla Şekil 6B ve 6C’de detaylı olarak gösterilmiştir. Siyah okbaşı, subkonjunktival dokudaki lökositik infiltrasyonu göstermektedir. H&E, A-200X ve B ve C 400X magnifikasyon55
- Şekil 6.** Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Şekil 7A’da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 7B daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Bleb bölgesindeki şiddetli lökositik infiltrasyon dikkat çekmektedir. Siyah ok, bu infiltrattaki polimorfonükleer nötrofilleri; okbaşları ise lenfositleri göstermektedir. H&E, A-100X ve B-400X magnifikasyon55
- Şekil 7.** Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu ve bleb bölgesini gösteren fotomikrograf. Şekil 8A’da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 8B’de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Siyah oklar subkonjunktival dokuda artan vaskülarizasyonu ve vazodilatasyonu gösterirken; siyah okbaşları bleb bölgesindeki lökositik infiltrasyonu göstermektedir. H&E, A-200X ve B-400X magnifikasyon56
- Şekil 8.** Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Şekil 9A’da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 9B’de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Artan vaskülarizasyon ve vazodilatasyon

(siyah oklar) dikkat çekmektedir. H&E, A-200X ve B-400X magnifikasyon.....	56
Şekil 9. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Şekil 10A'da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 10B'de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Siyah okbaşları subkonjunktivadaki lökositleri göstermektedir. H&E, A-200X ve B-400X magnifikasyon.....	57
Şekil 10 Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. H&E, 400X magnifikasyon	57
Şekil 11. Subkonjunktival dokuyu gösteren H&E, kolaj fotomikrograf . A. Kontrol Grubu B.Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu.....	58
Şekil 12. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Masson trikrom, A-200X ve B-400X magnifikasyon	62
Şekil 13. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Fibroze işaret eden yoğun kollajen sentezi/birikimi mavi renkte boyanmayla gösterilmiştir. Masson trikrom, A ve B 200X; C-400X magnifikasyon.....	62
Şekil 14. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu ve bleb bölgesini gösteren fotomikrograf. Şekil 16A'da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 16B'de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Masson trikrom, A-200X, B-400X magnifikasyon	63
Şekil 15. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival doku ve bleb bölgesini gösteren fotomikrograf. Masson trikrom, 200X magnifikasyon.....	63
Şekil 16. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Masson trikrom, A-200X, B-400X magnifikasyon.....	64
Şekil 17. Subkonjunktival dokuda kollejen birikimini gösteren kolaj fotomikrograf. A. Kontrol Grubu B.Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu	64
Şekil 18. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon	66
Şekil 19. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Beyaz ok, α -SMA pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon	66

Şekil 20. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Beyaz ok, α -SMA pozitif(+) hücreleri; siyah ok, α -SMA negatif(-) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.....	67
Şekil 21. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Beyaz ok, α -SMA pozitif(+) hücreleri; siyah ok, α -SMA negatif(-) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.....	67
Şekil 22. Subkonjunktival dokuda Asm-a immünreaktivitesini gösteren kolaj fotomikrograf.A. Kontrol Grubu B.Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu.....	68
Şekil 23. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon.....	70
Şekil 24. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, TGF- β negatif(-) hücreleri; beyaz ok, TGF- β pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.....	71
Şekil 25. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, TGF- β negatif(-) hücreleri; beyaz ok, TGF- β pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.....	71
Şekil 26. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, TGF- β negatif(-) hücreleri; beyaz ok, TGF- β pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.....	72
Şekil 27. Subkonjunktival dokuda TGF-B immünreaktivitesini gösteren kolaj fotomikrograf.A. Kontrol Grubu B.Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedan,b grubu.....	72
Şekil 28. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon.....	75

- Şekil 29.** Sham grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, MMP-2negatif(-) hücreleri; beyaz ok, MMP-2 pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon76
- Şekil 30.** Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, MMP-2 negatif(-) hücreleri; beyaz ok, MMP-2 pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 200X magnifikasyon.....76
- Şekil 31.** Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, MMP-2 negatif(-) hücreleri; beyaz ok, MMP-2 pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.....77
- Şekil 32.** Subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren kolaj fotomikrograf.A. Kontrol Grubu B.Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedan,b grubu.....77

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1. <i>In vitro</i> şartlarda fibroblast hücrelerinin nintedanib ile muamele edilmesi sonrasında 48. Saatteki hücre baskılanma düzeyleri izlenmektedir.....	41
Grafik 2. Deneklerde postoperatif göz içibasınç değişimi	44
Grafik 3. Gruplarda IBGAS skoruna göre Bleb yüksekliğinin değişimi.....	48
Grafik 4. Gruplarda IBGAS skoruna göre Bleb genişliğinin değişimi.....	50
Grafik 5. Gruplarda IBGAS Skoruna göre Bleb Vaskülarizasyonu değişimi.....	52
Grafik 6. Gruplarda Bleb ömrünün Kaplan-Meier survival analizi	53
Grafik 7. Gruplar Arası Konjunktival Vaskülarite Histolojik Skorları Karşılaştırılması	60
Grafik 8 Gruplar arası Konjunktival İnflamasyon Histolojik skorları karşılaştırılması.....	60
Grafik 9. Gruplarda Ortalama Fibroblast sayısının dağılımı	61
Grafik 10. Gruplar arası Subkonjunktival Fibrozis Histolojik skorları karşılaştırılması.....	65
Grafik11. Gruplar Arası a-SMA boyanma ve yoğunluk derecelerinin Karşılaştırılması.....	70
Grafik12. Gruplar Arası TGF-B boyanma ve Yoğunluk derecelerinin karşılaştırılması.....	75
Grafik13. Gruplar arası MMP-2 boyanma ve yoğunluk derecelerinin karşılaştırılması.....	80

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Glokom, retina ganglion hücresi kaybına ve optik sinir başında hasara yol açan, görme alanı daralmasının eşlik ettiği nöroretinal dokudaki karakteristik değişiklikleri içeren, progresif görme kaybına yol açan kronik bir hastalıktır.(1).Genellikle bilateraldir ancak daima simetrik değildir. Glokom dünyada körlük nedenleri arasında katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra üçüncü sırada yer almaktadır(2).

Başlangıç tedaviler arasında medikal tedaviler ve lazer trabekuloplasti bulunur ve bunlar ilerlemeyi yavaşlatır veya durdurur, ancak birçok ilerlemiş veya yanıt vermeyen primer açık açılı glokom vakasında cerrahi tedavi gerekmektedir. Cerrahi tedavide filtran cerrahiler intraoküler basıncı düşürmede başarılıdır ve trabekülektomi filtran cerrahide altın standart yöntem olarak değerlendirilmektedir(3). Trabekülektomi tercih edilen altın standart cerrahi yöntem olmasına rağmen cerrahinin başarısını sınırlandırebilecek birtakım faktörler vardır. Hastanın genç yaşta olması, preoperatif yüksek göz içi basıncı, diyabetes mellitus gibi ek hastalığın varlığı ve postoperatif komplikasyon olup olmaması cerrahinin başarısını etkilemektedir.(3).

Fistülizan cerrahi sonrası genellikle konjonktiva ve skleral bleb bölgesindeki aşırı ve hızlı yara iyileşme cevabı genellikle cerrahinin başarısızlığına neden olmaktadır. Aşırı yara iyileşme sürecinde sorumlu ana faktör artmış fibroblastik aktivitedir. Bu nedenle artmış fibroblastik aktiviteyi baskılamak ve cerrahi başarısızlığı önlemek için mitomisin – c(MMC) ve 5-fluorourasil (5FU) gibi antimetabolit ajanlar sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu ajanlar hipoton makülopatisi, blebitis, korneal endotelial toksisite, endoftalmi, katarakt gibi ciddi yan etkilere yol açabilmekte ve fibrozisi önlemede yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle daha az toksik ve postoperatif fibrozisi önlemede daha başarılı yeni ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır(3, 4).

Bu amaçla çalışmamızda tavşanlarda deneysel glokom filtran cerrahisi modeli oluşturulacak mitomisin-c ve multipl tirozin kinaz inhibitörü nintedanibin postoperatif bleb fibrozisi ve skar gelişimini önlemedeki etkinliğini inceleyeceğiz. Literatürde henüz glokom filtran cerrahisi sonrası gelişen postoperatif fibrozis, skar çalışmalarında kullanılmamış olan, idiyopatik pulmoner fibrozis tedavisinde kullanılan, multipl tirozin

kinaz inhibitörü antifibrotik ajan nintedanib ise pulmoner fibrozis modellerinde denenmiş olup başarılı bulunmuştur.(5, 6). Akciğer fibroblastları üzerinde antifibrotik etkinliği hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir(7). Nintedanibin 2019 yılında yayınlanan in vitro bir çalışmada insan tenon fibroblastları üzerinde antifibrotik etkinlik oluşturduğu ve subkonjonktival fibrozis için etkili terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür(7). Bu özelliklerinden dolayı nintedanibin glokom filtran cerrahisi ile ilişkili postoperatif bleb fibrozisi ve skar gelişimini önlemede etkili olabileceğini düşünmekteyiz.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. GLOKOM AÇISINDAN GÖZÜN EMBRİYOLOJİSİ

Göz; yüzey ektodermi, nöral ektoderm ve mezodermden gelişir. Birinci ayın sonuna doğru (22. gün) göz ilk olarak önbeyinin iç kısmında iki küçük çukurluk olarak farkedilir. Bu çukurluklar giderek genişleyerek optik vezikülü oluştururlar ve optik vezikül nöral krest hücreleri tarafından çevrilir. Nöral krest hücreleri embriyonun değişik lokalizasyonlarına göç ederek farklılaşırlar. Gestasyonun 5. Haftasında kornea epiteli ile lens arasına göçen nöral krest kaynaklı mezenkimal hücrelerden kornea endoteli ve stroması oluşur. Gestasyonun 6.haftasında lens epiteli ve kornea endoteli arasında primer pupiller membran oluşur. Gestasyonun 7. haftasında; kornea endoteli ve primer pupiller membran arasında ön kamara oluşmaya başlar, ön kamara açısının bulunduğu yerde kornea endoteli ve iris ön yüzeyi birleşir ve ön kamara açısını oluşturur. Gestasyonun 4. ayında nöral krest kaynaklı hücrelerden siliyer kas ve siliyer çıkıntılar oluşmaya başlar. Gestasyonun 5. ayında siliyer çıkıntılardan ilk aköz hümör üretimi başlar. Gestasyonun 4. ayında ön kamara açısında bulunan nöral krest hücrelerinden köken alan mezenşimal hücrelerden trabeküler ağ ve schlemm kanalı gelişmeye başlar. Gestasyonun 8. Ayında pupiller membran rezorbe olur ve açı elemanlarının gelişimi tamamlanır. Açının tam olarak gelişimi doğum sonrası 4. yılda tamamlanır.(8)

2.2. GLOKOM AÇISINDAN GÖZÜN ANATOMİSİ

Aköz hümör arka kamarada siliyer epitelyum hücreleri tarafından üretilen bir sıvıdır. Pupilladan geçerek ön kamaraya ulaşır ön kamara açısından dışarı çıkar(8) .Bu yolda şu anatomik bileşenler bulunur.

Korpus silyare: İris ve koroid arasında yer alan bir uveal dokudur. Anatomik olarak pars plana ve pars plicata olmak üzere iki parçadan oluşur. Siliyer epitelyum, siliyer kas ve stroma olarak üç parçadan oluşur.

Ön kamara açısı: Kornea ve irisin birleşme yeri olup aköz hümörün drenajını sağlar. Schwalbe çizgisi, trabeküler ağ, schlemm kanalını içerir.

Schwalbe Çizgisi: Korneadaki descemet membranının sonlandığı, kabarık gri-beyaz çıkıntıdır. Kornea ve trabeküler endotel hücreleri arasında geçiş zonedir(8).

Trabeküler ağ(Trabekülum):Aköz sıvının %90'nın içerisinde geçerek gözü terk ettiği fagositik özellikteki endotel hücrelerinden oluşmuş elek benzeri bir yapıdır. Uveal ağ, korneasklereal ağ ve jukstakanaliküler ağ olmak üzere üç kısımdan oluşur.

Schlemm Kanalı: Trabekülumun arkasında perilimbal sklerada yer alan dairesel kanallardır. İç duvarı aköz transfer eden endotel hücrelerle kaplı, dış duvarı ise episklereal venlerle bağlantıda olan kolektör kanalların ağızlarını içerir(8, 9).

2.3. GLOKOM AÇISINDAN GÖZÜN FİZYOLOJİSİ

Aköz hümör siliyer epitelyum hücreleri tarafından üretilir, arka kamaradan pupiller açıklıktan ön kamaraya geçer ve buradan da iki şekilde gözü terk eder.

1.Trabeküler yol: Dışa akımın %80'nini kapsar. Aköz trabekülumdan Schlemm kanalına oradan da toplayıcı kanallar yolu ile episklereal venlere drene olur.

2.Uveasklereal yol: Dışa akımın %10'nu kapsar. Aköz hümör siliyer cisim yüzeyinden suprakoroidal boşluğa akar ve siliyer cisim, koroid ve skleradaki venöz dolaşıma katılır.(8, 9)

3.GLOKOM VE SINIFLAMASI

2020 yılında 76.0 milyon insanın glokom hastası olduğu , bu sayının gittikçe arttığı ve 2040 yılında yaklaşık 111.8 milyon insanın glokom hastası olacağı tahmin edilmektedir(10) Bu 70 milyondan fazla hastanın da yaklaşık %10'nun da glokom nedeniyle bilateral, geri dönüşümsüz körlük olduğu bildirilmektedir. Hastaların yarısından fazlasında hastalık ciddi seviyeye gelene kadar asemptomatiktir ve hastalar farkında değildir(11). 76 milyon hastanın 52.68 milyonu(%69) primer açık açılı glokom (PAAG), 23.86 milyonu ise(% 31) primer açılı kapanması glokomudur (PAKG) (10). Glokom primer, sekonder ve doğumsal olarak 3 grupta incelenir. Primer glokomlar da primer açık açılı glokom(PAAG) ve primer açılı kapanması glokomu(PAKG) olarak iki sınıfta incelenir(12).

3.1.PRİMER AÇIK AÇILI GLOKOM

Primer açık açılı glokom en sık görülen glokom tipidir. Primer açık açılı glokomda ön kamara açısı açıktır ve göz içi basıncının artışının en önemli nedeni ise aköz hümörün dışı akımında direnç gelişmesidir(8, 13).Dışa akım direnci en fazla trabeküler ağ ile Schlemm kanalı endoteli arasındaki bölgede yani jukstakanaliküler tabakada olmaktadır. Bu bölgedeki direnç oluşturabilecek faktörler; yabancı madde birikimi, trabeküler endotelyal hücre kaybı, Schlemm kanalı iç duvarındaki endotelyal yapıdaki delik sayısında azalma, Schlemm kanalı iç duvarındaki vakuollerin kaybı ve nörolojik geri bildirim mekanizmasındaki bozulmadır(8).

3.1.1. Epidemiyoloji ve Prevelans

Tüm dünyada primer açık açılı glokom prevelansı %3.05'dir. PAAG'un prevelansının en yüksek olduğu yer %4.2 oranıyla Afrika'dır. Avrupa kökenlilerde PAAG ise Afrika'lılara oranla daha az görülmektedir(10)Epidemiyolojik çalışmalarda beyaz erişkinlerde PAAG prevelansının %1.5 iken, siyahlarda%5 oranıyla daha fazla olduğu görülmüştür(14).Yapılan çalışmalar göstermiştir ki erkeklerde kadınlara göre açık açılı glokom gelişme oranının daha fazla olduğu ve yine yaş arttıkça PAAG prevelansının da hızla arttığı görülmüştür (10)Türkiyede de PAAG prevelansının Avrupa ile benzer olduğu görülmüştür.

3.1.2.Risk Faktörleri

3.1.2.1.Yaş

İleri aş PAAG gelişmesi için güçlü bir risk faktörüdür. Yaş arttıkça PAAG prevalansı artmaktadır(11).Glokomatöz hasarın gelişimi ve ilerlemesi yaşa bağlı oldukça yüksektir çünkü retinal ganglion liflerinin kümülatif kaybı yaşam boyu yaşla birlikte artar(15). Prevalans, en yaşlı kişilerde dört ila on kat daha yüksektir daha genç yaş gruplarına göre kıyaslandığında(16) Örneğin, ABD'de beyaz bir nüfusun PAAG prevalansı 43-54 yaş grubunda% 0,9'dan 75 yaş ve üzerine gidildiğinde % 4,7'ye yükselmektedir(17).

3.1.2.2. İntraoküler Basınç

İntraoküler basınç glokom için güçlü bir risk faktörüdür. Göz içi basınç değeri yükseldikçe dramatik bir şekilde PAAG prevalansı da artmaktadır. Ancak normal göz içi basınç değerlerinde de glokom gelişebilmektedir(11).Yapılan prevalans çalışmalarında glokomlu olguların yaklaşık %20-39'nda göz içi basıncı normal değerde bulunmuştur, bu nedenle böyle olgular normal basınçlı glokom olarak PAAG'den farklı bir antinite olarak değerlendirilmiştir(18).Bu nedenle yüksek GİB her glokomatöz gözde olmamak kaydıyla PAAG için modifiye edilebilir en önemli risk faktörlerinden biridir(15).

3.1.2.3. Vasküler Hastalıklar

Sistemik kan basıncı ve diyabetes mellitus gibi vasküler hastalıklar PAAG için risk faktörleri arasında yer almaktadır(19, 20).Australian Blue Mountains Eye çalışma grubu kontrolsüz sistemik hipertansiyonu olan hastalarda kan basıncı normal olanlara kıyasla glokom insidansının iki katına çıktığını buldular(15). Vasküler bozukluklar glokomdaki etkisini oküler kan akımını azaltarak açığa çıkartırlar. Optik disk mikrosirkülasyonu optik sinir hasarı için muhtemel bir mekanizmadır(21).Glokomatöz hasarı olan olgularda var olandan daha yaygın şekilde vasküler bozukluklar saptanmıştır, özellikle normal basınçlı glokom olgularında ancak patogenezdeki vasküler faktörlerin kesin rolü belirsizdir. Düşük kan akımı da oküler perfüzyonu bozarak, optik sinir hasarına yol açarak görme kayıpları ve

glokoma yol açabilir. Yinede vasküler perfüzyonun glokomda kesin bir faktör olduğuna dair dair yeterli kanıt yoktur(15).

3.1.2.4. Myopi

Myopi epidemiyolojik çalışmalarda PAAG için kesin kanıtlanmamış bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Günümüzde düşük derece miyopi glokom için bir risk faktörü olmamasına karşın orta ve yüksek derece miyopi(>3-4) PAAG için artmış bir risk faktörü olarak ilişkilendirilmiştir(15).

3.1.2.5. Irk

Afrika kökenli bireylerin yüksek göz içi basıncına sahip olma olasılığı diğer etnik gruplara göre daha yüksektir(22).PAAG prevalansı siyahilerde beyaz ırka göre 4-5 kat daha yüksektir. Glokom prevalansı 80 yaş ve üzeri siyahilerde %11 dir. African halkında glokom beyazlara göre daha erken başlar ve tanı aldıklarında daha ciddi düzeyde olur(2).

3.1.2.6. Aile Hikayesi ve Genetik Yatkınlık

Ailesel faktörler PAAG'a yatkınlıkta rol oynamaktadır(23). Glokom hastalarının birinci derece akrabaları glokom açısından aile hikayesi olmayanlara göre daha yüksek risk taşır ancak geçmişteki ailedeki hastaların kısmen hatırlanması ve aile hikayesi olan bireylerin daha düzenli oftalmolojik muayene olmalarından dolayı çalışmalardaki sonuçlar farklılıklar göstermektedir(24).PAAG ile ilişkili genetik mutasyonlar a MYOC, OPTN ve WDR36'dır(15). Juvenil başlangıçlı primer açık açılı glokomda 1q kromozomunda bir defekt bildirilmiştir (GLC1A)(25). MYOC geni bu kromozom üzerinde bulunmaktadır ve miyosilin proteini üretmektedir. Myosilin mutasyonu tüm dünyadaki saptanmış juvenil başlangıçlı PAAG olgularının %3-5'nde saptanmıştır(12).

3.1.3. PAAG de Tedavi

PAAG da tedavinin ana amacı intraoküler basıncın normal seviyeye getirilmesi ve bu sayede optik sinir hasarının önlenmesi ve görmenin korunmasıdır(26, 27).Bu amaçla

intraoküler basıncı azaltıcı tedavi metodları; medikal tedavi, lazer tedavisi ve cerrahi yöntemdir(28).

3.1.3.1. Tıbbi Tedavi

Medikal tedavi PAAG tedavisinde sıklıkla hala ilk uygulanan tedavidir(29).Bu amaçla topikal ve sistemik ilaçlar monoterapi yada kombinasyon şeklinde uygulanmaktadır(28). Bu ilaçlar ve özellikleri şunlardır:

I. Topikal B –adrenerjik reseptör antagonistleri:

Nonselektif β -blokörler: timolol, levobunolol, karteolol, metipranalol

Selektif β -blokörler: betaksolol

Beta blokörler aköz humör yapımını azaltarak etki ederler.

II. Topikal adrenerjik agonistler:

Selektif olmayan agonistler: epinefrin, dipivefrin

α -2 selektif agonistler: brimonidin, apraklonidin

Bu grup ilaçlar aköz humörün iridokorneal açıdan ve uveoskleral yollardan dışa akımını kolaylaştırarak GİB'i düşürmektedir. Ayrıca adenilat siklazı inhibe ederek siliyer cisimden hümör aköz akımını azaltırlar.

III. Topikal prostoglandin analogları: Latanoprost, travaprost, bimatoprost, tafluprost

Bu ilaçlar uveoskleral yoldan dışa akımı kolaylaştırarak etki etmektedir.

IV. Topikal kolinerjik agonistleri(Parasempatomimetikler):Pilokarpin, karbakol,

Hümör aközün trabeküler yoldan dışa akımını kolaylaştırmaktadır.

V.Topikal Karbonik anhidraz inhibitörleri: Dorzolamid, brinzolomid

Siliyer cisimdeki karbonik anhidraz enzimini inhibe ederek aköz hümör yapımını azaltırlar.

VI. Sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri: Asetazolamid, metazolamid.

Aköz humör yapımını azaltarak etki etmektedirler(11)

VII. Sistemik hiperosmotik ajanlar: Mannitol, gliserol

Hiperosmotik ajanlar kan osmotik basıncını yükselterek vitreus sıvısının göz dışına çıkmasına ve bu şekilde GİB'in düşmesine neden olmaktadır (30).

VIII. Yeni antiglokomatöz ilaçlar(Rho kinaz inhibitörleri):Roclatan, Ar-13324(Rhopressa)

Bu ilaçlar etkisini aközün trabeküler dışa akımını artırarak gösterirler ve bunu trabeküler ağın kasılmasını direkt olarak aktifleyerek yaparlar(31).

Rhopressa: Bir rho kinaz ve nöropinefrin transportör inhibitörüdür. İntraoküler basıncı 3 yolla düşürür; Aköz hümör yapımını azaltarak, aköz trabeküler dışa akımını artırarak ve episkleral venöz basıncı azaltarak(32).

Roclatan: Rhopressa ve latanoprost kombinasyonudur(33).

Tablo 1. Primer Açık Açılı Glokomda Kullanılan Topikal İlaçlar ve Özellikleri(11)

Sınıf	İlaçlar	Etki Mekanizması	Notlar
Aköz Hümör Dışa Akımı(Uveaskleral yol)			
Prostaglandin Anologları	Latanoprost, travoprost bimatoprost and tafluprost	Üveaskleral yola etkisi ile aköz hümör dışa akımını artırır	<ul style="list-style-type: none">• İlk sırada tercih edilir• Yüksek etkinliğe sahiptir ve iyi tolere edilir
Aköz Hümör Dışa Akımı(Konvensiyonel yol)			
Kolinerjik Agonistler	Pilokarpin and Karbakol	Trabeküler ağ yolu ile aköz hümör dışa akımını artırır	<ul style="list-style-type: none">• Çok etkilidirler• Miyozis, psödomiyopi yapabilir.
Aköz Hümör Yapımı Azalması			
B Adrenerjik Reseptör Blokörleri	timolol, levobunolol, karteolol, metipranalol	Siliyer cisimden aköz hümör sekresyonunu azaltır	<ul style="list-style-type: none">• Epitelyal keratopati gibi oküler yan etkilere yol açabilir.• Hipoansiyon, bradikardi, bronkospazm gibi sistemik yan etkilere yol açabilir.
a –Adrenerjik Reseptör Agonistleri	brimonidin, apraklonidin	Siliyer çıkıntılardaki adenilat siklazı inhibe ederek aköz hümör çıkışını engeller	<ul style="list-style-type: none">• Oküler alerji yapma oranları yüksektir• Nöroprotektif etkileri vardır.
Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	Asetazolamid, metazolamid, Dorzolamid, brinzolomid	Siliyer epiteldeki karbonik anhidraz ve bikarbonat üretimini inhibe ederek aköz hümör yapımını azaltır	<ul style="list-style-type: none">• Topikal uygulanması oral uygulamaya göre daha iyi tolere edilir

3.1.3.2. Lazer Trabeküloplasti

Lazer tedavisi hasta maksimum tedavi(üç yada dört tane medikal tedavi) aldığı halde göz içi basıncında düşme sağlanamıyorsa yada maksimum medikal tedaviye rağmen optik sinir hasarında ilerleme oluyorsa ve özellikle de hastanın cerrahi için iyi bir aday olmadığı durumlarda uygulanmaktadır(34). PAAG için uygulanan lazer tedavileri lazer trabeküloplasti ve endolazer siklofotokoagülasyon şeklinde uygulanır. Endolazer siklofotokoagülasyon endolazer yada transskleral teknikle siliyer cisime uygulanır ve diğer tüm medikal yada cerrahi tedavilere dirençli PAAG olgularında uygulanır(35-37).

Argon Lazer Trabeküloplasti(ALT) 1979 da Wise ve Writter tarafından geliştirilmiş bir tedavi modalitesidir(34). ALT de oluşan lazer yanıkları ile trabeküler ağdaki lokal ekstrasellüler matriksin yeniden şekillendirilerek trabeküler ağ hücrelerinin aktive ederek ve boşlukları genişleterek hümör aközün dışa akımını artırarak intraoküler basıncı düşürür ancak yinede GİB'in nasıl düştüğünün mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır(38). Argon lazer kullanılır ve göze gonyolens yerleştirilerek iridokorneal açıdaki trabekülumun ön kısmına argon lazer 0.1 sn. süre ile 50 mikron çapta, 200-800 miliwatt güçte

uygulanmaktadır. Uygulama esnasında yanık yerlerinde beyazlaşmalar ve küçük hava kabarcıkları oluşmaktadır. ALT'nin 360°'ye tek seansta her kadrana 20-25 spot uygulanması önerilmektedir(39).

Selektif Lazer Trabeküloplasti(SLT) Latina ve arkadaşları tarafından 1998' de PAAG tedavisi için üretilen ve şu anda en yaygın olarak kabul edilen bir lazer tedavisidir(29).

SLT de Nd: YAG(neodymium-doped yttrium aluminium garnet laser) lazer kullanılır. ALT den daha az travmatiktir ve trabeküler ağ yapılarını hasarlamadan benzer sonuçlar elde edilir. SLT'nin GİB'i düşürücü etki mekanizması tam net değildir ama en favori teori SLT' nin herhangi bir termal etki olmadan hücresel düzeyde etki etmesi ve bunu da ya trabeküler ağ yolu kalıntılarının fagositozu yoluyla yada aköz dışa akımını artırmak için trabeküler ağın büyümesini uyararak yaptığıdır(40-43). SLT'nin trabeküler ağı ALT'den daha az hasarlaması onun uzun dönem daha başarılı olmasını ve ileride tekrarlanmasını sağlar(35). SLT glokom tedavi algoritmalarında maksimal medikal tedaviyi beklemeden daha erken uygulanabilir. Randomize kontrollü yapılan bir meta analizde medikal tedavi ile SLT karşılaştırıldığında GİB'İ düşürmede ve tedavi başarısında herhangi bir anlamlı fark bulunmamıştır. SLT 'nin günümüzdeki rolü ya primer tedavi olarak ya da medikal tedaviye ilave olarak kullanılmasıdır(38, 44).

Mikropulse Lazer Trabeküloplasti (MLT) de yeni bir lazer tedavi yöntemidir. 810 nm diod lazer kullanılır. Enerji, aralıklı periodlarla tekrarlanarak dağıtılır ve bu sayede termal enerji birikimi engellenir ve ısının artışı kontrollü sağlanır(45).Bundan dolayı trabeküler ağda koagülatif hasar gözlenmez.(46). Yapılan birkaç çalışmada MLT' nin etkinliği gösterilmiştir. Yapılan daha büyük çalışmalar ile MLT'nin PAAG deki GİB'i azaltıcı etki mekanizması tam olarak anlaşılacaktır(47, 48).

3.1.3.3.Cerrahi Tedavi

Tolere edilebilen maksimum medikal tedavi ve lazer tedavileri ile etkili sonuç alınamayan ve GİB'in düşüşü sağlanamayan PAAG' de cerrahi tedavi gerekmektedir(35, 49). Ayrıca GİB'in istenen değerlere düşmesine rağmen optik diskte çukurlaşmanın ve

görme alanı kaybının ilerlemesi, medikal tedavi ile tolere edilemeyen yan etkiler görülmesi ve kötü hasta uyumu da cerrahi endikasyonlar arasındadır(50).PAAG'de en sık kullanılan operasyon çeşitleri filtrasyon prosedürleridir. Trabekülektomi glokom filtran cerrahisi(GFC)'nin en popüler formudur(50). Trabekülektomi 40 yıldan daha fazla süredir en sık kullanılan filtran cerrahidir ve GİB'i uzun dönem düşürmede en etkili bir yöntemdir(51, 52).

Son yıllarda PAAG için yeni bir cerrahi yöntemi uygulanmaktadır, minimal invaziv glokom cerrahisi(MIGS). MIGS trabekülektomiye kıyasla daha güvenli bir cerrahi profili sağlar ve daha az major komplikasyonlara sahiptir, ancak GİB' düşürücü etkisi daha azdır. Bu nedenle özellikle orta derecede hastalıkta, medikal tedavi ve majör cerrahi arasında bir ara tedavi yöntemi olarak önerilmektedir(11, 49).

3.2. GLOKOM FİLTRASYON CERRAHİSİ ve KOMPLİKASYONLARI

3.2.1.Trabekülektomi

Trabekülektomi ilk olarak 1968 de Cairns tarafından tanımlandı(53) ve daha sonra 1970 de Watson tarafından modifiye edildi(54).Collaborative Initial Glokom Tedavi Çalışmasıve Advanced Glaucoma Intervention Çalışma grubu tarafından glokom için altın standart tedavi olduğu gösterilmiştir(55, 56). Özellikle önceden geçirilmiş cerrahi öyküsü olmayan ve oküler yüzey hastalığı olmayanlar trabekülektomi için iyi bir adaydır. Trabekülektomi birçok cerrah tarafından altın standart tedavi olarak değerlendirilse de bir takım faktörler cerrahi başarısızlığa neden olmaktadır. Genç yaşta olmak, daha önceden geçirilmiş başarısız filtran cerrahi, preoperatif yüksek GİB, diyabetes mellitus, kronik intraoküler inflamasyon, öncesinde uzun süre topikal tedavi kullanımı bu faktörlerdendir(57, 58). Cerrahi başarısızlığın önemli nedenlerinden biri de postoperatif bleb bölgesinde oluşan aşırı yara iyileşme cevabı ve skar formasyonudur(59). Mitomisin-c(MMC) ve 5-fluorourasil (5-flu) gibi antimetabolit ajanların cerrahide kullanımının bleb ömrünü ve cerrahinin başarısını artırdığı görülmüştür. Bu amaçla antimetabolitler özellikle de MMC trabekülektomide sıklıkla kullanılmaktadır(3).

Trabekülektomide amaç trabeküler ağı bypass ederek aköz dışı akımın ön kamaradan sub-tenon boşluğa geçmesini sağlayacak bir fistül oluşturarak GİB'i düşürmektir. Fistül yüzeysel bir skleral flep ile korunur ve üstü örtülür(9). Limbus tabanlı konjonktival flep ve forniks tabanlı konjonktival flep olmak üzere trabekülektomide iki şekilde konjonktival insizyon ve diseksiyon yapılabilir. Forniks tabanlı konjonktival flep de konjonktival insizyon limbus boyunca yada limbusun hemen yakınından yapılır. Limbal tabanlı konjonktival flepte ise insizyon limbusa çok daha posteriorndan yapılır ve sonra skleral yatağa ulaşmak için anteriora doğru diseke edilir. Yapılan çalışmalarda her iki yöntemin de başarısı benzer bulunmuştur sadece postoperatif komplikasyonlar ve uygulanış zorlukları bakımından farklılıklar bulunmuştur(3).Konjonktival flep cerrahın tercihine göre yapılır ancak önceden cerrahi geçirmiş, limbal açıklığı az olan, limbal skarlı gözlerde forniks tabanlı konjonktival fleb hazırlanır(60).

3.2.1.1. Cerrahi Teknik

Tüm trabekülektomiler öncelikle süperior temporal veya süperior nazal kadrandan yapılmalıdır. Daha önce konjonktivanın da etkilendiği cerrahi girişim geçirmiş olanlarda, insizyon yeri konjonktivanın hareketli olduğu, önceki cerrahi insizyon yerine uzak bir alandan yapılmalıdır. İlk başta üst rektüs ya da korneal traksiyon sütürü geçilir. Limbal veya forniks tabanlı konjonktiva ve tenon kapsül flebi üste doğru hazırlanır. Derinde episkleral doku altta limbus görülene kadar diseksiyon yapılır. Episkleral doku temizlenir ve skleral flep diseksiyonu öncesi hem kanamayı durdurmak için hem de planlanan skleral flebin yerinin belirlenmesi için koterizasyon yapılır. Antimetabolit uygulama kararı cerrahiden önce belirlenir. İntraoperatif 5- FU (50 mg / ml) 5 dakika süresince veya düşük doz MMC 0.2 mg / ml 2-5 dakika boyunca uygulanabilir. Risk faktörünün fazlalığına göre süre 2 dakikadan 5 dakikaya kadar artırılabilir. Çok yüksek riskli gözlerde yüksek konsantrasyonlarda MMC 0.4 mg/ml 2-5 dakikalık periyotlarda uygulanması gerekebilir. Antimetabolit emdirilmiş dikdörtgen şeklindeki sünger flebin oluşturulmak istendiği bölgeye yerleştirilir ve tenon ile konjonktiva süngerin üzerine örtülerek belirlenmiş süre boyunca bekletilir. Belirtilen süre sonunda tenon ve konjonktiva geri çekilir ve en az 10 ml dengeli tuz solüsyonu ile alan yıkanır.

Koterle belirlenen alana 45 derece keskin açılı bıçakla skleral fleb sınırları belirlenir. Fleb şekli ya 4*4 mm boyutlarında kare yada 4*2 mm boyutlarında dikdörtgen şeklinde olur, genelde kare şeklinde fleb tercih edilir. Skleral kalınlığın 2/3'ü kalınlıkta lameller skleral fleb kaldırıldıktan sonra ucu açılı küt bıçak ile saydam korneaya gelinceye kadar diseke edilir.

Üst dış periferal korneadan parasentez yapılır ve punc yardımı ile 1*2 mm boyutlarında derin skleral blok çıkarılır. Oluşan boşluğun iris tarafından kapanmasını önlemek için sklerektomi bölgesinden iris çıkarılarak periferik iridektomi yapılır. Skleral flebin uç kısımlarına tercihen 2 adet 10/0 nonabsorbabl sütün konulur. Parasentez yerinden ön kamaraya dengeli tuz solüsyonu verilip fistülün çalışıp çalışmadığı, skleral flebte sızıntı olup olmadığı izlenir, Tenon kapsülü ve konjonktiva 8/absorbabl sütün ile sütüre edilir. Parasentezden irrigasyon tekrarlanarak bleb oluşturulur ve tekrar kaçak kontrolü yapılır(8, 9, 60).

3.2.2. Glokom Filtran Cerrahisi Komplikasyonları

Trabekülektomi komplikasyonları üç gruba ayrılır:

1-İntraoperatif komplikasyonlar

2-Erken postoperatif komplikasyonlar

3-Geç postoperatif komplikasyonlar

3.2.2.1. İntraoperatif Komplikasyonlar

Konjonktivada delik yada yırtık oluşması, skleral fleb yırtığı veya kopması, intraoperatif kanama(hifema, suprakoroidal hemoraji), zonül ve lens hasarı, vitreus kaybı bu komplikasyonlardandır.

3.2.2.2.Erken Postoperatif Komplikasyonlar

Drenaj azlığı, sığ ön kamara(hipotoni yada malign glokom sebep olabilir),korneal epitelyopati, bleb sızıntısı, hipotoni ve hipoton makülopatisi, blebitis ve endoftalmibu komplikasyonlardandır.

3.2.2.3.Geç Postoperatif Komplikasyonlar

Geç bleb sızıntısı, tenon ksiti oluşumu, geç bleb yetersizliği, geç hipotoni, geç endoftalmiye sebep olabilecek blebitis bu komplikasyonlardandır(3, 61).

4.TRABEKÜLEKTOMİDE YARA İYİLEŞMESİ

Yara iyileşmesi hücrel ve biyokimyasal bir süreç sonunda yeni bir dokunun oluşmasıdır. Dokuya herhangi bir cerrahi girişim ve fiziksel yada kimyasal bir travma sonrası o bölgede bir dizi biyolojik olaylar sonrası onarım başlar ve yeni bir doku oluşur. GFC sonrası yara iyileşmesi de vücudun diğer bölgelerindeki gibidir ve konjonktiva ve deri birçok özellik bakımından onarımda aynıdır(62).Yara iyileşmesi sürecinde koagülasyon, inflamasyon, fibroblast proliferasyonu, matriks proliferasyonu, anjiyogenezis, epitelizasyon ve kontraksiyon gibi birçok olay rol oynamaktadır(63). Yara iyileşmesi inflamasyon, proliferasyon ve remodeling olmak üzere 3 evrede incelenir(64).

4.1.YARA İYİLEŞMESİNİN EVRELERİ

4.1.1.İnflamasyon Evresi

Yaralanma sonrası hemen başlayan ve 3-5 gün süren erken evredir. Konjonktiva ve skleraya kesi yapıldığı zaman bağ dokusu ve damarlar hasarlanır ve kan hücreleri ve plazma proteinleri(fibronektin, fibrinojen, plazminojen gibi) damar dışına sızar. Damarlarda vazokonstrüksiyonla hemostaz başlar ve fibrinojenin fibrine dönüşümü ile intrinsek pıhtılaşma kaskadı aktive olur ve trombositler hasarlı damar endotel hücrelerinin olduğu bölgede birikirler ve bu bölgede fibrin bir tıkaç meydana gelir. Bu aşamada aktive

olmuş trombositlerden çeşitli büyüme faktörleri salınır, bunlardan en önemlisitrombosit kökenli büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF) iken transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming Growth Factor- β , TGF- β) ve epidermal büyüme faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF) de diğer salınan faktörlerdendir. Fibrin tıkaç bölgesinden de ortama histamin, serotonin, prostaglandinler, lökotrienler, sitokinler gibi lokal hormonal faktörler salınır. Bu faktörler epitelyal, endotelyal ve inflamatuvar hücrelerin (nötrofil, makrofaj, monosit vs.) yara bölgesine göçünü sağlar. Yirmi dört saat içinde polimorfonükleer lökositler (PMNL) ve kırksekiz saat sonra da monositler yara bölgesine göç ederler. Monositler bölgede makrofajlara farklılaşırlar. Makrofajlar ve nötrofiller yara bölgesindeki doku artıklarını fagosite ederler(62, 64, 65).

4.1.2. Proliferasyon Evresi

Yara bölgesine nötrofil ve makrofajların göçü ile başlayan inflamatuvar fazı fibroblast ve endotelyal hücrelerin proliferasyonun hakim olduğu bu evre takip eder. Bu evrede angiogenesis ve granülasyon dokusu oluşumu(fibrovasküler bağ dokusu) hakimdir(64).Yara bölgesine gelen erken inflamatuvar hücrelerden(monosit, nötrofil) hücrelerin göçünü, proliferasyonunu, matriks üretimini ve matriks yıkıcı enzim üretimini uyaran büyüme faktörleri ve sitokinler , lokal hormonlar salınır(66).Bu faktörlerin etkisi ile kan, yara dudakları, episklere ve konjonktiva altı dokulardaki mezenkimal hücrelerden kaynaklanan fibroblastlar ve endotelyal hücreler cerrahi travmadan üç gün sonra yara yerine gelirler. Yara iyileşmesinin beşinci gününde ise fibroblastlar yara yerindeki baskın hücresel komponent haline gelerek maksimum etkinlik gösterirler. Fibroblastların etkisi ise azalarak birkaç ay boyunca devam eder(67).Fibroblastlar kollejen, elastin, mukopolisakkarit, glikozaminoglikan, lamininden oluşan granülasyon dokusunu oluşturacak olan ekstrasellüler matriksi sentezlerler. Kollagen yara matriksinin en önemli bileşeni olup filtran cerrahinin başarısızlığının önde gelen sebeplerindendir(62).Ayrıca yara bölgesine gelen vasküler endotelyal hücrelerin büyümesi ve tomurcuklanmasıyla yeni damar oluşumu da sağlanır. Yeni damarlar dokunun ve yara bölgesinde işlev gören hücrelerin gereksinimi olan besin ve oksijeni taşırlar Oluşan bu bağ dokusu granülasyon dokusu olarak bilinmektedir(68, 69) .Daha sonra açığa çıkan birtakım lokal hormonal faktörlerin etkisi ile(Transforming Growth Factor- β , TGF- β , matriks metalloproteinaz,

MMPS gibi) fibroblastlar miyofibroblastlara farklılaşır ve miyofibroblastların kasılması ile ve yeniden epitelizasyon ile sonunda yara kapanması sağlanır(64, 65).

4.1.3. Yeniden Şekillenme Evresi

Bu evre fibroblastik fazda başlayarak 2-3 ay boyunca devam etmekte ve bu aşamada fonksiyonel filtran bleb oluşmaktadır(70, 71). Bu evrede angiogenezis sonlanır ve fibroblastlar büyük ölçüde kaybolur, fibroblastlar oluşan yara dokusunun yeniden şekillenmesinde ve kasılma sürecinde önemli olan matriks metalloproteinaz(MMPs) ve kollejenaz gibi proteolitik enzimler üretir(66, 72). Yara dokusunda başlangıçta var olan tip 3 kollejen yerini daha yoğun olan tip 1 kollejene bırakır ve böylece matür skar dokusu ve subkonjonktival skar oluşur(65).

Fibroblast proliferasyonu, hücre dışı matrisin sentezi ve subkonjonktival fibroz gelişimi blebin başarısızlığına yol açabilir. Episklere seviyesindeki bu fibrozis flepin yapışmasına ve skleral blebin çalışmamasına neden olabilir(65).

Yara iyileşmesi ve skar oluşumu süreci değişik noktalardan yürütülmesine rağmen skar oluşumunu önlemede daha çok fibrozis sürecinin en önemli hücreleri olan fibroblastlar üzerine yoğunlaşmıştır. Trabekülektomijenellikle hücre dışı matriksin özellikle kollagenin yapımı nedeniyle başarısızlıkla sonuçlandığından fibroblast fonksiyonunun inhibisyonu yara iyileşmesinin kontrolünde önemli bir faktördür(70, 71).

4.2. YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ YARA İYİLEŞMESİNDE ETKİLİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Büyüme faktörleri birçok hücre tarafından salgılanan, hücre çoğalmasını, göçünü ve hayatının devamını ve farklılaşmasını uyaran maddelerdir(73).Yara iyileşmesi sırasında bu faktörler farklı hücreler tarafından değişik düzeylerde salgılanır. Trombositler trombosit kökenli büyüme faktörü (Platelet Derived Growth Factor, PDGF), transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming Growth Factor- β , TGF- β), insülin benzeri büyüme faktörü (Insulin like Growth Factor, IGF), epidermal büyüme faktörü (Epidermal Growth Factor, EGF), transforme edici büyüme faktörü alfa (Transforming Growth Factor- α , TGF-

α) salgırlarlar. Fibroblastlar, fibroblast büyüme faktörü izomerleri (Fibroblast Growth Factor, FGF-1, FGF-2, FGF-7), insülin benzeri büyüme faktörü 1 ve 2 (IGF 1 ve 2) ile interlökin (IL), interferon ve koloni uyarıcı faktörler salgırlarlar. Aktive makrofajlar da PDGF, TGF- α ve β , EGF, FGF, IGF-1, tümör nekrozis faktör (TNF), IL-1 gibi büyüme faktörlerini ve sitokinleri üretir(74, 75).

4.2.1.Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF başlıca trombositler olmak üzere, makrofajlar, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve keratonisitlerden salgılanır. PDGF yaralanmadan sonra trombosit granüllerinden salınır ve yara bölgesine gider. PDGF mitojenik ve kemotaktiktir; makrofaj, fibroblastlar, nötrofil ve düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve yara yerine göç etmesiniindükler. Ayrıca makrofajları TGFB gibi birtakım büyüme faktörleri üretmek için uyarır. Angiogenezi indükler, IGF-1(insülin growth factor) ve trombospodin 1 'in üretimini sağlayarak yeniden epitelizasyonu sağlar. Fibroblastların çoğalmasını uyararak ekstrasellüler matriks üretimini(ECM) sağlar, fibroblastların myofibroblastlara dönüşümünü ve matriks metalloproteinazları uyararak kollejen yıkımını uyarırlar(76).

4.2.2. Epidermal Büyüme Faktörü (EGF)

EGF trombositler, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından salınır. EGF kerotinositlerin çoğalmasını ve akut yara bölgesine göçünü uyarır böylece yara iyileşmesinde epitelizasyondan sorumludur. Tekrardan epitelizasyonu sağlayarak yara dokusunun sağlamlığını sağlar(76).

4.2.3.Transforme Edici Büyüme Faktörü (TGF- β)

TGF- β TGF- β 1, TGF β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere üç çeşit üyeden oluşan polipeptidlerdir. Yara iyileşmesinde baskın olan form TGF-B1' dir. Makrofajlar, kerotinositler, fibroblastlar ve trombositlerden salgılanır. TGF-B yara iyileşmesinde inflamasyonda, angiogeneziste, epitelizasyonda, bağ dokusu yenilenmesinde önemli rol oynamaktadır(77, 78).PMNL' ler(nötrofiller), makrofajlar, lenfositler, fibroblastlar ve düz kas hücreleri için kemotaktiktir. Kerotinosit göçü ve çoğalmasını uyarır. TGF-B1

fibronektin, kollejen içeren ekstrasellüler matriks (ECM) formasyonu ile ilişkili gen ekspresyonlarını artırarak granülasyon dokusunun oluşumuna yardım eder. Kollejenin üretimini uyararak fibrozisi sağlar. Ayrıca angiogenik büyüme faktörü vasküler endotelial büyüme faktörü(VEGF) salınımında uyarır(76).

4.2.4.Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF ailesi VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve VEGF-E' den oluşmaktadır(79). VEGF-A endotel hücreleri, keratinositler, fibroblastlar, düz kas hücreleri, trombositler, nötrofiller ve makrofajlarda üretilir. VEGF angiogeneziste önemli rol oynar; endotel hücreleri için kemotaktiktir ve endotel hücrelerinin çoğalmasını uyarır. Ayrıca vasküler geçirgenliği de artırır(76).

4.2.5. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri, kondrositler ve düz kas hücreleri tarafından üretilir. FGF yara iyileşmesinde granülasyon dokusu formasyonu, epitelizasyon ve granülasyon dokusunun yeniden şekillenmesinde rol oynar. Epitelizasyon boyunca keratinositlerin hareketini sağlar, keratinositler ve fibroblastlar için kemotaktik ve mitojeniktir, fibroblastlardan kollejen üretimini uyarır. FGF ayrıca angiogenezin aşamaları için de gereklidir; VEGF salınımını düzenler, endotel hücrelerinin çoğalmasını sağlar(76).

Tablo 2. Büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri (74)

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

5.GLOKOM CERRAHİSİNDE YARA İYİLEŞMESİ MODÜLASYONU

Trabekülektomiden sonra yara iyileşme sürecine müdahalede bulunabilecek pek çok yöntem mevcuttur. Günümüzde skar formasyonunu düzenleyici pek çok ajan kullanılarak aşırı skar cevabı ve subkonjonktival fibrozis önlenerek trabekülektomiden sonraki blebin başarısızlığı önlenabilir. Kullanılan yöntemler arasında cerrahi teknikteki değişiklikler ve farmakolojik ajanlar bulunmaktadır(64).

5.1. CERRAHİ TEKNİKTEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Cerrahi işlem yapılırken doku travması minimale indirilmeli ve gereksiz cerrahi manipülasyonlardan kaçınılmalıdır(80).

Büyük damarları özellikle de anterior siliyer arteri kesmekten kaçınılmalıdır. İyi bir hemostaz cerrahi alandaki inflamatuvar hücre sayısını en aza indirmek için gereklidir çünkü 1 mL periferik kan normalde 2-7 milyon nötrofil, 1-3 milyon lenfosit ve 0.2-0.8 milyon monosit içerir(65, 80).Bu amaçla cerrahi sırasında siliyer cisme travmayı ve aşırı kanamayı önlemek için konjonktival flep diseksiyonu öne doğru devam etmeli ve ön limbusa kadar gelmelidir. Trabekülektomi flebi de periferik korneaya kadar uzanmalıdır(81).

Dokuya aşırı travmadan kaçınmak için ve aşırı doku kontraksiyonuna sebep olmamak için düşük enerjili, künt uçlu, bipolar koter kullanılmalıdır. Yine konjonktiva ve episkleraya inflamasyonu ve pıhtı oluşumunu artıracak aşırı travmadan kaçınmak için tenon kapsülünü kavırken düz ya da künt uçlu forceps kullanılmalıdır.

Sütür materyalleri doku reaksiyonunu en aza indirmek için dikkatlice seçilmelidir(65).

5.2. ANTIİNFLAMATUAR AJANLAR; STEROİDLER VE NONSTEROİD ANTIİNFLAMATUAR İLAÇLAR

5.2.1.Kortikosteroidler

Kortikosteroidler inflamasyonu ve immün cevabı birçok noktadan etkilerler(65). İntraoperatif ve portoperatif steroid kullanımının trabekülektominin başarı oranının önemli derecede artırdığı bildirilmiştir. Starita ve arkadaşları yaptığı randomize kontrollü bir çalışmada trabekülektomide topikal kortikosteroid kullanımının yaklaşık 18 aylık bir takip sonrası hastalarda başarı oranını önemli derecede artırdığını bildirdiler.SonuçlarGİB kontrolü, görme alanı ve optik disk değişiklikleri açısından topikal steroid kullanan grupta kullanmayanlara göre net bir şekilde daha iyiydi(82).Kortikosteroidler serbest şekilde hücre membranlarına penetre olur ve sitoplazmadaki intrasellüler reseptörlerine bağlanır. Bağlandıktan sonra çekirdek içine girer ve gen ekspresyonunu düzenleyerek antiinflamatuvar etkileri ortaya çıkar. Antiinflamatuvar etkinlik sonrası, polimorfonükleer lökositlerin(PMNs) lizozomlarının stabilizasyonu; mast hücreleri, PMNL'ler, bazofillerin degranülasyonun inhibisyonu, lökosit kemotaksisinin bozulması, lenfosit çoğalmasının inhibisyonu olur(62, 83).Kortikosteroidler ayrıca fosfolipaz A2'yi inhibe ederek membran fosfolipidlerinin aroşidonik aside dönüşümünü ve lipoksijenaz ve siklooksijenaz yolunu bloke eder. Böylece prostaglandinler, lökotrienler, tromboksan ve prostoklin üretimi inhibe olur(62, 83).Yine damar geçirgenliğini, makrofaj konsantrasyonunu ve fonksiyonlarını (fagositoz, çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri salınımı gibi) ve fibroblastların aktivitesini inhibe ederek yara iyileşme cevabını ve fibrozisi önlerler(62). Damar geçirgenliğinin azalması ile yara bölgesine serum ve pıhtılaşma faktörleri daha az salınır ve pıhtı ve fibrin formasyonu oluşumu azalır. Böylece lökosit, makrofaj, fibroblast konsantrasyon ve fonksiyonlarının inhibisyonu ve damar geçirgenliğinin azalması ile pıhtı, fibrin oluşumu ve fibrozis azalır(62). Topikal kortikosteroidlerin trabekülektomiden sonra kullanımının cerrahinin başarısını artırmasına yönelik bir görüş birliği olmasına rağmen bu ilaçların ne kadar süre ve hangi dozda kullanılması gerektiğine dair henüz ortak bir karar yoktur. Hatta steroidlerin steroid ilişkili glokom için bir risk faktörü olması önemlidir(84).

5.2.2. Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar(NSAİDs)

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların da yara iyileşme sürecinde inflamatuvar cevabı baskıladığı bilinmektedir. Bu ilaçlar siklooksijenaz enzimini inhibe ederek arasıdonik asitten proinflamatuvar olan tromboksan ve prostoglandin üretimini engellerler. Ayrıca trombosit aktivasyonu ve pıhtı oluşumunu da inhibe ederler(85). Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların kültürde insan tenon fibroblastlarının çoğalmasını inibe ettiği gösterilmiştir(86). Hayvan tabanlı bir çalışmada Gwin ve arkadaşları trabekülektomiden sonra topikal diclofenac %0.1 ve topikal prednizolon asetat %1 kullanan iki grupta GİB'I düşürme, blebin morfolojisi ve bleb ömrü bakımından bir farklılık olmadığını gözlemladiler(87).Yine insan kaynaklı bir çalışmada Kent ve arkadaşları trabekülektomiden sonra topikal diclofenac %0,1 ve topikal prednizolon asetat % 1'in etkinliklerini 6 ay boyunca izlediler; her ikisi arasında GİB kontrolü ve yan etkiler bakımından anlamlı bir fark bulamadılar(88).Bu çalışmalar topikal steroidler ve topikal NSAİD'lerin postoperatif eşit etkinliğe sahip olduğunu gösterse de yine de NSAİD'ler, hakkında anlamlı bir sonuç göstermek için daha fazla çalışma ve kanıt gerekmektedir ve günümüzde topikal steroidler trabekülektomi sonrası hala NSAİD'ler den daha sık kullanılmaktadır(64, 65).

5.3. ANTİFİBROTİK VE ANTİMETABOLİT İLAÇLAR

5.3.1. Mitomisin-C(MMC)

MMC toprak mantarı *Streptomiçes caespitosus*'tan izole edilen, kemoterapatik bir antiproliferatif ajandır. MMC DNA' yı çapraz bağlayarak DNA replikasyonu, mitozu ve protein sentezini inhibe eder(89). MMC' nin glokom filtran cerrahisinde kullanımının bleb sağkalımı başarısını artırdığı ilk olarak 1983 'te Chen tarafından bulundu ve 1990' ların başından sonra düzenli olarak kullanılmaya başlandı(90). MMC trabekülektomide fibroblastların proliferasyonu, endotel hücre büyümesi ve çoğalmasını inhibe ederek yara iyileşmesinin proliferatif fazını inhibe eder ve böylece fibrozis ve skar oluşumu önlenir(62).Khaw ve arkadaşları MMC'nin 5-FU' dan daha güçlü ve etkili olduğunu bildirdiler.Onlar tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada tavşanlardan izole edilen fibroblastların MMC ile tedavi edilenlerde 1 ay sonra bile hala büyümesinin

inhibisyonunun devam ettiğini ancak 5-flu ile tedavi edilenlerin ise 7 gün sonra büyümesini tekrar başladığını gösterdiler (91). Bu nedenle GFC de 5-FU daha az başarılıdır MMC ile kıyaslandığında ama daha az yan etkilere sahiptir.(92, 93). MMC'nin etkinliği doz ve süre bağımlıdır. 0.4 mg/ml konsantrasyonunda MMC'nin 1 dakika ve 5 dakika süre ile kullanıldığında insan tenon kapsülü fibroblastların inhibisyonu sırasıyla % 77 ve %90 olarak bulunmuş(94). Tavşan modellerinde 0.2 mg/ml ve 0.4 mg/ml konsantrasyonlarında MMC'nin 5 dakikalık uygulanmasında 30 günlük süre sonunda blebin hayatta kalma oranları sırasıyla %60 ve % 100 olarak gösterilmiştir(95).MMC uygulanmış trabekülektomili maymunların gözlerinin histopatolojik incelemesinde tüm gözlerde bleb alanının asellüler veya hiposellüler olduğu gösterilmiştir (96).Konjonktival flep yapıldıktan sonra MMC emdirilmiş sponçlar konjontiva ve episklere arasına konular ve genelde 0.2-0.5 mg/ml dozunda 1-5 dakika süre ile uygulanır. Çok yüksek riskli gözlerde genel olarak 0.3 mg/ml konsantrasyonunda 3 dakika MMC uygulanması önerilir. MMC emdirilmiş sponç yeterli süre bekletildikten sonra alınır ve MMC'nin ön kamaraya geçişini engellemek için dokular tuzlu su solüsyonu ile iyice yıkanır(62).MMC'li trabekülektomide ortak bir görüş birliği olmamasına rağmen yinede Khaw ve arkadaşları kistik bleb oluşumunu azaltmak ve aköz hümörün arka cep oluşturarak direkt akımını sağlamak için forniks tabanlı MMC'li trabekülektomi yapılmasını önerir(97-99). MMC uygulanan cerrahilerde ince duvarlı ve avasküler bleb izlenir. Bleb ince duvarlı olduğu için sızdırma oranı daha fazla olur ve bleb sızıntısı ve bundan dolayı endoftalmi görülme oranı daha fazladır. Blebin aşırı sızdırmasına bağlı hipotoni, hipoton makülopatisi ve koroidal efüzyon ve fold izlenebilir. Yine MMC ön kamaraya sızarsa siliyer cisim epiteline toksiktir ve bu toksisite nedeni ile de hipotoni görülebilir. Endotel toksisitesi, korneal ülser de görülebilir. Konjonktiva nekrozu, skleral incelme ve perforasyon da yine MMC'nin diğer komplikasyonlarından(62).

5.3.2. 5-Fluorourasil(5-FU)

5-Fluorourasil primidin analogu kemoterapatik antiproliferatif bir ajandır. O primidin metabolizmasını antogonize ederek DNA sentezini inhibe ederek hücre ölümüne sebep olur(100).Bu sayede fibroblast proliferasyonunu inhibe ederek fibrozisi engeller ve bleb ömrünün uzamasını sağlar(65). 5-FU ilk olarak 1980'lerin başında glokom filtran cerrahisinde postoperatif olarak kullanıldı(101). 5-fluorourasilin sadece yüksek riskli

gözlerde değil primer yapılan glokom filtran cerrahisinde de başarıyı artırdığı net bir şekilde gösterildi(65). İlaç cerrahi sonrası 5 mg subkonjonktival enjeksiyon şeklinde uygulanır. Subkonjonktival enjeksiyonlar tekrarlanır. İntraoperatif olarak da 25-50 mg/ml dozunda 5-FU emdirilmiş sponçlar 5 dakika süre episklere ve konjonktiva arasına konularak uygulanabilir(65).5-FU ile ilişkili oküler toksitelerden en sık görüleni kornea toksisitesidir. Punktat korneal epitelyopati, korneada epitel defekti, ülser, skar ve perforasyon, enjeksiyon bölgesinde konjonktiva defekti, geç bleb sızıntısı, striyat melanokeratozis, blebe bağlı geç dönem endoftalmi gibi komplikasyonları vardır (62).5-FU korneal toksisitesi fazla olduğu için günümüzde pek kullanılmamaktadır.

5.4. BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SİTOKİNLERE ETKİ EDEN AJANLAR

Aköz hümör yara iyileşme sürecine etki eden çok sayıda büyüme faktörü ve sitokin içerir. Khaw ve arkadaşları trabekülektomi sonrası aköz hümörde bulunan ve fibroblast proliferasyonu, migrasyonu ve kollejen üretimini uyaran FGF, EGF, TGFB-1, IGF-1'in yara bölgesinde olduğunu in vitro olarak gösterdiler(102). Bu amaçla oküler skar modülasyonunda spesifik büyüme faktörü inhibitörlerine son yıllarda ilgi artmıştır(62).

TGF-B yara iyileşme sürecinde ve skar oluşumunda diğer büyüme faktörlerine göre daha önemli rol oynar. TGF-B'nın TGF-B1, TGF-B2 ve TGF-B3 olmak üzere 3 izoformu vardır. Bu 3 formdan gözde en baskın olarak bulunan TGF-B2' dir ve onun aşırı üretimi gözde fibrozis ve skar oluşumundan sorumludur. TGF-B2 insan tenon kapsül fibroblastların proliferasyon ve migrasyonunu uyarak ve fibroblastardan kollejen üretimi ve kollejenin kontraksiyonunu artırarak güçlü bir skar dokusu oluşumuna sebep olur(103). Bu amaçla insan anti-TGF-β2 monoklonal antikoru (CAT 152, lerderlimumab) geliştirilmiştir. CAT 152 antimetabolit ajanlar gibi korneal toksisite yapmadan direkt spesifik blokaj yaparak yara iyileşmesinde skar oluşumunu ve fibrozisi azaltır(62). İn vitro ve in vivo yapılan tavşan modelli glokom filtran cerrahisi modellerinde subkonjonktival enjeksiyon şeklinde uygulanan rekombinant insan anti TGF-B2 monoklonal antikorun (CAT 152, lerderlimumab) subkonjonktival skar oluşumunu azalttığı gösterilmiştir(103, 104). Londroda Moorfields ve Western Göz Hastanesinde faz1/2 bir plesabo kontrollü yapılan çalışmada trabekülektomi geçiren ve subkonjonktival CAT 152 uygulanan hastaların ilacı iyi tolere ettiği ve güvenli olduğu; bleblerin kistik ve avasküler olmadığı

ve GİB kontrolünün kontrol grubuna göre 6 ay izlemde daha iyi olduğu görüldü(105). Diğer TGF-B inhibitörleriyle de decorin, suramin, tranilast, lovastatin ve aktivin reseptör benzeri kinaz 5 inhibitörü gibi yapılan invitro hayvan modelli trabekülektomi modellerinde iyi sonuçlar alınmıştır(64).

Angiogeneziste anahtar rol oynayan VEGF' in de aköz hümörde glokom hastalarında normal insanlara göre arttığı gösterilmiştir(106, 107). VEGF hem yara iyileşmesinde endorel hücrelerinin proliferasyonu ile angiogenezisi uyararak indirekt etki ile hem de direkt etki ile fibroblast aktivitesini artırarak fibrozisi artırır(107, 108). Bu yüzden nonselektif VEGF inhibitörü bevacizumabın tavşanlarda glokom filtran cerrahisinde(GFC) uygulanmasında angiogenezisi inhibe ederek ve yara iyileşmesinin geç evresinde fibrozisi baskılayarak bleb ömrünü ve cerrahi başarısını artırdığı gösterilmiştir(107). İnterferon-a(INF-a) da antifibrotik özellikleri olan bir sitokindir. Tavşanlarda glokom filtran cerrahi modelinde INF-a 'nın insan tenon fibroblastların proliferasyonunu inhibe ettiği ve skar oluşumunu azalttığı gösterilmiş(109, 110). Ama yapılan karşılaştırılmalı klinik çalışmalar INF-a'nın MMC ve 5-FU ile benzer etkilere sahip olduğu gösterilmiş(111).

Matriks metalloproteinazlar(MMPs) da yara iyileşmesinde kollejen kontraksiyonu ve matriksin organizasyonunda ana rol oynayan bir grup proteolitik enzimdir(112). Yapılan tavşan çalışmalarında glokom filtran cerrahisi sonrası yara bölgesinde özellikle MMP-2, MMP-3 ve MMP-9 'un arttığı görülmüş. Khaw ve arkadaşları tavşanlarda GFC sonrası subkonjonktival ilomastat(MMP inhibitörü) uygulamasının skar dokusu oluşumunu azalttığını ve bleb ömrünü uzattığını gösterdiler(113, 114).

Siklosporin(CsA) de interlökin -2(IL-2) ve reseptörlerinin salınımının inhibisyonu ile T lenfositlerin çoğalmasını ve aktivitesini bloke ederek immümsüpresif etki eder. Yara iyileşmesinin son evresinde T lenfositler hakim olduğu için topikal CsA'nın GFC 'de kullanımı gündeme gelmiştir(115).1996 da yapılan bir randomize kontrollü çalışmada 24 hastada GFC sonrası topikal CsA uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre GİB'in düştüğü ve ek medikal tedaviye gerek kalmadığı gösterilmiş(116). Yine 86 kişilik bir başka çalışmada trabekülektomi sonrası MMC uygulananların %90'nın GİB'min kontrol altına alındığı, topikal CsA uygulananların ise %87.5 'nin kontrol altına alındığı gösterilmiş. Bu

nedenle topikal CsA GFC sonrası skar oluşumunu azalttığına dair kesin kanıtlar için daha fazla çalışmalara gerek vardır(117).

5.5. AMNİYON ZARI UYGULAMASI

Bilindiği gibi amniyon zarı antiinflamatuvar, antiangiogenik, antifibrotik ve epitelizan özellikleri olan bir maddedir(118). GFC sonrası transplante edilen amniyon zarı bazal membran sağlar ve bu membran epitelizasyonun kolaylaştırılması için sağlıklı ve uygun bir madde olarak etki göstermektedir. Ayrıca amniyon zarı FGF- β , HGF(hepatosit büyüme faktörü) ve TGF- β gibi epitelizasyonu uyarabilen çeşitli büyüme faktörleri üretmektedir.. Yara iyileşmesinde fibroblastik aktivasyondan sorumlu olan TGF- β sinyalinin azalmasını indükleyerek antifibrotik etkisini ortaya koyar. Ayrıca postoperatif enfeksiyon riskini azaltan antimikrobiyal özelliklere sahip olduğuna da inanılmaktadır(119-121).

5.6. FİBRİNOLİTİK İLAÇLAR

Trabekülektomi sonrası konjonktival flep altında pıhtı, fibrin ve kan varlığında bleb başarısızlığı olasılığı artabilir(122). Bu amaçla GFC'sinde. fibrinolitik ajanlar gündeme gelmiştir. Streptokinaz ve ürokinaz hem fibrine bağlı hem de serbest plazminojeni aktive ederek fibrinoliz yapar. İnsan rekombinant doku plazminojen aktivatörü (tPA) de fibrine bağlı plazminojeni aktive ederek etki eder(65). Tavşanlarda GFC modelinde subkonjonktival tPA uygulanmasında episkleral fibrozisin, fistül bölgesinde subkonjonktival alanda fibronektin ve kollejen 3'ün birikiminin azaldığı gösterilmiş(123, 124). Heparin de faktör X ve II' yi inaktive ederek fibrin oluşumunu azaltır. Ayrıca damar düz kaslarını inhibe eder ve bazı büyüme faktörlerini bağlayarak inhibisyon yapar(125). Lensektomi, vitrektomi gibi bazı cerrahileri takiben düşük molekül ağırlıklı heparin infüzyonu uygulamasının intraoküler fibrin oluşumunu azalttığı bildirilmiş(126).

5.7. YENİ JENERASYON İLAÇLAR; RHO KİNAZ İNHİBİTÖRLERİ (ROCK)

Rho kinaz yolağı hücrelerdeki aktiviteleri düzenleyen en iyi bilinen yolaklardan biridir(127). İn vitro çalışmalarda endotel hücrelerinin migrasyon, adezyon ve hayatta

kalma gibi angiogenezis sürecinde endotel hücrelerinde önemli şekilde Rho-ROCK ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir(128). ROCK inhibitörü Y-27632 ile endotel hücrelerininVEGF aracılı angiogenezis kapasitesini inhibe ettiği ex vivo retinal implantlarda gösterildi(128, 129).Rho-ROCK salımınının insan tenon fibroblastlarında oküler yara iyileşme sürecinde arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Rho kinaz inhibitörleri Y-27632 yada H-1152P oküler yara iyileşmesinde fibroblastların proliferasyon, adezyon ve kontraksiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir(130, 131). Honjo ve arkadaşları tavşanlarda deneysel glokom cerrahisi modelinde toikal ROCK inhibitörü Y-27632'nin cerrahiden sonra uygulanmasından 7 gün sonra subkonjonktival skar oluşumunu azalttığını gösterdiler(130). Ayrıca bir başka ROCK inhibitörü AMA0526 'nın in vitro çalışmalarda fibroblastların proliferasyonunu ve miyofibroblastlara farklılaşmasını inhibe ettiğini gösterildi(132). Bu nedenle ROCK inhibitörleri glokom cerrahisinden sonra yara iyileşme sürecinde fibrozisi önlemede umut verici olabilir.

fibrozis(IPF) tedavisinde kullanımı için seçilmiştir(133).Nintedanib IPF tedavisi için oral uygulanan tirozin kinaz inhibitörü küçük bir moleküldür. Nintedanib IPF’de düşük konsantrasyonlarda insan akciğer fibroblastlarında ve angiogenezde etkili hücrelerde VEGFR, PDGFR ve FGFR aracılıklı proliferatif ve angiogenik etkileri inhibe eder. Ayrıca TGF-B tarafından indüklenmiş fibroblastların myofibroblastlara dönüşümü ve kolajen salınımı ve depolanmasını da inhibe eder (6). Yine Xianchai Lin ve arkadaşlarının insan tenon fibroblastları üzerinde yaptığı in vitro çalışmada nintedanibin fibrozis ve skar oluşumundaki hücre proliferasyonu ve migrasyonu, fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşması ve kolajen kontraksiyonunu inhibe ederek insan tenon fibroblastlarında güçlü antifibrotik etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır(7).



7.GEREÇ VE YÖNTEM

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun onayı ile çalışmaya başlandı. Deneklere uygulanan cerrahi işlemler, sakrifikasyon işlemi, immunfloresan mikroskopik preparatların hazırlanması Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıbbi Araştırma Birimi'nde (DETAB) yapılmıştır. İmmunfloresan, histopatolojik değerlendirmeler, hücre kültürü işlemleri de Kocaeli Üniversitesi KÖGEM Birimi katkıları ile gerçekleştirilmiştir. Deney Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nde bakımı yapılan 24 adet Yeni Zelanda albino tavşanı ile yapıldı. Bu çalışmaya 24 adet tavşanın 24 gözü dahil edildi. Tavşanların hepsi dişi olup, yaşları 15 ile 20 hafta ve ağırlıkları 2500 gr ile 4000 gr (ortalama 3500 gr) arasında değişmekteydi. Tavşanlar randomize olarak 3 gruba ayrıldı ve her grupta 8 hayvan bulundu. Sağ gözler çalışma gruplarına, sol gözler ise işlem uygulanmayan kontrol grubuna alındı .

Gruplar:

Nintedanib grubu: Trabekülektomi yapılan deneklere cerrahi esnasında

1 μ M' 3 dakika nintedanib uygulanan ve 28. günde enükleasyon yapılan grup

MMC grubu: Trabekülektomi yapılan deneklere cerrahi esnasında

0.2 mg/ml 3 dakika mitomisin-C uygulanan ve 28. günde enükleasyon yapılan grup.

Sham grubu: Trabekülektomi yapılan fakat cerrahi sırasında herhangi bir antimetabolit uygulanmayan ve 28. günde enükleasyon yapılan grup

7.1. FİBROBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNDE NINTEDANİB UYGUN DOZUN BULUNMASI

Çalışma için insan yenidoğan sünnet derisinden elde edilmiş fibroblastlar kullanılmıştır. Fibroblastlar %10 FBS ve %0.2 Primocin içeren L-DMEM besiyerinde çoğaltılmıştır. Ardından 96 well plate kuyucuklarına 20.000 hücre her kuyucuğa denk

gelecek şekilde ekim yapılmıştır. 96 kuyucuklu kültür kabındaki hücrelerin üzerine artan konsantrasyonlarda Nintedanib (0,5, 1, 5 ve 10 µm) içeren medyumlar 150'er ul hacimde eklenmiştir. Bir sütündeki kuyucuklara hiç Nintedanib konmayarak kontrol grubu olarak ayrılmış, sadece deney besiyeri eklenmiştir. Hücreler ilaçla 48 saat boyunca inkübe edilip inkübasyon sonunda kuyucuklardaki besi yeri bir mikro pipet yardımıyla aspire edilmiştir. Deneyin 48. Saatinde hücre canlılık testi için bazal medium ve WST-1 ((4-(3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5-tetrazolio)-1,3-benzene disulfonate) solüsyonu hazırlandı (%10 WST içerek şekilde). Her kuyucuğa 200 µl bu solüsyondan eklendi. 2.5 saat inkübe edildi. İnkünasyon sonunda bir spektrofotometre yardımıyla 450 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Sonuçlar Mikrosoft Excel grafiksel olarak değerlendirildi.

7.2. İLAÇLARIN HAZIRLANIŞI

7.2.1. Nintedanibin Hazırlanışı

50 mg toz nintedanib kullanıldı. Gerekli olan nintedanib miktarı DMSO (Dimetilsülfoksit) (SantaCruz, Amerika) içinde çözüldü. Elde edilen solüsyondan 1 µM'lık çalışma solüsyonu hazırlandı ve steril flakona koyularak cerrahi alana taşındı. Toz halindeki nintedanibden çalışma solüsyonlarının hazırlanması ve cerrahi işlemlerin uygulanması aynı gün içinde yapıldı. Toz halindeki nintedanib saklama koşullarına uygun olarak +4°C'de saklandı.

7.2.2. Mitomisin –C'nin Hazırlanışı

2mg lık MMC flakonu 10 cc %0.09 NaCl(serum fizyolojik, SF) ile sulandırıldı ve 0.2 mg/ml oranında çalışma solüsyonu hazırlandı ve steril flakona konularak cerrahi alana taşındı. Toz flakon halindeki MMC den solüsyonun hazırlanması ve cerrahi işlemde uygulanması aynı gün yapıldı. Toz halindeki MMC +4°C'de saklandı.

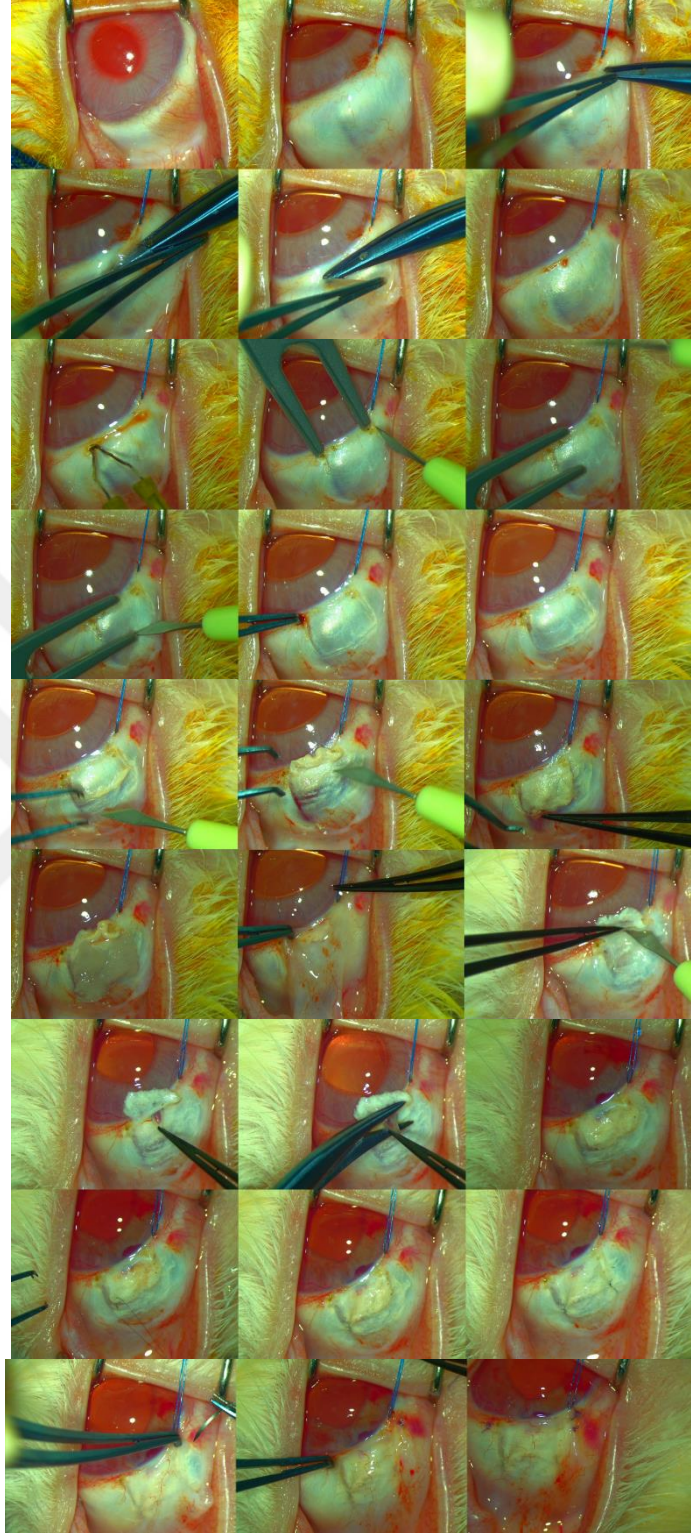
7.3. CERRAHİ ÖNCESİ HAZIRLIK

Operasyondan önce tavşanlar 6 saat aç bırakıldılar. Tavşanlara ketamin hidroklorid 40 mg/kg ve xylazine hidroklorid 5 mg/kg intramusküler yapılarak anestezi

sağlandı. İşlem öncesi deneklerin gözlerine % 0.5'lik proparakain hidroklorid damla (Alcaine, Alcon, Türkiye) damlatıldı.

7.4. CERRAHİ TEKNİK

Denekler anestezi uygulandıktan sonra operasyon masasına alındı. Cerrahi işlem operasyon mikroskobu (Topcon OMS 75 Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Göz çevresi % 10'luk povidon iyod ile silindi ve steril drep ile örtülerek uygun bleferosta yerleştirildi. Üst kadrandan forniks tabanlı konjonktival fleb oluşturuldu. Künt uçlu makas yardımı ile konjonktival diseksiyon yapıldı. Ardından limbusun 1 mm gerisinden 4x4 mm'lik, yaklaşık ½ sklera kalınlığında, dörtgen şekilli, limbus tabanlı skleral flep oluşturuldu. Skleral flep kornea üzerine devirildikten sonra 15° bıçakla 2x1 mm'lik korneaskleral blok sınırları belirlendi . Medial ve lateral kenarları 15° bıçakla ön-arka yönde insize edilerek korneaskleral blok tabanından kesilerek çıkarıldı. Devamında iris bir forseps ile iris köküne yakın bir yerden tutularak açıklıktan dışarı doğru çekilerek makas ile iridektomi yapıldı . Dörtgen şekilli skleral flep köşelerine iki adet 10/0 naylon suture konuldu ve kapatıldı. Konjonktival flep de 8/0 vicryl ile kapatıldı. Konjonktivanın kapatılması öncesinde 1. gruba konjonktiva ve sklera arasına 1 µM nintedanib emdirilmiş sponge 3 dakika uygulandı, ardından 200ml SF ile yıkandı. 2. Gruba konjonktiva ve sklera arasına 0.2 mg/ml Mitomisin-C emdirilmiş sponge 3 dakika uygulandı ve 200ml SF ile yıkandı 3.gruba ise herhangi bir antiproliferatif tedavi uygulanmadan konjonktiva kapatıldı (Şekil 2). Cerrahi sonrası tüm cerrahi uygulanan gözlere Moxifloksasin damla 1 hafta boyunca günde 4 kere damlatıldı .



Şekil 2. Cerrahi işlemin basamakları

7.4. İntraoküler Basınç Ölçümü

Cerrahi uygulanan gözlerin cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 1,3,5,7,10,14,21,28. günlerde Tono-pen XL aplanasyon tonometresi ile göziçi basınçları ölçüldü. İşlem öncesi gözlerle % 0.5'lik proparakain hidroklorid damla (Alcaine®, Alcon,Türkiye) damlatıldı. Tavşanların başları sabitlendi ve sonra cihazın uç kısmı değer alınana kadar santral korneaya dik bir şekilde değdirildive sonra değerler kaydedidi. Her ölçümde 3 denemenin ortalaması alındı.

7.5.Biomikroskopik Muayene ve Bleb Değerlendirilmesi

El biomikroskopu (Portable slit lamp, Reichert, Japan) ile cerrahi sonrası ilk hafta hergün olabilecek oküler yan etkiler(katarakt, ön kamarada hifema ve flare) ve intolerans açısından cerrahi geçiren gözler incelendi. 7,14,21,28. günlerde ise cerrahi uygulanan gözlerin muayenesi hayvanlar hafif sedatize edilerek operasyon mikroskopunda yapıldı. Filtran blebin morfolojisi, fonksiyone ve afonksiyone blebler değerlendirildi. Analiz için Indiana Bleb Appearance Grading Scale (IBAGS) skorum sistemi kullanıldı. IBAGS bleb morfolojisini elevasyon, genişlik ve vaskülarizasyon açısından değerlendirir.(136)

Tablo 3. Indiana Bleb Appearance Grading Scale (IBAGS)(136)

Bleb Morfolojisi	
Elevasyon	H0:düz bleb, görünebilir elevasyon yok
	H1:düşük elevasyon
	H2:orta derecede elevasyon
	H3:yüksek elevasyon
Genişlik	E0:görünebilir bleb genişliği yok, < 1 saat kadranı genişlik
	E1:bleb genişliği ≥ 1 saat kadranı fakat <2 saat kadranı
	E2: bleb genişliği ≥ 2 saat kadranı fakat <4 saat kadranı
	E3: bleb genişliği ≥ 4 saat kadranı
Vaskülarizasyon	V0:avasküler beyaz bleb
	V1:avasküler kistik bleb
	V2:hafif vaskülarizasyon
	V3:orta derecede vaskülarizasyon
	V4:yoğun vaskülarizasyon

7.6. Patolojik İnceleme

Deneklere postoperatif 28.gününde Pentobarbital 100 mg/kg intraperitoneal uygulanarak ötenazi yapıldı ve gözler enükle edildi ve dokular%10'luk nötral tamponlanmış formalin solüsyonu içerisine koyuldu ve 48 saat boyunca immersiyon yöntemiyle fiksasyonu sağlandı. Daha sonra dokular akan çeşme suyunda yıkanarak fiksatifin dokudan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Dehidrasyon işlemi için dokular , kademeli olarak artan etil alkol serilerinden (sırasıyla %70, %90, %96, %100) (Merck) geçirilmiştir. 30 dakika (dk) toluen (Merck) ile şeffaflandırma işlemi takiben dokular 58°C'lik etüvde 30 dk boyunca 1:1 oranında hazırlanmış toluen-parafin karışımında bekletildi. Ardından saf parafin içerisinde 2 saat kadar tutulan dokular, oda sıcaklığında parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica SM 2000R) ile 4 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Tüm seri kesitler sklera, konjonktiva ve tenon kapsülü içerecek şekilde hazırlandı. Alınan kesitlerde, konjonktival epitelyum morfolojisi, subkonjonktival inflamasyon ve fibroblast proliferasyonunu değerlendirmek için Hematoksilen & Eozin (H&E) boyaması yapılırken, kollajen yoğunluğunu/birikimini göstermek için Masson trikrom (MT) boyamaları yapıldı. İmmünohistokimyasal inceleme için MMP-2 (matrix metalloproteinase-2), TGF-β(transforming growth factor beta) ve α-SMA (alpha-smooth muscle actin) ekspresyonlarına bakıldı. Boyanan tüm kesitler Leica DM 1000 model ışık mikroskobu ile incelendi.

7.6.1. Histopatolojik İnceleme

Hematoksilen&Eozin (H&E) Boyaması:

58°C'lik etüvde deparafinize edilen kesitler toluen içerisine alınarak parafinden iyice arındırılmıştır. Ardından, kademeli olarak azalan etil alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70) geçirilen kesitler distile suya kadar indirgenerek rehidrasyon işlemi sağlanmıştır. Mayer hematoksilen ile 5 dk boyanmanın ardından 2 kez distile su ile yıkanan kesitler 10-15 saniye bluing reagent ile inkübe edilmiştir. 2 kez distile sudan geçirilen örnekler absolute etanole daldırılmıştır. Daha sonra 2-3 dk Eosin Y (modifiye alkolik) solüsyonunda inkübe edilen kesitler absolute alkolde yıkanarak dehidre edilmiştir. Son olarak toluende yaklaşık 30 dk bekletilen dokular Entellan aracılığıyla lamel ile kapatılmıştır. Konjonktival

inflamasyon ve vaskülarizasyon skorlaması için Kassem RR ve arkadaşlarının skorlama sistemi referans alınmıştır(137).Fibroblast proliferasyonu her kesitten randomize on bölge seçilerek bu bölgelerdeki fibroblastların ortalaması alınarak belirlenmiştir(4).

Tablo 4. Kassem RR ve arkadaşlarının skorlama sistemi (137)

Konjonktival inflamasyon	0: İnflamasyon yok
	1: Epitelyum altında az miktarda lenfosit ve plazma hücresi
	2: Epitelyum altında lenfositlerden, plazma hücrelerinden ve polimorfonükleer lökositlerden oluşan hafif derecede inflamatuvar infiltrat ve konjesyon
	3: Grad 2 + epitelyumda nötrofiller
	4: Hem intraepitelyal hem de subepitelyal lenfositler, plazma hücreleri, polimorfonükleer lökositler ve histiyositlerden oluşan yüksek derecede koleksiyon ve ülserasyon
Skleral inflamasyon	0: Yok
	1: Var
Konjonktival vaskülarite	0: Beyaz avasküler konjonktiva
	1: Bir miktar avaskülarite
	2: Normal vaskülarite
	3: Mevcut inflamasyonun göstergesi olan hafif derecede artmış vaskülarite
	4: Orta derecede artmış vaskülarite
	5:Şiddetli şekilde artmış vaskülarite

Masson Trikrom (MT) Boyamaları:

H&E metodunda olduğu gibi distile suya indirgenen kesitler eşit hacimde Weigert A ve Weigert B karışımından oluşan solüsyonun içerisinde 5 dk inkübe edildikten sonra 2 dk çeşme suyu ile yıkanmıştır. Distile sudan geçirilen kesitler asit fuksin solüsyonunda 15 dk bekletildikten sonra distile su ile yıkanmıştır. Ardından kesitler fosfotungustik asit ile 15 dk diferensiye edilmiş ve yıkama işlemi olmadan 5-10 dk süreyle Anilin blue solüsyonuna alınmıştır. Distile su ile yıkamanın ardından, asetik asit solüsyonunda 3-5 dk bekletilen kesitler hızlıca iki kez %96 alkolden ve ardından %100 alkolden geçirilerek toluen içerisine alınmıştır. Son olarak Entellan ile kapama işlemi gerçekleştirilmiştir. Kollajen birikimine göre fibrozis değerlendirmesi Hilgert ve arkadaşlarının skorlama sistemi referans alınarak gerçekleştirilmiştir (138).

7.6.2. İmmünohistokimyasal Boyama

Parafin bloklardan polilizinli lamlar üzerine alınan 4 µm'lik kesitlerin 1 gece 56 °C'lik etüvde tutularak parafini giderildi ve toluende 3'er kez 5 dk bekletilerek parafinden iyice arındırıldı. Ardından, sırasıyla 2x5 dk 100o alkolde, 1x5 dk 96o alkolde, 1x5 dk 90o alkolde, 1x5 dk 70o alkolde ve son olarak 2x5 dk distile su içinde bekletildi. Fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS)-Tx solüsyonu içerisinde 5 dakika bekletilen kesitler antigen retrieval işlemi için sitrik asit solüsyonuna alınarak mikrodalgada 10 dk kaynatıldı ve soğuması için 20 dk bekletildi. Hidrofobik bir havuz oluşturmak amacıyla Pap-pen ile çevrelenen kesitlere endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için H₂O₂ solüsyonu (ab64264, Abcam)) damlatılarak 10 dk bekletildi. Ardından PBS'de yıkanan 1 kesitlere özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere protein blok solüsyonu (ab64264, Abcam) 10 dk süre ile uygulandı. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlere ayrı ayrı MMP-2 (ab2462, Abcam, 1:200 dilüsyon oranı(139)), TGF-β (ab190503, Abcam, 1:200 dilüsyon oranı(140)) ve α-SMA (ab7817, Abcam, 1/50 dilüsyon oranı(141)) primer antikorları damlatıldı ve +4°C'de 1 gece/overnight bekletildi. PBS ile yıkanan doku kesitleri biyotinli goat antipolyvalent solüsyonu (ab236466, Abcam) ile 10 dakika inkübe edildikten sonra tekrar PBS ile yıkandı ve streptavidin peroksidaz solüsyonu (ab236466, Abcam) kesitler üzerine eklendi. 10 dakikalık inkübasyonun ardından PBS 'ten geçirilen kesitlerde MMP-2, TGF-β ve α-SMA ekspresyonunun olduğu bölgeler diaminobenzidin (DAB) adı verilen kromojen ile kahverengi renkte gözlemlendi. Mayer hematoksilen (ab128990, Abcam) ile zıt boyama yapılan dokular dehidrasyon işleminin ardından (artan alkol serilerinden geçirilerek) toluen içerisine alındı ve Entellan (Merck) ile lamel yardımıyla kapatıldı. MMP-2, TGF-β ve α-SMA ekspresyonu pozitif boyanan subepitelyal fibroblastlar ve boyanmanın yoğunluğuna göre semikantitatif olarak Hilgert ve arkadaşlarının skorlama sistemine göre skorlanmıştır (138).

Tablo5.Hilgert ve arkadaşlarının skorlama sistemi,2018 (138)

Subkonjonktival Fibrozis	0: Fibrozis yok yada minimal fibrozis
	1: Hafif fibrozis
	2: Orta derecede fibrozis
	3: Şiddetli fibrozis
MMP-2, TGF- β ve α -sma Boyanma Yoğunluğu	1: Zayıf
	2:Orta
	3:Yoğun
MMP-2, TGF- β ve α -sma Pozitif Boyanma Oranı	1:Subepitelyal fibroblastların %0-%25
	2:Subepitelyal fibroblastların %25-%50
	3:Subepitelyal fibroblastların %50'den fazla

8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Sürekli verilere ilişkin tanımlayıcı istatistiklerde Ortalama Standart Sapma, Ortanca, Minimum, Maksimum değerleri, kesikli verilerde ise yüzde değerleri verilmiştir.

Verilerin Kontrol, Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C grupları arasında farklılığın karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans analizi kullanıldı. Farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığı Kruskal Wallis Varyans Analizi çoklu karşılaştırma testi ile incelendi.

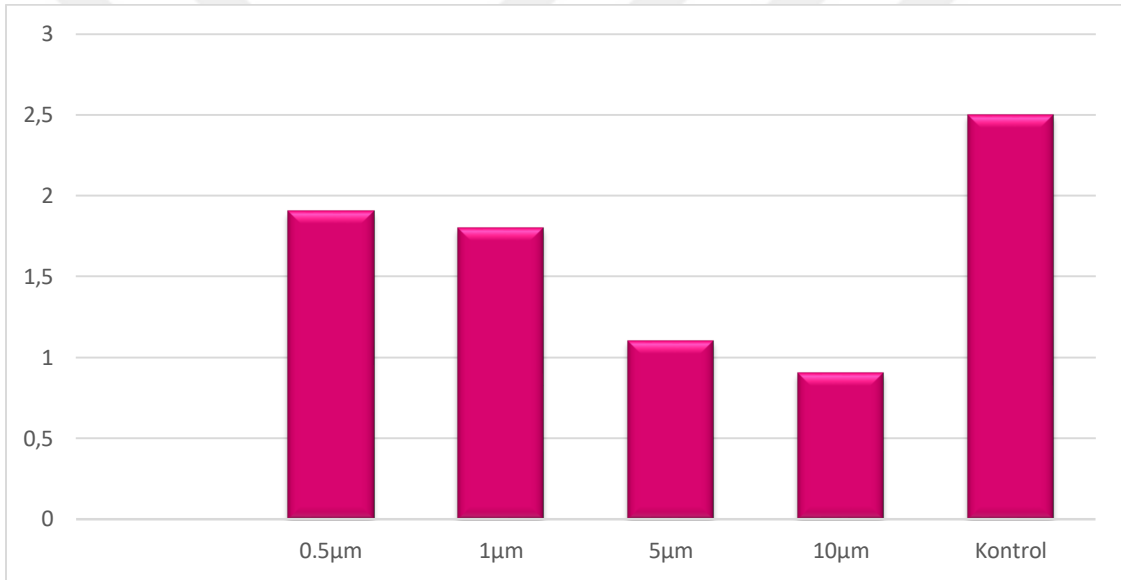
Gruplar içi zamana bağlı karşılaştırmalarda Friedman test kullanıldı farklılığın hangi günler arasından kaynaklandığı Friedman çoklu karşılaştırma testi ile incelendi. Filtran bleplerin yaşam sürelerinin değerlendirilmesi için de Kaplan-Meier analiz yöntemi kullanılmıştır.

Değerlendirmelerde IBM SPSS Statistics 20 programı kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

9. BULGULAR

9.1. FİBROBLAST HÜCRE KÜLTÜRÜNDE NINTEDANİB UYGUN DOZUN BULUNMASI

Fibroblast kültürlerinde 4 farklı dozda ilaç uygulandıktan sonra 48. saatte gerçekleştirilen WST-1 deneyi sonucunda hücre çoğalması baskılanmasının en fazla şekilde 10 µm ve 5 µm dozlarında olduğu saptanmıştır. Bu iki dozun kontrol grubuna göre hücre baskılaması fazla olması nedeni ile letal etkisi olabileceği düşünülerek bu iki dozdan bir önceki 1 µm doz in vivo deneylerde uygulanmıştır.



Grafik1. *In vitro* şartlarda fibroblast hücrelerinin nintedanib ile muamele edilmesi sonrasında 48. Saatteki hücre baskılanma düzeyleri izlenmektedir.

9.2. Klinik Değerlendirme ve Komplikasyonlar

Postoperatif 1. günde her üç gruptaki tavşanlarda da ön kamarada minimal derecede flare mevcuttu ve 3 gün içinde aşamalı olarak tüm gözlerde geriledi. Her üç grupta da birkaç tavşanda 1.günde iridektomi bölgesinde ön kamarada hemoraji ve hifema olduğu tespit edilmiştir. Tüm gözlerdeki hifema yaklaşık olarak bir haftada resorbe olmuştur. Hiçbir gözde endoftalmi, blep sızdırması, katarakt, korneal ve konjonktival toksisite ya da başka herhangi bir komplikasyon saptanmamıştır.

9.3.POSTOPERATİF GÖZ İÇİ BASINCI DEĞİŞİMLERİ

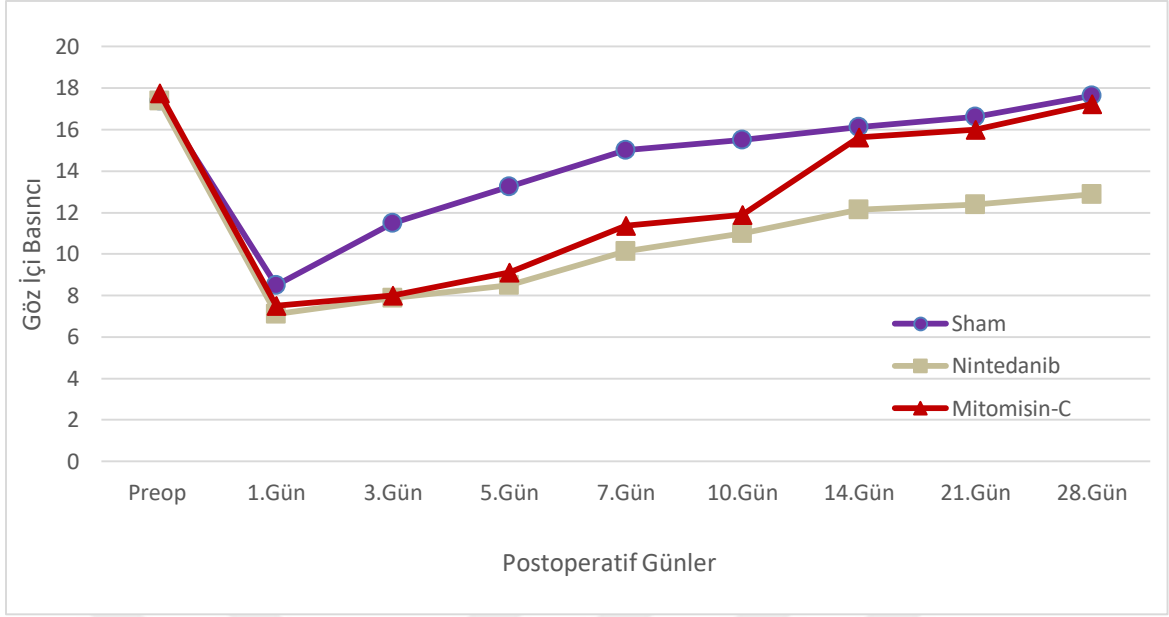
Postoperatif dönemde 28 gün boyunca her bir gruptaki ortalama GİB değışimleri grafik 2’de gösterilmiştir. Göz içi basıncı değeri üç grupta da preoperatif benzerdi ve aralarında fark bulunmadı($p>0.05$). Cerrahi sonrası 1. günde üç grupta da göz içi basınçlarında önemli düşüşler oldu ve ortalama GİB değeri benzerdi ama aralarında istatistiksel olarak fark saptandı ($p<0.05$). Benzer şekilde üç grup arasında postoperatif 3,5,7,10,14,21 ve 28.gün GİB değeri arasında fark saptandı($p<0.001$) ve en fazla GİB değeri Sham grubundayken, en düşük GİB değeri Nintedanib grubundaydı. 10. günde Sham grubundaki ortalama GİB değeri hızlı bir yükselme ile preoperatif ortalama GİB değeri yaklaştı. MMC grubunda da GİB değeri hızlı bir yükselme gösterdi ve 14. Günde preoperatif GİB değeri yaklaştı. Bu iki grupta deney sonunda preoperatif GİB değeri ulaşıldı. Nintedanib grubunda ise GİB’ in hala preoperatif değeri den daha düşük olduğu ve bunu tüm deney süresince sürdürdüğü görüldü (Tablo 6).

Tablo 6. Preoperatif ve postoperatif 1, 3, 5,7, 10, 14, 21 ve 28.gün GİB değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

	Ort±SSOrtanca (Min-Max)			p*	Çoklu Karşılaştırma	
	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		<i>p>0.05 Fark yok</i>	
Preop	17.38±1.06 17.5 (16-19)	17.38±1.88 17 (16-19)	17.75±0.71 18 (17-19)	0.668		
Postop 1.gün	8.50±0.93 8.5 (7-10)	7.12±0.83 7 (6-8)	7.50±0.76 7 (7-9)	0.021	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.024</i> <i>p=0.129</i> <i>p=1.000</i>
Postop 3.gün	11.25±1.03 11 (10-13)	7.88±0.64 8 (7-9)	8.00±0.76 8 (7-9)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.001</i> <i>p=0.002</i> <i>p=1.000</i>
Postop 5.gün	13.265±1.03 13 (12-15)	8.50±0.53 8.5 (8-9)	9.13±0.64 9 (8-10)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.000</i> <i>p=0.010</i> <i>p=0.727</i>
Postop 7.gün	15.50±0.76 15 (14-16)	10.13±0.64 10 (9-11)	11.38±0.74 11.5 (10-12)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.000</i> <i>p=0.030</i> <i>p=0.237</i>
Postop 10.gün	15.50±0.53 15.5 (15-16)	11.00±0.53 11 (10-12)	11.88±0.99 12 (10-13)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.000</i> <i>p=0.015</i> <i>p=0.544</i>
Postop 14.gün	16.13±0.35 16 (16-17)	12.13±0.83 12 (11-13)	15.63±0.74 15.5 (15-17)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.000</i> <i>p=0.906</i> <i>p=0.008</i>
Postop 21.gün	16.63±0.74 16.5 (16-18)	12.38±0.74 12.5 (11-13)	16.00±0.53 16 (15-17)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.000</i> <i>p=0.854</i> <i>p=0.008</i>
Postop 28.gün	17.63±0.92 18 (16-19)	12.88±0.64 13 (12-14)	17.25±1.03 17 (16-19)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.001</i> <i>p=1.000</i> <i>p=0.004</i>
p**	0.000 <i>1-3 p=1.000</i> <i>1-5 p=1.000</i> <i>1-7 p=0.119</i> <i>1-10 p=0.021</i> <i>1-14 p=0.002</i> <i>1-21 p=0.002</i> <i>1-28 p=0.000</i>	0.000 <i>1-3 p=1.000</i> <i>1-5 p=1.000</i> <i>1-7 p=0.529</i> <i>1-10 p=0.233</i> <i>1-14 p=0.001</i> <i>1-21 p=0.000</i> <i>1-28 p=0.000</i>	0.000 <i>1-3 p=1.000</i> <i>1-5 p=1.000</i> <i>1-7 p=0.461</i> <i>1-10 p=0.052</i> <i>1-14 p=0.001</i> <i>1-21 p=0.000</i> <i>1-28 p=0.000</i>			

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

** Friedman Test



Grafik2.Deneklerde postoperatif göz içi basınç değişimi

Ek olarak deneklerin postoperatif 1. güne göre; postoperatif 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28. gün GİB değişimleri gruplar arasında incelendiğinde Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C grupları arasında Postoperatif 1.güne göre postoperatif 3,5,7,10,14,21,28. gün GİB artış değerleri arasında fark saptandı ($p<0.01$). Sham grubunun postoperatif 3, 5, 7, ve 10.gündeki GİB değerlerindeki artış hem Nintedanib hem de Mitomisin-C grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek idi. Postoperatif 14, 21, ve 28. gündeki GİB değerlerindeki artış ise Sham ve Mitomisin-C gruplarında Nintedanib grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek idi(Tablo7).

Tablo 7. Deneklerin postoperatif 1. güne göre ; postoperatif 3, 5, 7, 10, 14, 21 ve postoperatif 28.gün GİB değişimlerinin (farkların) Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C grupları arasında karşılaştırılması

GİB	Ort±SSOrtanca (Min-Max)			p*	Çoklu Karşılaştırma	
	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C			
Postop 1.güne göre	2.75±1.58	0.75±1.03	0.50±0.76	0.004	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.025</i>
Postop 3.gün	3 (1-6)	0.5 (0-3)	0 (0-2)		<i>Sham-MMC</i>	<i>p=0.006</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=1.000</i>
Postop 1.güne göre	4.75±1.39	1.37±1.06	1.62±1.06	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.001</i>
Postop 5.gün	4 (3-7)	1 (0-3)	2 (0-3)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=0.005</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=1.000</i>
Postop 1.güne göre	6.5±1.06	3.00±1.31	3.87±0.99	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.001</i>
Postop 7.gün	7 (5-8)	3 (1-5)	3.5 (3-5)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=0.018</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.992</i>
Postop 1.güne göre	7.00±1.07	3.87±1.25	4.37±1.06	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.002</i>
Postop 10.gün	7 (5-8)	4 (2-6)	4.5 (3-6)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=0.012</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=1.000</i>
Postop 1.güne göre	7.62±1.19	5.00±1.19	8.12±1.25	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.016</i>
Postop 14.gün	7.5 (6-10)	4.5 (4-7)	8 (6-10)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=1.000</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.002</i>
Postop 1.güne göre	8.12±1.46	5.25±1.03	8.50±1.07	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.008</i>
Postop 21.gün	7.5 (7-11)	5 (4-7)	9 (7-10)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=1.000</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.001</i>
Postop 1.güne göre	9.12±1.36	5.75±1.16	9.75±1.39	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.011</i>
Postop 28.gün	9 (7-11)	5 (4-7)	10(7-12)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=1.000</i>
(Fark)					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.001</i>

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

9.4.IBGAS SİSTEMİNE GÖRE BLEBLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

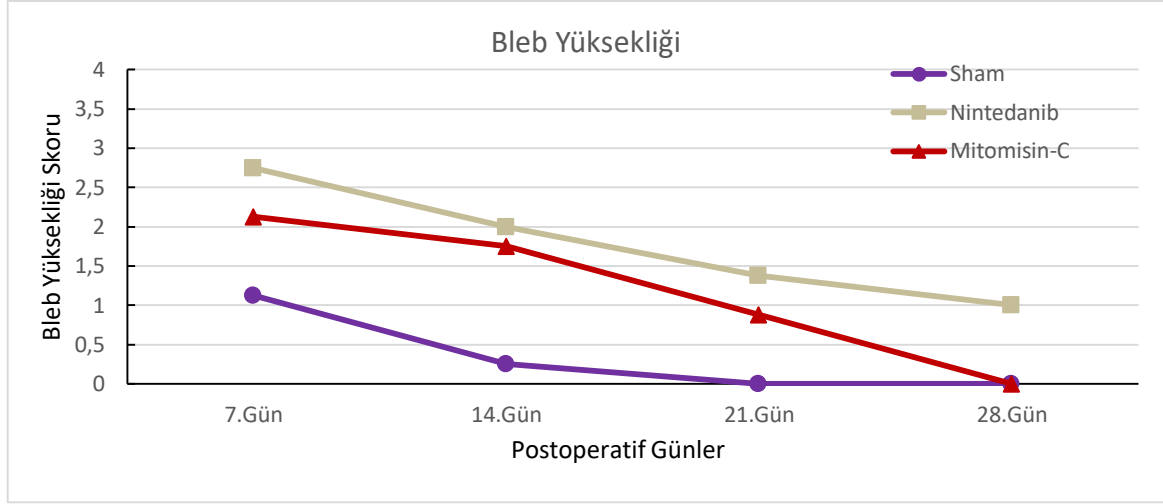
Bleb yüksekliği IBGAS'a göre değerlendirildiğinde; her üç grubun 7, 14, 21 ve 28.gün bleb yükseklikleri arasında fark saptandı ($p<0.001$). Sham grubunun bleb yüksekliği tüm günlerde nintedanib grubundan anlamlı olarak daha düşüktü($p<0,001$). Sham grubu MMC ile kıyaslandığında ise 28. Gün hariç diğer tüm günlerde bleb yüksekliği anlamlı olarak MMC grubunda daha fazla idi. Nintedanib ve MMC grubunun bleb yükseklikleri 7, 14, 21. Günlerde benzer iken; 28. Günde bleb yüksekliği anlamlı olarak Nintedanib grubunda daha fazlaydı($p<0,001$).Günlere göre bleb yükseklik değişimi incelendiğinde Sham ve Nintedanib grubunda 7.güne göre; 21 ve 28. gün bleb yüksekleri arasında fark saptandı, ek olarak 21 ve 28. gündeki bleb yüksekliği değerlerinin 7. güne göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. Mitomisin-C grubunda ise 7.güne göre 28. Gün bleb yükseklikleri arasında fark saptandı ve 28. gündeki bleb yüksekliğinin 7. güne göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü. Ayrıca 21. gündeki bleb yüksekliği de azalmakla birlikte, anlamlı farklılık saptanmadı ancak istatistiksel anlamlılığa yakın idi($p=0.053$)(Tablo 8).

Tablo 8. IBGAS Skoruna Göre Bleb yüksekliğinin 7, 14, 21 ve 28.gün değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

Bleb Yüksekliği	Ort±SSOrtanca (Min-Max)			P*	Çoklu Karşılaştırma	
	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C			
7.Gün	1.13±0.35 1 (1-2)	2.75±0.46 3 (2-3)	2.13±0.64 2 (1-3)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>p=0.000</i> <i>Sham- MMC</i> <i>p=0.049</i> <i>Nintedanib-MMC</i> <i>p=0.402</i>	
14.gün	0.25±0.46 0 (0-1)	2.00±0.00 2 (2-2)	1.75±0.46 2 (1-2)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>p=0.000</i> <i>Sham-MMC</i> <i>p=0.002</i> <i>Nintedanib-MMC</i> <i>p=1.000</i>	
21.gün	0 (0-0)	1.38±0.52 1 (1-2)	0.88±0.35 1 (0-1)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>p=0.000</i> <i>Sham-MMC</i> <i>p=0.012</i> <i>Nintedanib-MMC</i> <i>p=0.594</i>	
28.gün	0 (0-0)	1.00±0.00 1 (1-1)	0 (0-0)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>p=0.000</i> <i>Sham- MMC</i> <i>p=1.000</i> <i>Nintedanib-MMC</i> <i>p=0.000</i>	
P**	0.000	0.000	0.000			
	<i>7-14 p=0.071</i>	<i>7-14 p=0.878</i>	<i>7-14 p=1.000</i>			
	<i>7-21 p=0.008</i>	<i>7-21 p=0.012</i>	<i>7-21 p=0.053</i>			
	<i>7-28 p=0.008</i>	<i>7-28 p=0.000</i>	<i>7-28 p=0.009</i>			

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

**Friedman Test



Grafik 3.Gruplarda IBGAS skoruna göre Bleb yüksekliğinin değişimi

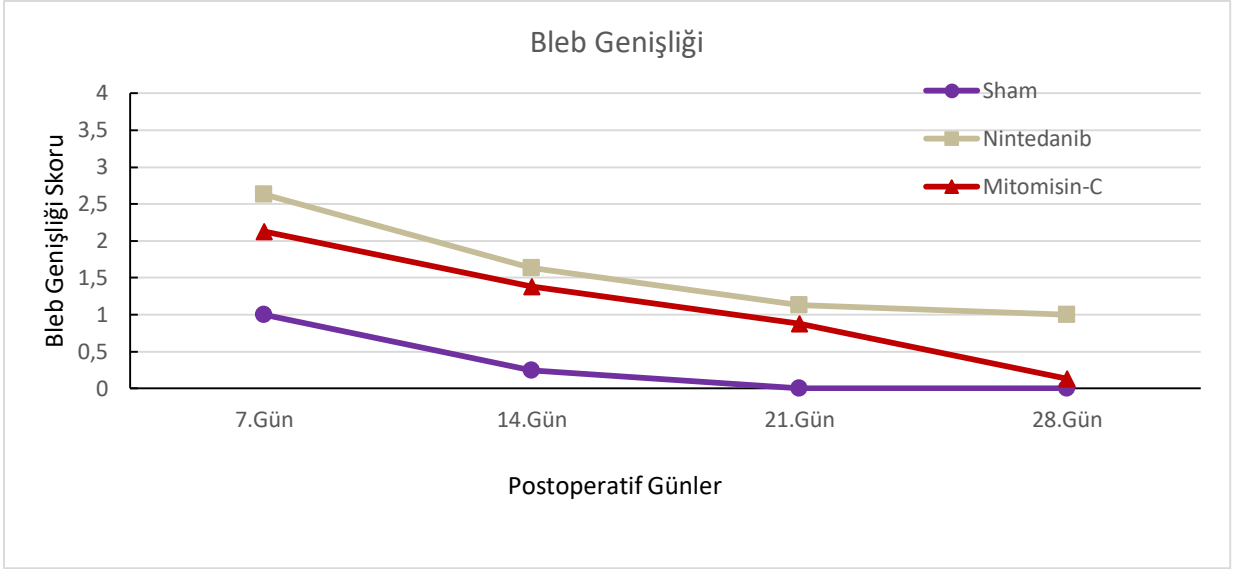
Bleb genişliği IBGAS'a göre incelendiğinde; her üç grupta 7, 14, 21 ve 28.gün bleb genişlikleri arasında fark saptandı ($p<0.001$). Nintedanib grubunun bleb alanı tüm günlerde Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda geniş bulunmuştur($p<0,001$). MMC grubunun bleb alanı ise 28. Gün hariç Sham grubuna göre anlamlı olarak daha geniştir. Nintedanib ve MMC grubunun bleb alanları 7, 14, 21. Günlerde benzer iken; 28. Günde bleb alanı anlamlı olarak Nintedanib grubunda daha genişti($p<0,001$).Her üç grup içinde de 7.güne göre; 21 ve 28. gün bleb genişlikleri arasında fark saptandı. Ek olarak gruplarda 21 ve 28. gündeki bleb genişliğinin 7. güne göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü(Tablo 9).

Tablo 9. IBGAS Skoruna Göre Bleb Genişliğinin 7, 14, 21 ve 28.gün değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

Bleb Genişliği	Ort±SSOrtanca (Min-Max)			p	Çoklu Karşılaştırma	
	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		Sham-Nintedanib	p
7.Gün	1.00±0.53	2.63±0.52	2.13±0.64	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.001</i>
	1 (0-2)	3 (2-3)	2 (1-3)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=0.034</i>
					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.698</i>
14.gün	0.25±0.46	1.63±0.52	1.38±0.52	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.001</i>
	0 (0-1)	2 (1-2)	1 (1-2)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=0.014</i>
					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=1.000</i>
21.gün	0 (0-0)	1.13±0.35	0.88±0.35	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.000</i>
		1 (1-2)	1 (0-1)		<i>Sham- MMC</i>	<i>p=0.003</i>
					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=1.000</i>
28.gün	0 (0-0)	1.00±0.00	0.13±0.35	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.000</i>
		1(1-1)	0 (0-1)		<i>Sham-MMC</i>	<i>p=1.000</i>
					<i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.001</i>
p	0.000	0.000	0.000			
	<i>7-14 p=0.199</i>	<i>7-14 p=0.156</i>	<i>7-14 p=0.728</i>			
	<i>7-21 p=0.030</i>	<i>7-21 p=0.004</i>	<i>7-21 p=0.040</i>			
	<i>7-28 p=0.030</i>	<i>7-28 p=0.001</i>	<i>7-28 p=0.000</i>			

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

**Friedman Test



Grafik 4. Gruplarda IBGAS skoruna göre Bleb genişliğinin değişimi

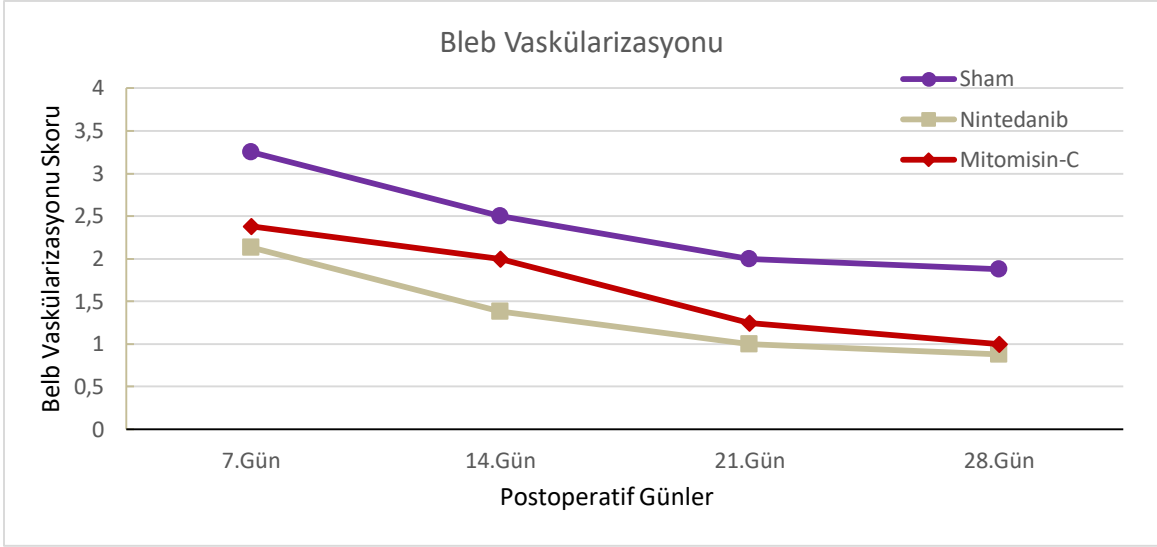
Bleb vaskülarizasyonu değerlendirildiğinde; üç grupta 7, 14, 21 ve 28.gün bleb vaskülürizasyonu değerleri arasında fark saptandı ($p<0.001$). Sham grubunun tüm günlerdeki bleb vaskülürizasyonu Nintedanib ve MMC grubuna göre daha yüksekti ve bu yükseklik nintedanib grubu ile tüm günlerde anlamlı bulunurken; MMC grubu ile 14. Gün hariç diğer günlerde anlamlı bulundu($p<0,001$). MMC ve Nintedanib grubu kıyaslandığında ise MMC grubunda 7. Günden sonra bleb vaskülürizasyonunun Nintedanib grubuna göre daha fazla olduğu izlenirken; istatistiksel olarak aralarında bir fark saptanmadı(Tablo 10).

Tablo 10.IBGAS Skoruna Göre Bleb Vaskülarizasyonunun 7, 14, 21 ve 28.gün değerlerinin grup içi ve gruplar arasında karşılaştırılması

Bleb Vaskülarizasyonu	Ort±SSOrtanca (Min-Max)			p	Çoklu Karşılaştırma	
	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C			
7.Gün	3.25±0.71 3 (2-4)	2.13±0.35 2 (2-3)	2.38±0.52 2 (2-3)	0.005	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.005</i> <i>p=0.021</i> <i>p=1.000</i>
14.gün	2.50±0.76 3 (1-3)	1.38±0.52 1 (1-2)	2.00±0.00 2 (2-2)	0.005	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.004</i> <i>p=0.496</i> <i>p=0.190</i>
21.gün	2.00±0.53 2 (1-3)	1.00±0.00 1 (1-1)	1.25±0.46 1 (1-2)	0.001	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.001</i> <i>p=0.029</i> <i>p=1.000</i>
28.gün	1.88±0.35 2 (1-2)	0.88±0.35 1 (0-1)	1.00±0.00 1 (1-1)	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i> <i>Sham- MMC</i> <i>Nintedanib-MMC</i>	<i>p=0.000</i> <i>p=0.002</i> <i>p=1.000</i>
p	0.000	0.000	0.000			
	<i>7-14 p=0.395</i>	<i>7-14 p=0.199</i>	<i>7-14 p=0.561</i>			
	<i>7-21 p=0.012</i>	<i>7-21 p=0.012</i>	<i>7-21 p=0.009</i>			
	<i>7-28 p=0.008</i>	<i>7-28 p=0.006</i>	<i>7-28 p=0.004</i>			

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

**Friedman Test



Grafik 5. Gruplarda IBGAS skoruna göre Bleb Vaskülarizasyonu değişimi

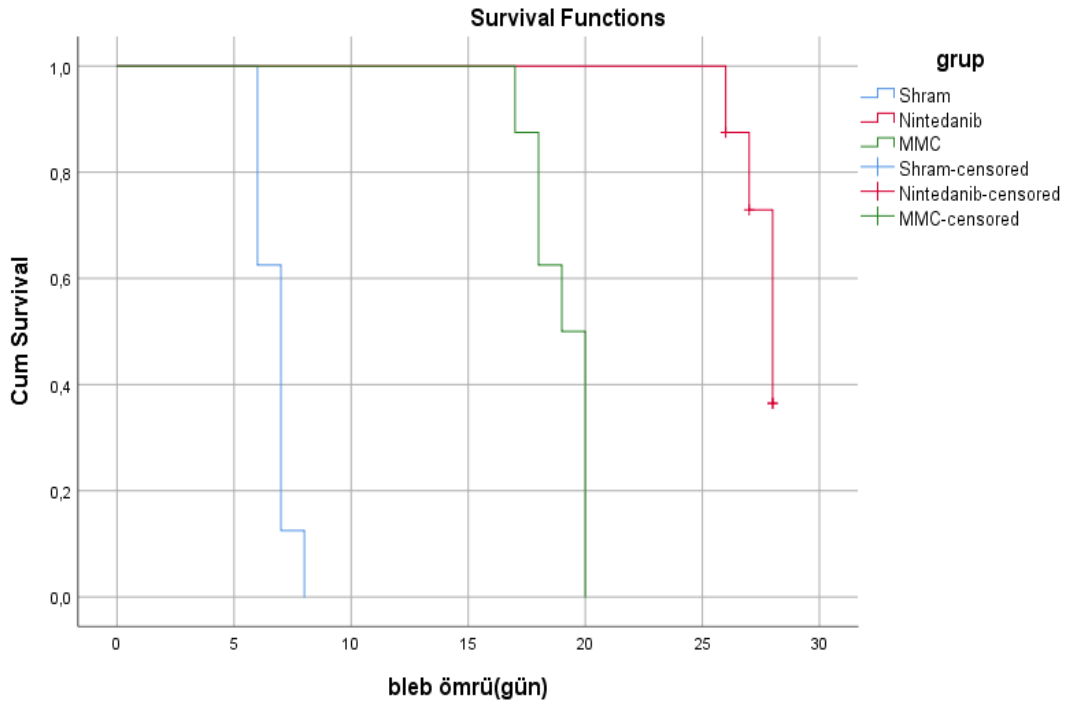
9.5. POSTOPERATİF FİLTRAN BLEBLER VE SAĞKALIM SÜRELERİ DEĞERLENDİRİLMESİ

Filtran blepler değerlendirildiğinde her üç grupta bleplerin ilk gün eleve ve çalışır oldukları görüldü. Yedinci güne kadar üç grupta da bleplerin eleve görüntüsü devam ederken Sham grubunda 7. günden itibaren bleplerin düzleşmeye başladığı ve afonksiyone hal aldığı görüldü MMC grubunda bleplerin eleve görünüşleri yaklaşık 19. günde kaybolurken Nintedanib grubundaki çoğu gözde bulunan filtran blep eleve görünümünü 28. günde hala korumaktaydı . Bleb ömrüne bakıldığında ; bleb ömrü ortalama 6.75 ± 0.71 ile en düşük Sham grubunda; 27.25 ± 0.87 ile en yüksek Nintedanib grubunda izlendi ve Sham grubunun bleb ömrü Nintedanip grubuna göre anlamlı düzeyde düşük idi ($p < 0.001$) (Tablo 11).

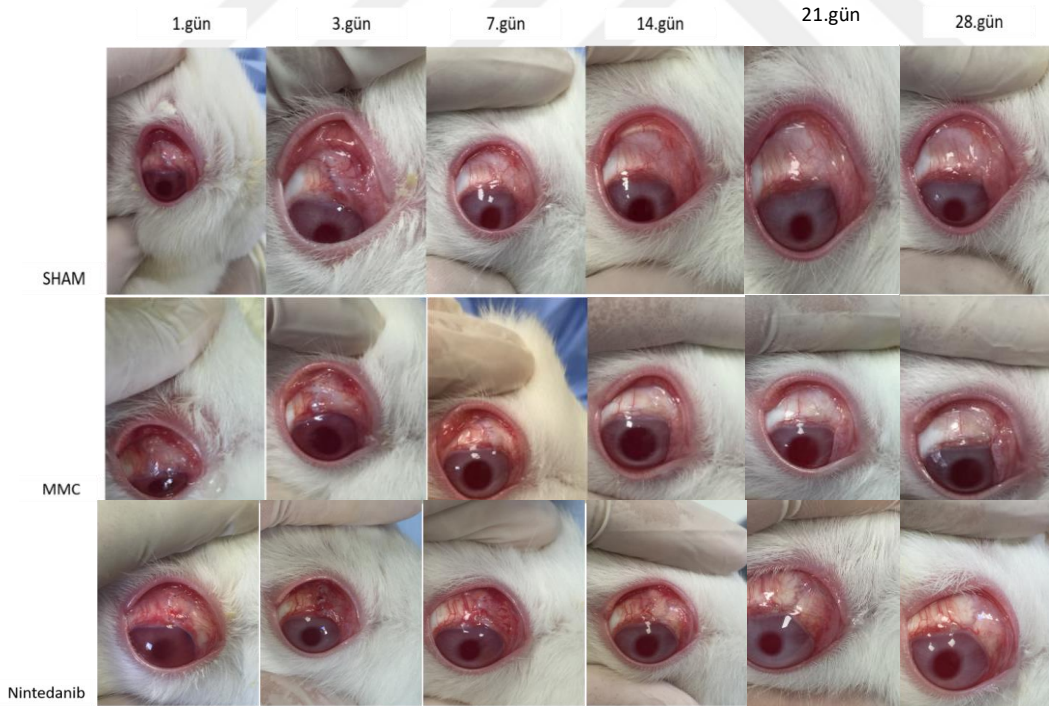
Tablo 11. Gruplardaki Bleb ömrünün karşılaştırılması

Bleb ömrü	Ort±SSOrtanca (Min-Max)			p	Çoklu Karşılaştırma	
	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C			
Bleb ömrü	6.75 ± 0.71	27.25 ± 0.87	19.00 ± 1.19	0.000	<i>Sham-Nintedanib</i>	<i>p=0.000</i>
	7 (6-8)	27.5 (26-28)	19.5 (17-20)		<i>Sham- Mitomisin</i>	<i>p=0.068</i>
					<i>Nintedanib-Mitomisin</i>	<i>p=0.068</i>

* Kruskal Wallis Varyans Analizi



Grafik 6. Gruplarda Bleb ömrünün Kaplan-Meier survival analizi

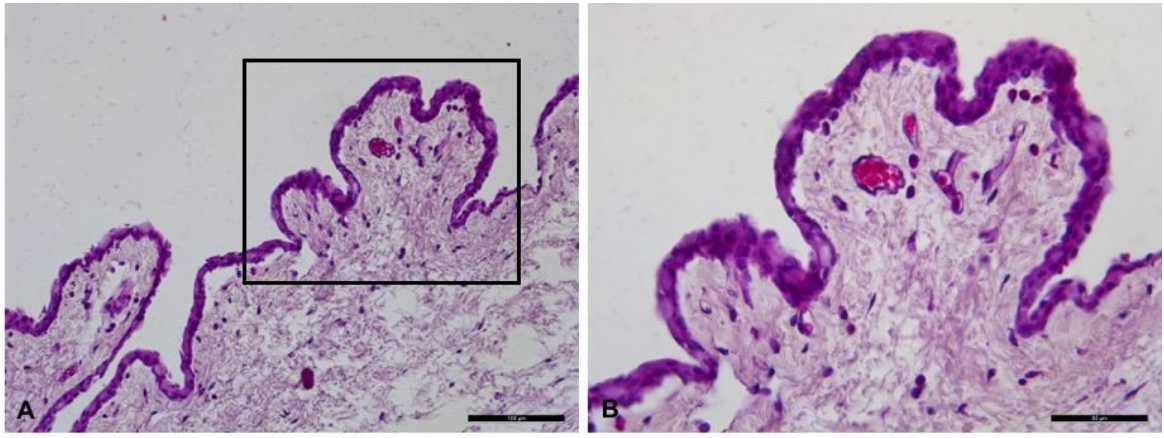


Şekil 3. Postoperatif 1. gün, 3. gün, 7.gün, 14. Gün, 21.Gün ve 28.günde bleblerin makroskopik görünümü

9.6.HİSTOPATOLOJİK İNCELEME BULGULARI

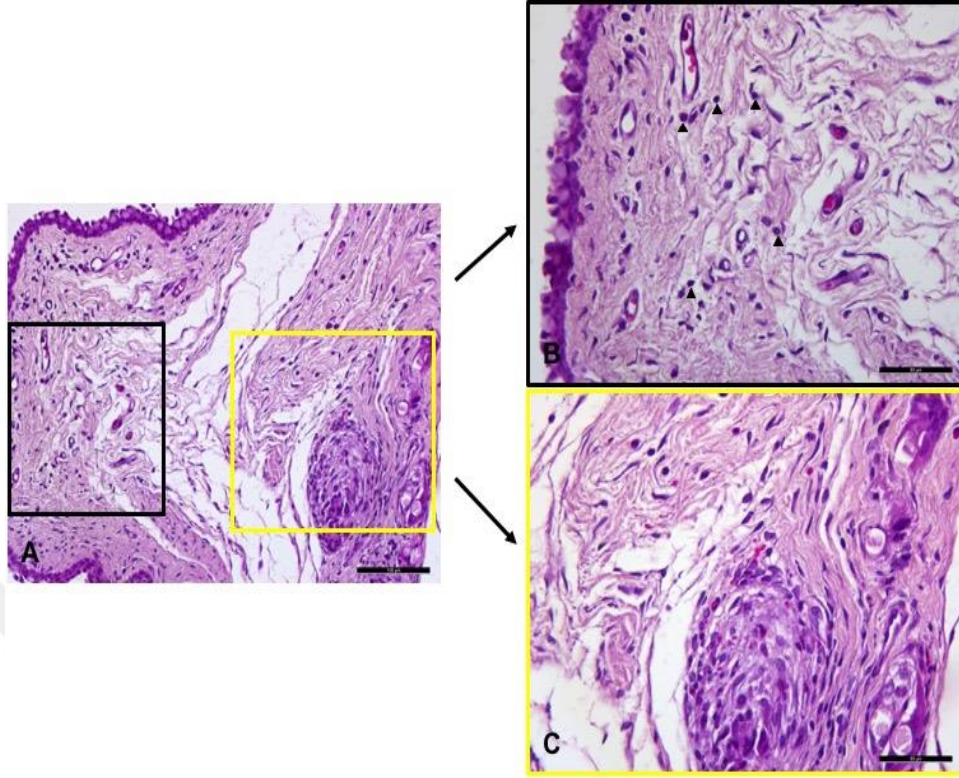
9.6.1. Hematoksilen&Eozin (H&E) İnceleme Bulguları

Kontrol grubuna ait tavşanların H&E ile boyanmış kesitleri incelendiğinde; sağlıklı konjunktival epitelyal morfoloji ve normal vaskülarizasyona sahip subkonjunktiva gözlemlenmekle birlikte bazı örneklerde hafif miktarda inflamasyon tespit edilmiştir (Şekil 4). Vaskülarizasyonda artış, şiddetli inflamasyon ya da fibrosis görülmemiştir.

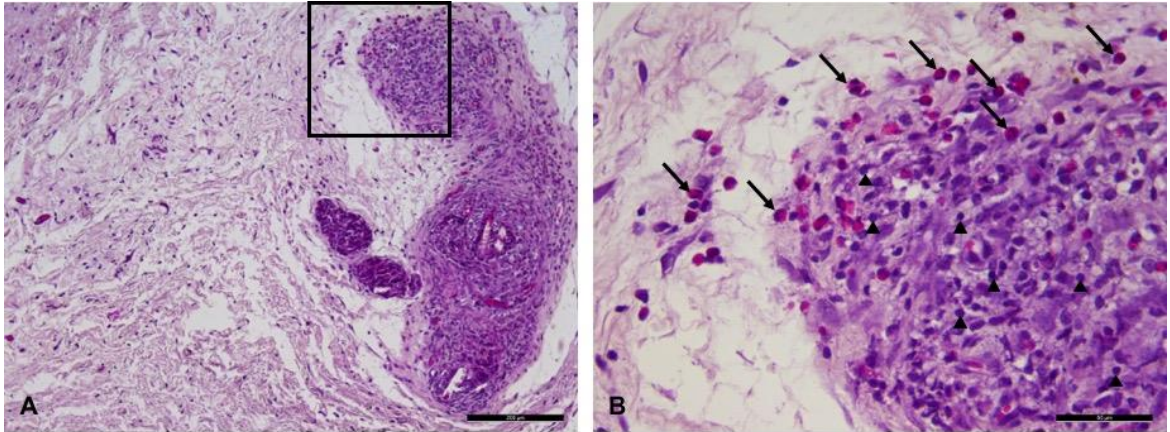


Şekil 4. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Konjunktival epitelde devamlılık ve subkonjunktival dokuda sağlıklı morfoloji gözlemlenmektedir. Şekil 4A'da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 4B'de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. H&E, A,200X; B,400X magnifikasyon

Sham grubunda ise konjunktival epitelde bozulmalar (Şekil 5B), goblet hücre sayısında azalma, subkonjunktival tabakada inflamasyon (Şekil 5B), bleb bölgelerinde şiddetli inflamasyon (Şekil 6), artan vaskülarizasyon (Şekil 7A), ödem ve damarlarda genişleme (vazodilatasyon) (Şekil 8) tespit edilmiştir. Lökositik infiltrasyonu oluşturan hücrelerin daha çok lenfositlerden ve nötrofillerden oluştuğu görülmüştür (Şekil 6B).

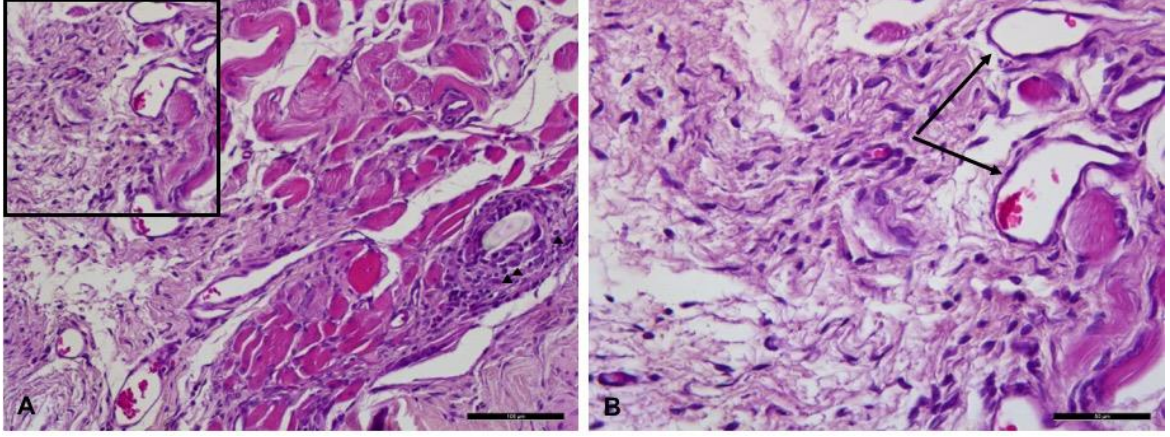


Şekil 5. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Subkonjunktival doku (siyah çerçeve) ve bleb bölgesi (sarı çerçeve) sırasıyla Şekil 5B ve 5C’de detaylı olarak gösterilmiştir. Siyah okbaşı, subkonjunktival dokudaki lökositik infiltrasyonu göstermektedir. H&E, A-200X ve B ve C 400X magnifikasyon

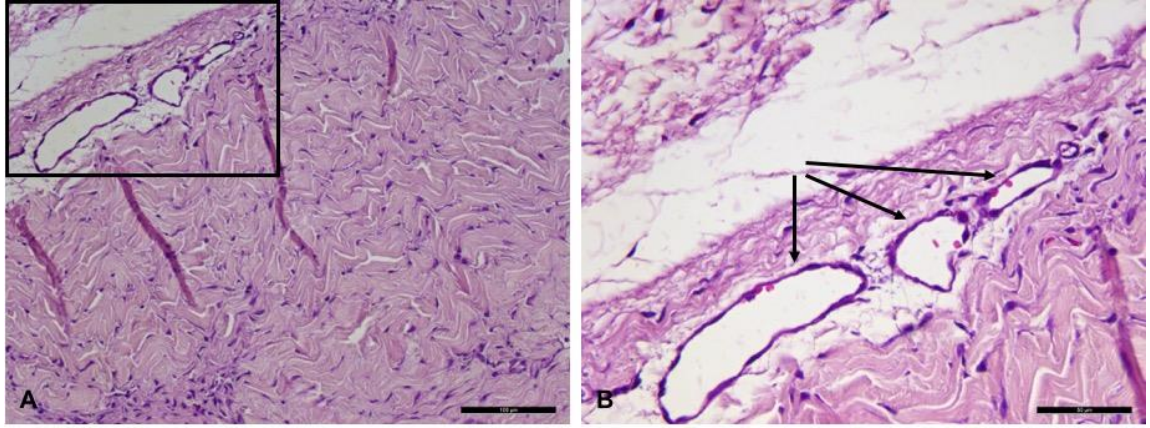


Şekil 6. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Şekil 6A’da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 6B daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir.

Bleb bölgesindeki şiddetli lökositik infiltrasyon dikkat çekmektedir. Siyah ok, bu infiltrattaki polimorfonükleer nötrofilleri; okbaşları ise lenfositleri göstermektedir. H&E, A-100X ve B-400X magnifikasyon .

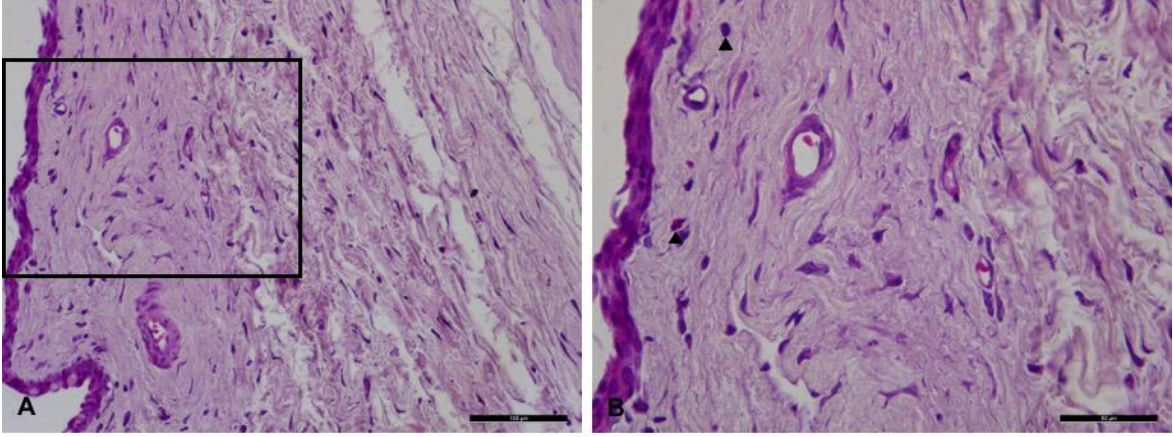


Şekil 7. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu ve bleb bölgesini gösteren fotomikrograf. Şekil 7A’da siyah çerçeve içerisinde alınmış alan Şekil 7B’de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Siyah oklar subkonjunktival dokuda artan vaskülarizasyonu ve vazodilatasyonu gösterirken; siyah okbaşları bleb bölgesindeki lökositik infiltrasyonu göstermektedir. H&E, A-200X ve B-400X magnifikasyon



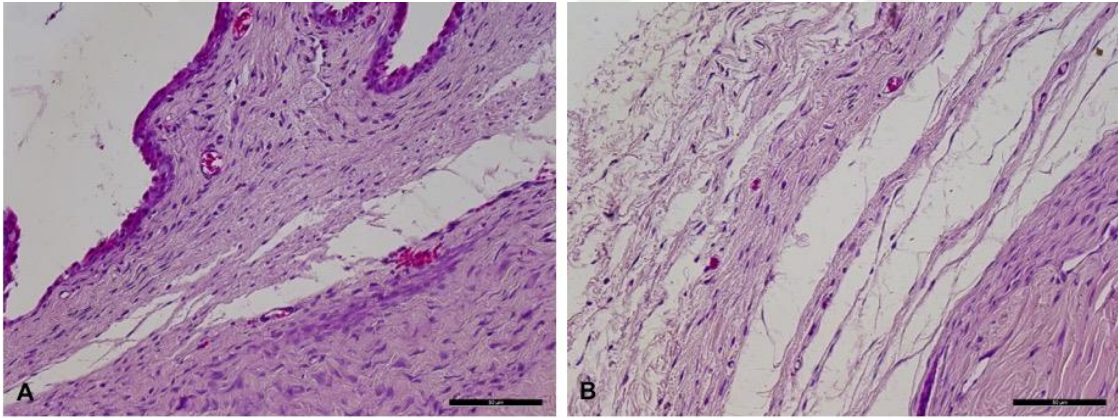
Şekil 8. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Şekil 8A’da siyah çerçeve içerisinde alınmış alan Şekil 8B’de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Artan vaskülarizasyon ve vazodilatasyon (siyah oklar) dikkat çekmektedir. H&E, A-200X ve B-400X magnifikasyon

Mitomycin-C grubuna bakıldığında; inflamasyonun Sham grubuna göre oldukça azaldığı ancak bir miktar devam ettiği, konjunktival epitelin normale yakın morfoloji sergilediği ve süreklilik gösterdiği ve vaskülarizasyonun azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 9).

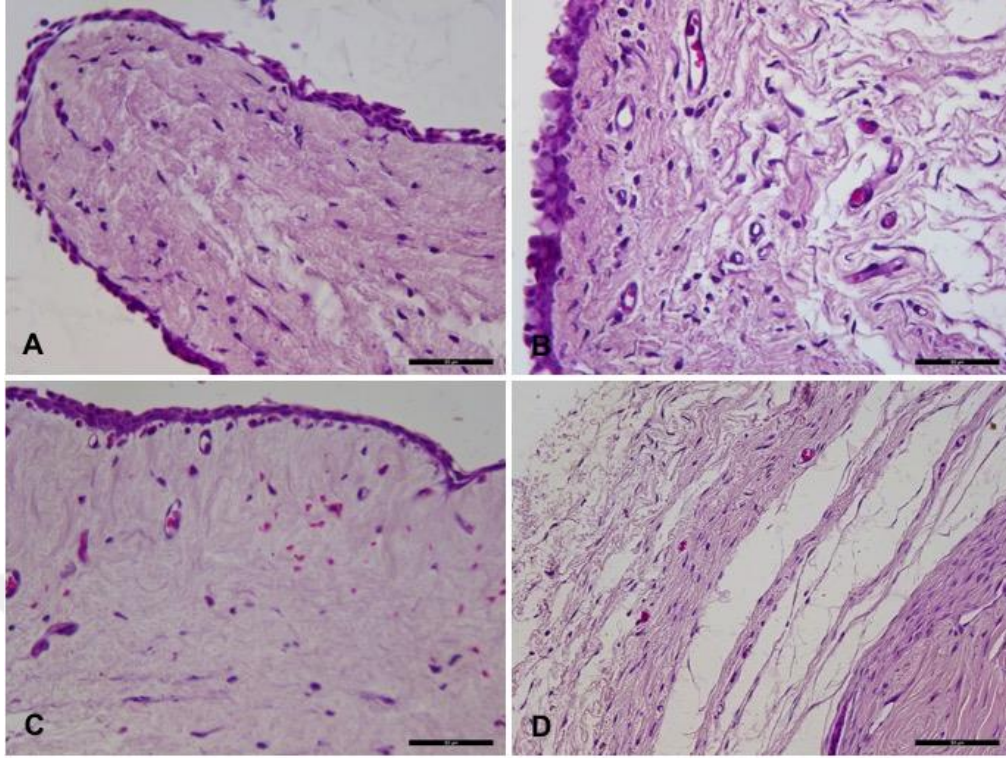


Şekil 9.Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Şekil 9A'da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 9B'de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Siyah okbaşları subkonjunktivadaki lökositleri göstermektedir. H&E, A-200X ve B-400X magnifikasyon

Nintedanib grubuna bakıldığında ise; Mitomycin-C grubuna benzer olarak konjunktival epitelin iyileştiği, goblet hücre sayısının Sham grubuna göre artış gösterdiği, vaskülarizasyon ve inflamasyon derecesinin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 10).



Şekil 10.Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. H&E, 400X magnifikasyon

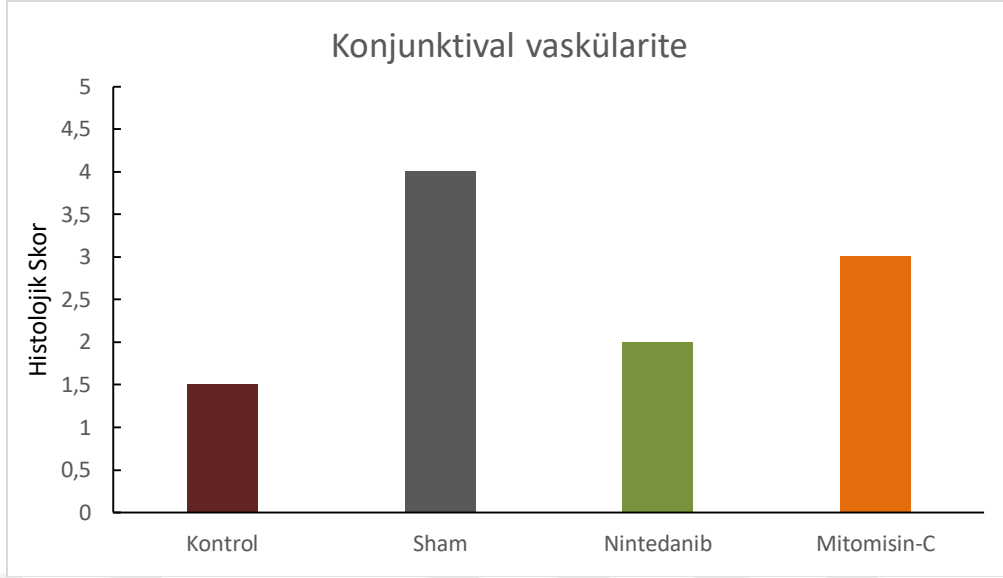


Şekil 11. Subkonjunktival dokuyu gösteren H&E, kolaj fotomikrograf . A. Kontrol Grubu B. Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu

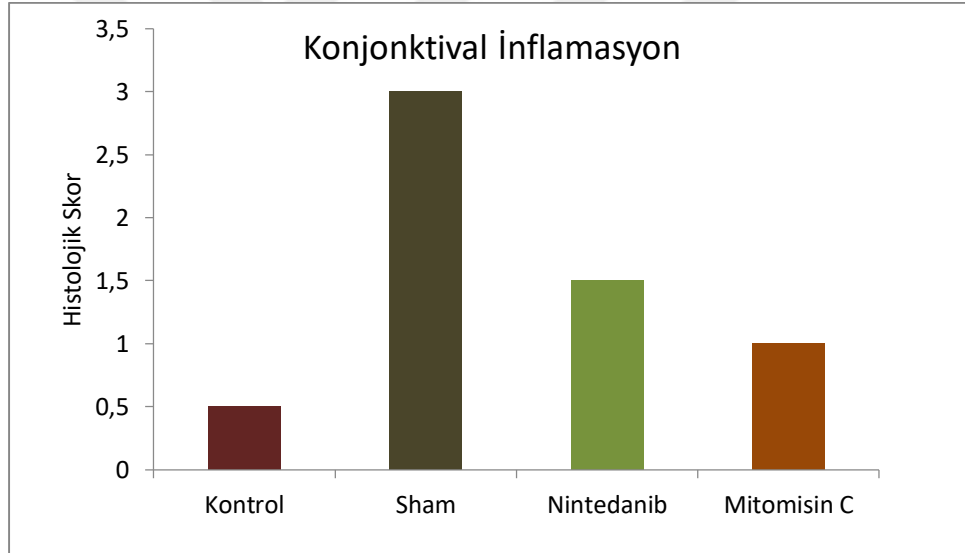
Kontrol, Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C grupları kendi arasında karşılaştırıldığında konjunktival vaskülarite ve inflamasyon skorları arasında fark saptandı ($p < 0.001$). Konjunktival vaskülarite en fazla sham grubunda en az ise Nintedanib grubunda saptandı ve Nintedanib grubundaki vaskülarite istatistiksel olarak da sham grubundan anlamlı daha düşüktü ($p = 0,013$). Mitomisin-C grubunda konjunktival vaskülarite derecesi sham grubundan daha düşük olmasına rağmen MMC ile sham ve Nintedanib grubu arasında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$). Konjunktival inflamasyon en fazla sham grubunda en az ise MMC grubunda saptandı ve MMC grubundaki inflamasyon istatistiksel olarak da sham grubundan anlamlı daha düşüktü ($p = 0,020$). Nintedanib grubundaki inflamasyonun da sham grubuna göre belirgin azaldığı görüldü ve aradaki fark istatistiksel anlamlılığa yakın bulundu ($p = 0,050$). Nintedanib grubunun ortalama konjunktival inflamasyon skoru ($1.50 \pm 0.53 - 1.38 \pm 0.52$) Mitomisin-C'ye göre hafif daha yüksek izlendi ; ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. Gruplardaki konjunktival vaskülarite ve inflamasyon değerlerinin karşılaştırılması

	GRUP				Test İstatistiği	p*
	Ort±SS ; Ortanca (Min-Max)					
	Kontrol	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		
Konjunktival vaskülarite	1.50±0.53 1.5 (1-2)	4.25±0.71 4 (3-5)	2.38±0.52 2 (2-3)	2.87±0.64 3 (2-4)	$\chi^2 = 23.415$	0.000
	<i>Kontrol/ Sham</i>	<i>Kontrol/ Nintedanib</i>	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i>	<i>Sham/ Nintedanib</i>	<i>Sham/ Mitomisin-C</i>	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i>
p**	0.000	0.585	0.044	0.013	0.246	1.000
Konjunktival inflamasyon	0.50±0.53 0.5 (0-1)	3.13±0.64 3 (2-4)	1.50±0.53 1.5 (1-2)	1.38±0.52 1 (1-2)	$\chi^2 = 23.047$	0.000
	<i>Kontrol/ Sham</i>	<i>Kontrol/ Nintedanib</i>	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i>	<i>Sham/ Nintedanib</i>	<i>Sham/ Mitomisin-C</i>	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i>
p**	0.000	0.204	0.406	0.050	0.020	1.000



Grafik 7. Gruplar arası konjunktival vaskülarite histolojik skorları karşılaştırılması



Grafik 8. Gruplar Arası Konjunktival İnflamasyon Histolojik Skorları Karşılaştırılması

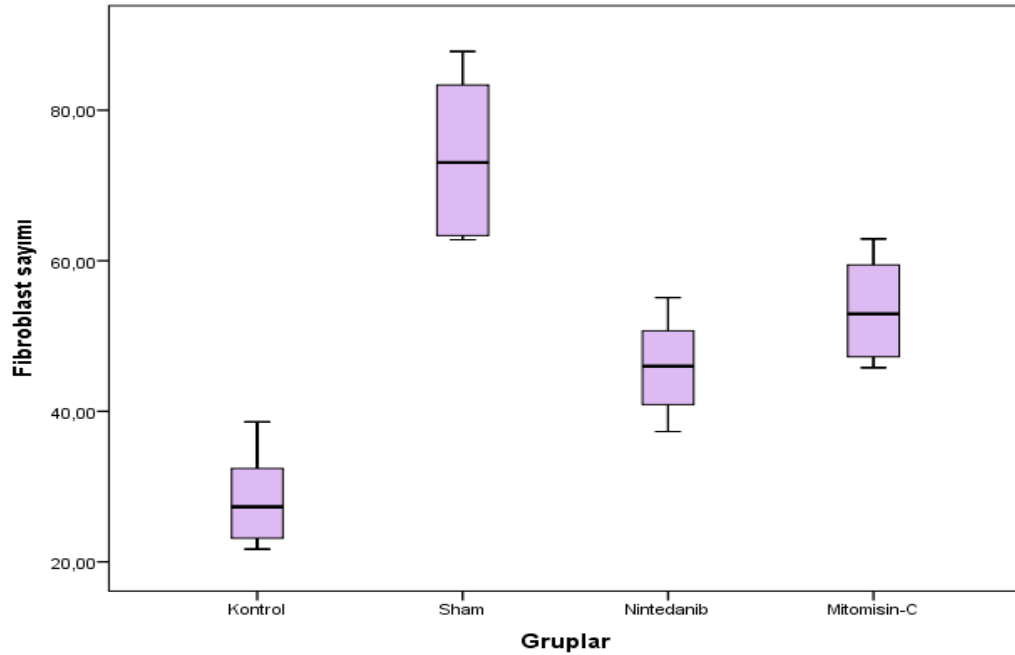
Ortalama fibroblast sayısı incelendiğinde gruplar arasında fark saptandı ($p < 0.001$). Ortalama fibroblast sayısı 28.25 ± 6.01 ile en az kontrol grubunda, 73.76 ± 10.40 ile en yüksek Sham grubunda izlendi. Cerrahi geçiren gruplar değerlendirildiğinde ise en az fibroblast yoğunluğunun Nintedanib grubunda olduğu görüldü. MMC grubunda ise fibroblast yoğunluğunun sham grubuna göre azaldığı ancak, istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığı görüldü. Sham ve Nintedanib grubu arasında nintedanib grubundaki fibroblast sayısı anlamlı olarak daha düşüktü ($p = 0,012$) Nintedanib ve MMC grubu

kıyaslandığında ise Nintedanib grubunda daha az fibroblast yoğunluğu olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı($p=1,000$)(Tablo 13).

Tablo 13. Fibroblast sayısının gruplar arasında karşılaştırılması

Fibroblast Sayımı	Ort±SS Ortanca (Min-Max)	p	
Grup			
Kontrol	28.25±6.01 27.3 (21.7-38.6)	0.000	<i>Kontrol- Sham</i> $p=0.000$ <i>Kontrol- Nintedanib</i> $p=0.310$ <i>Kontrol- Mitomisin -c</i> $p=0.014$ <i>Sham-Nintedanib</i> $p=0.012$ <i>Sham- Mitomisin-c</i> $p=0.274$ <i>Nintedanib-Mitomisin-c</i> $p=1.000$
Sham	73.76±10.40 73 (62.8-87.8)		
Nintedanib	45.95±6.35 46 (37.3-55.1)		
Mitomisin-C	53.50±6.72 52.9 (48.8-62.9)		

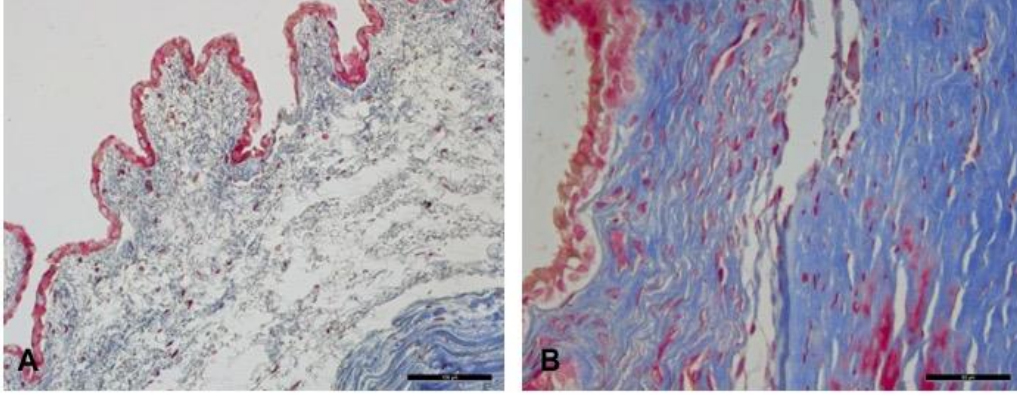
* Kruskal Wallis Varyans Analizi



Grafik 9. Graplarda ortalama Fibroblast sayısının dağılımı

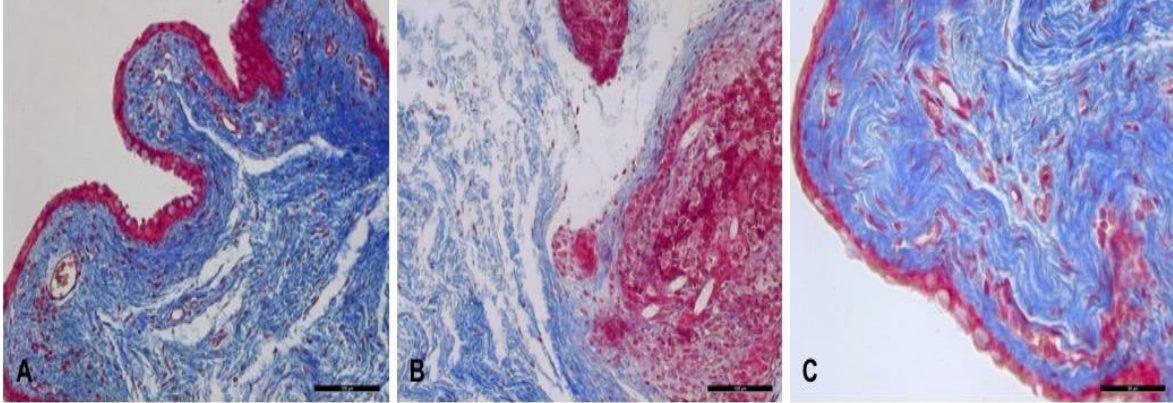
9.6.2. Masson trikrom (MT) Boyama Bulguları

Kollajen birikimini göstermek için yapılan Masson trikrom boyamasında, Kontrol grubuna ait örnekler incelendiğinde, normal sağlıklı morfolojiye sahip konjunktival epitel, subkonjunktival doku ve sklera tabakaları gözlemlenmiştir (Şekil 12).

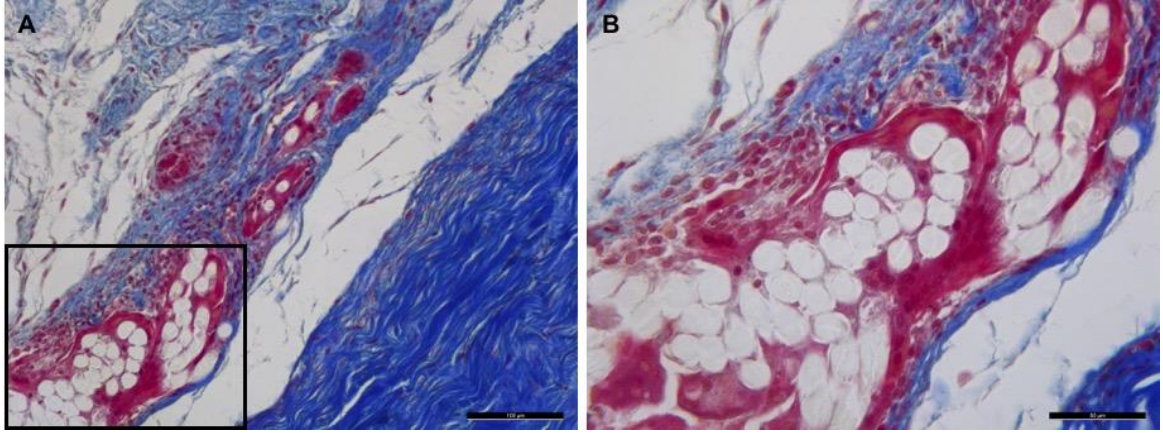


Şekil 12. Kontrol Grubuna Ait Subkonjunktival Dokuyu Gösteren FOTOMİKROGRAF. Masson Trikrom, A-200X ve B-400X magnifikasyon

Sham grubu incelendiğinde subkonjunktivada ve bleb bölgelerinde kollajen sentezinin artışı ile karakterize şiddetli fibrozis görülmüştür (Şekil 13-14) Artan kollajen sentezi nedeniyle bu grupta oldukça yoğun boyanma (mavi) gerçekleşmiştir.

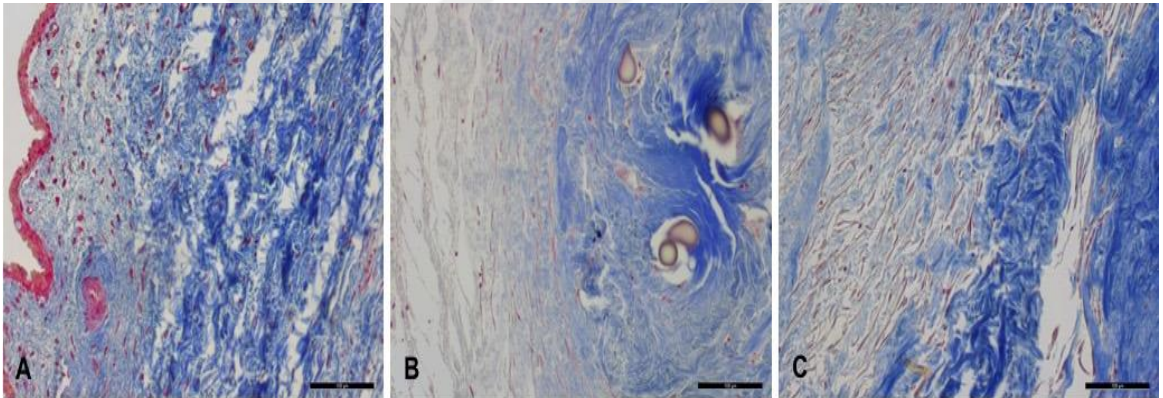


Şekil 13. Sham Grubuna Ait Subkonjunktival Dokuyu Gösteren Fotomikrograf. Fibrozise işaret eden yoğun kollajen sentezi/birikimi mavi renkte boyanmayla gösterilmiştir. Masson trikrom, A ve B 200X; C-400X magnifikasyon



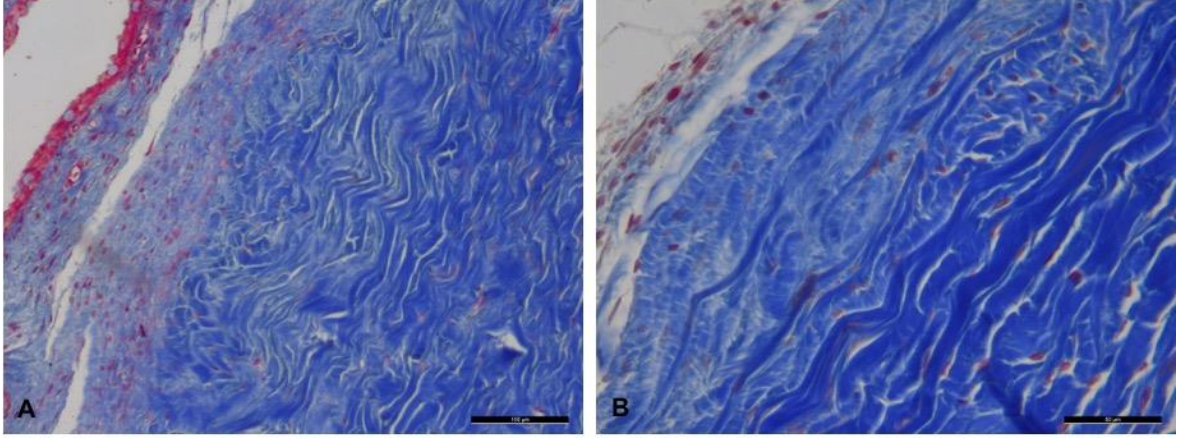
Şekil 14.Sham grubuna ait subkonjunktival dokuyu ve bleb bölgesini gösteren fotomikrograf. Şekil 14A’da siyah çerçeve içerisine alınmış alan Şekil 14B’de daha büyük magnifikasyonda gösterilmiştir. Masson trikrom, A-200X, B-400X magnifikasyon

Mitomycin-C grubuna bakıldığında; subkonjunktival fibrozisin Sham grubuna göre azaldığı ancak bleb bölgesinde bir miktar devam ettiği görülmüştür (Şekil 15).

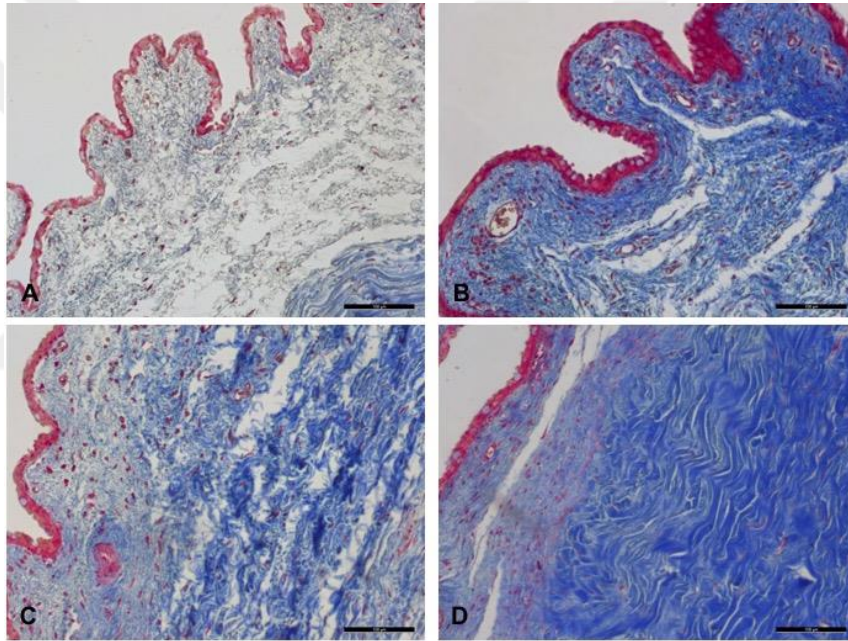


Şekil 15.Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival doku ve bleb bölgesini gösteren fotomikrograf. Masson trikrom, 200X magnifikasyon

Nintedanib grubu incelendiğinde; subkonjunktival fibrozisin Sham grubuna göre azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuyu gösteren fotomikrograf. Masson trikrom, A-200X, B-400X magnifikasyon.



Şekil 17. Subkonjunktival dokuda kollejen birikimini gösteren kolaj fotomikrograf. A. Kontrol Grubu B. Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu

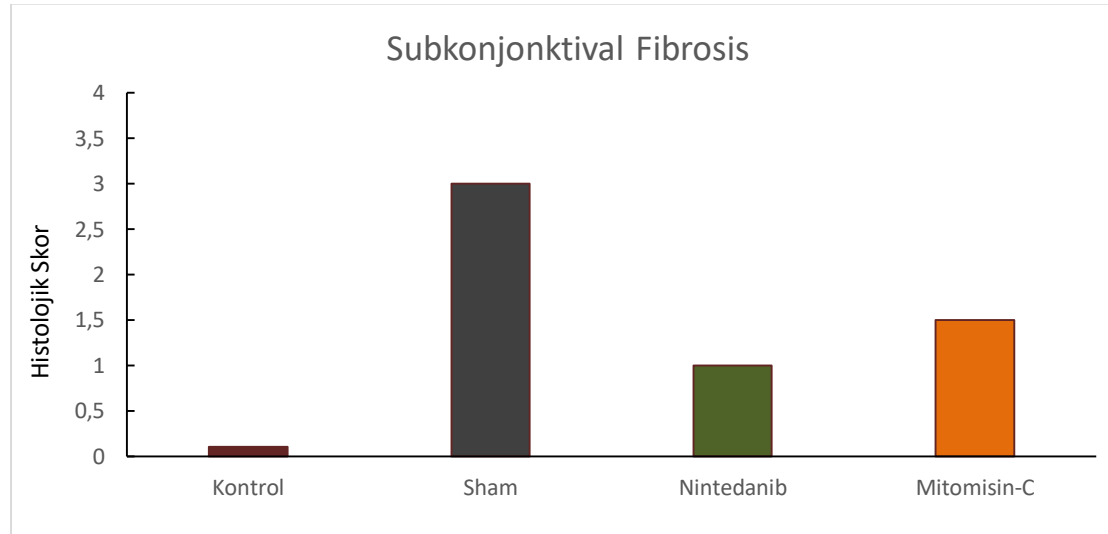
Kontrol, Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C grupları kendi arasında karşılaştırıldığında subkonjunktival fibrozis skorları arasında fark saptandı ($p < 0.001$). Subkonjunktival fibrozisin Sham grubunda en fazla olduğu, Nintedanib grubunda ise en az olduğu tesbit edildi ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Mitomisin-C grubunda ise subkonjunktival fibrozisin azaldığı ancak Sham grubu ve Nintedanib grubu ile arasında anlamlı fark oluşturmadığı tesbit edildi ($p > 0,05$) (Tablo 14).

Tablo 14. Gruplardaki Subkonjonktival Fibrozis değerlerinin karşılaştırılması

	GRUP				Test İstatistiği	p*
	Kontrol	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		
Subkonjonktival Fibrosis	0 (0-0)	2.63±0.52 3 (2-3)	0.88±0.64 1 (0-2)	1.50±0.53 1.5 (1-2)	$\chi^2 =25.339$	0.000
p**	<i>0.000</i>	<i>0.421</i>	<i>0.014</i>	<i>0.013</i>	<i>0.395</i>	<i>1.000</i>

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

** Kruskal Wallis Varyans Analizi çoklu karşılaştırma testi (Post Hoc)

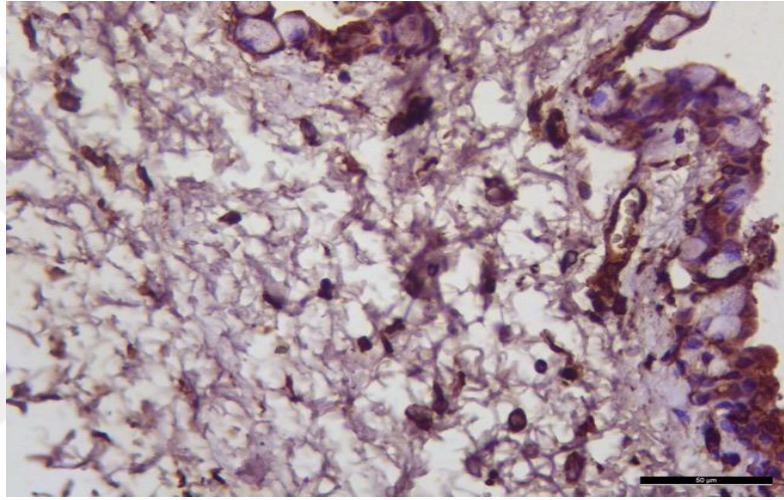


Grafik 10. Gruplar arası Subkonjonktival Fibrozis Histolojik skorları karşılaştırılması

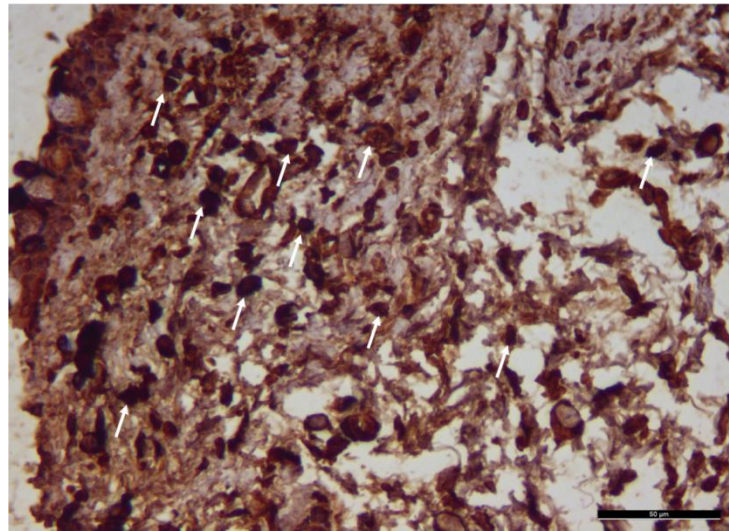
9.5. İMMÜNOHİSTOKİMYA İNCELEME BULGULARI

9.5.1. α -SMA İmmünohistokimyası

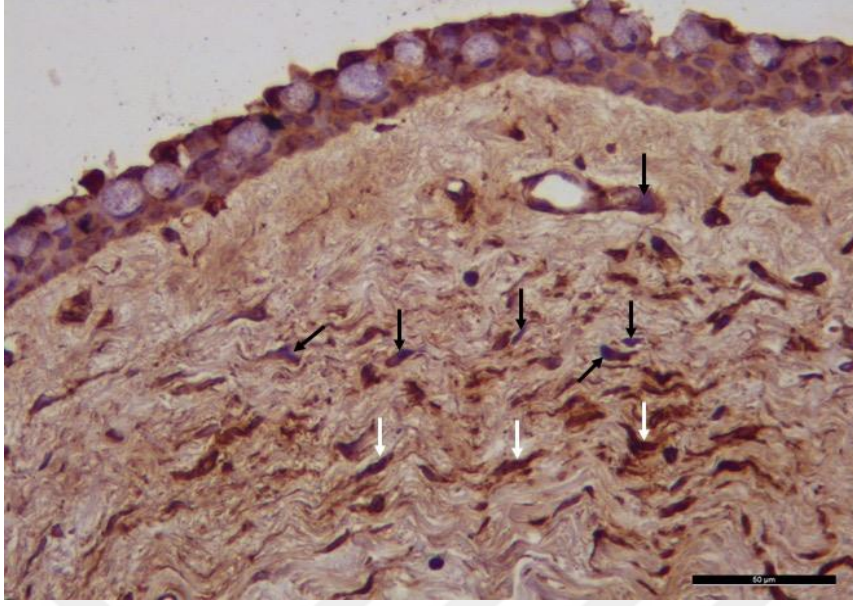
Tüm gruplara ait örneklerde subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesi incelenmiştir. Sham grubunda kontrole göre oldukça artmış bir α -SMA ekspresyonu tespit edilmiştir (Şekil 19). Tedavi gruplarının hepsinde Sham grubuna göre bu miyofibroblast belirtecinin ekspresyonunda azalma görülmüştür (Şekil 20-21).



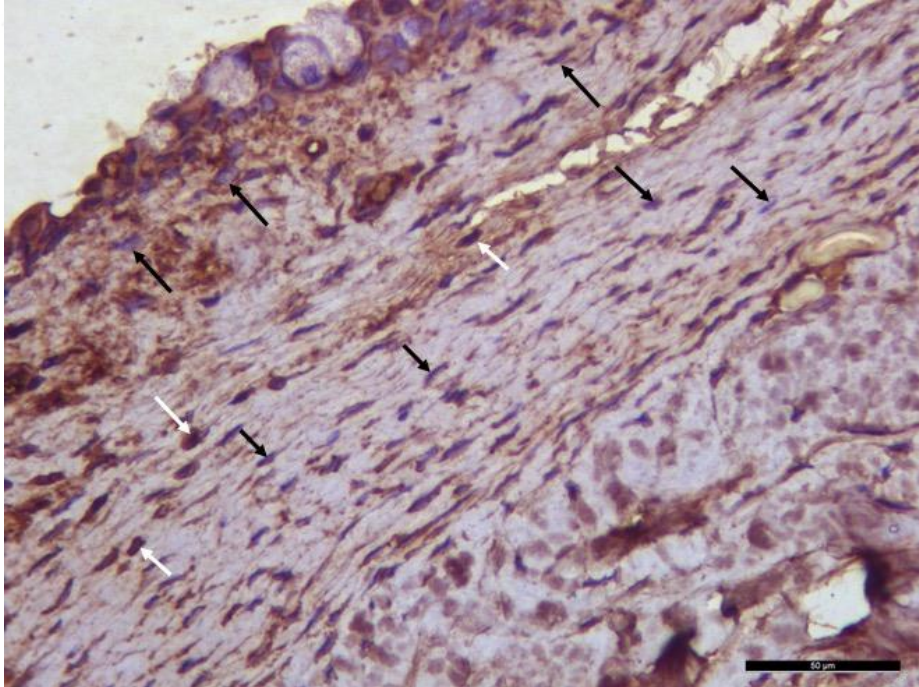
Şekil 18. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon



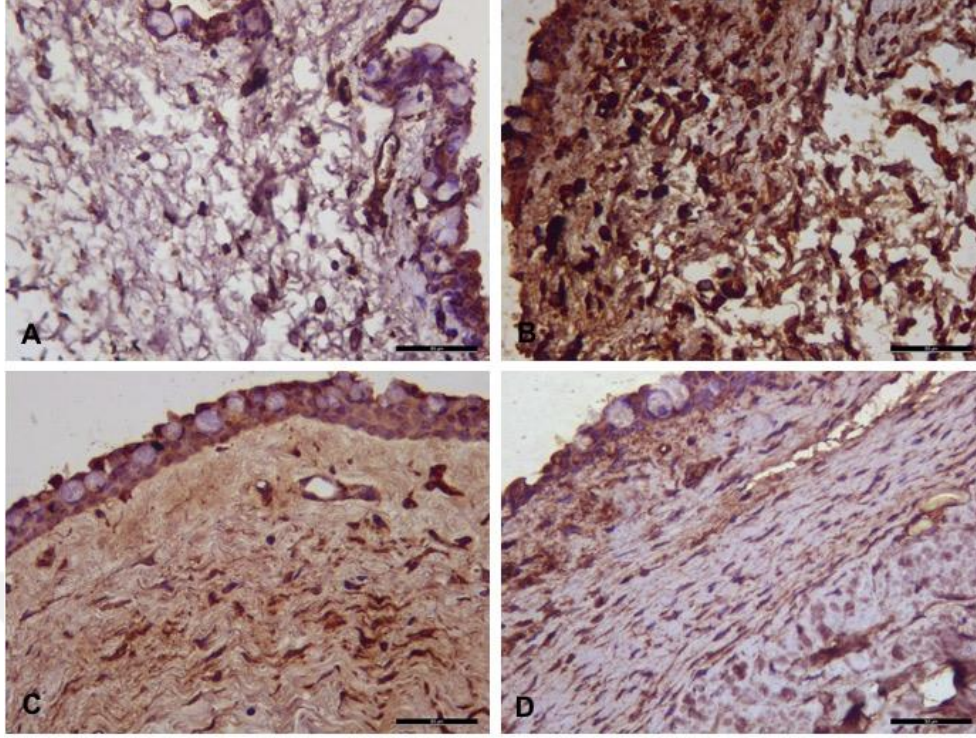
Şekil 19. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Beyaz ok, α -SMA pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon



Şekil 20. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Beyaz ok, α -SMA pozitif(+) hücreleri; siyah ok, α -SMA negatif(-) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.



Şekil 21. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuda α -SMA immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Beyaz ok, α -SMA pozitif(+) hücreleri; siyah ok, α -SMA negatif(-) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon



Şekil 22. Subkonjunktival dokuda Asm-a immünreaktivitesini gösteren kolaj fotomikrograf. A. Kontrol Grubu B. Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu

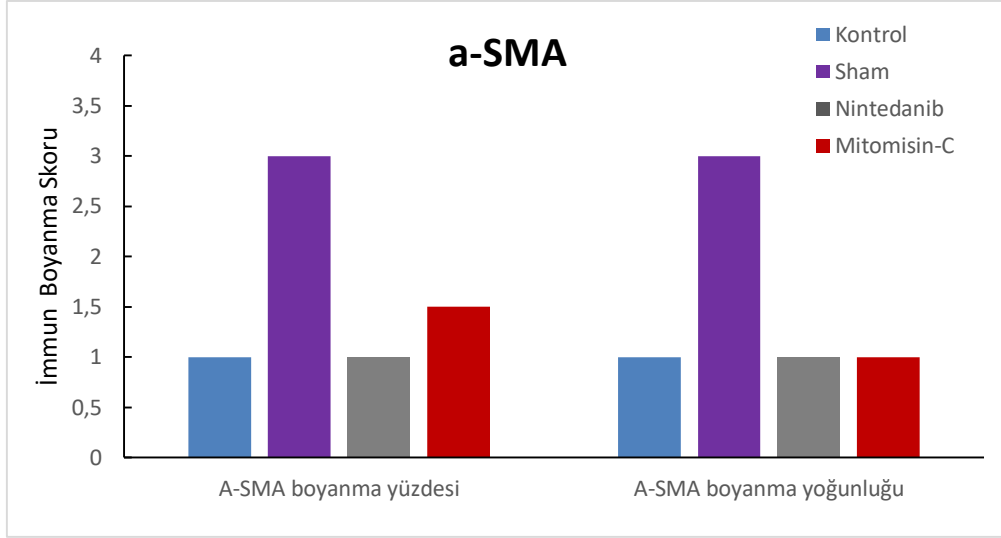
a-SMA immün boyama sonuçlarına bakıldığında Kontrol, Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C gruplarında a-SMA Boyanma oranı ve yoğunluğu skorları arasında anlamlılık saptandı ($p < 0.001$). Sham grubunda Nintedanib ve Mitomisin-C gruplarına göre anlamlı düzeyde oldukça yüksek oranda a-SMA pozitifliği olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p = 0,007$ $p = 0,009$; $p = 0,026$ $p = 0,009$). Nintedanib grubunda ise boyanma oranının ve yoğunluğunun en az olduğu fakat MMC grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p > 0,05$) (Tablo 15).

Tablo 15.Gruplardaki A-SMA Boyanma oranları ve yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması

	GRUP				Test İstatistiği	p*
	Ort±SS ; Ortanca (Min-Max)					
	Kontrol	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		
A-SMA Boyanma yüzdesi	1.00±0.00 1 (1-1)	2.75±0.46 3 (2-3)	1.38±0.52 1 (1-2)	1.50±0.53 1.5 (1-2)	$\chi^2 = 20.871$	0.000
p**	<i>Kontrol/ Sham</i> 0.000	<i>Kontrol/ Nintedanib</i> 1.000	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i> 0.758	<i>Sham/ Nintedanib</i> 0.007	<i>Sham/ Mitomisin-C</i> 0.026	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i> 1.000
A-SMA Boyanma yoğunluğu	1.00±0.00 1 (1-1)	2.75±0.46 3 (2-3)	1.38±0.52 1 (1-2)	1.38±0.52 1 (1-2)	$\chi^2 = 20.961$	0.000
P**	<i>Kontrol/ Sham</i> 0.000	<i>Kontrol/ Nintedanib</i> 1.000	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i> 1.000	<i>Sham/ Nintedanib</i> 0.009	<i>Sham/ Mitomisin-C</i> 0.009	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i> 1.000

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

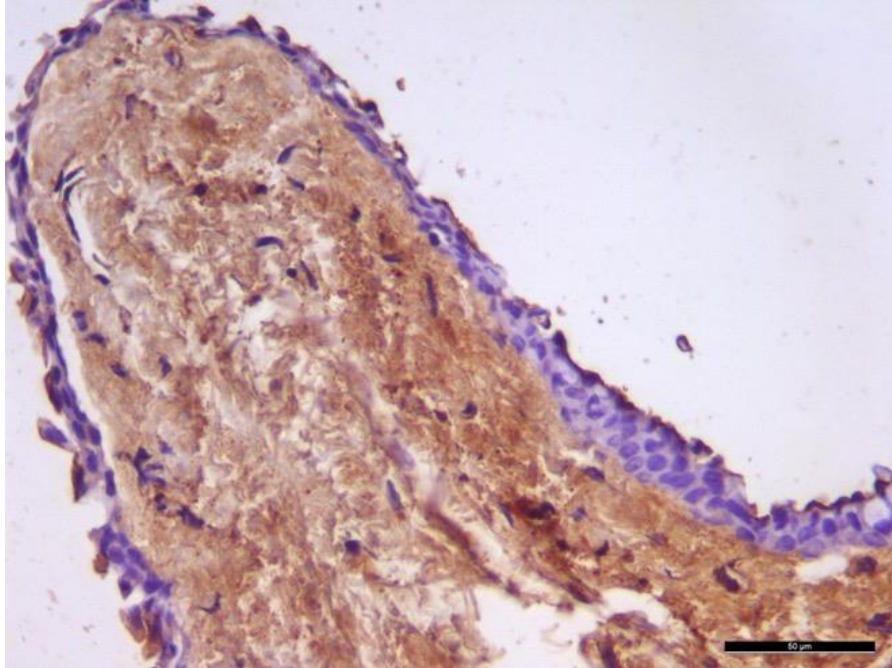
** Kruskal Wallis Varyans Analizi çoklu karşılaştırma testi (Post Hoc)



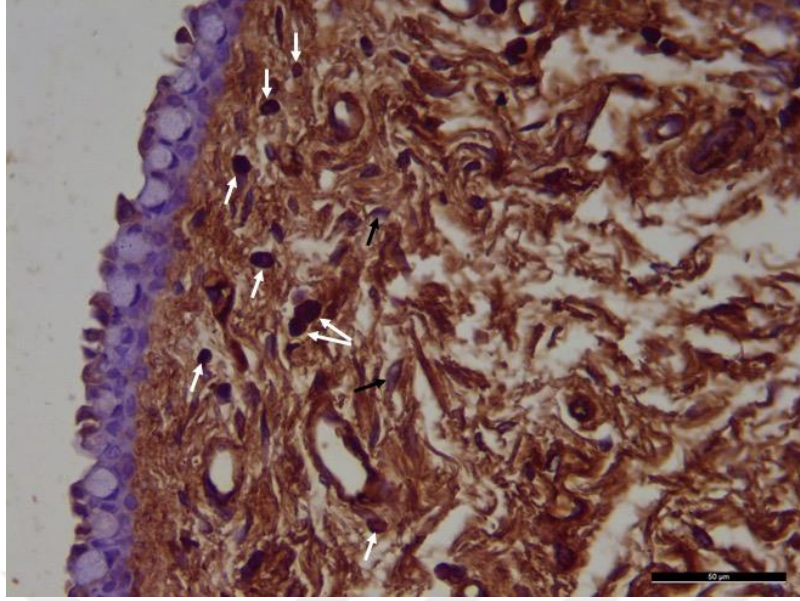
Grafik 11. Gruplar Arası a-SMA boyanma ve yoğunluk derecelerinin karşılaştırılması

9.5.2. Tgf- B immünohistokimyası

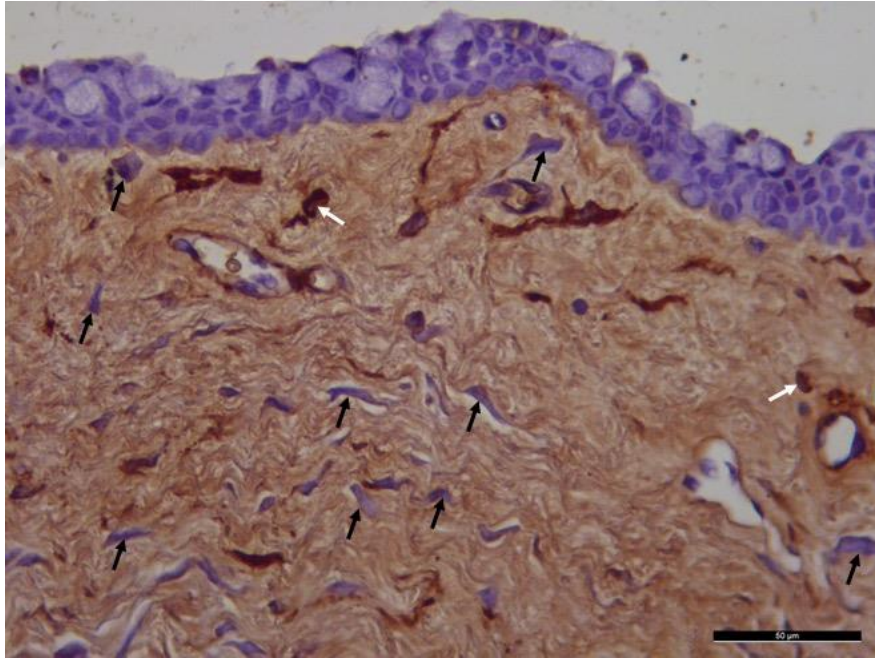
α -SMA 'ya benzer olarak, TGF- β ekspresyonu Sham grubunda kontrole göre oldukça artış göstermiştir (Şekil 24) Bu artış Nintedanib ve Mitomycin-C gruplarında kademeli şekilde azalmıştır (Şekil 25-26). Ancak tedavi grupları birbirleri ile kıyaslandıklarında, aralarında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir.



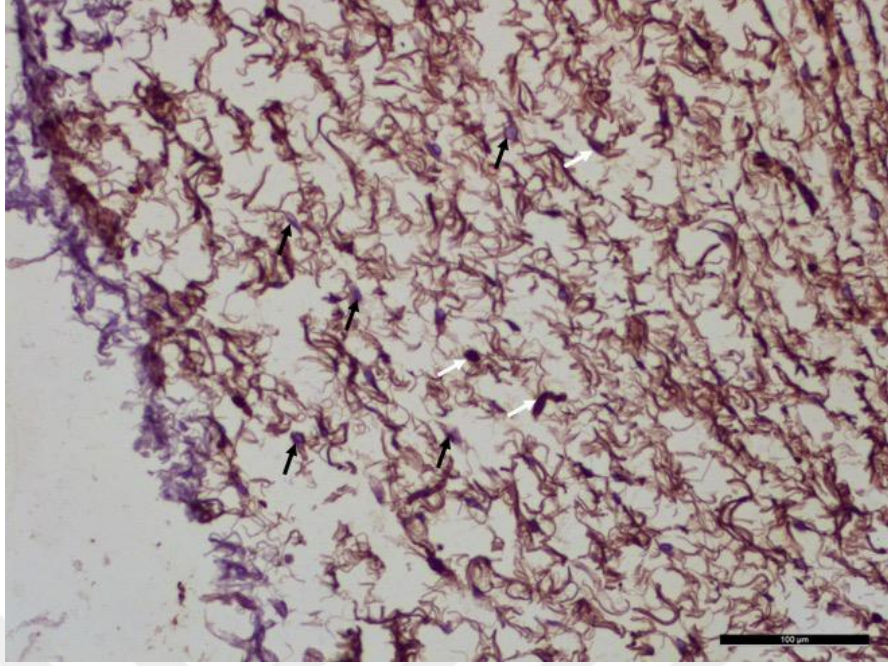
Şekil 23. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon.



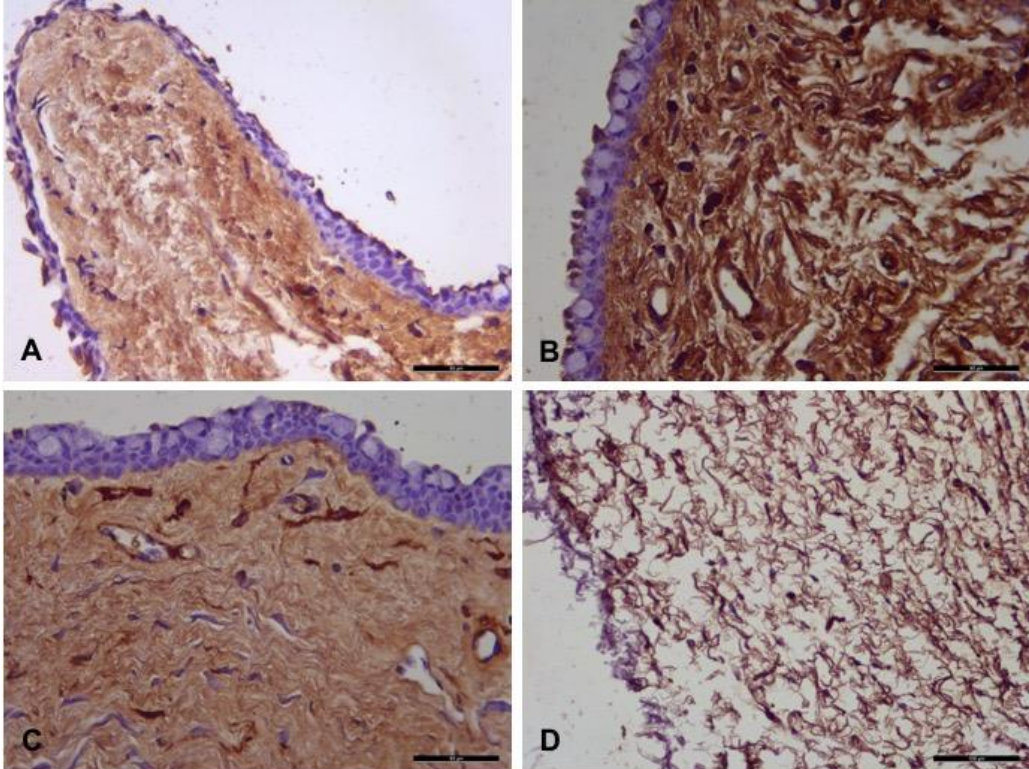
Şekil 24. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, TGF- β negatif(-) hücreleri; beyaz ok, TGF- β pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon.



Şekil 25. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, TGF- β negatif(-) hücreleri; beyaz ok, TGF- β pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon



Şekil 26. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuda TGF- β immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, TGF- β negatif(-) hücreleri; beyaz ok, TGF- β pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon



Şekil 27. Subkonjunktival dokuda TGF-B immünreaktivitesini gösteren kolaj fotomikrograf. A. Kontrol Grubu B. Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedanib grubu

TGF-B1 immun boyama sonuçlarına bakıldığında Kontrol, Sham, Nintedanib ve Mitomisin-C gruplarında TGF-B1 boyanma oranı ve yoğunluğu skorları arasında anlamlılık saptandı ($p < 0.001$). Sham grubunda Nintedanib ve Mitomisin-C gruplarına göre anlamlı düzeyde yüksek oranda TGF-B1 pozitifliği olduğu belirlenmiştir (sırasıyla $p = 0,007$ $p = 0,004$; $p = 0,026$ $p = 0,016$). Nintedanib grubunda ise boyanma oranının ve yoğunluğunun en az olduğu görülmüş fakat MMC grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 16).

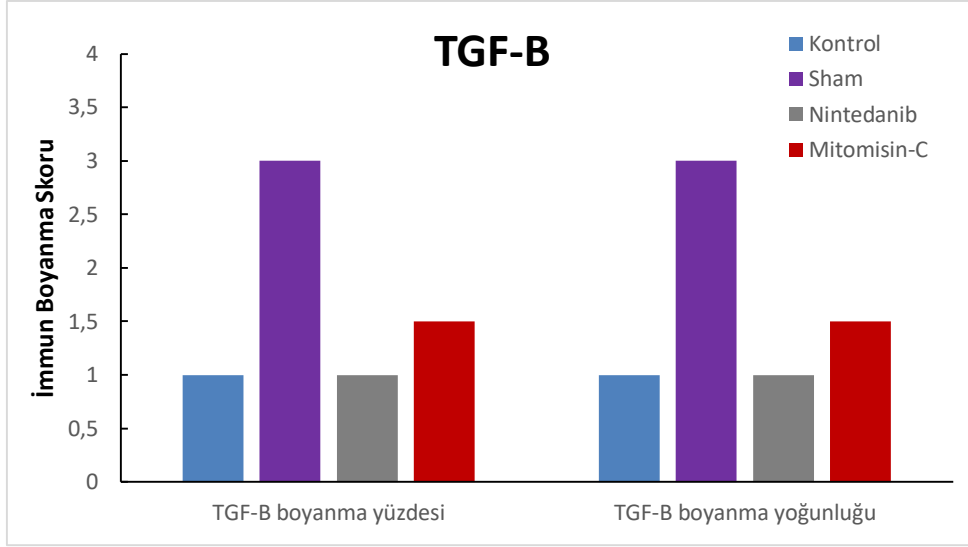


Tablo 16.Gruplardaki TGF-B Boyanma oranları ve yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması

	GRUP				Test İstatistiği	p*
	Ort±SS ; Ortanca (Min-Max)					
	Kontrol	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		
TGF-B Boyanma yüzdesi	1.00±0.00 1 (1-1)	2.75±0.46 3 (2-3)	1.38±0.52 1 (1-2)	1.50±0.53 1.5 (1-2)	$\chi^2 = 20.871$	0.000
p**	<i>Kontrol/ Sham</i> 0.000	<i>Kontrol/ Nintedanib</i> 1.000	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i> 0.758	<i>Sham/ Nintedanib</i> 0.007	<i>Sham/ Mitomisin-C</i> 0.026	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i> 1.000
TGF-B Boyanma yoğunluğu	1.00±0.00 1 (1-1)	2.88±0.35 3 (2-3)	1.38±0.52 1 (1-2)	1.50±0.53 1.5 (1-2)	$\chi^2 = 21.980$	0.000
p**	<i>Kontrol/ Sham</i> 0.000	<i>Kontrol/ Nintedanib</i> 1.000	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i> 0.857	<i>Sham/ Nintedanib</i> 0.004	<i>Sham/ Mitomisin-C</i> 0.016	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i> 1.000

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

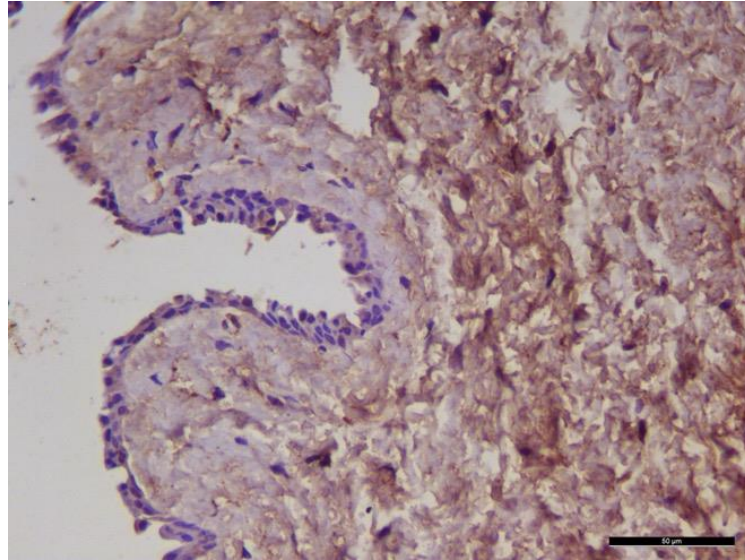
** Kruskal Wallis Varyans Analizi çoklu karşılaştırma testi (Post Hoc)



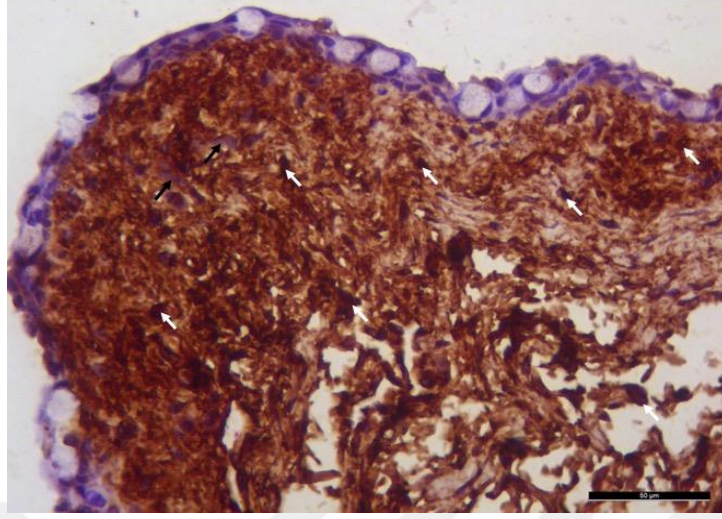
Grafik 12. Gruplar arası TGF-B boyanma ve yoğunluk derecelerinin karşılaştırılması

9.5.3. MMP-2 İmmünohistokimyası

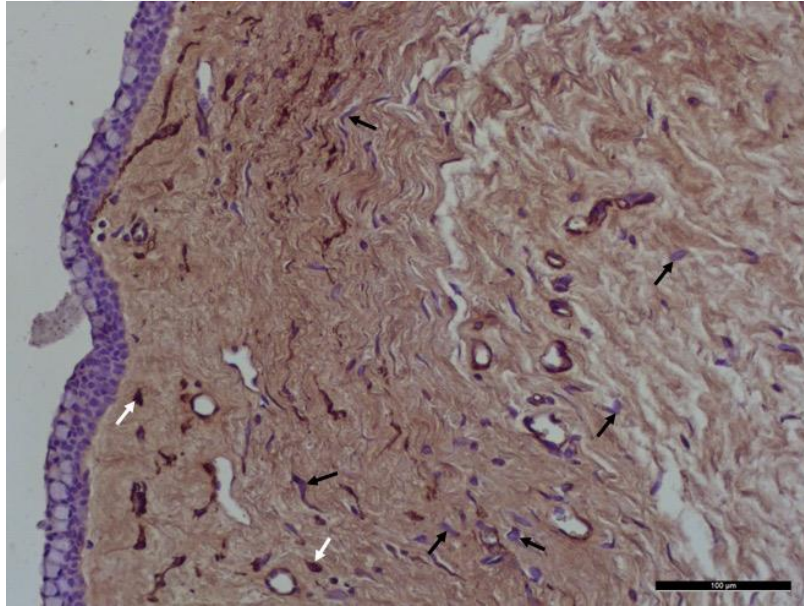
Bu matriks metalloproteinazın immünohistokimya bulguları incelendiğinde; Sham grubunda artmış olan MMP-2 ekspresyonu (Şekil 29) tedavi gruplarında azalmıştır (Şekil 30-31)



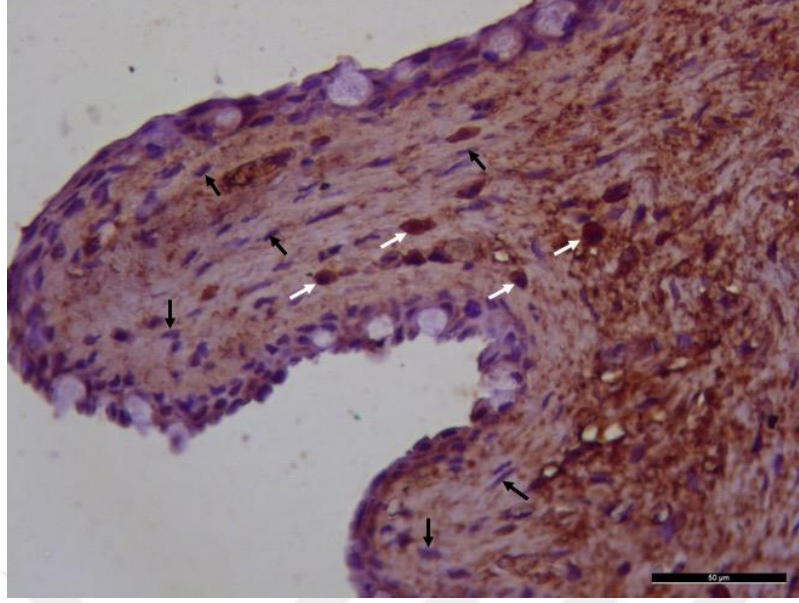
Şekil 28. Kontrol grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon



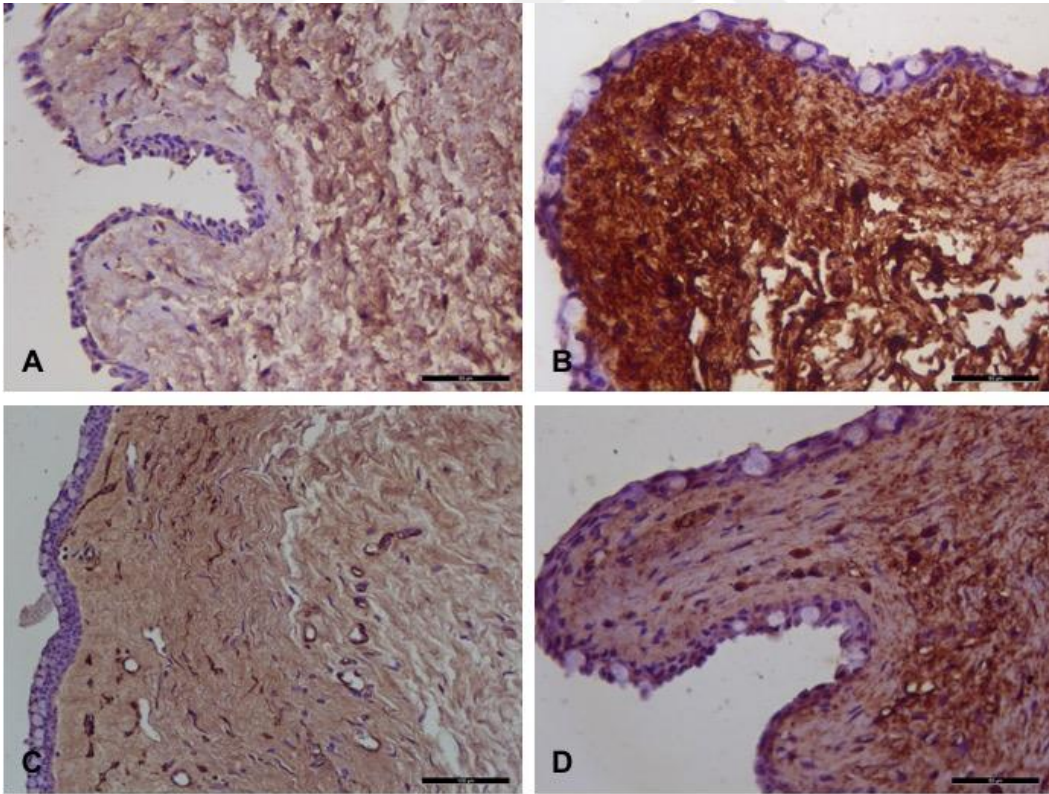
Şekil 29. Sham grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, MMP-2negatif(-) hücreleri; beyaz ok, MMP-2 pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon



Şekil 30. Mitomycin-C grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, MMP-2 negatif(-) hücreleri; beyaz ok, MMP-2 pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 200X magnifikasyon.



Şekil 31. Nintedanib grubuna ait subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren fotomikrograf. Siyah ok, MMP-2 negatif(-) hücreleri; beyaz ok, MMP-2 pozitif(+) hücreleri göstermektedir. 400X magnifikasyon



Şekil 32. Subkonjunktival dokuda MMP-2 immünreaktivitesini gösteren kolaj fotomikrograf. A. Kontrol Grubu B. Sham Grubu C. MMC grubu D. Nintedan, b grubu

Dört grup arasında MMP-2 ekspresyonu incelendiğinde ise; boyanma oranı ve yoğunluğu skorları arasında fark saptandı ($p < 0.001$). Farklılık incelendiğinde ; Sham grubunun MMP-2 ekspresyonu Nintedanib ve Mitomisin-C gruplarına göre anlamlı düzeyde fazlaydı (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.01$ $p < 0.05$) (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.01$ $p < 0.01$). Mitomisin-C grubunda pozitif hücre yoğunluğu ve boyanma oranının Nintedanib grubuna göre daha az olduğu görülmüş fakat bu gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz sonucu anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 17).

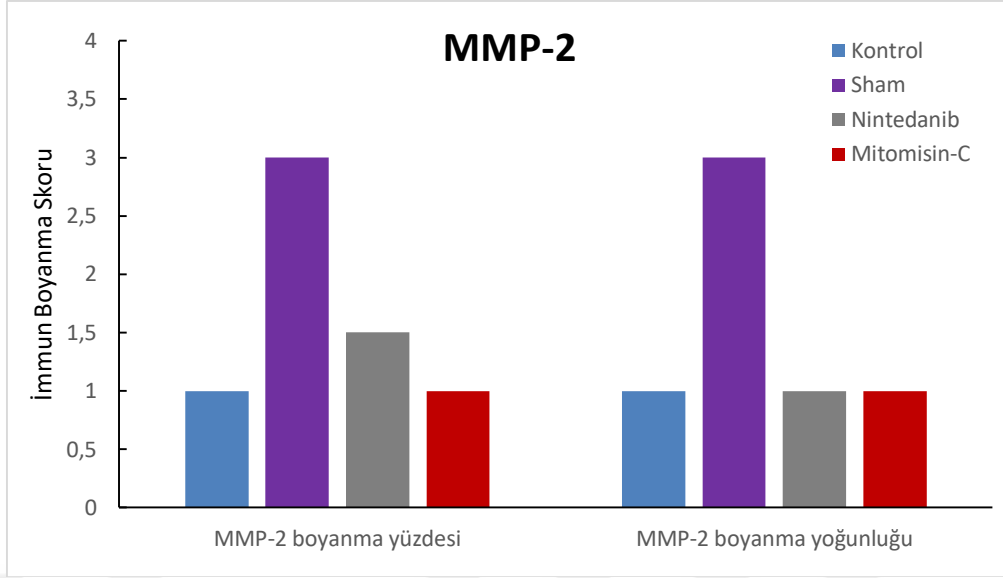


Tablo 17.Gruplardaki MMP-2 Boyanma oranları ve yoğunluk değerlerinin karşılaştırılması

	Ort±SS ; Ortanca (Min-Max)				Test İstatistiği	p*
	Kontrol	Sham	Nintedanib	Mitomisin-C		
MMP-2 Boyanma yüzdesi	1.00±0.00 1 (1-1)	3.00±0.00 3 (3-3)	1.50±0.53 1.5 (1-2)	1.38±0.52 1 (1-2)	$\chi^2 =23.312$	0.000
p**	<i>Kontrol/ Sham</i> 0.000	<i>Kontrol/ Nintedanib</i> 0.954	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i> 1.000	<i>Sham/ Nintedanib</i> 0.009	<i>Sham/ Mitomisin-C</i> 0.003	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i> 1.000
MMP-2 Boyanma yoğunluğu	1.00±0.00 1 (1-1)	3.00±0.00 3 (3-3)	1.38±0.52 1 (1-2)	1.25±0.46 1 (1-2)	$\chi^2 =23.846$	0.000
P**	<i>Kontrol/ Sham</i> 0.000	<i>Kontrol/ Nintedanib</i> 1.000	<i>Kontrol/ Mitomisin-C</i> 1.000	<i>Sham/ Nintedanib</i> 0.004	<i>Sham/ Mitomisin-C</i> 0.001	<i>Nintedanib/ Mitomisin-C</i> 1.000

* Kruskal Wallis Varyans Analizi

** Kruskal Wallis Varyans Analizi çoklu karşılaştırma testi (Post Hoc)



Grafik 13.MMP-2 boyanma ve yoğunluk derecelerinin karşılaştırılması

10.TARTIŞMA

Glokom, retina ganglion hücreleri kaybına ve optik sinir başında hasara yol açarak, progresif görme kaybına yol açan kronik bir hastalıktır(1). Glokom dünyada körlük nedenleri arasında katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonundan sonra üçüncü sırada yer almaktadır(2).Glokom ciddi hale gelene kadar asemptomatiktir ve glokom hastası olduğunu bilenlerden daha fazla sayıda kişi bu hastalık görme kaybı, görme alanı kaybı gibi semptomlar verip ciddi hale gelene kadar glokom hastası olduğunu bilmez(13). Bu sebepten dolayı hastalığın tedavisi çok önemlidir tedavi başlangıçta medikaldir, ancak birçok ilerlemiş veya yanıt vermeyen primer açık açılı glokom vakasında cerrahi tedavi gerekmektedir. Cerrahi tedavide altın standart tedavi trabekülektomidir(3). Cerrahi tedavi ile GİB kontrol altına alınabilir ve hastalık progresyonu durdurulabilir(3). Trabekülektominin başarı şansını birçok faktör etkilemektedir; genç yaş, önceden uzun süreli topikal ilaç kullanımı, önceden geçirilmiş başarısız glokom filtran cerrahisi öyküsü gibi. Ancak cerrahi başarısızlığın önemli nedenlerinden biri de postoperatif bleb bölgesinde oluşan aşırı yara iyileşme cevabı ve skar formasyonudur(59).Bleb bölgesinde skar oluşumunda en önemli faktör dokunun verdiği aşırı yara iyileşme cevabıdır. Yara iyileşme sürecinde en önemli hücreler fibroblastlardır. Fibroblastların proliferasyonu, miyofibroblastlara diferansiyasyonu ve kollejen sentezlemesi neticesinde bleb bölgesinde skar oluşmakta ve blebin çalışmasını ve ömrünü etkilemektedir(62). Bu nedenle aşırı yara iyileşmesi ve skar oluşumunu önlemede en önemli faktör fibroblast hücrelerinin inhisyonudur(71).

Günümüzde PAAG tedavisinde GFC başarılı bir şekilde uygulanmasına rağmen postoperatif yara yeri fibrozisi ve subkonjonktival skar oluşumu halen önemli bir sorun oluşturmakta ve bleb ömrünü azaltmakta; başarılı anatomik bir cerrahi yapılsa bile oluşan fibrozis cerrahinin fonksiyonel sonuçlarını olumsuz etkilemektedir. Postoperatif fibrozis oluşumu ve buna bağlı gelişen subkonjonktival skarı önlemek amaçlı daha önce çok sayıda ajan kullanılmıştır. Bu ajanlar yara iyileşmesinin değişik evrelerine etkilidir. Topikal kortikosteroidler, nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar, fibrinolitikler(ürokinaz, tPA ,streptokinaz, heparin), antimetabolitler(MMC, 5-FU, bleomisin, sitozin arabinasid, daunorubisin, doksorubisin,taksol,)beta irridasyon, fotodinamik tedavi, immünmodülatör olan siklosporin A ve interferonlar,kollejen sentez inhibitörleri D-penisilamin ve beta

aminopropionitril, anti-VEGF ajanlar(bevacizumab, pegaptanib vs.), büyüme faktörü ve reseptörü inhibisyonu yapanlar lerdelimumab, tranilast,suramin, decorin,infliksimab, rapamisin,lovastatin; fibroblast migrasyon inhibitörleri kolşisin, sitokalazin,vinkristin, vinblastin; Rho kinaz inhibitörleri(ROCK) gibi birçok ajan postoperatif fibrozisi önlemek için kullanılmış ve denenmiştir(64, 65). Bu ajanların hepsi in vitro olarak hücre kültürlerinde, in vivo hayvanlarda GFC modelinde ve klinik çalışmalarda denenmiştir.

İn vivo tavşan çalışmalarında sitozin arabinozidin topikal ya da subkonjonktival enjeksiyonlar sonrası yara iyileşmesini azalttığı gösterilmiş. Bleomisin ve daunorobusinin tavşanlarda GFC modelinde daunorobusinin subkonjonktival, bleomisinin emdirilmiş sponç şeklinde uygulanmasının kontrol grubuna göre fibrozisi azalttığı ve bleb ömrünü uzattığı gösterilmiş. Yine doksorubisinin in vitro insan tenon fibroblastlarında hücrelerin canlılığını, kollejen üretimini ve mitotoik aktivitesini azalttığı gösterilmiştir(65). TGF-beta inhibitörleri decorin, suramin, lovastatin ve lerdelememimab(Cat 152) ile yapılan in vitro ve in vivo tavşanda GFC modeli çalışmalarda TGF-B2 aracılı inflamasyonun azaldığı ve GFC sonrası subkonjonktival skar formasyonunun azaldığı gösterilmiştir(64). Zang ve arkadaşları bir vaka serisinde trabekülektomiden hemen sonra 3,7, 10 ve 14. günlerde subkonjonktival olarak 5*10 IU IFN alfa- 2 b uygulamasını ve 0,25 mg/ml MMC emdirilmiş sponç uygulamasını ile kıyaslamışlar. IFN alfa-2b ile MMC ile tedavi edilen gruplar arasında bleb fibrozisini önleme açısından benzer etkiler bulmuşlar, ancak IFN alfa-2b'nin yan etkiler açısından MMC den daha güvenliği olduğunu göstermişler. IFN alfa-2b ile ilgili çalışmalar devam etmektedir(111). Anti VEGF tedaviler de GFC'nde denenmiş ve kullanılmıştır. Rola ve arkadaşları 2009-2010 yılları arasında Lublin Medikal Üniversitesi Oftalmoloji Departmanında 20 hastanın 21 gözünde GFC sonrası 20 ±10gün boyuncagünde beş kere topikal 5mg/ml bevacizumab uygulamışlar ve topikal bevacizumab uygulamasının GFC sonrası bleb bölgesinde damarlanmayı azalttığını ve yüksek riskli gözlerde fonksiyonel bleb oluşmasına fayda sağlayabileceğini göstermişler(142). Rapamisin FGF ve PDGF salınımını inhibe eden bir büyüme faktörü inhibitörüdür. Kang ve arkadaşları 2018 yılında tavşanlarda oluşturdukları GFC modelinde rapamisinin artan dozlarda etkisini incelemişler. Trabekülektomi sonrası bleb bölgesine uygulanan topikal %1, %3 ve %5 'lik rapamisin günde 4 kez uygulanmasının kontrol grubu ile kıyaslandığında fibroblast proliferasyonunu azalttığını, doz bağımlı

olarak fibroblastlarda kaspaz 3 ve 9 salınımını artırarak apoptozu indüklediğini ve böylece bleb bölgesinde skar oluşumunu azalttığını ve göstermişlerdir(143).

Anjiyotensin II'nin de insan tenon fibroblastlarında fibroblastların çoğalması, göçü ve miyofibroblastlara farklılaşması in vitro çalışmalarda daha önceden gösterilmiştir. Anjiyotensin II'nin iki reseptörü anjiyotensin I ve II'nin(AT1R, AT2R) gözde tenon fibroblastlarında bulunduğu; bunlardan da AT1R blokörlerinin antifibroziste önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir(144). Bu nedenle son yıllarda doku fibrozisinde bu moleküle odaklanılmış ve çalışmalar yapılmaktadır. Shi ve arkadaşlarının tavşanlarda yaptığı bir çalışmada tavşanlar 5 gruba ayrılmış ve hepsine trabekülektomi uygulanmıştır. Trabekülektomi sırasında grupların birine 0,4mg/ml MMC emdirilmiş sponç 2 dakika uygulanırken, diğer bir gruba 0.1 ml SF subkonjonktival olarak cerrahiden hemen sonra ve 1,2, 3, 5, 7. günlerde ve diğer 3 gruba da subkonjonktival losartan 1, 5, 10 mg/ml dozlarında yine cerrahiden hemen sonra ve 1,2, 3, 5, 7. günlerde uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda losertanla tedavi edilen gözlerde kollejen depolanması, myofibroblast dönüşümü ve bleb fibrozisinin MMC grubu ile birlikte kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Losartanın günümüzde trabekülektomiden sonra en popüler antifibrotik ilaç olarak uygulanan MMC'ye göre daha iyi bir inhibitör etki yaptığı gösterilememiş ancak MMC' de olduğu gibi korneal erezyon gibi sitotoksik yan etkiler yapmadığı gözlenlenmiştir. Bu nedenle losartanın trabekülektomi cerrahisinde MMC'ye alternatif bir ilaç yada MMC' nin dozunun ve uygulama süresinin azalmasını sağlayacak şekilde MMC ile kombine bir ilaç olarak kullanılabileceği yorumu yapılmıştır(145).Çinik ve arkadaşları tavşanlarda oluşturulan GFC modelinde MMC ile karşılaştırılmalı olarak everolimusun postoperatif skar formasyonuna etkisini incelemişler. Everolimusun fibroblast proliferasyonunu önlediğini ve MMC'ye oranla GİB düşüşünün daha uzun süre devam ettiğini göstermişlerdir(146). Yank ve arkadaşları da yine GFC'de skar formasyonunda benzer şekilde sirolimusun etkisini değerlendirmişlerdir. Tavşanlarda GFC modeli oluşturarak sirolimusu bir gruba emdirilmiş sponç şeklinde, bir gruba da sürekli salınımlı film tablet şeklinde uygulamışlardır. Çalışma sonunda sirolimusun fibroblastların proliferasyonunu, inflamatuvar hücrelerin aktivitesini inhibe ettiğini ve böylece subkonjonktival skar formasyonunu azalttığı göstermişlerdir. Bu etkinin de sirolimus sürekli salınımlı film tablet grubunda sirolimus emdirilmiş sponç uygulanmış gruba göre

daha iyi olduğunu ve böylece sirolimusun GFC de antifibrotik tedavide güvenli ve etkili bir ajan olduğunu belirtmişlerdir(147). Yapılan çalışmalarda Rho kinaz inhibitörlerinin in vitro insan tenon kapsül fibroblastlarının aktivitesini ve çoğalmasını baskıladığı; tavşanda GFC modelinde postoperatif inflamasyonu ve subkonjonktival skarı azalttığı gösterilmiştir. Rho kinaz inhibisyonu GFC sonrası yara iyileşmesi modülasyonunda umut vadetmektedir ve bu ilaçlarla ilgili çalışmalar devam etmektedir(130-132). Tüm bu ajanların hepsi ile ilgili GFC’de başarılı sonuçlar elde edilmiş ve fibroblastlar üzerinde antifibrotik etkinlikleri gösterilmiş olsa da bu ajanların hiçbiri günümüzde tedavide rutin kullanıma girmemiştir ve halen çalışmalar devam etmektedir.

Bu ajanlardan biri olan topikal kortikosteroidler de fosfolipaz A2’yi inhibe ederek inflamatuvar sitokinlerin salınımını ve fibroblastların çoğalmasını engeller(62). Starita ve arkadaşlarının 64 insan gözünde yaptığı bir çalışmada topikal prednizolon asetat, oral prednizolon asetat ve plasebo grubu ile karşılaştırdığı çalışmada topikal prednizolon asetat grubunun postoperatif fibrozis ve inflamasyonu önlemede yararlı olduğu gösterilmiştir. Günümüzde GFC sonrası %1’lik topikal prednizolon asetat rutin olarak kullanılmaktadır. Ama tedavinin hangi dozda ve ne kadar süre uygulanması gerektiği ile ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır(82). Kent ve arkadaşlarının insanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada MMC’li trabekülektomi sonrası %1 topikal prednizolon asetat ve topikal diklofenak kullanımının 6 aylık takipte GİB’i kontrol etmede istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. Bu çalışmayla topikal NSAİDs’ler ve topikal steroidlerin etkisi aynı bulunmuş olsa da NSAİDs’lerin GFC sonrası faydalı olduğunu gösteren yeni çalışmalara ihtiyaç vardır(88).

Antimetabolitlerin cerrahide kullanılmasının cerrahinin başarısını artırdığı görüldükten sonra Mitomisin-c(MMC) ve 5-fluorourasil (5-flu) gibi antimetabolit ajanlar sıklıkla kullanılmıştır . Özellikle de MMC günümüzde halen insanlarda glokom filtran cerrahisinde en sık kullanılan antimetabolittir. MMC günümüzde 0.1-0.4mg/ml arasındaki değişken konsantrasyonlarda uygulanmaktadır. MMC’nin kullanılmasıyla postoperatif subkonjonktival skar oluşumu azalmış, bleb ömrü uzamış ve GİB düşüklüğünün süresi daha da uzamıştır(3).Cabourne ve arkadaşları 2015’te yaptıkları bir randomize kontrollü klinik çalışmada Amerika, Afrika, Asya ve Avrupada trabekülektomi geçirmiş 679 katılımcının 687 gözünü değerlendirmişler. Cerrahiden sonraki birinci yılda bleb yetmezlik riskinin MMC uygulanan grupta 5-flu uygulanan gruba göre daha az olduğunu

bulmuşlar(148).MMC günümüzde GFC sonrası rutin olarak kullanılmakla birlikte bu antimetabolitin yan etkilerinden dolayı hangi dozda ve ne kadar süre uygulanması ile ilgili de değişik çalışmalar yapılmaktadır. Swann ve arkadaşları 2019 yılında in vivo tavşanlarda GFC modelinde bleb fibrozisinde sürekli ilaç salınımlı sistemlerin etkisini incelemişler(ElituGLASS). Poly laktik co-glikolik asit(PLGA) tabanlı yavaş ilaç salınımlı sistemlere 5-Flu ve MMC'nin değişik dozları infüze edilmiş. Tavşanlara klasik trabekülektomi uygulandıktan sonra tavşanlar 3 gruba ayrılmış ve ilk gruba standart tedavi uygulanmış ve MMC emdirilmiş sponç sklera ve tenon arasına 45 saniye uygulanmış. İkinci gruba 0,23 mg 5-Fu/0,33ug MMC içeren PLGA film tabaka ve üçüncü grubada 0,45 mg 5 Fu/0,65 MMC içeren PLGA film tabaka subkononktival alana yerleştirilmiş. Yüksek doz ilaç uygulanan grupta ilaçlar hızlı bir şekilde 5-7 günde salınırken daha düşük doz uygulanan grupta ilaçların daha yavaş bir şekilde 23-30 günde salınımı gerçekleşmiş. Cerrahiden 3 ay sonra sonuçlar değerlendirilmiş. ElituGLASS'ın her iki dozda da uygulanması güvenli ve etkili bulunmuş. Standart MMC uygulanmasına göre ElituGLASS uygulananlarda bleb bölgesinde histolojik incelemelerde fibrozis, vaskülitizasyon, inflamasyon ve kistik oluşum daha az gözlenmiş. ElituGLASS sisteminde en ideal dozun daha düşük doz uygulanan grup olduğu ve ideal bleb yapısının bu grupta olduğu gözlemlenmiş. Ancak bu üç grup arasında GİB'i düşürme derecesi açısından ve histolojik inflamasyon açısından istatistiksel olarak fark bulunmamış(149).

MMC günümüzde GFC'de en popüler antifibrotik ilaç olarak halen kullanılsa da cerrahi sonrası ideal bleb oluşumunu sağlamadığı için, ciddi komplikasyonlara yol açabildiği ve postoperatif fibrozisi önlemede yetersiz kaldığı için yeni ideal antifibrotik ilaç arayışı devam etmektedir. Bu nedenle biz de çalışmamızda glokom filtran cerrahisi sonrası yara yeri skar oluşumunu engellemek için MMC ile tirozin kinaz inhibitörü nintedanibin etkisini karşılaştırdık. Nintedanib antifibrotik ve antiproliferatif özelliklere sahip ajandır ve oftalmoloji alanında in vivo deneysel çalışmalarda ve klinik çalışmalarda daha önce bu amaçla kullanılmamıştır. Nintedanib ile ilgili in vitro çalışmalar bulunmaktadır. 2019 yılında yayınlanan bir çalışmada nintedanibin şaşılık ve glokom cerrahisi uygulanacak hastalardan alınan insan tenon kapsülü fibroblastlarında doza bağımlı bir şekilde (0.1, 0.5, 1 μ M) TGF- β ile indüklenen proliferasyon ve migrasyonu inhibe ettiği, fibroblastların miyofibroblastlara TGF- β ile indüklenen dönüşümünü inhibe

ettiği in vitro olarak gösterilmiştir(7) .Nintedanibin oftalmoloji alanında yapılan in vitro bir çalışmada Ton Lin ve Lan Gong nintedanibin in vitro olarak lenfatik endotel hücre ile tetiklenen lenfanjiyogenezi ve in vivo olarak inflamatuvar korneal lenfanjiyogenezi inhibe ettiğini araştırmayı hedeflemiştir. VEGF-C, PDGF-BB ve bFGF uygulanması ile lenf endotel hücrelerinde proliferasyonda, migrasyonda ve tüp formasyonunda artış ve bu artışta nintedanib 0.1 mikromolar dozunda uygulanması sonrası azalma saptandığı gösterilmiştir. Nintedanibin topikal ve sistemik uygulanmasının fare korneasında sütür ile tetiklenen hemanjiyogenezi ve lenfanjiyogenezi inhibe ettiği de gösterilmiştir(141).

Nintedanib IPF tedavisi için oral uygulanan tirozin kinaz inhibitörü küçük bir moleküldür. Nintedanib IPF’de düşük konsantrasyonlarda insan akciğer fibroblastlarında ve angiogeneziste etkili hücrelerde VEGFR, PDGFR ve FGFR aracılıklı proliferatif ve angiogenik etkileri inhibe eder. Ayrıca TGF-B tarafından indüklenmiş fibroblastların myofibroblastlara dönüşümü ve kollejen salınımı ve depolanmasını da inhibe eder (6). Nintedanib karaciğerde metabolize olur ve esas olarak safra yolu ile elimine olur(133). Nintedanib IPF de günde iki kez 150 mg doz şeklinde oral(OFEV) uygulanan bir ilaçtır. Nintedanibin IPF’de kullanımında ilacın güvenilirlik ve yan etkileri değerlendirmek için INPULSUS 1 ve 2 çalışmaları yapılmıştır. Çalışmasonucunda nintedanibin en sık görülen yan etkisinin %93.7 oranıyla diyare olduğu görülmüş. Diyare dışında hastalarda kusma, mide bulantısı gibi diğer gastrointestinal yan etkiler de saptanmış. Yine Alkalen fosfataz (ALP), gammaglutamiltransferaz(GGT)) alanin amino transferaz(ALT), asatil amino transferaz(AST), karaciğer enzimlerinde yükselme saptanmış. Nintedanib uygulaması sonrası az da olsa iskemik kalp hastalığı gibi kardiyak yan etkiler de saptanmış; %1.6 oranında da miyokard infarktüsü görülmüş(5, 150).

İlaçla ilgili bilinen tüm bu yan etkiler ilacın oral uygulaması sonrası görülmüştür. Biz çalışmamızda ilacı bleb bölgesine sponç ile atuşman şeklinde topikal olarak ve 1 µm dozunda uyguladık. Çalışmamızda ilacı hem düşük dozda ve topikal olarak uyguladığımız için ilaca dair yukarıda anlattığımız herhangi bir yan etki görülmesi olası değildir. Biz de çalışmamız sırasında herhangi bir sistemik ve göze ile ilişkili korneal erozyon, skleral incelme ya da ilaç ilişkili enfeksiyon şeklinde sayılabilecek herhangi bir yan etki saptamadık. Bu veriler ışığında nintedanibin antifibrotik bir ajan olarak GFC’de güvenle kullanılabileceği yorumunu yapabiliriz; ancak çalışmamız kısıtlı sayıda denek içerdiği ve

bu ilaçla ilgili daha önce oftalmoloji alanında yapılan in vivo çalışma olmadığı için daha fazla kanıtlara gerek vardır. Nintedanibin literatürde yapılan in vitro çalışmalarda 0,01 - 10 µm doz aralığında uygulandığını gördük. Biz çalışmamızda uygulanacak ilaç dozunu belirlerken in vitro fibroblast hücre kültür yeri oluşturup ve kültür yerine 0,5 µm, 1 µm, 5 µm, 10 µm dozunda ilaçlar ekleyip 48 saat sonra WST testi ile hücre canlılıklarını ve fibroblast baskılanmasını değerlendirdik. 5 ve 10 µm gibi yüksek dozlarda hücre canlılığının daha az olması nedeni ile bu dozlar seçilmedi. 0,5 ve 1 µm dozlarında hücre canlılık ve fibroblast baskılanma oranı birbirine yakinken ; 1 µm dozunda antifibroblast etki daha fazla olduğu için ve literatürde de çalışmalarda en sık bu doz kullanıldığı için biz de çalışmamızda 1 µm nintedanib kullandık.

Çalışmamızda postoperatif göz içi basınç değişimlerini, postoperatif gelişen komplikasyonları, bleb fonksiyonunu, fibroblast hücre oranlarını, histopatolojik ve immünohistokimyasal değişiklikleri değerlendirdik. Çalışmamızda postoperatif gözlenen komplikasyonlar incelendiğinde literatürdeki çalışmalar ile benzerlik göstermekteydi. Çinik ve arkadaşlarının 2014 'te everolimus ile; Khaled ve ark. 2015'te A p38 MAPK inhibitörü ile tavşanlarda GFC modelinde yaptığı benzer çalışmalarda ön kamarada flare, hifema gibi komplikasyonlar bildirilmiş ve bunların postoperatif yaklaşık 3 ila 14 gün arasında spontan kaybolduğu gözlemlenmiştir(136, 146). Literatürdeki hiçbir çalışmada katarakt, korneal toksisite ve endoftalmi bildirilmemiştir. Bizim çalışmamızda da tüm hayvanlarda ön kamarada flare izlenirken sham grubu da dahil olmak üzere tüm gruplarda bazı hayvanlarda ön kamarada hifema izlenmiştir. Özellikle iridektomi bölgesinde hemoraji geliştiği için hifemanın nedenin de cerrahi kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda da hiçbir hayvanda endoftalmi, katarakt, bleb sızıntısı, korneal toksisite, skleral perforasyon izlenmemiştir. Çalışmamızda MMC grubunda da sadece hifema ve ön kamara reaksiyonu izlenmiş, daha ciddi komplikasyonlar görülmemiştir. MMC glokom filtran cerrahisinde en sık kullanılan ajan olup korneal ülser, endotel toksisitesi, skleral perforasyon, siliyer cisim toksisitesi gibi ciddi komplikasyonları da bilinmektedir(62). Biz çalışmamızda nintedanible ilgili böyle herhangi bir yan etki gözlemlenmediğimiz için nintedanibin MMC'den daha güvenli olabileceğini göstermekle birlikte daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda göz içi basınçları preoperatif üç grupta da benzerdi. İlk gün üç grupta da göz içi basıncında belirgin bir düşüş olduğu görüldü. Sham grubunda ve MMC grubunda zamanla GİB' da hızlı bir artış olup peroperatif değerlere ulaşılırken; Nintedanib grubunda ise GİB değerlerindeki artış daha az ve daha geç olup bu gruptaki GİB değeri preoperatif seviyeden hep düşük düzeyde sürdü ve bu değerleri postoperatif 28. güne kadar korudu. Günler arasındaki postoperatif GİB artış değeri Nintedanib grubunda diğer iki gruptan hep daha düşük seviyede izlendi. Çalışmamızdaki postoperatif GİB değişimleri literatürdeki benzer çalışmalarla paralellik göstermekteydi.

Bleb fonksiyonu açısından blebler Indiana Bleb Appearance Grading Scale (IBAGS) sistemine göre değerlendirilmiştir. Bu skalaya göre blebler yükseklik, genişlik ve vaskülarizasyon açısından 7, 14, 21 ve 28. günler değerlendirilmiştir. Bleb yüksekliği ve bleb genişliği açısından bakıldığında her üç grupta da bleblerin ilk üç gün eleve ve görülebilir genişlikte olduğu, sham grubundaki bleblerin yaklaşık 7. Günde bleb genişliğinin fark edilmez olup, düzleşip çalışmaz hale geldikleri görüldü. MMC grubunda da bleblerin yaklaşık 19. Günden itibaren afonksiyone oldukları görüldü. Nintedanib grubunda ise bleblerin yaklaşık 10. Günde postoperatif ilk günlere göre elevasyon ve genişliğinin azalmaya başladığı ancak görülebilir elevasyon ve genişlikte deney süresi boyunca devam ettiği ve fonksiyon gösterdiği görüldü. Bleb vaskülarizasyonu açısından değerlendirildiğinde üç grupta da postoperatif ilk üç gün bleblerin yoğun vaskülarize ve enflame olduğu gözlenirken, sham ve MMC grubunda bu vaskülarizasyonun ilk günlere göre azalmakla birlikte devam ettiği ve bleblerin nonfonksiyone olduktan sonra vaskülarize ve kistik bir hal olduğu görülmüştür. Nintedanib grubunda ise bleblerin postoperatif vaskülarizasyonunun gerilediği, bleblerin 28. Güne kadar hafif vaskülarize olarak fonksiyonlarına devam ettiği görülmüştür. Bu kriterler açısından bleb ömürleri değerlendirildiğinde ortalama bleb ömrü sham grubunda 6.75 ± 0.71 , MMC grubunda 19.00 ± 1.19 , nintedanib grubunda ise 27.25 ± 0.87 olarak bulunmuştur. Bleb ömrü en düşük Sham grubunda, en yüksek Nintedanib grubunda saptanmış olup bu iki grup arasında istatistiksel olarak da anlamlı fark saptanmıştır ($p < 0,001$). Bizim çalışmamızdaki bu veriler literatürdeki benzer çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermekteydi.

Postoperatif yara iyileşmesi hücrel ve biyokimyasal birçok süreç sonucunda gerçekleşir (62). Yara iyileşmesi sürecinde koagülasyon, inflamasyon, fibroblast

proliferasyonu, matriks proliferasyonu, anjiyogenezis, epitelizasyon ve kontraksiyon gibi birçok olay rol oynamaktadır(63).Aşırı yara iyileşme cevabı postoperatif subkonjonktival fibrozisten sorumludur. Cerrahi sonrası inflamatuvar reaksiyon, bu reaksiyon sonrası aktifleşen fibroblastlar ve bunların aktivitesi sonucu oluşan fibrozis postoperatif subkonjonktival skara sebep olur(4). Cerrahi sonrası bu olayların inhibe edilmesi skar oluşumunu önlemektedir. Zhi Chao Yan ve ark. 2011’de yaptığı tavşanlarda deneysel glokom filtran cerrahisinde sirolimus salınımlı film tabletin etkisini incelemişler. Bu çalışmada kontrol grubunda cerrahi sonrası subkonjonktival ve skleral bölgede fibroblast yoğunluğunun, inflamatuvar hücrelerin ve kollejen sentezinin arttığı; subkonjonktival boşluğun kaybolup skar formasyonu ile kaplı olduğu gösterilmiştir. Aksine sirolimus grubunda ise subkonjonktival alanın temiz olduğu, minimal inflamatuvar infiltrat, fibroblast birikimi ve yeni kollejen oluştuğu görülmüştür(147). Yine 2015’de Khaled Nassar ve ark. P38 mitojen aktivasyonlu protein kinaz inhibitörü (p38 Mapk, SB202190) , Tina T.L.Wong ve ark. 2005’ de matriks metalloproteinaz inhibitörü iliomast ile tavşanlarda deneysel GFC modelinde yaptığı çalışmada tedavi gruplarında subkonjonktival skar formasyonunun oluşmadığı, normal konjonktiva morfolojisinin devam ettiği, minimal inflamatuvar hücre ve kollejen birikimi olduğu gösterilmiştir(114, 136). Bizim çalışmamızda da cerrahi sonrası konjonktival inflamasyon , konjonktival vaskülarite ve subkonjonktival fibrozisin arttığı ; nintedanibin ise konjonktival inflamasyon, konjonktival vaskülarite ve subkonjonktival fibrozisi azalttığı gösterildi. Çalışmamızda Sham grubunda konjonktival epitelde bozulmalar, subkonjonktival tabakada inflamasyonun arttığı görüldü. MMC ve Nintedanib gruplarında ise konjonktival epitelin iyileştiği, konjonktival inflamasyonun sham grubuna kıyasla belirgin azaldığı görüldü. Nintedanibin konjonktival inflamasyonu azalttığı görülmüş ve sham grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlılığa yakın bulunmuştur($p=0,05$). MMC grubunda da inflamasyon derecesi anlamlı olarak sham grubundan daha düşüktü($p>0,05$). MMC ve Nintedanib grubunda ise inflamasyon oranı benzerdi. Konjonktival vaskülarite değerlendirildiğinde ise sham grubunda vaskülaritenin belirgin arttığı, MMC ve nintedanib grubunda konjonktival vaskülaritenin azaldığı tespit edildi. Nintedanib grubunun vaskülarizasyonu sham grubuna göre azalttığı istatistiksel olarak da kanıtlanmıştır($p<0,05$).MMC grubunda ise sham grubuna göre daha az vaskülarizasyon izlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlılık görülmedi($p>0,05$). Nintedanib ve MMC grubunda ise konjonktival vaskülarite açısından

histopatolojik olarak elde edilen verilerin nintedanib grubunda MMC'ye göre daha az bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p=1,000$).

Subkonjonktival fibroziste ana faktör insan tenon kapsülünde bulunan fibroblastların artmış aktivitesidir. Çınık ve ark. 2014' de tavşanlarda deneysel GFC modelinde everolimusun postoperatif subkonjonktival fibrozis üzerine etkisini değerlendirdiği çalışmada everolimus ile tedavi edilen hayvanlarda ortalama fibroblast sayısını sham ve MMC grubuna göre daha az olduğu gösterdiler(146). Eren ve ark. 2014' de tavşanlarda yaptığı çalışmada da GFC sonrası sirolimus ve sunitinib ile tedavi edilen gruplarda fibroblast sayısının ve subkonjonktival fibrozisin daha düşük olduğunu gösterdiler(4). Bu çalışmalara benzer şekilde bizim çalışmamızda da cerrahi uygulanan gruplarda en yüksek fibroblast proliferasyonu sham grubunda ; en düşük ise nintedanib grubunda bulunmuştur. MMC grubunda ise sham grubundan az ama nintedanib grubundan fazla bulunmuştur. Nintedanib grubundaki fibroblast proliferasyonun sham grubuna göre azaldığı istatistiksel olarak da kanıtlanmıştır($p<0,05$).Nintedanib in vitro çalışmalarda gösterilmiş antifibrotik etkinliği bu çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda kanıtlanmış ve nintedanibin subkonjonktival fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda masson trichom boyama sonrası sham grubunda bleb bölgesinde subkonjonktival alanda yoğun kollejen birikimi ve fibrozis geliştiği gözlenmiştir. Nintedanib ve MMC grubunda ise sham grubuna göre subkonjonktival fibrozisin azaldığı gösterildi. Bu azalma MMC ve sham arasında istatistiksel anlamlılık oluşturmamasına karşın; Nintedanibin sham grubuna göre fibrozisi azalttığı istatistiksel olarak da kanıtlanmıştır($p<0,05$).MMC ve nintedanib arasında ise histopatolojik elde edilen verilere göre fibrozisin nintedanibde daha az olduğu görülmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır($p>0,05$).Bu iki grup arasındaki farkın anlamsızlığı denek sayısının azlığına bağlanabilir. Kollejen matürasyonu 12-18 ay devam ettiği için ve çalışmamızda takip süresi kısa olduğu için(28 gün) bu yönleri ile kısıtlı bir çalışmadır ve daha uzun süreli çalışmalara gerek vardır(151).

Subkonjonktival fibroziste sorumlu olan insan tenon fibroblastları (İTF), birçok fibrojenik faktör ile stimülasyon sonrasında miyofibroblastlara farklılaşır. İTF'lerin aktivasyonunda başlıca uyarıcı TGF β ' dir. TGF- β , yara iyileşmesinin her aşamasında etkindir ve fibrozisin en potent uyarıcısıdır. Fibroblast proliferasyonunu ve farklılaşmasını indükleyerek granülasyon dokusu oluşumu ve kollajen sentezini sağlar(151). Nintedanib

antifibrotik etkisini fibroblastların TGF- β ile indüklenmiş miyofibroblast dönüşümünü engelleyerek göstermektedir. 2019 yılında yayınlanan bir çalışmada nintedanibin şaşılık ve glokom cerrahisi uygulanacak hastalardan alınan insan tenon kapsülü fibroblastlarında doza bağımlı bir şekilde (0.1, 0.5, 1 μ M) TGF- β ile indüklenen proliferasyon ve migrasyonu inhibe ettiği in vitro olarak gösterilmiştir(7). Lehmann ve ark. nintedanib ve anti-TGF- β ajan olan pirfenidonun insan ve fare akciğer alveolar epitel hücre fonksiyonunu nasıl etkilediğini göstermek için yaptıkları çalışmada da bleomisin ile indüklenmiş hücrelerde nintedanibin 0.1, 1 ve 10 mikromolar dozları çalışılmış, 1 mikromolar dozundaki nintedanibin fibrotik genlerin ekspresyonunu en etkin olarak azalttığı gösterilmiştir (152). Arslan ve ark. 2012'de yaptıkları çalışmada, tavşanlara uygulanan GFC'de MMC, Takrolimus ve Ocreotidin bleb bölgesinde TGF- β 'yı azalttığını göstermişlerdir(153). Eren ve ark. 2012'de yaptıkları benzer çalışmada sirolimus ve sunitinibin; Çinik ve ark. 2014 de everolimusun TGF-B düzeyini azalttığını göstermişlerdir(4, 146). Bizim çalışmamızda da sham grubunda en fazla TGF-B ekspresyonu saptadık. Nintedanib ve MMC grubunda ise sham grubuna göre TGF-B ekspresyonunda azalma mevcuttu ve istatikselsel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Nintedanib ve MMC arasında ise nintedanib grubunda TGF-B ekspresyonu immün boyama incelemelerde daha az saptanmasına rağmen istatikselsel olarak anlamlı fark yoktu($p=1.00$). Yine matriks metalloproteinazların da yara iyileşme sürecinde normal dokunun yeniden şekillenmesi, anjiyogenezis gibi pek çok önemli rol oynadığı bilinmektedir. MMP aktivitesindeki artış, yara iyileşmesi sürecindeki yeniden şekillenme evresinin bir parçasını temsil edebilecek matriks degradasyonunu göstermektedir(154). GFC'de MMP inhibisyonunun subkonjonktival skar formasyonunu önlediği, özellikle MMP-2'nin bu süreçte en önemli rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir(113, 155). Çinik ve ark. yine everolimus ile yaptıkları çalışmada TGF-B'nin yanında MMP-2'nin de azaldığını gösterdiler(146). Bizim çalışmamızda da sham grubunda en fazla MMP-2 ekspresyonu saptadık. Nintedanib ve MMC grubunda ise sham grubuna göre MMP-2 ekspresyonunda azalma mevcuttu ve istatikselsel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$). Nintedanib ve MMC arasında ise MMP-2 seviyesi benzerdi. Cerrahi sonrası skar kontraksiyonundan miyofibroblastlar sorumludur. Miyofibroblastlar, fibroblastlarda az miktarda görülen α -SMA'yı yüksek düzeyde eksprese etmesi ile karakterizedir(156, 157). Aslan ve arkadaşları tacrolimus ve ocreotid ile ; Eren ve arkadaşları sirolimus ve

sunitinib ile yaptıkları çalışmada TGF-B'nin yanısıra a-SMA' nın da azaldığını ;Tina T.L.Wong ve ark. 2005' de matriks metalloproteinaz inhibitörü iliomast ile yaptıkları çalışmada a-SMA düzeyinin bleb bölgesinde ekspresyonunun azaldığını gösterdiler(4, 113, 153). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer olarak sham grubunda en fazla a-SMA ekspresyonu saptadık. Nintedanib ve MMC grubunda ise sham grubuna göre a-SMA ekspresyonunda azalma mevcuttu ve istatikselsel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Nintedanib ve MMC arasında ise nintedanib grubunda a-SMA ekspresyonu immünohistokimyasal olarak daha az olmasına rağmen istatikselsel olarak anlamlı fark yoktu($p=1.00$). Genel olarak nintedanibin her üç antikorda da sham grubuna oranla ekspresyonları azalttığı ancak MMC grubu ile istatikselsel olarak fark görülmediği izlendi. Nintedanib grubunda MMC'ye göre antikor ekspresyon oranları daha az saptandı. Bu iki grup arasında çok belirgin fark olmaması ve istatikselsel olarak anlamlılık saptanmaması denek sayısı azlığına bağlanabilir. Çalışmamızın sonuçlarına göre nintedanibin tavşanlarda deneysel GFC modelinde postoperatif skar formasyonunu önleyebileceğini gösterdik. Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı sınırlı sayıda denek üzerinde yapılmasıdır.

11.SONUÇLAR

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

1.Bleb ömrü en uzun Nintedanib, en az Sham grubunda izlendi.

2.Preoperatif GİB sham, Nintedanib ve Mitomisin-C gruplarında benzerken, postoperatif 1.günde üç grupta da belirgin düşme izlendi ve Nintedanib grubunda diğer gruplara göre anlamlı daha fazla düşüş saptandı.

3.Mitomisin-C grubunun postop GİB ilk 10 gün sham grubuna göre daha düşük seyrettiği, 10. Günden sonra artarak sham grubuna yaklaştığı ve benzer olduğu ve 14. günden sonra bu iki grubun GİB preoperatif değerlere ulaştığı görüldü. Nintedanib grubunun ise postop GİB değerleri deney süresince sham ve Mitomisin-C grubuna göre daha düşük seyrettiği ve preoperatif değerlerden hep daha düşük olduğu izlenmiştir.

5.Ortalama fibroblast sayısı cerrahi geçiren gruplar arasında en fazla Sham, en az Nintedanib grubunda saptandı

6. Nintedanib ve Mitomisin-C grubunda Sham grubuna göre daha düşük fibrozis ve vaskülarite izlenirken istatistiksel anlamlılık Sham-Nintedanib arasında gözlemlendi($p<0.05$).Nintedanib ve Mitomisin-C arasında ise Nintedanib de fibrozis ve vaskülarite derecesi histolojik olarak MMC'ye göre daha azdı, ancak istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı($p>0.05$).

7.Nintedanib ve Mitomisin-C grubunda Sham grubuna göre daha düşük konjonktival inflamasyon izlenirken Sham-MMC arasında istatistiksel anlamlılık gözlemlenirken($p<0.05$), Nintedanib-sham arasında istatistiksel anlamlılığa yakın değer bulundu($p=0,050$). MMC ve Nintedanib arasında ise inflamasyon benzerdi.

8.a-SMA, TGF- β , MMP-2 ekspresyonu Nintedanib ve Mitomisin-C grubunda benzer olup ($p>0.05$) her iki grupta da sham grubuna göre belirgin şekilde düşüktü.

9.Nintedanib cerrahi sonrası gözlerde herhangi ciddi bir komplikasyona yol açmadı.

Sonuç olarak :

Nintedanibin antifibrotik etkinliği gösterilmiş olup oftalmoloji alanında daha önce antifibrotik olarak kullanıldığı deneysel herhangi bir çalışma bulunmaması nedeniyle çalışmamız bu konuda yapılacak çalışmalara öncülük edecektir. Nintedanibin antifibrotik etkinliğinin Mitomisin-C'den daha yüksek olduğu da histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak gösterilmiştir.

Glokom filtrasyon cerrahisinde günümüzde mevcut kullanımda olan anti-metabolitlerin etkileri sınırlıdır ve ciddi yan etkileri mevcuttur. Bu durum göz önüne alındığında Nintedanibin daha güvenli ve etkili alternatif bir ilaç olabileceğini ve ek olarak bunun daha geniş sayıda denekle yapılacak hayvan deneyleri ve ardından insanlar üzerinde yapılacak klinik çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

12. ÖZET

Tavşanlarda Uygulanan Deneysel Glokom Filtran Cerrahisi Sonrası Tirozin Kinaz İnhibitörü Nintedanib Uygulamasının Skar ve Fibrozis Oluşumu Üzerine Etkisinin Mitomisin-C ile Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi

Amaç: Göz içi basıncı medikal tedavi ile kontrol altına alınamayan glokom olgularında yapılan glokom filtran cerrahisi sonrası başarı şansını azaltan postoperatif skar gelişimini önlemek amacı ile multipl tirozin kinaz inhibitörü Nintedanib'in glokom filtran cerrahisinde yara yerinde skar oluşumu üzerine etkilerinin Mitomisin-C (MMC) tedavisiyle karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlandı.

Method: 24 adet tavşan Sham , Nintedanib ve MMC olmak üzere 3 gruba ayrıldı ve sağ gözlerine trabekülektomi cerrahisi uygulandı. Kontrol grubuna işlem uygulanmayan sol gözler alındı. Nintedanibin etkin doz bulunması için öncesinde in vitro fibroblast hücre kültürü yapıldı. Cerrahi sırasında yara yerine Nintedanib 1µM(mikromolar), MMC 0.2 mg/ml emdirilmiş sponge 3 dk uygulandı ve Sham grubuna ise hiçbir antimetabolit tedavi uygulanmadı. Cerrahi öncesi ve sonrası 28 gün boyunca gözlerin intraoküler basınçları(GİB)ölçüldü, postoperatif komplikasyonlar, blebteki morfolojik değişiklikler ve bleb fonksiyonu Indiana Bleb Appearance Grading Scale (IBAGS) skora göre değerlendirildi. 28. günde tavşanların opere edilen gözleri enükle edildi. Histolojik parametrelerde konjonktival epitelyum morfolojisi ve subkonjonktival inflamasyonu ve fibroblast proliferasyonunu değerlendirmek için Hematoksilen&Eozin(H&E) boyaması yapılırken, kollajen yoğunluğunu göstermek için Masson trikrom (MT) boyamaları yapıldı. MMP-2 (matrix metalloproteinase-2), TGF-β(Transforming growth factor beta) ve α-SMA (alpha-smooth muscle actin) immünohistokimyasal analiz yöntemiyle incelendi.

Sonuçlar: Nintedanib'in cerrahide iyi tolere edilebilir bir ajan olduğu , herhangi bir yan etkisinin olmadığı ve subkonjonktival fibrozisi azalttığı görüldü. Göz içi basınçlarında postop 1.günde üç grupta da belirgin düşme izlenmiş olup, Nintedanib grubunda postoperatif GİB değerleri tüm deney süresi boyunca diğer gruplara göre anlamlı olarak daha ve preoperatif değerlere ulaşmamıştır(p<0.05).Bleb ömrü sham ,Nintedanib ve MMC grubunda sırasıyla ortalama 6.75±0.71, 27.25±0.87 ve 19.00±1.19 olmak üzere

en uzun Nintedanib, en kısa ise Sham grubunda izlendi($p=0.001$) ve Sham grubunun bleb ömrü Nintedanibe göre anlamlı düzeyde düşüktü($p<0.001$).Fibroblast yoğunluğuna bakıldığında ortalama 28.25 ± 6.01 ile en az fibroblast sayısı kontrol grubunda, cerrahi yapılan gruplar arasında ise 73.76 ± 10.40 ile en yüksek Sham grubunda 45.95 ± 6.35 ile ise en az Nintedanib grubunda izlendi($p<0.001$).Konjonktival vaskülit ve inflamasyon en fazla sham grubunda izlendi, Nintedanib grubunda ise Sham grubuna göre belirgin azaldığı görüldü ve bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak da anlamlı bulundu($p<0.05$). Mitomisin-C grubunda ise konjonktival vaskülit ve inflamasyonun Sham grubuna göre azaldığı, vaskülitin Nintedanib grubunda daha az, inflamasyon ise MMC'de daha az saptanmasına rağmen, iki grup arasında istatistiksel fark görülmedi($p>0.05$).Subkonjonktival fibrozis en fazla Sham grubunda, en az ise nintedanib grubunda izlendi. MMC grubunda da fibrozisin sham grubuna göre azaldığı tespit edildi. Nintedanib grubunda MMC'ye göre fibrozis skoru daha düşük saptanmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı($p>0.05$).İmmunohistokimyasal boyamalarda α -SMA TGF- β , MMP-2 ekspresyonları karşılaştırıldığında Nintedanib ve MMC grubunda benzer olup ($p>0.05$) her iki grupta da sham grubuna göre belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi($p<0.05$).

Tartışma: Nintedanibin glokom filtran cerrahisinde postoperatif yara iyileşme sürecinde fibroblast proliferasyonu ve diferansiyonunu baskılayarak, daha uzun bleb ömrü ve fonksiyonu sayesinde subkonjonktival fibrozis ve skar oluşumunun önlenmesinde güvenli ve etkili bir ilaç olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Glokom, Glokom Filtran Cerrahi, Nintedanib, Fibrozis

13. ABSTRACT

Comparative Investigation of The Effect of Tyrosine Kinase Inhibitor Nintedanib Application on Scar and Fibrosis Formation with Mitomycin-C After Experimental Glaucoma Filtran Surgery in Rabbits

Goal: In order to prevent postoperative scar development which reduces the chance of success after glaucoma filtrant surgery in glaucoma patients whose intraocular pressure cannot be controlled by medical treatment, it was aimed to compare the effects of multiple tyrosine kinase inhibitor Nintedanib on scar formation in glaucoma filtrate surgery with Mitomycin-C treatment.

Method: 24 rabbits were divided into 3 groups as Sham Nintedanib and MMC and trabeculectomy surgery was performed on their right eyes. Left eyes that were not treated in the control group were taken. Before finding an effective dose of nintedanib In vitro fibroblast cell culture was performed. During surgery Nintedanib 1 μ M (micromolar), MMC 0.2 mg /ml soaked sponge was applied to the wound site for 3 minutes and no antimetabolite treatment was applied to the Sham group. Intraocular pressures of the eyes were measured for 28 days before and after surgery, postoperative complications, morphological changes in blebs and bleb function were evaluated according to Indiana Bleb Appearance Grading Scale (IBAGS) scoring system. The operated eyes of the rabbits were enucleated on the 28th day. While performing Hematoxylin&Eosin(H&E) staining to evaluate conjunctival epithelium morphology and subconjunctival inflammation and fibroblast proliferation in histological parameters Masson trichrome(MT) staining was done to show the collagen density. MMP-2 (matrix metalloproteinase-2) TGF- β (Transforming Growth Factor) and α -SMA (alpha-smooth muscle actin) were analyzed by immunohistochemical analysis method.

Results: It was observed that nintedanib is a well tolerated agent in surgery, has no side effects and reduces subconjunctival fibrosis. Intraocular pressures were significantly decreased in all three groups on the first postoperative day and the postoperative intraocular pressure values in the Nintedanib group were significantly lower than the other groups during the entire experiment period and did not reach preoperative values. Bleb life

span in sham, Nintedanib and MMC groups, respectively mean 6.75 ± 0.71 27.25 ± 0.87 and 19.00 ± 1.19 the longest was Nintedanib, the shortest was observed in the Sham group ($p=0.001$) and the bleb life of the Sham group was significantly lower than that of Nintedanib ($p=0.001$). When looking at the fibroblast density, the lowest fibroblast count was in the control group with an average of 28.25 ± 6.01 and among the surgical groups with 73.76 ± 10.40 , the highest was observed in the Sham group with 45.95 ± 6.35 in the Nintedanib group ($p<0.001$). Conjunctival vasculitis and inflammation were most common in the sham group, in the Nintedanib group it was observed that it decreased significantly compared to the Sham group and the difference between these two groups was found to be statistically significant ($p<0.05$). Conjunctival vasculitis and inflammation decreased in the Mitomycin-C group compared to the Sham group. Although vascularity was detected less in the Nintedanib group and inflammation less in MMC, there was no statistical difference between the two groups ($p>0.05$). Subconjunctival fibrosis was most common in the Sham group and the least in the nintedanib group. Fibrosis was found to be decreased in the MMC group compared to the sham group. Although the fibrosis score was found to be lower in the nintedanib group compared to MMC, there was no statistically significant difference ($p<0.05$). When the expressions of α -SMA, TGF- β , MMP-2 were compared in immunohistochemical staining it was observed that they were similar in Nintedanib and MMC groups and it was observed to be significantly decreased in both groups compared to sham group ($p<0.05$).

Discussion: We think that Nintedanib can be a safe and effective drug in the prevention of subconjunctival fibrosis and scarring due to longer bleb life and function by suppressing fibroblast proliferation and differentiation during the postoperative wound healing process in glaucoma filtration surgery.

Keywords: Glaucoma, Glaucoma Filtran Surgery, Nintedanib, Fibrosis

14.KAYNAKÇA

1. McMonnies CW. Glaucoma history and risk factors. *Journal of optometry*. 2017;10(2):71-8.
2. Tielsch JM, Sommer A, Katz J, Royall RM, Quigley HA, Javitt J. Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma: the Baltimore Eye Survey. *Jama*. 1991;266(3):369-74.
3. Koike KJ, Chang PT. Trabeculectomy: A Brief History and Review of Current Trends. *International ophthalmology clinics*. 2018;58(3):117-33.
4. Eren K, Turgut B, Akin MM, Demir T. The suppression of wound healing response with sirolimus and sunitinib following experimental trabeculectomy in a rabbit model. *Current Eye Research*. 2016;41(3):367-76.
5. Richeldi L, Du Bois RM, Raghu G, Azuma A, Brown KK, Costabel U, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *New England Journal of Medicine*. 2014;370(22):2071-82.
6. Wollin L, Wex E, Pautsch A, Schnapp G, Hostettler KE, Stowasser S, et al. Mode of action of nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Journal*. 2015;45(5):1434-45.
7. Lin X, Wen J, Liu R, Gao W, Qu B, Yu M. Nintedanib inhibits TGF- β -induced myofibroblast transdifferentiation in human Tenon's fibroblasts. *Molecular vision*. 2018;24:789.
8. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood*. 2019;133(1):40-50.
9. Wang C-Y, Babitt JL. Liver iron sensing and body iron homeostasis. *Blood*. 2019;133(1):18-29.
10. Tham Y-C, Li X, Wong TY, Quigley HA, Aung T, Cheng C-Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121(11):2081-90.

11. Weinreb RN, Leung CK, Crowston JG, Medeiros FA, Friedman DS, Wiggs JL, et al. Primary open-angle glaucoma. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016;2(1):1-19.
12. Kwon YH, Fingert JH, Kuehn MH, Alward WL. Primary open-angle glaucoma. *New England Journal of Medicine*. 2009;360(11):1113-24.
13. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *Jama*. 2014;311(18):1901-11.
14. Kapetanakis VV, Chan MP, Foster PJ, Cook DG, Owen CG, Rudnicka AR. Global variations and time trends in the prevalence of primary open angle glaucoma (POAG): a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Ophthalmology*. 2016;100(1):86-93.
15. Barton K, Hitchings RA. Medical management of glaucoma. *Medical Management of Glaucoma*: Springer; 2013. p. 71-100.
16. Shim J-Y, Kim MY, Kim YJ, Lee Y, Lee JJ, Jun JK, et al. Efficacy and safety of ferric carboxymaltose versus ferrous sulfate for iron deficiency anemia during pregnancy: subgroup analysis of Korean women. *BMC pregnancy and childbirth*. 2018;18(1):1-8.
17. Klein BE, Klein R, Sponsel WE, Franke T, Cantor LB, Martone J, et al. Prevalence of glaucoma: the Beaver Dam eye study. *Ophthalmology*. 1992;99(10):1499-504.
18. Quigley HA, Enger C, Katz J, Sommer A, Scott R, Gilbert D. Risk factors for the development of glaucomatous visual field loss in ocular hypertension. *Archives of ophthalmology*. 1994;112(5):644-9.
19. Zhao D, Cho J, Kim MH, Guallar E. The association of blood pressure and primary open-angle glaucoma: a meta-analysis. *American journal of ophthalmology*. 2014;158(3):615-27. e9.
20. Zhou M, Wang W, Huang W, Zhang X. Diabetes mellitus as a risk factor for open-angle glaucoma: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2014;9(8).
21. Flammer J, Haefliger IO, Orgül S, Resink T. Vascular dysregulation: a principal risk factor for glaucomatous damage? *Journal of glaucoma*. 1999;8(3):212-9.
22. Wormald R, Basauri E, Wright L, Evans J. The African Caribbean Eye Survey: risk factors for glaucoma in a sample of African Caribbean people living in London. *Eye*. 1994;8(3):315-20.
23. Armaly MF, Monstavicius BF, Sayegh RE. Ocular pressure and aqueous outflow facility in siblings. *Archives of Ophthalmology*. 1968;80(3):354-60.

24. Leske MC, Connell A, Schachat AP, Hyman L. The Barbados Eye Study: prevalence of open angle glaucoma. *Archives of ophthalmology*. 1994;112(6):821-9.
25. Sheffield VC, Stone EM, Alward WL, Drack AV, Johnson AT, Streb LM, et al. Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21–q31. *Nature genetics*. 1993;4(1):47-50.
26. Prum BE, Rosenberg LF, Gedde SJ, Mansberger SL, Stein JD, Moroi SE, et al. Primary open-angle glaucoma preferred practice pattern® guidelines. *Ophthalmology*. 2016;123(1):P41-P111.
27. Garway-Heath DF, Crabb DP, Bunce C, Lascaratos G, Amalfitano F, Anand N, et al. Latanoprost for open-angle glaucoma (UKGTS): a randomised, multicentre, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2015;385(9975):1295-304.
28. Carta F, Supuran CT, Scozzafava A. Novel therapies for glaucoma: a patent review 2007–2011. *Expert opinion on therapeutic patents*. 2012;22(1):79-88.
29. Conlon R, Saheb H, Ahmed IIK. Glaucoma treatment trends: a review. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2017;52(1):114-24.
30. Migdal C. Which therapy to use in glaucoma. *Ophthalmology*. 2004;2:1539-42.
31. Pattabiraman P. Effects of Rho kinase inhibitor AR-13324 on the actin cytoskeleton and on TGFβ₂-and CTGF-induced fibrogenic activity in Human Trabecular Meshwork Cells. *AOPT*; 2015.
32. Bacharach J, Dubiner HB, Levy B, Kopczynski CC, Novack GD, Group A--CS. Double-masked, randomized, dose–response study of AR-13324 versus latanoprost in patients with elevated intraocular pressure. *Ophthalmology*. 2015;122(2):302-7.
33. AeriePharmaceuticalsReportsRoclatanPhase2bResultsAchieve All ClinicalEndpoints. November 2015.
34. Wise JB, Witter SL. Argon laser therapy for open-angle glaucoma: a pilot study. *Archives of Ophthalmology*. 1979;97(2):319-22.
35. Schwartz K, Budenz D. Current management of glaucoma. *Current opinion in ophthalmology*. 2004;15(2):119-26.
36. Uram M. Ophthalmic laser microendoscope ciliary process ablation in the management of neovascular glaucoma. *Ophthalmology*. 1992;99(12):1823-8.
37. Bartamian M, Higginbotham EJ. What is on the horizon for cycloablation? *Current opinion in ophthalmology*. 2001;12(2):119-23.

38. Wong MOM, Lee JWY, Choy BNK, Chan JCH, Lai JSM. Systematic review and meta-analysis on the efficacy of selective laser trabeculoplasty in open-angle glaucoma. *Survey of ophthalmology*. 2015;60(1):36-50.
39. Parshley DE, Bradley JM, Samples JR, Van Buskirk EM, Acott TS. Early changes in matrix metalloproteinases and inhibitors after in vitro laser treatment to the trabecular meshwork. *Current eye research*. 1995;14(7):537-44.
40. Kramer TR, Noecker RJ. Comparison of the morphologic changes after selective laser trabeculoplasty and argon laser trabeculoplasty in human eye bank eyes. *Ophthalmology*. 2001;108(4):773-9.
41. Stein JD, Challa P. Mechanisms of action and efficacy of argon laser trabeculoplasty and selective laser trabeculoplasty. *Current opinion in ophthalmology*. 2007;18(2):140-5.
42. Damji KF, Shah KC, Rock WJ, Bains HS, Hodge WG. Selective laser trabeculoplasty v argon laser trabeculoplasty: a prospective randomised clinical trial. *British journal of ophthalmology*. 1999;83(6):718-22.
43. Dueker D, Norberg M, Johnson D, Tschumper R, Feeney-Burns L. Stimulation of cell division by argon and Nd: YAG laser trabeculoplasty in cynomolgus monkeys. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1990;31(1):115-24.
44. Dirani M, Crowston JG, Taylor PS, Moore PT, Rogers S, Pezzullo ML, et al. Economic impact of primary open-angle glaucoma in Australia. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2011;39(7):623-32.
45. Vujosevic S, Bottega E, Casciano M, Pilotto E, Convento E, Midena E. Microperimetry and fundus autofluorescence in diabetic macular edema: subthreshold micropulse diode laser versus modified early treatment diabetic retinopathy study laser photocoagulation. *Retina*. 2010;30(6):908-16.
46. Fudenberg S, Myers J, Katz L. Trabecular meshwork tissue examination with scanning electron microscopy: a comparison of micropulse diode laser (MLT), selective laser (SLT), and argon laser (ALT) trabeculoplasty in human cadaver tissue. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008;49(13):1236-.
47. Fea AM, Bosone A, Rolle T, Brogliatti B, Grignolo FM. Micropulse diode laser trabeculoplasty (MDLT): A phase II clinical study with 12 months follow-up. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2008;2(2):247.

48. Coombs P, Radcliffe NM. Outcomes of micropulse laser trabeculoplasty vs. selective laser trabeculoplasty. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014;55(13):6155-.
49. Sheybani A, Scott R, Samuelson TW, Kahook MY, Bettis DI, Ahmed IIK, et al. Open-Angle Glaucoma: Burden of Illness, Current Therapies, and the Management of Nocturnal IOP Variation. *Ophthalmology and Therapy*. 2020;9(1):1-14.
50. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, Wulf SK, Johns N, Lozano R, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 2014;123(5):615-24.
51. De Fendi LI, Arruda GV, Scott IU, Paula JS. Mitomycin C versus 5-fluorouracil as an adjunctive treatment for trabeculectomy: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2013;41(8):798-806.
52. Landers J, Martin K, Sarkies N, Bourne R, Watson P. A twenty-year follow-up study of trabeculectomy: risk factors and outcomes. *Ophthalmology*. 2012;119(4):694-702.
53. Cairns J. Trabeculectomy: preliminary report of a new method. *American journal of ophthalmology*. 1968;66(4):673-9.
54. Watson P. Trabeculectomy, a modified ab externo technique. *Ann Ophthalmol*. 1970;2:199-205.
55. Musch DC, Lichter PR, Guire KE, Standardi CL, Group CS. The Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study: study design, methods, and baseline characteristics of enrolled patients. *Ophthalmology*. 1999;106(4):653-62.
56. Investigators A. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol*. 2000;130:429-40.
57. Ederer F, Gaasterland D, Dally L, Kim J, Van Veldhuisen P, Blackwell B, et al. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS) Investigators. 11. Risk factors for failure of trabeculectomy and argon laser trabeculoplasty. *Am J Ophthalmol*. 2002;134:481-98.
58. Lavin MJ, Wormald RP, Migdal CS, Hitchings RA. The influence of prior therapy on the success of trabeculectomy. *Archives of ophthalmology*. 1990;108(11):1543-8.

59. Gaskin JCF, Nguyen DQ, Ang GS, O'Connor J, Crowston JG. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery—conventional practices and new perspectives: the role of antifibrotic agents (part i). *Journal of current glaucoma practice*. 2014;8(2):37.
60. Vos T, Abajobir AA, Abate KH, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*. 2017;390(10100):1211-59.
61. Organization WH. Global health observatory data repository. 2016 <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A865>.
62. Lama PJ, Fechtner RD. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery. *Survey of ophthalmology*. 2003;48(3):314-46.
63. Hunt TK. Basic principles of wound healing. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 1990;30:122-8.
64. Van de Velde S, Van Bergen T, Vandewalle E, Moons L, Stalmans I. Modulation of wound healing in glaucoma surgery. *Progress in brain research*. 221: Elsevier; 2015. p. 319-40.
65. Atreides S-PA, Skuta GL, Reynolds AC. Wound healing modulation in glaucoma filtering surgery. *International ophthalmology clinics*. 2004;44(2):61-106.
66. Cordeiro MF, Chang L, Lim KS, Daniels JT, Pleass RD, Siriwardena D, et al. Modulating conjunctival wound healing. *Eye*. 2000;14(3):536-47.
67. Albert D, Jakobiec F. New surgical techniques in glaucoma management. *Principles and Practice of Ophthalmology*. 2000:3024-30.
68. Desjardins DC, Parrish RK, Folberg R, Nevarez J, Heuer DK, Gressel MG. Wound healing after filtering surgery in owl monkeys. *Archives of ophthalmology*. 1986;104(12):1835-9.
69. Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(26):1650-9.
70. Rader J. Update on adjunctive antimetabolites in glaucoma surgery. *Contemporary Issues in Glaucoma*. 1991:861-88.
71. Khaw P, Occleston N, Schultz G, Grierson I, Sherwood M, Larkin G. Activation and suppression of fibroblast function. *Eye*. 1994;8(2):188-95.

72. Daniels JT, Cambrey AD, Occeleston NL, Garrett Q, Tarnuzzer RW, Schultz GS, et al. Matrix metalloproteinase inhibition modulates fibroblast-mediated matrix contraction and collagen production in vitro. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(3):1104-10.
73. Schultz G, Khaw P, Oxford K, Macauley S, Van Setten G, Chegini N. Growth factors and ocular wound healing. *Ophthalmic Literature*. 1995;1(48):6.
74. Bach V, Schruckmayer G, Sam I, Kemmler G, Stauder R. Prevalence and possible causes of anemia in the elderly: a cross-sectional analysis of a large European university hospital cohort. *Clinical interventions in aging*. 2014;9:1187.
75. Moulin V. Growth factors in skin wound healing. *European journal of cell biology*. 1995;68(1):1-7.
76. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*. 2008;16(5):585-601.
77. Kane CJ, Hebda PA, Mansbridge JN, Hanawalt PC. Direct evidence for spatial and temporal regulation of transforming growth factor β 1 expression during cutaneous wound healing. *Journal of cellular physiology*. 1991;148(1):157-73.
78. Kopecki Z, Luchetti M, Adams DH, Strudwick X, Mantamadiotis T, Stoppacciaro A, et al. Collagen loss and impaired wound healing is associated with c-Myb deficiency. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2007;211(3):351-61.
79. Saaristo A, Tammela T, Färkkilä A, Kärkkäinen M, Suominen E, Ylä-Herttuala S, et al. Vascular endothelial growth factor-C accelerates diabetic wound healing. *The American journal of pathology*. 2006;169(3):1080-7.
80. Chang L, Crowston J, Cordeiro MF, Akbar A, Khaw P. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery. *Survey of ophthalmology*. 2000;45(1):49-68.
81. TURAÇLI ME. Glökom cerrahisinde fibroblast inhibitörleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology*. 1994;3(2):142-7.
82. Starita RJ, Fellman RL, Spaeth GL, Poryzees EM, Greenidge KC, Traverso CE. Short-and long-term effects of postoperative corticosteroids on trabeculectomy. *Ophthalmology*. 1985;92(7):938-46.

83. Hallberg L, Hulthén L. Perspectives on iron absorption. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2002;29(3):562-73.
84. Jones R, Rhee DJ. Corticosteroid-induced ocular hypertension and glaucoma: a brief review and update of the literature. *Current opinion in ophthalmology*. 2006;17(2):163-7.
85. Seibold LK, Sherwood MB, Kahook MY. Wound modulation after filtration surgery. *Survey of ophthalmology*. 2012;57(6):530-50.
86. Nguyen KD, Lee DA. Effect of steroids and nonsteroidal antiinflammatory agents on human ocular fibroblast. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1992;33(9):2693-701.
87. Gwin TD, Stewart WC, Gwynn DR. Filtration surgery in rabbits treated with diclofenac or prednisolone acetate. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 1994;25(4):245-50.
88. Kent AR, Dubiner HB, Whitaker R, Mundorf TK, Stewart JA, Cate EA, et al. The efficacy and safety of diclofenac 0.1% versus prednisolone acetate 1% following trabeculectomy with adjunctive mitomycin-C. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 1998;29(7):562-9.
89. Başol G, Barutçuoğlu B, Bozdemir AE. Demir homeostazının yeni düzenleyicisi hepsidin. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2007;5:117-25.
90. Chen C. Enhancement of IOP control effect of trabeculectomy by local application of anticancer drug. *Acta Concilium Ophthalmologicum*. 1986:1487-91.
91. Khaw PT, Sherwood MB, Doyle JW, Smith MF, Grierson I, McGorray S, et al. Intraoperative and post operative treatment with 5-fluorouracil and mitomycin-c: long term effects in vivo on subconjunctival and scleral fibroblasts. *International ophthalmology*. 1992;16(4-5):381-5.
92. Greenfield DS, Liebmann JM, Jee J, Ritch R. Late-onset bleb leaks after glaucoma filtering surgery. *Archives of Ophthalmology*. 1998;116(4):443-7.
93. Higginbotham EJ, Stevens RK, Musch DC, Karp KO, Lichter PR, Bergstrom TJ, et al. Bleb-related endophthalmitis after trabeculectomy with mitomycin C. *Ophthalmology*. 1996;103(4):650-6.
94. Jampel HD. Effect of brief exposure to mitomycin C on viability and proliferation of cultured human Tenon's capsule fibroblasts. *Ophthalmology*. 1992;99(9):1471-6.

95. Khaw PT, Doyle JW, Sherwood MB, Smith MF, McGorray S. Effects of intraoperative 5-fluorouracil or mitomycin C on glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Ophthalmology*. 1993;100(3):367-72.
96. Pasquale LR, Thibault D, Dorman-Pease ME, Quigley HA, Jampel HD. Effect of topical mitomycin C on glaucoma filtration surgery in monkeys. *Ophthalmology*. 1992;99(1):14-8.
97. Khaw P, editor Antifibrotic therapy: Is there an ideal method of application. American Academy of Ophthalmology Annual Meeting—Glaucoma Subspecialty Day Syllabus; 2003.
98. Wells AP, Cordeiro MF, Bunce C, Khaw PT. Cystic bleb formation and related complications in limbus-versus fornix-based conjunctival flaps in pediatric and young adult trabeculectomy with mitomycin C. *Ophthalmology*. 2003;110(11):2192-7.
99. Cordeiro MF, Constable PH, Alexander RA, Bhattacharya SS, Khaw PT. Effect of varying the mitomycin-C treatment area in glaucoma filtration surgery in the rabbit. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997;38(8):1639-46.
100. Skuta GL, Beeson CC, Higginbotham EJ, Lichter PR, Musch DC, Bergstrom TJ, et al. Intraoperative mitomycin versus postoperative 5-fluorouracil in high-risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology*. 1992;99(3):438-44.
101. Heuer DK, Parrish II RK, Gressel MG, Hodapp E, Palmberg PF, Anderson DR. 5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery: II. A pilot study. *Ophthalmology*. 1984;91(4):384-94.
102. Khaw P, Occeleston N, Larkin G, Shad H, SCHULTZ G, Grierson I, et al. THE EFFECTS OF GROWTH-FACTORS ON HUMAN OCULAR FIBROBLAST PROLIFERATION, MIGRATION AND COLLAGEN PRODUCTION. *INVEST OPHTH VIS SCI*. 1994;35(4):1898-.
103. Cordeiro MF, Gay JA, Khaw PT. Human anti-transforming growth factor- β 2 antibody: a new glaucoma anti-scarring agent. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1999;40(10):2225-34.
104. Mead AL, Wong TT, Cordeiro MF, Anderson IK, Khaw PT. Evaluation of anti-TGF- β 2 antibody as a new postoperative anti-scarring agent in glaucoma surgery. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(8):3394-401.

105. Siriwardena D, Khaw PT, King AJ, Donaldson ML, Overton BM, Migdal C, et al. Human antitransforming growth factor $\beta 2$ monoclonal antibody—a new modulator of wound healing in trabeculectomy: a randomized placebo controlled clinical study. *Ophthalmology*. 2002;109(3):427-31.
106. Hu D-N, Ritch R, Liebmann J, Liu Y, Cheng B, Hu MS. Vascular endothelial growth factor is increased in aqueous humor of glaucomatous eyes. *Journal of glaucoma*. 2002;11(5):406-10.
107. Li Z, Van Bergen T, Van de Veire S, Van de Vel I, Moreau H, Dewerchin M, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor reduces scar formation after glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2009;50(11):5217-25.
108. Nissen NN, Polverini P, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *The American journal of pathology*. 1998;152(6):1445.
109. Chi H, Fei X, Lai C. Effect of interferon on filtering blebs after trabeculectomy in rabbit eyes. [*Zhonghua yan ke za zhi*] Chinese journal of ophthalmology. 1995;31(3):218-20.
110. Zhang X, Peng D, Zeng S, Zheng J. Interferon-alpha 2b inhibits proliferation of human tenon capsule fibroblasts. *Yan ke xue bao* (2016). 1998;14(4):195-8.
111. Zhang X, Peng D, Zhou W, Ye T, Ge J. A clinical comparative study of interferon alpha-2b with mitomycin C applied in glaucoma filtering operation. [*Zhonghua yan ke za zhi*] Chinese journal of ophthalmology. 2000;36(2):119-23.
112. Ravanti L, Kähäri V-M. Matrix metalloproteinases in wound repair. *International journal of molecular medicine*. 2000;6(4):391-798.
113. Wong TT, Mead AL, Khaw PT. Matrix metalloproteinase inhibition modulates postoperative scarring after experimental glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(3):1097-103.
114. Wong TT, Mead AL, Khaw PT. Prolonged antiscarring effects of ilomastat and MMC after experimental glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2005;46(6):2018-22.
115. Palmer M, Hyndiuk R. Toxicology of corticosteroids and other anti-inflammatory agents. *Principles and Practice of Ophthalmology: Basic Sciences Philadelphia, PA: WB Saunders*. 1994:1123-4.

116. Turaçlı ME, Gündüz K, Aktan G, Sencer H. Topical cyclosporine as a possible new antimetabolite in trabeculectomy. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 1996;27(6):438-44.
117. Turaçlı E, Gündüz K, Aktan G, Tamer C. A comparative clinical trial of mitomycin C and cyclosporin A in trabeculectomy. *European journal of ophthalmology*. 1996;6(4):398-401.
118. John T. Amniotic membrane transplantation in the management of severe ocular surface disease: indications and outcomes. *The ocular surface*. 2004;2(3):201-11.
119. Shimazaki J, Shinozaki N, Tsubota K. Transplantation of amniotic membrane and limbal autograft for patients with recurrent pterygium associated with symblepharon. *British Journal of Ophthalmology*. 1998;82(3):235-40.
120. Tseng S. Down-regulation of TGF- β 1, β 2, β 3 and TGG- β receptor II expression in human corneal fibroblasts by amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:S428.
121. Inge E, Talmi YP, Sigler L, Finkelstein Y, Zohar Y. Antibacterial properties of human amniotic membranes. *Placenta*. 1991;12(3):285-8.
122. Friedenwald JS. Some Problems in the Diagnosis and Treatment of Glaucoma*: The Third Mark J. Schoenberg Lecture. *American journal of ophthalmology*. 1950;33(10):1523-38.
123. Fourman S, Wiley L. Tissue plasminogen activator modifies healing of glaucoma filtering surgery in rabbits. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 1991;22(12):718-23.
124. Fourman S, Vaid K. Effects of tissue plasminogen activator on glaucoma filter blebs in rabbits. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 1989;20(9):663-7.
125. Costa VP, Spaeth GL, Eiferman RA, Orengo-Nania S. Wound healing modulation in glaucoma filtration surgery. *Ophthalmic Surgery, Lasers & Imaging Retina*. 1993;24(3):152.
126. Iverson DA, Katsura H, Hartzler MK, Blumenkranz MS. Inhibition of intraocular fibrin formation following infusion of low-molecular-weight heparin during vitrectomy. *Archives of ophthalmology*. 1991;109(3):405-9.
127. Liao JK, Seto M, Noma K. Rho kinase (ROCK) inhibitors. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2007;50(1):17.

128. Bryan BA, Dennstedt E, Mitchell DC, Walshe TE, Noma K, Loureiro R, et al. RhoA/ROCK signaling is essential for multiple aspects of VEGF-mediated angiogenesis. *The FASEB Journal*. 2010;24(9):3186-95.
129. van Nieuw Amerongen GP, Koolwijk P, Versteilen A, van Hinsbergh VW. Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in VEGF-induced endothelial cell migration and angiogenesis in vitro. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003;23(2):211-7.
130. Honjo M, Tanihara H, Kameda T, Kawaji T, Yoshimura N, Araie M. Potential role of Rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632 in glaucoma filtration surgery. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007;48(12):5549-57.
131. Tura A, Grisanti S, Petermeier K, Henke-Fahle S. The Rho-kinase inhibitor H-1152P suppresses the wound-healing activities of human Tenon's capsule fibroblasts in vitro. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2007;48(5):2152-61.
132. Van de Velde S, Van Bergen T, Vandewalle E, Kindt N, Castermans K, Moons L, et al. Rho kinase inhibitor AMA0526 improves surgical outcome in a rabbit model of glaucoma filtration surgery. *Progress in brain research*. 220: Elsevier; 2015. p. 283-97.
133. Wind S, Schmid U, Freiwald M, Marzin K, Lotz R, Ebner T, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of nintedanib. *Clinical pharmacokinetics*. 2019:1-17.
134. Hilberg F, Roth GJ, Krssak M, Kautschitsch S, Sommergruber W, Tontsch-Grunt U, et al. BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer research*. 2008;68(12):4774-82.
135. Ding Q, Cai G-Q, Hu M, Antony VB, Liu G, Andrade JAMd, et al. Therapeutic targeting of Src kinase and myofibroblast activation in pulmonary fibrosis. *A61 ANTIFIBROTICS AND THERAPEUTIC TARGETS IN EXPERIMENTAL LUNG FIBROSIS: American Thoracic Society*; 2012. p. A1944-A.
136. Nassar K, Tura A, Lüke J, Lüke M, Grisanti S, Grisanti S. A p38 MAPK inhibitor improves outcome after glaucoma filtration surgery. *Journal of glaucoma*. 2015;24(2):165-78.
137. Mahindrakar A, Tandon R, Menon V, Sharma P, Khokhar S. Effectiveness of mitomycin C in reducing reformation of adhesions following surgery for restrictive strabismus. *Journal of pediatric ophthalmology and strabismus*. 2001;38(3):131-5.

138. Hilgert CR, Hilgert AH, Odashiro AN, Odashiro PRP, Paranhos Jr A. Antiscarring effect of intraoperative bevacizumab in experimental glaucoma filtration surgery. *Arquivos brasileiros de oftalmologia*. 2018;81(4):316-22.
139. Bi Y, Chen H, Li Y, Yu Z, Han X, Ren J. Rabbit aortic aneurysm model with enlarging diameter capable of better mimicking human aortic aneurysm disease. *PloS one*. 2018;13(6):e0198818.
140. Seok J, Kim JH, Kim JM, Kwon TR, Choi SY, Li K, et al. Effects of Intradermal Radiofrequency Treatment and Intense Pulsed Light Therapy in an Acne-induced Rabbit Ear Model. *Scientific reports*. 2019;9(1):1-9.
141. Wang P, Shu B, Xu Y, Zhu J, Liu J, Zhou Z, et al. Basic fibroblast growth factor reduces scar by inhibiting the differentiation of epidermal stem cells to myofibroblasts via the Notch1/Jagged1 pathway. *Stem cell research & therapy*. 2017;8(1):114.
142. Klos-Rola J, Tulidowicz-Bielak M, Zarnowski T. Effects of topical bevacizumab application on early bleb failure after trabeculectomy: observational case series. *Clinical ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2013;7:1929.
143. Kang X, Shen Y, Zhao H, Wang Z, Guan W, Ge R, et al. Anti-scarring effect of rapamycin in rabbits following glaucoma filtering surgery. *Nan Fang yi ke da xue xue bao= Journal of Southern Medical University*. 2018;38(11):1389-94.
144. Shi H, Zhang Y, Fu S, Lu Z, Ye W, Xiao Y. Angiotensin II as a morphogenic cytokine stimulating fibrogenesis of human tenon's capsule fibroblasts. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2015;56(2):855-64.
145. Shi H, Wang H, Fu S, Xu K, Zhang X, Xiao Y, et al. Losartan attenuates scar formation in filtering bleb after trabeculectomy. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2017;58(3):1478-86.
146. Cinik R, Yüksel N, Pirhan D, Aslan MŞ, Subaşı C, Karaöz E. The effect of everolimus on scar formation in glaucoma filtering surgery in a rabbit model. *Current eye research*. 2016;41(11):1438-46.
147. Yan Z-c, Bai Y-j, Tian Z, Hu H-y, You X-h, Lin J-x, et al. Anti-proliferation effects of Sirolimus sustained delivery film in rabbit glaucoma filtration surgery. *Molecular Vision*. 2011;17:2495.

148. Cabourne E, Clarke JC, Schlottmann PG, Evans JR. Mitomycin C versus 5-Fluorouracil for wound healing in glaucoma surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015(11).
149. Swann FB, Singh S, Blake D, John V, Le C, Fullerton M, et al. Effect of 2 Novel Sustained-release Drug Release Systems on Bleb Fibrosis: An In Vivo Trabeculectomy Study in a Rabbit Model. *Journal of glaucoma*. 2019;28(6):512-8.
150. Tepede A, Yogaratnam D. Nintedanib for idiopathic pulmonary fibrosis. *Journal of pharmacy practice*. 2019;32(2):199-206.
151. Teller P, White TK. The physiology of wound healing: injury through maturation. *Perioperative Nursing Clinics*. 2011;6(2):159-70.
152. Lehmann M, Buhl L, Alsafadi HN, Klee S, Hermann S, Mutze K, et al. Differential effects of Nintedanib and Pirfenidone on lung alveolar epithelial cell function in ex vivo murine and human lung tissue cultures of pulmonary fibrosis. *Respiratory research*. 2018;19(1):1-12.
153. Arslan S, Aydemir O, Güler M, Dağlı AF. Modulation of postoperative scarring with tacrolimus and octreotide in experimental glaucoma filtration surgery. *Current eye research*. 2012;37(3):228-33.
154. Skrypuch O, Tokarewicz A, Willis N. Effects of dimethyl sulfoxide on a model of corneal alkali injury. *Canadian Journal of ophthalmology Journal Canadien D'ophtalmologie*. 1987;22(1):17-20.
155. Shima I, Katsuda S, Ueda Y, Takahashi N, Sasaki H. Expression of matrix metalloproteinases in wound healing after glaucoma filtration surgery in rabbits. *Ophthalmic Research*. 2007;39(6):315-24.
156. Eddy R, Petro J, Tomasek J. Evidence for the nonmuscle nature of the "myofibroblast" of granulation tissue and hypertrophic scar. An immunofluorescence study. *The American journal of pathology*. 1988;130(2):252.
157. Grinnell F. Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction. *The Journal of cell biology*. 1994;124(4):401-4.