



T.C.

İSTANBUL MEDİPOL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DOKTORA TEZİ

**İNTRAVİTREAL KOLİSTİN RETİNAL  
TOKSİSİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Merve ÖZBEK

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. MUSTAFA ELİAÇIK

İSTANBUL – MART 2018

## I. TEŞEKKÜR

*Uzmanlık eğitimim süresince sağladıkları çalışma ortamıyla eğitimime katkıda bulunan İstanbul Medipol Üniversitesi Hastanesi başhekim ve yöneticilerine,*

*Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan, sağladığı çalışma ortamıyla eğitimime katkıda bulunan değerli ana bilim dalı başkanım Prof. Dr. Cengiz ARAS'a,*

*Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan değerli eğitim sorumlum Prof. Dr. Mehmet Selim KOCABORA'ya*

*Eğitimim boyunca teorik ve pratik anlamda, bir göz hekimi olarak yetişmeme katkıda bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Gökhan GÜLKILIK, Doç. Dr. Mustafa ÖZSÜTÇÜ, Doç. Dr. Fevzi ŞENTÜRK, Yard. Doç. Dr. Aylin KILIÇ, Yard. Doç. Dr. Sevil KARAMAN ERDUR, Yard. Doç. Dr. Mahmut ODABAŞI ve Yard. Doç. Dr. Özlem BALCI'ya*

*Hem uzmanlık eğitimim hem de tez çalışmam sırasında, bilgisinden ve deneyiminden çok fazla yararlandığım, tez çalışmam boyunca her türlü kolaylığı ve anlayışı gösteren, ilgisini ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Mustafa ELİAÇIK'a*

*Tezimdeki mikroskopik incelemeleri yapan ve mikroskopik görüntüleri sağlayan Patoloji Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. İrem ÖZÖVER'e teziminin meşakkatli ve en hassas kısımlarından biri olan elektrofizyolojik testlerin yapılması ve yorumlanmasında emeğini ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Fevzi ŞENTÜRK'e ve deney hayvanlarına uygulanan işlemlerde yardımcı olan Yard. Doç. Dr. Mahmut Odabaşı'na*

*Eğitimim boyunca teorik ve pratik anlamda, bir göz hekimi olarak yetişmeme katkıda bulunan değerli uzmanlarımız Uz. Dr. Mahmut HALİLOĞLU, Uz. Dr. Funda DİKKAYA, Uz. Dr. Ayşe ÖZPINAR, Uz. Dr. Rukiye AYDIN ve Uz. Dr. Banu ARSLAN'a*

*Poliklinik ve servis şartlarında iş birliği içinde çalıştığımız tüm hemşirelere, teknisyenlere, sekreterlere, personelimize,*

*Yaşadığım her iyi ve kötü anda yanımda olan, ihtiyacım olduğunda tüm samimiyetiyle sabrını ve desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Uz. Dr. Fatih ÖZBEK'e*

*Hayatımın anlamı, biricik oğlum Yusuf ÖZBEK'e*

*Son olarak, benim ben olmamı sağlayan, sabır ve sevgilerini her koşulda hissettiğim canım anneme ve babama*

*İçten teşekkür, sevgi ve saygılarımla...*

*Dr. Merve ÖZBEK*

## II. İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR.....	i
II. İÇİNDEKİLER .....	ii
III. ÖZET .....	iv
IV. ABSTRACT.....	vi
V. KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
VI. RESİM VE TABLO LİSTESİ .....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1 RETİNA ANATOMİSİ .....	2
2.1.1 Nörosensoryel Retina .....	2
2.1.2 Retinanın Kan Dolaşımı .....	3
2.1.3 Hayvanlarda Retina Anatomisi .....	4
2.1.3.1 Holangiotik Retina .....	4
2.1.3.2 Merangiotik Retina.....	5
2.1.3.3 Paruanguiotik Retina .....	5
2.1.3.4 Ananguiotik Retina .....	6
2.2 ELEKTRORETİNOGRAFI .....	6
2.2.1 Elektoretinografinin Kaydedilmesi .....	7
2.2.2 Elektoretinografinin Bileşenleri .....	7
2.2.3 Elektoretinografiyi Etkileyen Faktörler .....	8
2.3 ENDOFTALMI .....	8
2.3.1 Tanı.....	9
2.3.2 Tedavi.....	10
2.3.2.1 Antibiyotiklerin Oftalmoloji Pratiğinde Kullanımı.....	10
2.3.2.2 Kolistin .....	11
2.3.2.3 İntravitreal Enjeksiyon .....	12
3. MATERYAL METOD .....	13
3.1 İNTRAVİTREAL ENJEKSİYON .....	14
3.2 ELEKTRORETİNOGRAFI (ERG) YÖNTEMİ.....	14
3.3 ÖTENAZİ VE ENÜKLEASYON .....	15
3.4 HİSTOLOJİK İNCELEME .....	15
4. BULGULAR .....	22

4.1 KLİNİK MUAYENE BULGULARI.....	22
4.1.1 Enjeksiyon Öncesi.....	22
4.1.2 Enjeksiyon Sonrası.....	22
4.2 ELEKTROFIZYOLOJİK BULGULAR .....	22
4.3 HISTOPATOLOJİK BULGULAR .....	25
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>32</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>37</b>



### III. ÖZET

**AMAÇ:** Çeşitli konsantrasyonlarda kolistin intravitreal uygulanmasının sağlıklı oküler dokular üzerindeki olası yan etkilerini ve güvenli doz aralığını belirlemek

**MATERYAL METOD:** 20 erişkin dişi ve erkek, beyaz Yeni Zellanda tavşanının 20 gözü kullanıldı. İntravitreal kullanım için kolistin farklı dozları uygulanmaya hazırlandı. Anestezi altında, pupilla dilatasyonunu takiben 0,05, 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 ve 16,0 mg kolistin dozu intravitreal olarak enjekte edildi. Her tavşanda, sağ göz çalışma grubuna dahil edildi. 2 tavşan kontrol grubuna dahil edilerek bu tavşanlara intravitreal salin enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon öncesi ve sonrası anterior segment, fundus muayenesi ve göz içi basıncı ölçümü yapıldı. Elektoretinografik kayıtlar enjeksiyondan önce ve 2 hafta sonra alındı. Enjeksiyon öncesi ve sonrası a ve b dalga amplitüdlerinde % 30 oranında azalma anlamlı olarak kabul edildi. 2 haftanın sonunda 20 tavşanın sağ gözleri enükle edildi ve hayvanlar sakrifiye edildi. Gerekli fiksasyon prosedürlerini takiben, ışık mikroskopu kullanılarak histopatolojik incelemeler yapıldı. Histopatolojik kesitlerde, enjeksiyonlu gözler ile kontrol grubu arasındaki farklar değerlendirildi.

**BULGULAR:** İntravitreal enjeksiyon sonrası tavşanların hiçbirinde; korneal ödem, ön kamarada fibrin reaksiyon, hipopiyon, vitreus içi hemoraji, retina dekolmanı ve endoftalmi gelişmedi. Enjeksiyon yapılan toplam 20 tavşandan 8,0 ve 16,0 mg kolistin verilen 4 tavşanın sağ gözlerinde fundus değerlendirmesini bozmayacak düzeyde olan ancak red refle altında görüntülenebilen orta düzeyde bir katarakt gelişimi izlendi. Elektoretinografik incelemede 4 mg ve üzeri dozlarda kolistin enjeksiyonu yapılan tavşanlarda b dalga amplitüdünde anlamlı değer olarak kabul edilen %30 oranında azalma olduğu görüldü. Histolojik incelemede 4 mg, 8 mg ve 16 mg kolistin verilen tavşan gözlerinde histiyositik infiltrasyon, histiyositik vakuoller, inflamasyon ve retinal dejenerasyon mevcut idi.

**YORUM:** Bu çalışmanın verilerine dayanarak intravitreal yoldan verilen kolistin düşük dozlarda hayvan gözlerinde retinaya toksik etki göstermediği tespit edilmiştir. Retinadaki histolojik değişiklikler göz önüne alındığında güvenli dozun 2 mg/ml olduğunu, 4 mg/ml üstü dozlarda ise katarakt gelişimi, elektrofizyolojik baskılanma ve retina tabakalarında patolojik değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir. Bununla birlikte kolistin insan dokularında

oluşturabileceği etkiler ve gram negatif enfeksiyonlara bağlı endoftalmideki etkinliği açısından yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolistin, İntıvıtreal enjeksiyon, Toksisite, Elektoretinografi



#### IV.ABSTRACT

**PURPOSE:** The purpose of this experiment study was to determine the possible adverse effects and safe dose range of intravitreal colistin a antibiotic after its intravitreal application in various concentrations.

**METHODS:** In 20 eyes of 20 adult male and female, white New Zealand rabbits were selected. Colistin was prepared to be applied in different doses, for intravitreal use. Under anesthesia, following pupil dilatation 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 mg doses of colistin was injected intravitreally in to the righ eye. In each rabbit, the right eye was considered to be a study group. Saline was injected intravitreally to the 2 rabbit, and these eyes were considered to be a control group. Before and after injection anterior segment, fundus examination and intraocular pressure measurement were conducted. Electroretinographic recordings were taken before and 2 weeks after injection. Between before and after injection a and b wave amplitude up to 30% differences were accepted as significant. At the end of the 2 weeks eyes of surviving 20 rabbits were enucleated, and then animals were sacrificed. Following necessary fixation procedures, histopatological investigations were made by using a light microscope. In histopathologic cross sections, differences between the eyes with injection and the control group were evaluated.

**RESULTS:** After intravitreal injection in any eyes wasn't determined corneal edema, anterior chamber fibrin reaction, hypopyon, intravitreal hemorrhage, retinal detachment and endophthalmitis. A moderate cataract development was observed in the right eyes of 4 rabbits given 8.0 and 16.0 mgr colistin from 20 injected rabbits at a level that would not disturb fundus evaluation. Electroretinographic examination showed a decrease of 30% as a significant value in the b wave amplitude of the rabbits that injected 4 mg and higher doses. Histological examination revealed histiocytic infiltration, histiocytic vacuoles, inflammation and retinal degeneration in rabbit eyes given 4 mg, 8 mg and 16 mg of colistin.

**CONCLUSION:** According to the results of this study, it has been shown that safe dose is 2 mg/ml. Considering retinal histologic changes the study was shown at doses above 4 mg / ml that cataract development, electrophysiological depression and pathological changes in retinal layers. However, new studies have to be carried out in terms of the effects of colistin on human tissues and the efficacy of endophthalmitis due to gram-negative infections.

**Keywords:** Colistin, Intravitreal injection, Toxicity, Electroretinography

## V. KISALTMALAR DİZİNİ

**ERG:** Elektoretinografi

**RPE:** Retina Pigment Epiteli

**ISCEV:** Uluslararası Okuler Klinik Elektrofizyoloji Topluluğu

**ERP:** Erken Reseptör Potansiyeli

**Ops:** Osuluar potansiyeller





## VI. RESİM VE TABLO LİSTESİ

**Resim 1:** Holangiotik Retina

**Resim 2:** Merangiotik Retina

**Resim 3:** Paruangiotik Retina

**Resim 4:** Anangiotik Retina

**Resim 5 ve 6:** Tavşanların Takip ve Bakımlarının Yapıldığı Kafesler

**Resim 7 ve 8:** Tavşanlara ERG Testi İçin Elektrotların Yerleştirilmesi ve Testin Gerçekleştirilmesi

**Resim 9:** Kolistin İntravitreal Enjektörde Edilebilir Hale Getirilmiş Solüsyonları

**Resim 10:** Üst Temporal Kadrandan Limbusun 1 mm Posteriorundan 30 Gauge İğne ve İnsülin Enjektörü ile Enjeksiyon Yapılması

**Resim 11:** Tavşanlara Yüksek Doz İntravenöz Anestezi Verilerek Ötenazi Uygulanması

**Resim 12:** Enükleasyon İçin Kullanılan Cerrahi Aletler

**Resim 13 ve 14:** Sağ Göz Konjonktivası Açılıp, Kaslar Ekarte Edildikten Sonra, Göz Nazikçe Öne çekilip Optik Sinir Çok Kısa Güdük Kalmayacak Şekilde Kesilerek Enükleasyon Yapılması

**Resim 15:** 8 mg/ml Kolistin Verilen Bir Tavşana Ait Enjeksiyon Öncesi (a) Ve Sonrası (b) ERG Kayıtları Gösterilmektedir. Enjeksiyon Sonrası ERG Dalgasının Subnormal Olduğunu Görülmektedir.

**Resim 16:** Kontrol Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X4)

**Resim 17:** 0,05 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X20)

**Resim 18:** 0,1mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen kesiti (X20)

**Resim 19:** 0,2 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X20)

**Resim 20:** 0,5 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X20)

**Resim 21:** 1 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X10)

**Resim 22:** 2 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X10)

**Resim 23:** 4 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X10)

**Resim 24:** 8 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X10)

**Resim 25:** 16 mg Enjeksiyon Grubundaki Tavşan Retinasının Işık Mikroskopik İncelemede İzlenen Kesiti (X10)

**Tablo 1:** Endoftalmilerde Genel Sınıflama

**Tablo 2:** Preenjeksiyon Ve Postenjeksiyon Işık Adapte 3.0 ERG Sonuçları

**Tablo 3:** Fotopik 3.0 ERG B Dalga Voltajının Enjeksiyon Öncesi Ve Sonrası % Olarak Farkları

**Tablo 4:** Tavşan Retinasında İntravitreal Kolistin Dozlarına Göre Saptanan Histopatolojik Bulgular

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endoftalmi gerek göz içi cerrahisi, gerekse de travma ve endojen faktörlere bağlı gelişen şiddetli bir göz enfeksiyonudur. Belirtilerin başlamasından saatler veya günler içinde enfekte gözlerde geri dönüşü olmayan ağır görme hasarları ortaya çıkabilir (1). Günümüzde ameliyatlarda kullanılan cihaz ve malzemelerdeki gelişmelere ve etkin profilaksiye rağmen endoftalmi sıklığı hala %0,04 ile %0,13 düzeyindedir (2).

Endoftalmi tedavisinde mümkün olan en güvenli ve en etkili antimikrobik ajanları seçmek tedavinin başarısına olumlu katkıda bulunmaktadır. Çoğu durumda, kültür sonuçları tedaviye başladıktan sonraki günlere kadar mevcut değildir. Bu nedenle, başlangıç tedavisi Gram pozitif ve Gram negatif organizmaları kapsayan geniş spektrumlu ilaçlardan oluşmalıdır (3).

Vitrektomi ile birlikte ya da vitrektomi uygulanmadan intravitreal uygulanan antibiyotikler şüpheli bakteriyel olgularda standart tedavi olmaya devam etmektedir (4).

İntravitreal uygulama için çeşitli ajanlar denenmiş ve bunlardan bazıları rutin tedavi protokolüne girmiştir. Fakat günden güne artmakta olan antibiyotik direnci ve yeni tanımlanan mikroorganizmalar dolayısıyla, yeni moleküllerin tedavi protokollerine girmeleri kaçınılmaz bir hal almıştır.

Kolistin klinik pratiğimizde 50 yıldan uzun süredir var olmasına rağmen intravitreal kullanımda doz standardizasyonu, farmakokinetiği ve toksisitesi ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Hızla gelişmekte olan bakteri direncine karşı savaşımızda hem yeni moleküllerin keşfi hem de kolistin gibi daha eski antibiyotiklerin klinik kullanıma kazandırılması çok önemlidir.

Biz bu çalışmada, kolistinin intravitreal uygulanmasının sağlıklı oküler dokular üzerindeki olası olumsuz etkilerini ve güvenli doz aralığını, elektroretinografi (ERG) çalışması ve histolojik inceleme yardımıyla araştırmayı planladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 RETİNA ANATOMİSİ

Retina, gözün en iç nöral tabakası olup vitreus ve koroid arasında bulunur. Retina ora serratada 0,1 mm, ekvatorunda 0,2 mm, optik sinir yakınında 0,56 mm kalınlığındadır. İnce ve saydam bir dokudur. İç yüzeyi vitreus ile temasta olup dış yüzeyi ise retina pigment epitelinden (RPE) retina içi mesafe denilen potansiyel bir boşlukla ayrılmıştır. Sensoriyel retina periferde ora serrataya uzanır ve pars plana pigmentsiz silier epitelini ile devam eder. Retina, komşu pigment epitelini ve altındaki skleranın şeklini alsa bile pigment epitelini iki bölgede, optik disk ve ora serratada sıkı yapışıklık gösterir. Diğer bölgelerde yapışıklık zayıftır (5).

#### 2.1.1 Nörosensoryel Retina

Anatomistler tarafından maküla lutea veya sarı nokta olarak tanımlanan alan retina arka kutbunda ksantofil içeren bölgedir. Makülanın histolojik olarak tanımlanan sınırları, 5-6 mm çapında, iki veya daha fazla ganglion hücre tabakasından oluşan ve temporal damar yayları arasında dikey yerleşmiş alandır. Okside karotenoidler, özellikle lütein ve zeaksantin, merkezi maküla içinde birikir ve sarı rengi oluşturur. Bu karotenoidlerin antioksidan yetenekleri vardır ve muhtemelen ışığa bağlı hasarı azaltmak üzere mavi dalga boyundaki ışığı süzerler. Makülanın merkezindeki 1,5 mm'lik bir kısımda fovea bulunur. Anatomi ve fotoreseptör içeriği ile görme keskinliği ve renkli görmeyi sağlanmasına yönelik özellik kazanmıştır. Fovea içinde foveola olarak adlandırılan, 0,35 mm çaplı, kon hücrelerinin ince ve yoğun olarak bulunduğu küçük bir çukur bulunur. Foveola içinde umbo olarak bilinen küçük bir çukurlaşma vardır. Foveayı çevreleyen 0,5 mm genişliğinde parafoveal alan olarak adlandırılan, ganglion hücre, iç hücre ve dış pleksiform tabakalarının en kalın olduğu bir alan bulunur. Bu alanın çevresinde perifoveal alan olarak adlandırılan yaklaşık 1,5 mm çaplı bir halka bulunur.

Ekvator çevresindeki retina, ekvatoryal retina; bu alanın önündeki retina ön veya periferal retina olarak adlandırılır. Perifer retinanın en uç kısmında retina ve pars plana arasındaki alan ise ora serratadır. Retina dokusunun pars planaya doğru uzantıları dentat prosesler olarak adlandırılır.

Retinanın üzerine düşen ışınların, fotoreseptörlere ulaşabilmesi için retina kalınlığınca tüm katları aşması gerekir. Merkezi foveada rod hücresi bulunmaz, sadece konlar ve bunları destekleyen Müller hücreleri bulunur (6).

**1. Retina Pigment Epiteli:** Bruch zarı ile retina arasında bulunur. Nöroektodermden orijin alan tek katlı bir tabakadır. Hücreler hegzagonaldir. Optik disk kenarından ora serrata'ya kadar uzanır ve siliyer cismin pigment epiteli ile devam eder. Retina işlevlerine katkı sağlar.

**2. Fotoreseptör tabaka:** Koni ve basilleri içermektedir.

**3. Dış limitan membran:** Komşu fotoreseptörlerin yapışıklıkları ve Müller destek hücrelerinin sitoplazmik uzantılarından oluşur. Gerçek bir membran değildir. Koni ve basiller bu membranı delerek geçer. Bol miktarda fenestrasyonları vardır.

**4. Dış nükleer tabaka:** Fotoreseptörlerin çekirdekleridir.

**5. Dış pleksiform tabaka:** Retinanın birinci sinaptik tabakasıdır. Fotoreseptörlerin sinaptik cisimleri ile horizontal ve bipolar hücreler arası sinapsları içerir. Makula bölgesinde basil ve konilerin aksonları daha uzundur ve foveada oblik seyrettikleri için dış pleksiform tabaka daha kalın ve fibrözdür. Bu bölgeye Henle Tabakası denir.

**6. İç nükleer tabaka:** Bipolar hücreler, müller hücreleri, horizontal ve amakrin hücrelerin nükleuslarını içerir.

**7. İç pleksiform tabaka:** Bipolar ve amakrin hücre aksonları ile ganglion hücrelerinin dendritlerini ve bunların sinapslarını içerir.

**8. Ganglion hücreleri tabakası:** Ganglion hücrelerinin nükleuslarından oluşur.

**9. Sinir lifi tabakası:** Ganglion hücrelerinin aksonlarından oluşur.

**10. İç limitan membran:** Müller hücrelerinin uzantılarından oluşur ve retinayı vitreustan ayırır (7).

### **2.1.2 Retinanın Kan Dolaşımı**

Gözün arteriyel beslenmesi internal karotid arterin ilk dalı olan oftalmik arter tarafından sağlanır. Oftalmik arterden çıkan retina santral arteri, retinanın iç 2/3' ündeki tabakaları besler. Papilladan 1 cm uzaklıkta optik sinir içine girer. Papilla merkezinde ilk önce alt ve üst sonra

da temporal ve nazal dallara ayrılarak retinaya yayılır. Siliyoretinal arter koroidden gelen, papilla çevresindeki Zinn arter çemberinden kaynaklanır ve papillanın temporal kenarından çıkarak maküla bölgesini sular. Retinanın dış 1/3'ü ise (RPE, fotoreseptörler) koroidden difüzyonla beslenir. Oftalmik arterin, santral retina arterinden son ayrılan dalları olan kısa ve uzun arka siliyer arterler optik sinir etrafından globa girerler. Posterior koriyokapillaris kısa arka siliyer arterden, anterior koriyokapillaris ise uzun arka siliyer arterlerden ve ön siliyer arterlerden beslenir.

Retinanın venöz drenajı santral retinal ven ile sağlanır. Optik sinirden çıkan venöz drenaj direk olarak kavernöz sinüse ulaşır. Koroidin venöz drenajı ise vorteks venleri yolu ile üst ve alt oftalmik venler aracılığıyla kavernöz sinüse olmaktadır.

Kapillerler retina arterielleri ile venülleri arasında bulunur. Koriyokapillerlerin duvarlarında geniş pencerelemeler bulunmasına ve geçirgen olmalarına karşılık, retina kapillerlerinin duvarları sızdırmazdır. Retina kapillerleri yüzeysel ve derin olmak üzere iki şekildedir.

a) Yüzeysel kapillerler retinanın sinir lifleri katındadırlar.

b) Derin kapillerler iç nükleer ve dış pleksiform tabakalarının birleşme yerindedirler. Yüzeysel kapillerlerden kaynaklanır ve dikine gelen kapillerlerle bağlıdır (7).

### **2.1.3 Hayvanlarda Retina Anatomisi**

#### **2.1.3.1 Holangiotik Retina**

Başta kedi ve köpekler olmak üzere sığır, koyun gibi pekçok memeli türünde fundusun vasküler yapısı holangiotik olarak sınıflandırılır. Köpeklerde retinal damarlar, retinanın anterior yüzeyine yerleşmiş pek çok arteriol ve venüllerden oluşmuştur. Sayısı 15-20'yi bulan arterioller optik diskin çevresine yakın yerden ışınal tarzda dağılım gösterirler (8).



### **Resim 1: Holangiotik Retina**

#### **2.1.3.2 Merangiotik Retina**

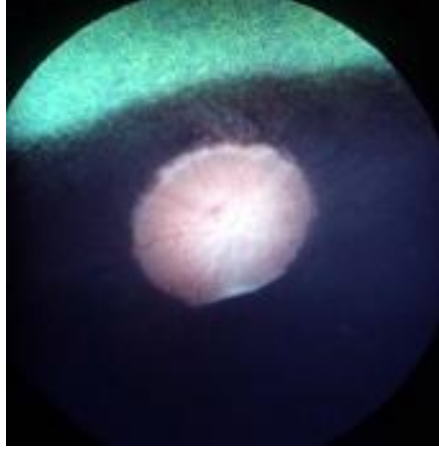
Merangiotik damar sınıfı tavşanlarda görülür. Fundustaki retinal damarlar, optik diskin her iki yanından, medial ve lateral olarak yatay bir bant halinde dağılır (9).



**Resim 2: Merangiotik Retina**

#### **2.1.3.3 Paruangiotik Retina**

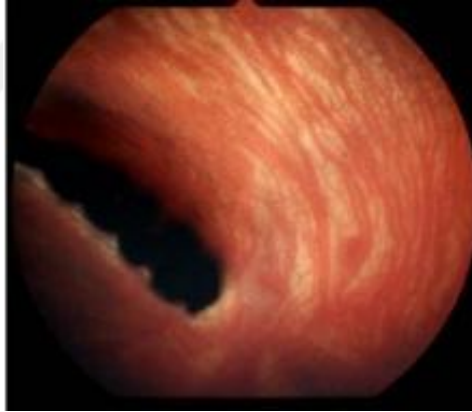
Atlarda görülen bu damar yapısında optik disk çevresinden yaklaşık olarak 30 arter, arteriol ve 30 ven, venül çıkar. Oftalmoskop ile bakıldığında birbirinden ayırt edilemeyen yatay 6 mm, vertikal 3-4 mm uzunluğunda bir damar ağı görülür. Arterler bir kapiller ağ oluşturmaksızın doğrudan venül içine geçerler (10).



**Resim 3:** Paruangular Retina

#### **2.1.3.4 Anangiotik Retina**

Kuşlarda ve reptillerde görülen anangiotik retinada damarlar, pekten denilen bir yapı ile sınırlanırılmıştır. Fundus görüntüsünde hiç kan damarı görülmez (9).



**Resim 4:** Anangiotik Retina

## **2.2 ELEKTRORETİNOGRAFİ**

Elektroretinografi, tetkikinin temeli, göze yönlendirilen flaş tarzındaki ışık uyarılarının bütün olarak retina hücrelerini uyarmasına ve bu sayede meydana gelen aksiyon potansiyelinin kornea yüzeyine iletilmesinin ardından bu potansiyelin, doğrudan kornea yüzeyinden veya göz kapaklarından kayıt altına alınmasına dayanmaktadır (11).



### 2.2.1 Elektoretinografinin Kaydedilmesi

1989'da Uluslararası Oküler Klinik Elektrofizyoloji Topluluğu (ISCEV), tüm dünyada ERG'lerin karşılaştırılabilir olabilmesi amacıyla temel protokolleri standardize etti. ISCEV ortaya koyduğu standartlara göre ERG kaydı sırasında minimum beş farklı yanıt ortaya çıkar (12).

- (1) Karanlık adapte 0.01 ERG (formerly “rod response”);
- (2) Karanlık adapte 3.0 ERG (formerly “maximal or standard combined rod–cone response”);
- (3) Karanlık adapte 3.0 oscillatory potentials (formerly “oscillatory potentials”);
- (4) Işık adaptasyonlu 3.0 ERG (formerly “single-flash cone response”);
- (5) Işık adaptasyonlu 3.0 flicker ERG (formerly “30 Hz flicker”).

### 2.2.2 Elektoretinografinin Bileşenleri

**Erken Reseptör Potansiyeli (ERP) :** a-dalgasından önce görülen küçük saptanamayan bir yanıttır. Şiddetli ışık uyarısı ile ortaya çıkar. Kon fotoreseptörlerinden kaynaklanır.

**a dalgası:** Fotoreseptörler tarafından oluşturulan negatif bir dalga formudur.

**Osilatuar Potansiyeller (Ops):** İnterpleksiform veya amakrin hücrelerden kaynaklanır. ERG'de b dalgasının çıkan kolunda küçük, hızlı, ritmik osilasyonlar şeklinde ortaya çıkar. Bu potansiyeller retinal iskemide ve konjenital gece körlüğünün bazı formlarında azalmaktadır.

**b dalgası:** Retinanın iç tabakasındaki bipolar hücreler ve Müller hücrelerinden alınan pozitif bir dalga formudur.

**Latans:** Uyarı anından a dalgasının oluşmaya başladığı ana kadar geçen zamandır.

**İmplicit zamanı:** Uyarı başlangıcından dalgaların pik yaptığı ana kadar geçen zamandır.

**a dalgasının amplitüdü:** İzoelektrik hat ile ilk negatif dalganın tepe noktası arasındaki değerdir.

**b dalgasının amplitüdü:** a dalgasının negatif tepe noktasından pozitif dalga olan b dalgasının tepe noktasına kadar olan yüksekliktir (13).

ERG pek çok durumda kullanılan bir kayıt sistemidir.

1. Preoperatif olarak, örneğin katarakt operasyonundan önce, opere edilen ön segment patolojisiyle aynı anda seyreden progressif retinal dejenerasyon ve progressif retinal atrofiyi belirlemek amacıyla retina fonksiyonunun değerlendirilmesinde ve böylelikle operasyon öncesinde retinanın fonksiyon görüp görmediğinin anlaşılmasında,

2. Oftalmoskopik muayenede patolojik bir durum göstermeyen, erken progressif retina dejenerasyonu vb. retina bozukluklarının tanısında,

3. Fotoreseptör patolojilerinin tanısında,

4. Kornea, lens ve vitreus opasitesinde retinanın fonksiyonunun değerlendirilmesinde kullanılır (14).

### **2.2.3 Elektroretinografiyi Etkileyen Faktörler**

Normal elektroretinogram amplitüdünü ve zamanını pek çok faktör etkileyebilir. Işık şiddeti papilla aralığı ve uyarılan retinal alan ERG üzerine etkilidir. ERG genellikle refraktif kusurlara duyarlı değildir. Yüksek miyopi uyarıları düşürebilir ancak bu genellikle herediter dejenerasyonlarda görülen kadar değildir. Yaşlılarda genellikle gençlerde nazaran bir miktar daha azalmış amplitüdümler görülebilir. Yenidoğanlarda sinyaller oldukça küçüktür ancak hayatın ilk birkaç ayında değerler klinik ayırım yapmaya izin verecek büyüklüğe ulaşır. Optik sinir lezyonları ise muhtemelen sentrifugal inhibitor sinyallerin kesilmesi nedeniyle, genellikle artmış ERG yanıtlarına neden olur (15).

Kullanılan elektrotların farklı olması da ERG dalgalarının amplitüd ve latans değerlerinde değişime neden olur. Öyle ki elektrot yerleşimindeki farklılıkların dalga amplitüdümlerinde %30-40 arasında bir değişime neden olduğu belirlenmiştir (16).

## **2.3 ENDOFTALMİ**

Endoftalmi çoğunluğu infeksiyonlara bağlı gelişen ve oküler boşlukları tutan inflamatuvar bir süreçtir. Eğer tenon kapsülü veya orbitanın yumuşak dokularını tutacak derecede genişleyen bir süreç var ise buna panoftalmi denir (17).

Asepsi, antisepsi öncesi dönemlerde; yaklaşık %10 civarında olan endoftalmi sıklığı, 1950'li yıllardan sonra hızla azalmaya başlamıştır. Bu tarihlerdeki literatürlere bakıldığında endoftalmi sıklığı, yaklaşık olarak %1'lerde iken, bu oran günümüzde %0,04 düzeyindedir. Yapılan cerrahinin şekline göre endoftalminin ortaya çıkış oranlarında da değişiklikler olmaktadır. Oküler cerrahi sonrası endoftalmi insidansı; katarakt cerrahisi için %0,1, trabekülektomi için %0,15, keratoplasti için %0,2, sekonder göz içi lensi yerleştirilmesi için %0,3, dekolman cerrahisi için %0,02, vitrektomi için %0,15, şaşılık cerrahisi için ise %0,03 olarak bildirilmektedir (18).

Endoftalmiye sebep olan patojenler %90 bakteriler, %10 virüsler, %10 mantarlar olarak izole edilmiştir. Etken olarak izole edilen bakterilerin %80'i Gram(+) , %20'si de Gram(-)dir. Bakteri suşlarının prognozunu belirlemede önemi büyüktür; koagülaz pozitif bakteriler genellikle daha yıkıcı (ör: *Staphylococcus aureus*) , koagülaz negatif olanlar ise (ör: *Staphylococcus epidermidis*) daha iyi seyir göstermektedir (19).

Endoftalmi ekzojen ya da endojen kaynaklı olabilir. Ekzojen endoftalmiler, çoğunlukla cerrahi sonrası ya da penetran travmalar nedeni ile gözün dış duvarındaki bütünlüğün kaybı sonucu oluşur. Burada mikroorganizmaların göz içi boşluklara yayılımı söz konusudur.

Endoftalmiler seyir tarzlarına göre akut, subakut ve kronik diye ayrılırlar. Postoperatif endoftalmiler birçok yayında, 6 haftalık sürece göre ayrımlanarak, 6 hafta içinde olanlar akut postoperatif endoftalmi, 6 haftadan sonra ortaya çıkanlar ise geç başlangıçlı endoftalmiler olarak tanımlanmaktadır (17).

**Tablo 1:** Endoftalmilerde Genel Sınıflama

<b>İnfeksiyöz Endoftalmiler</b>	<b>Noninfeksiyöz Endoftalmiler</b>
Postoperatif Endoftalmi	Steril üveit
Endojen Endoftalmi	Lense bağlı endoftalmi
Posttarvmatik Endoftalmi	Sempatik oftalmi

### 2.3.1 Tanı

Endoftalminin başta gelen semptomları görme kaybı ve ağrıdır. Bulguları ciddiyete göre değişir. Kapak şişliği, kemozis, konjonktiva enjeksiyonu, relatif afferent pupilla defekti, kornea bulanıklığı, fibrinöz eksüda, hipopyon, vitrit ve kırmızı refleks kaybı en önemli bulgulardır.

Tanıyı kesinleştirmek için aköz ve vitreustan kültür için örnekler alınır. Ancak kültürün negatif olması her zaman enfeksiyonu ekarte ettirmez ve tedaviye devam edilmelidir.

### 2.3.2 Tedavi

**1) İntravitreal Antibiyotikler:** Anahtar tedavidir çünkü çoğu bakteri için minimum inhibitör konsantrasyonu kısa sürede sağlar ve etkilerini birkaç gün devam ettirirler. İntravitreal enjeksiyonlar kültür örnekleri alındıktan hemen sonra yapılmalıdır. En sık kullanılan iki antibiyotik gram-negatif organizmaların (*pseudomonas aeruginosa*'yı içeren) çoğuna etkili olan setazidim ve koagülaz-negatif ve koagülaz-pozitif kokları (metisiline dirençli *Staphylococcus Aureus*) hedef alan vankomisindir.

**2-Perioküler antibiyotik enjeksiyonları:** Genellikle uygulanır ancak intravitreal enjeksiyon uygulanan olgularda ek bir faydası olduğu şüphelidir.

**3-Topikal antibiyotikler:** Sınırlı etkiye sahiptir ve taze kesiyi kontaminasyondan korumak için kullanılır.

**4-Oral antibiyotikler:** Florokinolonlar göze penetre olurlar ve bakteriyel biyofilme saldırdıklarını gösteren kanıtlar vardır.

**5-Oral steroidler:** İnflamatuar sürecin yıkıcı etkilerini sınırlamak amacıyla kullanılabilir.

**6-Topikal deksametazon:** Başlangıçta ön üveit için kullanılabilir.

### 7-Topikal midriyatik

**8-Pars plana vitrektomi:** İlk muayenede ışık persepsiyon düzeyinde görme keskinliği olan gözlerde, erken pars plana vitrektominin ciddi görme kaybı ile neticelenecek komplikasyonların %50 oranında azalmasına yol açtığı gösterilmiştir. Hasta ışık persepsiyonu [ P (+) ] düzeyinden daha kötü durumda ise acil pars plana vitrektomi yapılmalıdır. Hasta P (+) düzeyinden daha iyi görüyorsa medikal tedavi uygulanır (20).

#### 2.3.2.1 Antibiyotiklerin Oftalmoloji Pratiğinde Kullanımı

Bakteriyel endoftalmi tedavisinde intravitreal antibiyotik enjeksiyonu altın standarttır. İntravitreal ilaç uygulamasının ilk örnekleri 1940'larda deneysel stafilokoksik endoftalmiyi tedavi eden toksik olmayan penisilin dozunu saptayan Von Sallman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalardır (21). Bundan yaklaşık 20 yıl sonra ise Peyman ve arkadaşları gözlem, histolojik

çalışmalar, vitreus örnekleri ve ERG takiplerine dayanan çalışmaları ile intravitreal uygulanan bazı antibiyotiklerin toksik olmayan dozlarını saptayarak günümüzde uygulanan endoftalmi lokal tedavi protokollerinin temelini oluşturmuşlardır.

Antibiyotik seçimi şüphelenilen organizmaya, infeksiyonun mekanizmasına ve ilaç alerjisi gibi hastaya bağlı faktörlere göre yapılır. Amikasin ve gentamisin intravitreal uygulanabilen preparatlar olup gram-negatif ve gram-pozitif organizmalara karşı geniş spektrumludurlar. Ancak bu ilaçlar düşük dozda bile retinaya toksik etki gösterebilirler. Endoftalmi tedavisinde bu preparatlar yerlerini seftazidime bırakmışlardır. Vankomisin gram-pozitif endoftalmiyi (özellikle dirençli staphylococcus aureus) tedavi etmek için seçilmiş bir ilaçtır ve önerildiği dozda retina için toksik değildir. Gram-negatif etkinliği olmadığı için seftazidim gibi geniş spektrumlu bir antibiyotik ile kombine edilir (22).

Bir antibiyotiğin intravitreal enjeksiyon yöntemi ile kullanılmaya başlanılmasından önce ilacın toksik olmayan dozunun ortaya konması önemlidir. Bunun için ise klinik gözlem, ERG ve ışık mikroskopu ile yapılacak histopatolojik araştırmaların ve ilacın yarılanma ömrü ve vitreustan uzaklaştırılma sürecinin belirlenmesini sağlayacak çalışmalarının tamamlanması gereklidir.

### **2.3.2.2 Kolistin**

Kolistin dirençli mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde kullanılan eski, ancak önemi her geçen gün giderek artan spesifik ajanlardan biridir. Polimiksinler çoklu antibiyotik direnci geliştiren Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii ve karbapenemaz üreten enterik bakteriler gibi sorunlu mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonların tedavisinde zorunlu olarak tercih edilen antibiyotiklerdir (23).

Polimiksinler uzun yıllar pratikte kullanıldıktan sonra ortaya çıkan nefrotoksik yan etkileri nedeniyle tedavi alanındaki yerini farklı ajanlara bırakmış ve uzun yıllar kistik fibrozisli hastaların tedavileri dışında tercih edilmemiştir (23).

Ancak son dönemlerde giderek artan çoklu antibiyotik dirençli enterik bakteri, panresistant Acinetobacter ve P.aeruginosa infeksiyonlarının ardından parenteral polimiksin kullanımı tekrar artış göstermiştir (24).

Kolistin klinik pratiğimize 50 yıldan uzun süredir girmiş olmasına rağmen intravitreal kullanımda doz standardizasyonu, farmakokinetik ve toksisite ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

### **2.3.2.3 İntravitreal Enjeksiyon**

İntravitreal enjeksiyonlar, ilk defa Deutschmann ve Ohm'un insanlarda retina yırtıklarının tedavisinde tavşan vitreusu ve hava kullanmaları ile tanımlanmıştır. 1960'ların sonları ve 1970'lerin başında endoftalmi tedavisinde intravitreal antibiyotik enjeksiyonu uygulanmaya başlamıştır. İntravitreal enjeksiyonlar günümüzde uygulanan en sık oftalmik girişimsel işlemdir (22).

İntravitreal uygulanan ilaçlar, enjeksiyonu takiben hızla yayılır ve homojen bir dağılım gösterirler. Erişkin insanlarda 4-5 ml olan vitreus hacmi, deney hayvanlarından tavşanlarda 1,2-1,5 ml, maymunlarda ise 3-4 ml olarak hesaplanmıştır (25).

İntravitreal enjeksiyonların perioperatif komplikasyonları; konjunktival hemaraji (%20-40), punktat keratit (%30), vitreus reflüsü (%20), travmatik katarakt (%1), intraoküler basınç artışı ve santral retinal arter oklüzyonu (%1) dur. Postoperatif komplikasyonlar içinde ise intraoküler inflamasyon (%20), katarakt oluşumu (%7-21- ilk 1 yıl içinde), endoftalmi (tek enjeksiyonda %0,15-çoklu enjeksiyonda %1) ve retina dekolmanı (%1 altında) sayılabilir. İntravitreal enjeksiyona bağlı komplikasyonlar içinde en yüksek oranda görülenler, katarakt oluşumunda artma ve oküler hipertansiyondur (26).

### 3. MATERYAL METOD

Çalışmamız, kolistinin intravitreal enjeksiyonunun retina toksisitesini araştırmak için albino tavşanlar üzerinde yapılmış bir deneysel hayvan çalışmasıdır. İntravitreal kolistin doza bağımlı muhtemel etkilerinin ortaya konulabilmesi için dokuz farklı doz kullanılmıştır.

Ortaya çıkacak olası etkilerin klinik muayene, elektrofizyolojik testler ve histopatolojik

değerlendirme ile dokümanite edilebilenlerini saptayabilmek için temel klinik muayene yöntemleri olan biyomikroskopi (slit-lamp / yarık lamba), indirekt oftalmoskopi ve tonometri (Schiötz), oküler elektrofizyolojik muayene yöntemi olan ERG ve temel histopatolojik muayene yöntemi olan ışık mikroskopisi yöntemleri tercih edilmiştir.

Çalışma öncesinde İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Bezmi Alem Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan hayvan deneyi yapılabilmesi için gereken onay alınmıştır.

İntravitreal kolistin değişik dozlardaki enjeksiyonunun retina üzerindeki olası toksik etkisi; ağırlıkları 2000 ila 2500 gram arasında değişen 20 erişkin, dişi ve erkek, beyaz Yeni Zellanda tavşanının 20 gözünde araştırıldı. Tavşanlar Bezmi Alem Üniversitesi Hayvan Deneyleri ve Araştırma Laboratuvarı'nda hayvan başına düşen kafes alanı 2500 cm, sıcaklık 15-21°C, havalandırma 5- 15 değişim/saat, gündüz/gece 12/12 olacak tarzda bakım koşulları sağlanarak bakıldı (Resim 5-6).

Tüm tavşanlar enjeksiyon öncesinde ve enjeksiyon yapıldıktan sonra, hayvanlar henüz sakrifiye edilmeden, temel klinik muayene yöntemleri olan yarık-lamba (slit lamp) biomikroskopisi, 20 D asferik lens kullanılarak indirekt oftalmoskopi ve göz içi basınç değerlendirmelerine alınmıştır.

Enjeksiyon öncesi ve enjeksiyondan 2 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmeden önce tüm tavşanlara ERG çekildi (Resim 7-8).

18 tavşan her biri ikişerli toplam dört çalışma grubuna alınırken; 2 tavşan ise kontrol grubu olarak değerlendirildi. Tedavi sürecinde intravitreal toksik dozu hesaplamak amacıyla tavşan gözünde yapılan çalışmamızda kolistin; her biri ikişer tavşandan oluşan dört farklı çalışma grubuna 0.05 ile 16 mg aralığında değişen dokuz farklı dozda ve 0,1 ml hacminde uygulandı. Kontrol grubundaki 2 tavşana ise 0,1 ml hacminde dengeli tuz çözeltisi (Balanced Salt Solution BSS®, Alcon Lab. ve Tic. A.ř) intravitreal yolla uygulandı (Resim 9)

Tüm tavşanlardaki muayene ve cerrahi uygulamalar, 50 mg/kg ketamin hidroklorid (Rompun®, Bayer, Almanya) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorid (Ketalar®, Pfizer, A.B.D.) ile kombine intramusküler enjeksiyonu ile genel anestezi altında gerçekleştirildi.

### **3.1 İntravitreal Enjeksiyon**

Enjeksiyon öncesinde kullanılacak tüm malzemeler steril şartlar altında açıldı. İntravitreal enjeksiyondan 10 dakika önce topikal olarak uygulanan bir damla %2,5 fenilefrin (Mydfrin®, Alcon, A.B.D.) ve bir damla %0.5 tropikamid (Tropamid®, Alcon, A.B.D.) ile pupila dilatasyonu sağlandı. Genel anestezinin yanısıra, %0,5 proparakain (Alcaine®, Alcon, A.B.D.) ile de topikal anestezi uygulandı. Göz kapağı ve çevresinin povidon iyot ile temizliğinden sonra steril bir blefarosta ile kapakların ekartasyonu sağlandı.

İntravitreal enjeksiyondan hemen önce %10'luk povidin iyodun 5 dakika boyunca kornea-konjonktiva yüzeyi ile teması sağlandıktan sonra %0,09'luk NaCl ile povidin iyot ortamdan uzaklaştırıldı.

Kolistin 150 mg flakon (Colimysin, Koçak Farma A.Ş) değişik dozlarda dengeli tuz çözeltisi ile seyreltilerek, 0.05, 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16 mg kolistinin 0,1 ml çözeltisi elde edildi.

Daha sonra kolistin üst temporal kadrandan limbusun 1 mm posteriorundan 30 gauge iğne ve insülin enjektörü ile lens ve retina zedelenmeyecek şekilde vitreus içerisine enjekte edildi. Kontrol grubundaki tavşanlara da aynı teknik uygulanarak 0,1 ml dengeli tuz çözeltisi intravitreal enjeksiyonla uygulandı (Resim 10).

Enjeksiyon sonrasında ilacın geriye kaçışını önlemek amacıyla steril bir kulak çubuğu yardımıyla iğne giriş bölgesine baskı uygulandı.

Enjeksiyon sonrası örnekler toplanıncaya kadar 4x1 dozda, 1 hafta süreyle %0,5 moksifloksasin damla (Vigamox®, Alcon, A.B.D.) kullanılarak enfeksiyon yönünden deney hayvanlarının gözü günlük olarak değerlendirildi.

### **3.2 Elektroretinografi Yöntemi**

Elektroretinografiler Bezmi Alem Üniversitesi Hayvan Deneyleri ve Araştırma Laboratuvarı'nda çekildi. ERG öncesinde pupilla dilatasyonu sağlandı. Anestezi altında yapılan ERG kaydında tek kullanımlık korneal aktif altın yaprak elektrotlar kullanıldı. Elektrot impedansı 5 kΩ altındaydı. Altın cup deri elektrotlar, sırasıyla referans elektrot



lateral kantus, topraklayıcı elektrot da glabella bölgesine jel kullanılarak yerleştirildi. Test edilmeyen göz siyah karbon kağıt veya pamuk vasıtasıyla kapatıldı. Deney hayvanlarına pupillaları dilate edildikten sonra Mini Ganzfeld flaş ile uyarın verildi. Fotopik 3.0 ERG ve 30 Hz Fliker ERG kayıtları Retiport/scan21 ERG cihazı (Roland Consult, Weisbaden) ile kaydedildi.

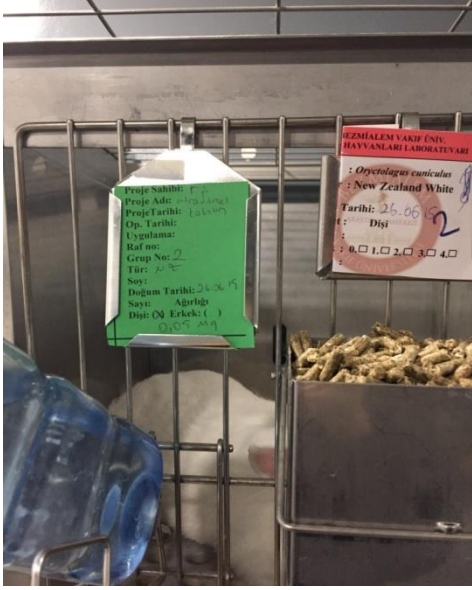
İntravitreal enjeksiyon öncesinde ve sakrifikasyon yapılmadan önce alınan fotopik ERG 3.0 b dalga amplitüt değerleri belirlendi.

### **3.3 Ötenazi ve Enükleasyon**

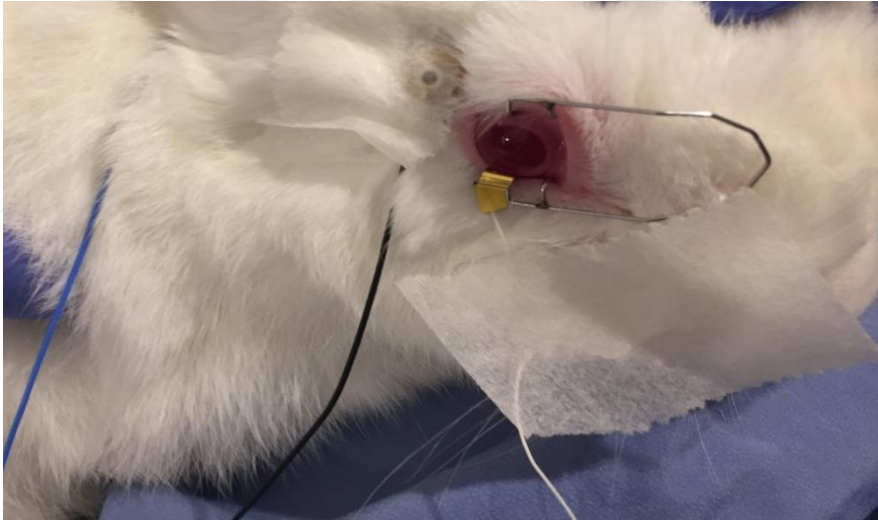
Enjeksiyonu takiben 14. günde, tavşanlara yüksek doz intravenöz anestezi verilerek ötenazi uygulandı. Ötenazi, yüksek doz (200 mg/kg) ksilazin hidroklorid (Ketalar®, Pfizer, A.B.D.) enjeksiyonu ile gerçekleştirildi.(Resim 11). Enükleasyon için gerekli cerrah aletler ile masa hazırlandı. (Resim 12). Tüm hayvanların sağ gözlerinin konjonktivası açılıp, kasları ekarte edildikten sonra, göz nazikçe öne çekilip optik sinir çok kısa güdük kalmayacak şekilde kesilerek enükleasyon yapıldı. (Resim 13-14)

### **3.4 Histolojik İnceleme**

Göz küreleri %10'luk tamponlu formalin içerisinde 24-48 saat fikse edildi. Fiksasyonun sonrası histopatolojik inceleme için enükle edilen gözler pars planadan perfore edildi. Ön segment yapıları ayrıldı. Geride kalan dokular; retina, koroid ve skleral blok median hattın eşit iki parçaya kesilerek ışık mikroskopik inceleme için örnekler hazırlandı. Doku parçaları alındıktan hemen sonra nötral %10'luk formalin içerisine konuldu. Formalin solüsyonu içerisindeki dokular iki kez solüsyon değiştirilerek 48-72 saat süreyle tespit edildi. Tespit sonrası doku parçaları %50, %70, %80, %90 ve absolu alkol serilerinden 2 saat süreyle geçirildikten sonra, 4 saat ksilol, 2'şer saat ksilol+parafin ve parafinde bekletildikten sonra parafine gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom ile 3 mikron kalınlığında histolojik kesitler alındı. Kesitler hematoxilen-eozin ile boyandı. Mikrofotografılar Nikon marka ışık mikroskopunda Nikon NIS element D4.20.0064 model fotoğraf makinesi ile çekildi. Retina, optik sinir, konjonktiva ve koroid tabakası ışık mikroskopu ile toksisite bulguları açısından incelendi. Retina katlarının bütünlüğü, retinada dejenerasyon, fibrozis ve atrofi, koroidde konjesyon, histiyositik inflamasyon, koroidde inflamasyon varlığı değerlendirildi.



**Resim 5 ve 6:** Tavşanların takip ve bakımlarının yapıldığı kafesler.



**Resim 7:** Tavşanlara ERG testi için elektrotların yerleştirilmesi ve testin gerçekleştirilmesi.



**Resim 8:** Tavşanlara ERG testi için kullanılan Mini Ganzfeld flaş stimülatörü.



**Resim 9:** Kolistin intravitreal enjekte edilebilir hale getirilmiş solüsyonları



**Resim 10:** Üst temporal kadrandan limbusun 1 mm posteriorundan 30 gauge iğne ve insülin enjektörü ile enjeksiyon yapılması





**Resim 11:** Tavşanlara yüksek doz intravenöz anestezi verilerek ötenazi uygulanması



**Resim 12:** Entükleasyon için kullanılan cerrahi aletler



**Resim 13 ve 14:** Sağ göz konjonktivasi açılıp, kaslar ekarte edildikten sonra, göz nazikçe öne çekilip optik sinir çok kısa güdük kalmayacak şekilde kesilerek enükleasyon yapıldı

## 4. BULGULAR

### 4.1 Klinik Muayene Bulguları

Bezmi Alem Üniversitesi Hayvan Deneylei ve Araştırma Laboratuvarı'nda bakım altında izlenen tavşanların hiç birinde, izlem süresince çalışmadan çıkarılmayı gerektirecek sistemik patoloji gelişmedi. İki haftalık çalışma süresince ölen tavşan olmadı.

#### 4.1.1 Enjeksiyon Öncesi

İntravitreal kolistin enjeksiyonu öncesinde yapılan muayenede tavşanların her iki gözlerinde de kornea, ön segment ve lens yapılarının normal olduğu ve retinanın tamamen aydınlandığı görüldü. Göz içi basınçları 11-17mm Hg arasında (ortalama 13,8 mmHg  $\pm$  2,1) ölçüldü.

#### 4.1.2 Enjeksiyon Sonrası

İntravitreal enjeksiyon sonrası yapılan takiplerde hiçbir deney hayvanının gözünde kızarıklık, akıntı gibi semptomlara rastlanmadı. Takip süresi boyunca tavşanların hiçbirinde; korneal ödem, ön kamarada fibrin reaksiyon, hipopiyon, vitreus içi hemoraji, retina dekolmanı ve endoftalmi gelişmedi. Enjeksiyon yapılan toplam 20 tavşandan yüksek doz kolistin verilen 4 tavşanın sağ gözlerinde fundus değerlendirmesini bozmayacak düzeyde olan ancak red refle altında görüntülenebilen orta düzeyde bir katarakt gelişimi izlendi. Göz içi basınç ölçümlerinde albino tavşanlar için kabul edilen normal sınırların dışında (15.3 $\pm$ 3.4 mmHg aralığında) herhangi bir değer saptanmadı.

### 4.2 Elektrofizyolojik Bulgular

Fotopik 3.0 ERG'de a, b dalga genlikleri (mV) tavşan bazında her biri kendi içinde enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası 15. günde belirlenmiştir. Fotopik 3.0 ERG dalga formunda b dalga amplitüdü en iyi saptanabilen dalga olduğu için toksisite değerlendirmesinde kullanılmıştır. B dalgası amplitütlerinde enjeksiyon sonrası farklar bazal değerlerden % 30 daha düşük çıkması, anlamlı kabul edildi (27). ERG incelemede 4 mg ve üzeri dozlarda kolistin enjeksiyonu yapılan tavşanlarda a ve b dalga amplitüdlerinde anlamlı değer olarak kabul edilen %30 oranında azalma olduğu görüldü.

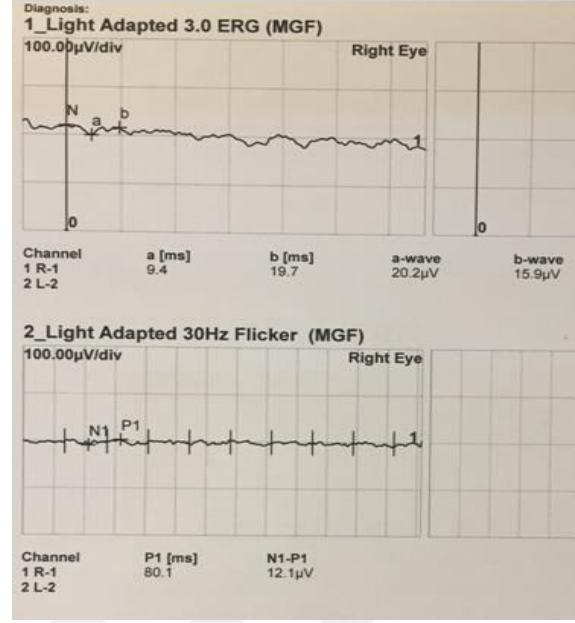
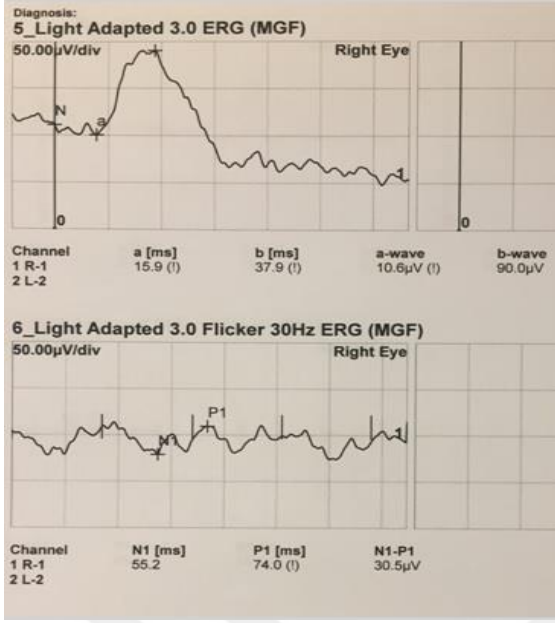


**Tablo 2:**Preenjeksiyon ve postenjeksiyon ışık adapte 3.0 ERG sonuçları

	Pre- enjeksiyon a latansı	Post- enjeksiyon a latansı	Pre- enjeksiyon a voltajı	Post- enjeksiyon a voltajı	Pre- enjeksiyon b latansı	Post- enjeksiyon b latansı	Pre- enjeksiyon b voltajı	Post- enjeksiyon b voltajı
0,05mg/ml	12	12.6	22	16.4	29.1	25.2	148	203
0,05mg/ml	14.4	11.2	29.4	15.1	27.9	26.1	226	181
0,1 mg/ml	12	13.2	27.9	14.3	30.8	33.8	151	123
0,1 mg/ml	11.4	11.4	31.6	56.5	41.4	32.6	133	117
0,2 mg/ml	15	15.6	18	3.69	31.4	28.8	137	97.8
0,2 mg/ml	13.8	11.7	6.44	18.2	30.2	39	144	126
0,5 mg/ml	10	12.3	16.4	31.3	31.4	29.6	104	185
0,5 mg/ml	10	11.7	3.31	9	29.6	29.6	74.7	122
1 mg/ml	10	5.9	162	31.6	38.2	33.8	217	193
1 mg/ml	8.5	19.4	30.1	20.4	23.8	35.8	76.9	86.9
2 mg/ml	12.6	12	1.86	19.5	28.2	31.4	82.3	125
2 mg/ml	6.8	11.7	52.1	28.6	37.3	35.5	93.8	145
4 mg/ml	14.4	17.6	10.1	20.1	34.6	25.8	86.5	51
4 mg/ml	15.9	9.4	10.6	20.2	37.9	19.7	90	15.9
8 mg/ml	11.4	10.3	111	7.11	40.2	19.4	222	11.7
16 mg/ml	12	12.9	20.4	14.3	27.9	21.7	208	16.1

**Tablo 3:**Fotopik 3.0 ERG b dalga voltajının enjeksiyon öncesi ve sonrası % olarak farkları

	Preenjeksiyon b dalga voltajı	Postenjeksiyon b dalga voltajı	Fark %
0,05mg/ml	148	203	%37 artış
0,05mg/ml	226	181	%19 azalma
0,1 mg/ml	151	123	%18 azalma
0,1 mg/ml	133	117	%12 azalma
0,2 mg/ml	137	97.8	%28 azalma
0,2 mg/ml	144	126	%12 azalma
0,5 mg/ml	104	185	%77 artış
0,5 mg/ml	74.7	122	%63 artış
1 mg/ml	217	193	%11 azalma
1 mg/ml	76.9	86.9	%13 artış
2 mg/ml	82.3	125	%51 artış
2 mg/ml	93.8	145	%54 artış
4 mg/ml	86.5	51	<b>%41 azalma</b>
4 mg/ml	90	15.9	<b>%82 azalma</b>
8 mg/ml	222	11.7	<b>%94 azalma</b>
16 mg/ml	208	16.1	<b>%92 azalma</b>



a.

b.

**Resim 15:** 8 mg/ml kolistin verilen bir tavşana ait enjeksiyon öncesi (a) ve sonrası (b) ERG kayıtları gösterilmektedir. Enjeksiyon sonrası ERG dalgasının subnormal olduğunu görülmektedir.

#### 4.3 Histopatolojik Bulgular

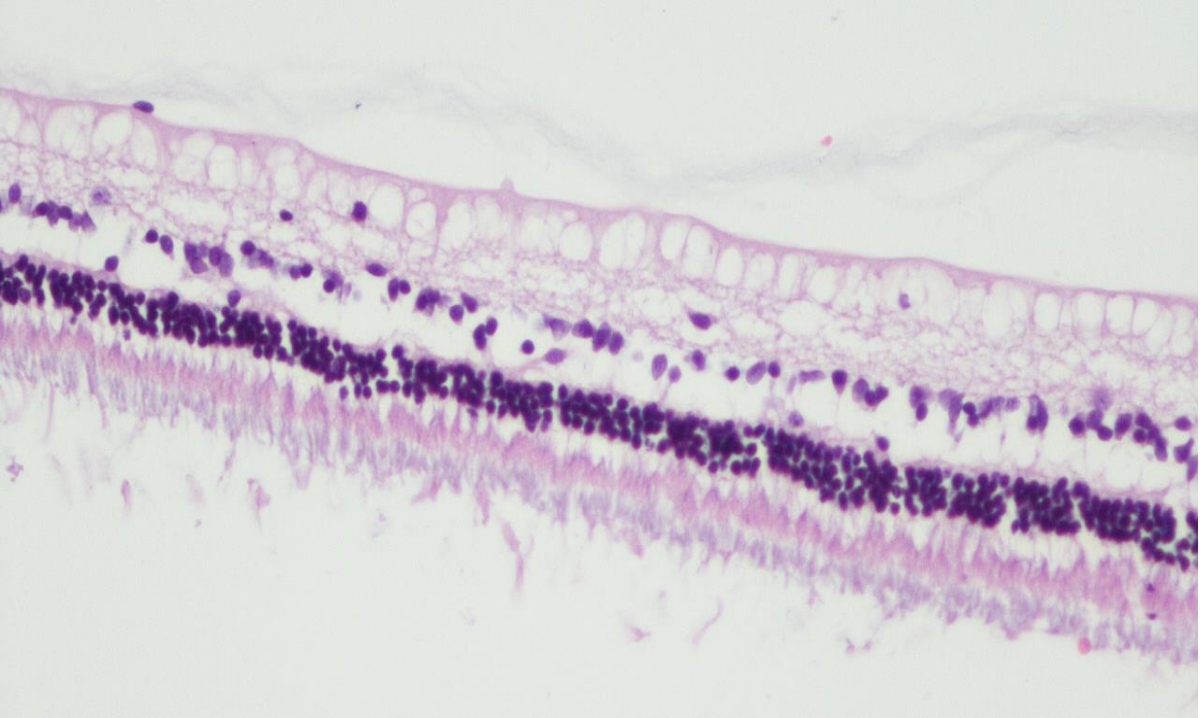
Mikroskopik inceleme sonucunda ilk 14 tavşanın gözlerinde retina katlarının bütünlüğünün korunduğu görüldü ve retinada herhangi bir dejeneratif değişiklik görülmedi (Resim 15-21). 4 mg, 8 mg ve 16 mg kolistin verilen tavşan gözlerinde ise histiyositik infiltrasyon, histiyositik vakuoller, inflamasyon ve retinal dejenerasyon mevcut idi (Resim 22-24). Koroidde konjesyon tüm tavşan gözlerinde mevcuttu. Koroidde inflamasyon ilk 7 tavşanda görülmedi. 4 mg, 8 mg ve 16 mg kolistin verilen tavşanlarda koroidde inflamasyon izlendi.

**Tablo 4:** Tavşan retinasında intravitreal kolistin dozlarına göre saptanan histopatolojik bulgular

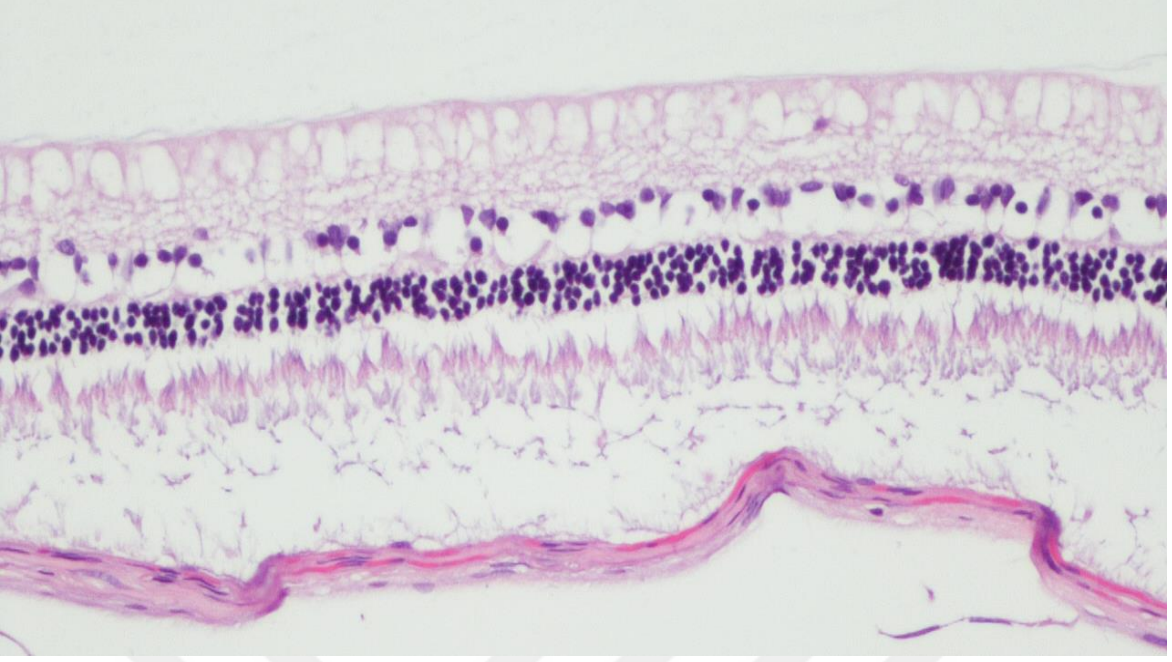
	Retina katlarının bütünlüğü	Retinada dejeneratif değişiklikler	Koroidde konjesyon	Histiyositik inflamasyon	Koroidde inflamasyon
Kontrol	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
0,05 mg	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
0,1 mg	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
0,2 mg	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
0,5 mg	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
1 mg	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
2 mg	Korunmuş	Görülmedi	Mevcut	Görülmedi	Görülmedi
4 mg	Bozulmuş	Mevcut	Mevcut	Mevcut	Mevcut hafif
8 mg	Bozulmuş	Mevcut	Mevcut	Mevcut	Mevcut yoğun
16 mg	Bozulmuş	Mevcut	Mevcut	Mevcut	Mevcut yoğun



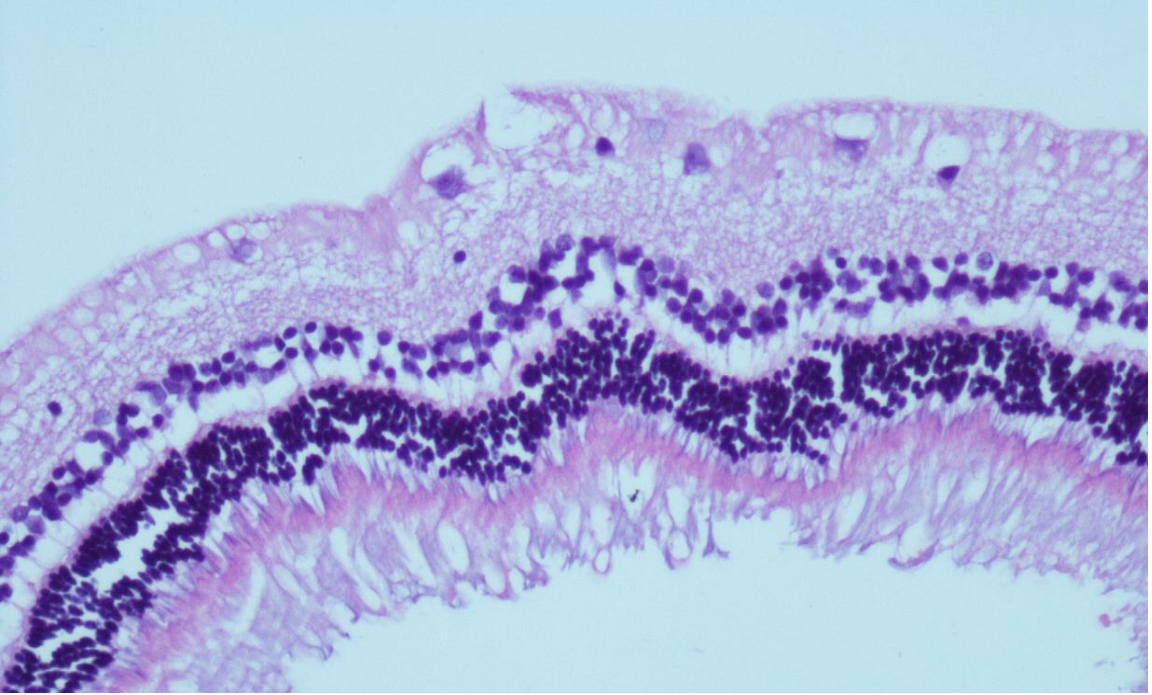
**Resim 16:** Kontrol grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti.  
(X4)



**Resim 17:** 0,05 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti (X20)

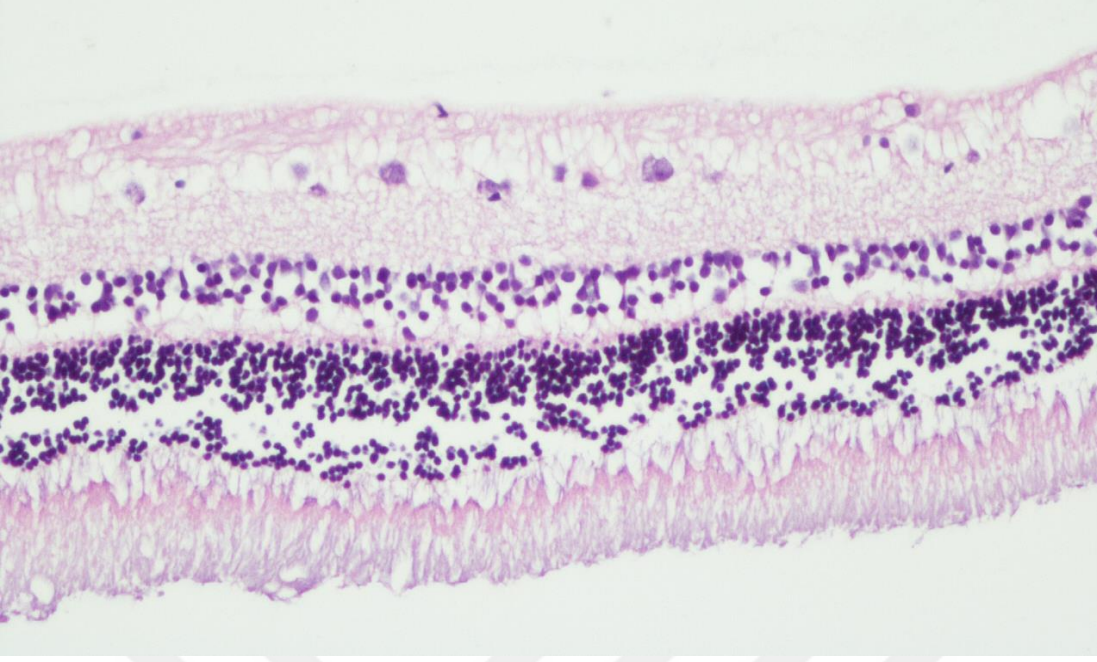


**Resim 18:** 0,1 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti X20

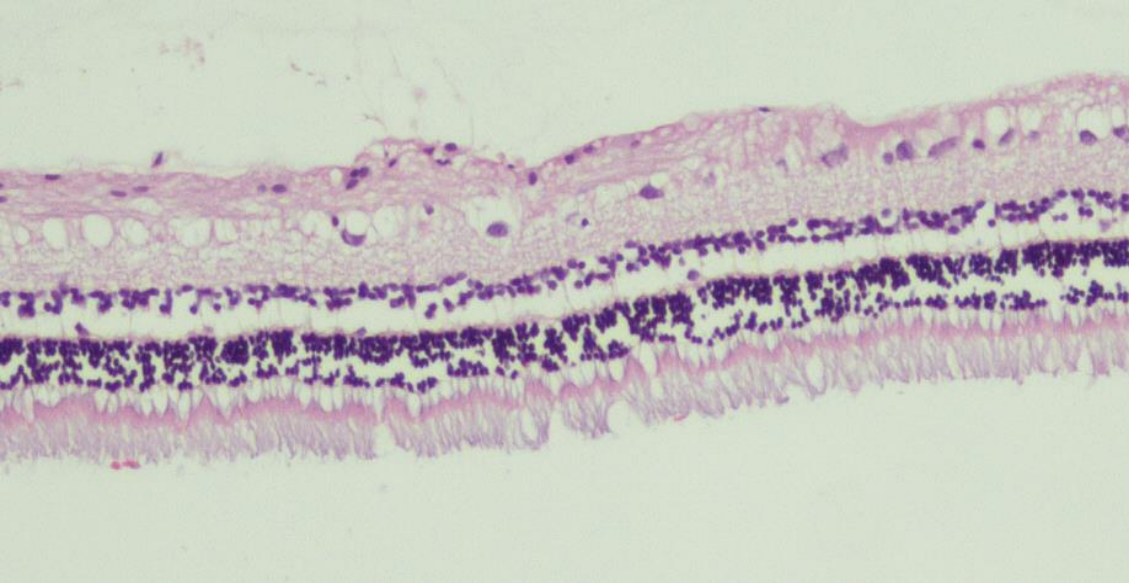


**Resim 19:** 0,2 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti (X20)

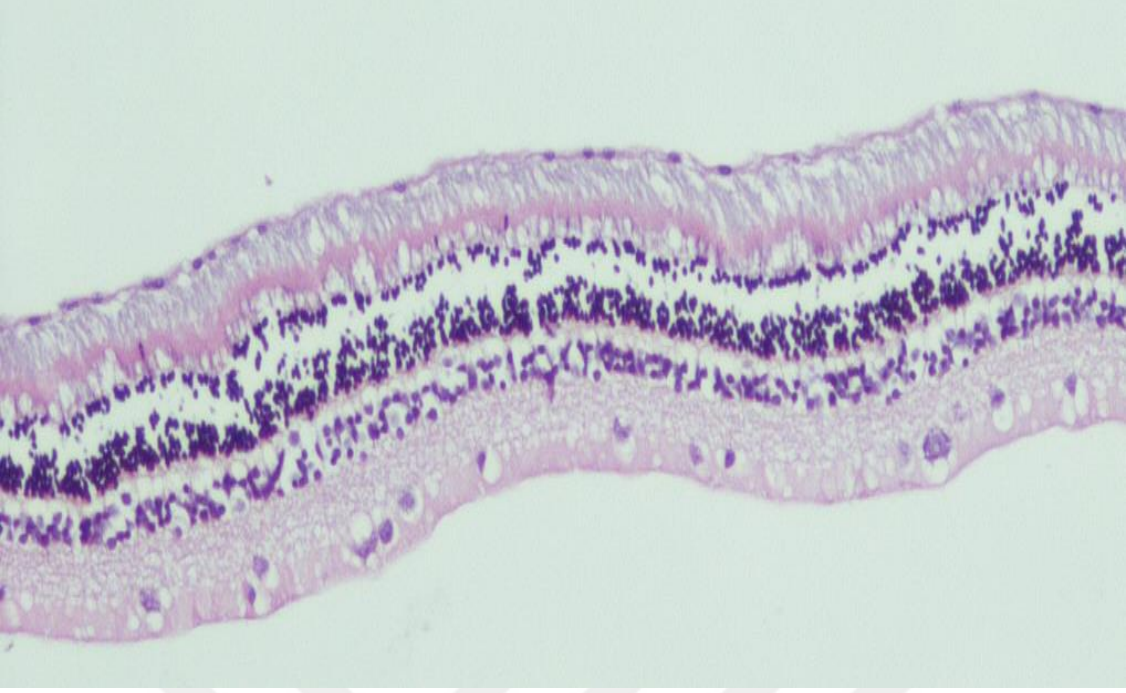




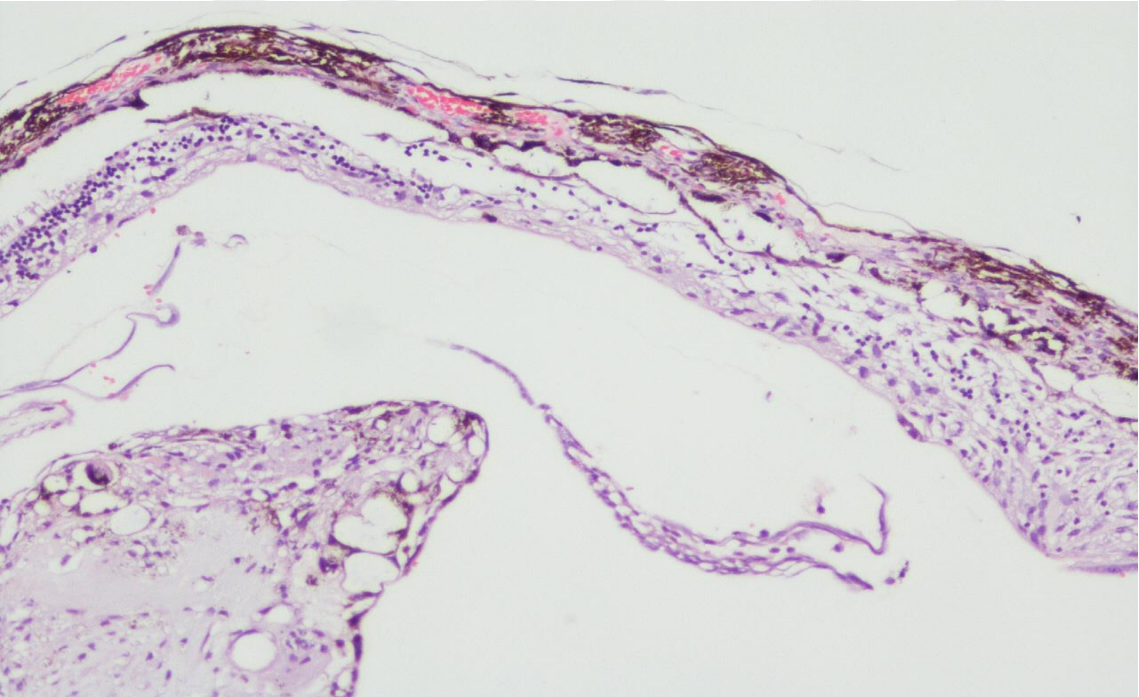
**Resim 20:** 0,5 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti (X20)



**Resim 21:** 1 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti (X10)

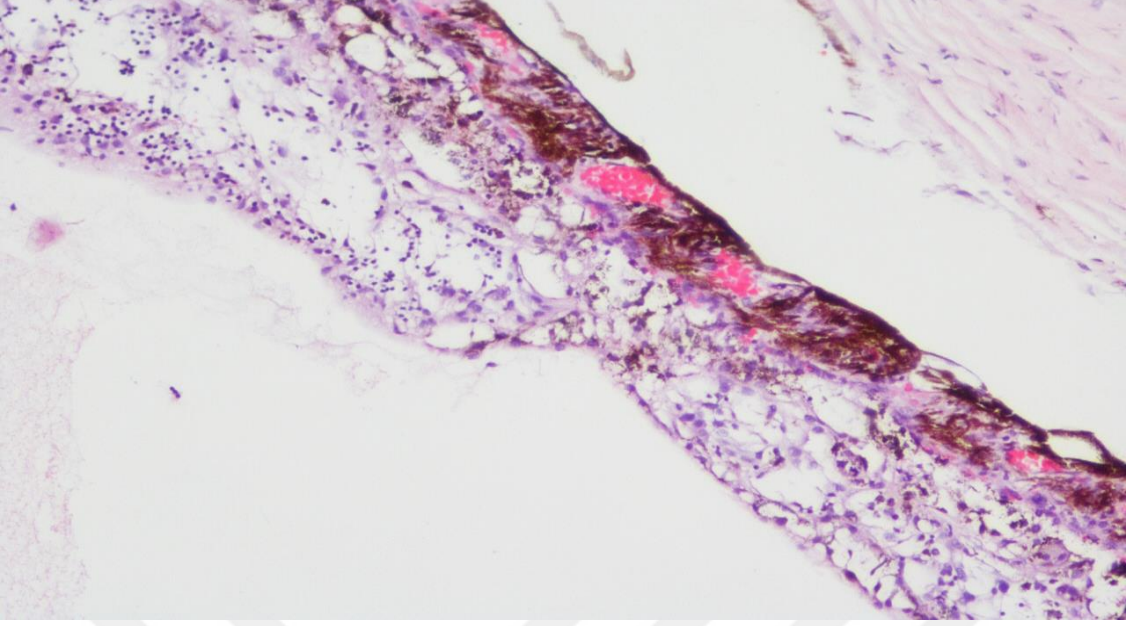


**Resim 22:** 2 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti (X10)

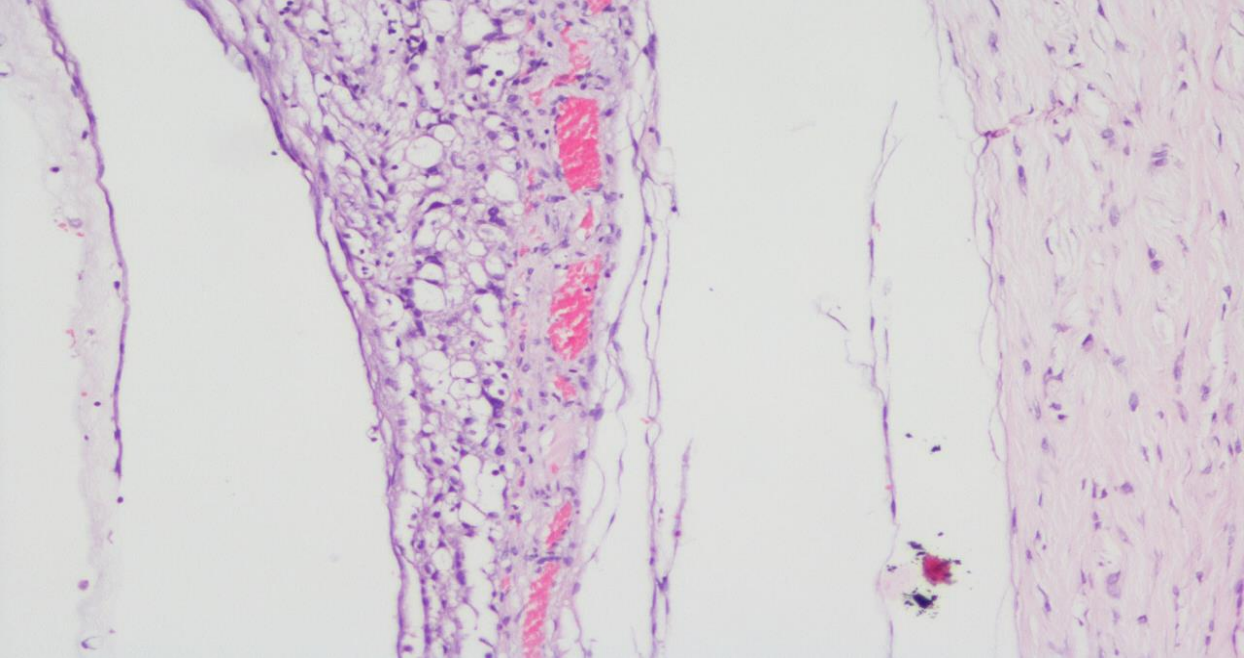


**Resim 23:** 4 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti (X10)





**Resim 24:** 8 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti X10



**Resim 25:** 16 mg enjeksiyon grubundaki tavşan retinasının ışık mikroskopik incelemede izlenen kesiti X10

## 5. TARTIŞMA

Akut endoftalmi, oftalmik cerrahide en zorlayıcı komplikasyonlardan biridir (28). Postoperatif endoftalmi, hemen hemen her göz cerrahisi sonrasında bildirilmiştir. Katarakt cerrahisini takiben endoftalmi sıklığı yaklaşık % 0,1-0,3 dür (29). Hızlı ve uygun tanı ve tedavi ile bile ciddi görme kaybı meydana gelebilir. Bu nedenle endoftalmi tedavisinde, güvenli ve etkili antimikrobiyal ajanların doğru kullanılması çok önemlidir (30).

Sistemik olarak uygulanan ilaçların göz dokularına geçişi kan-retina bariyeri nedeniyle sınırlı olmaktadır. Pigmentli silier cisim kapilleri ve arka üveal kapiller fenestralı tipte olup ilaçların bu kısımlarda yeterli konsantrasyonlara ulaşmasını sağlasa da, iris damar endotelindeki ve silier cisim pigmentsiz epitelindeki sıkı bağlar ilaçların vitreus ve aköz sıvılarda yüksek konsantrasyonlara ulaşmasını önlemektedir (31,32). Bu bilgilerle uyumlu olarak Özçimen ve ark.'nın tavşanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada intravenöz kolistinin vitreus ve aköz humor da terapötik seviyelere ulaşamadığı ortaya koyulmuştur. Halen posterior segmentte terapötik ilaç konsantrasyonları elde etmek, oküler bariyerleri aşmak ve sistemik maruziyeti en aza indirmek için en iyi metod intravitreal enjeksiyon olarak kabul edilmektedir (33).

İntravitreal antibiotiklerin uygulamaya girmesi özellikle bakterilere bağlı olan enfeksiyöz endoftalmi tedavisinde çok önemli bir gelişmedir. Bu amaçla çok çeşitli antibiotikler incelenmiş ve kullanılmıştır (28). Gram negatif endoftalmi saptanan bir olguda yapılan intravitreal amikasinin maküler infarkta neden olabileceği bildirilmiştir (34). Ancak intravitreal garenoksasin in hayvan modellerinde güvenli olduğu saptanmış ve intravitreal levofloksasinin de tavşanlarda oluşturulan deneysel endoftalmi tedavisinde etkili olabileceği görülmüştür (35,36). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada endoftalmi saptanan hastalardan alınan örneklerden elde edilen izolatlarda vankomisin ve seftazidim duyarlılığı araştırılmış ve endoftalmi şüphesi olan hastalarda vankomisin ve seftazidim ampirik tedavisinin standart prosedür olarak kalabileceği sonucuna varmışlardır. Yine de, vankomisin ve seftazidime karşı günümüzde bakteri direncinin yüksek olması nedeniyle, tedavinin klinik cevaba dayalı olarak değiştirilmesi gerekebilmektedir (37). Dördüncü nesil florokinolonlardan olan moksifloksasin ve gatifloksasin gibi yeni antibiyotiklerin, hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilere karşı etkinlik göstermelerine karşın, intravitreal olarak güvenli oldukları kanıtlanamamış ve ayrıca bu antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç gösterilmiştir (38,39).

Kolistin kimyasal olarak beş farklı bileşiği içeren (polimiksin A, B, C, D ve E) bir grup polipeptit antibiyotik olan polimiksin grubu bir antibiotiktir. Klinik pratikte sadece polimiksin B ve polimiksin E (kolistin) kullanılmıştır. Kolistin, *Bacillus polymyxa* tarafından ribozom dışı sentez edilir. Kolistinin hedefi bakteri hücre membranıdır. Katyonik bir peptid olan kolistin ile gram negatif bakterilerin dış membranlarındaki anyonik lipopolisakkarid molekülleri elektrostatik ilişkiye girerler ve hücre membranında düzensizliğe yol açarlar. Kolistin, lipopolisakkarid moleküllerini stabil halde tutan magnezyum ve kalsiyumun yerini değiştirerek dış membranda bozulmaya ve bakterinin ölümüne neden olur. Kolistinin antibakteriyel etkisine ek olarak anti-endotoksin aktivitesi de vardır (40). Kolistinin en önemli yan etkisi nefrotoksisitesidir. 1950-1980 arası kullanılmış ve 1980'lerde nefrotoksisitesi nedeniyle kullanımı oldukça azalmıştır (41). Kolistin, *P. aeruginosa* da dahil olmak üzere karbapenem dirençli gram negatif bakterilerin artmasıyla son çare tedavi seçeneği olarak tekrar kullanılmaya başlanmıştır (42). *P. aeruginosa*, aminoglikozidler, sefalosporinler, genişspektrumlu penisilinler ve karbapenemler gibi daha önce etkili olan geniş spektrumlu antibiyotiklere karşı direnç geliştirmektedir (43). Ancak çoklu antibiotik dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarını da içeren çoğu gram-negatif mikroorganizmanın kolistine duyarlı olduğu bildirilmiştir (44). *P. aeruginosa*, katarakt cerrahisini takiben endoftalmiye neden olan en yaygın gram-negatif organizmandır (45). Geniş akut postoperatif endoftalmi serilerindeki *P. aeruginosa* insidansı % 8 ila % 34 arasında değişmektedir (46). *P. aeruginosa*, intrinsik enzimlerinin yapısına bağlı olarak yıkıcı fonksiyonel ve anatomik sonuçlara neden olabilir (47). *P. aeruginosa*, hızla kornea, ön kamara ve vitreus boşluğunda intraoküler içeriği hızla sindiren elastazlar ve eksotoksinler üretir, kontrolsüz bir inflamasyon ve glob disorganizasyonuna neden olur (48). Günümüzdeki standart tedavi yöntemi, yayma ve kültür için vitreus örneği alınmasını takiben acil intravitreal geniş spektrumlu antibiyotik ve vitrektomi uygulanmasıdır (45).

2013 yılında yayımlanan bir vaka serisinde çoklu dirence sahip *P. aeruginosa* saptanan 8 endoftalmili hastaya intravitreal vankomisin ve seftazidim enjeksiyonu ile birlikte vitrektomi operasyonu uygulanmış. Olumlu sonuç alınamaması ve semptomların kötüleşmesi üzerine antibiogram sonuçlarından yola çıkılarak hastalara intravitreal kolistin (0.1 mg / 0.1 ml) enjeksiyonu yapılmış. Kolistin tedavisinden 4 hafta sonra bir hastada tekrarlayan retina dekolmanına bağlı görme artışı elde edilemezken yedi hastada görme keskinliğinin 6/60 ya da daha iyi olduğu görülmüş. Daha sonra hastalar toksisite bulguları açısından incelendiğinde optik nöropati ve maküler toksisite gibi ilaca bağlı toksisite bulgularının hiçbirine

rastlanmamış ve tüm hastalarda enfeksiyon gerilemiş (49). Bu çalışmanın sonuçlarına ve literatürde bildirilen çoklu ilaç dirençli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarındaki artışa dayanarak kolistin intravitreal toksisitesi ve doz standardizasyonu ile ilgili bu tez çalışmasını planladık.

Göz içi ilaçlar, insan gözünde nadiren incelenmiştir, çünkü insan gözündeki invaziv girişimler etik olarak kısıtlanmıştır. Bu nedenle, göz farmakokinetiği hayvan modellerine, çoğunlukla da tavşanlara dayanır. Günümüz verilere dayanılarak tavşanlar intravitreal ilaç çalışmaları için kullanılabilir bir hayvan modelidir. Klirens ve hacim değerleri tavşan ile insan arasında ılımlı derecede farklılık göstermektedir (50).

Yukarıda detaylıca anlattığımız gibi bu çalışmada, ilaç enjeksiyonu sonrası ortaya çıkan oküler etkileri değerlendirmek için biyomikroskopi, oftalmoskopi ve Schiötz tonometriyi içeren klinik muayene yöntemlerini, ERG'yi içeren elektrofizyolojik testi ve ışık mikroskopisini içeren histopatolojik değerlendirme yöntemlerini kullandık. Çalışmamızın dizaynında öncelikle karar vermemiz gereken kolistini hangi doz aralıklarında denememiz gerektiği idi. Yukarıda bahsettiğimiz gibi kolistin intraoküler kullanımına ilişkin literatürde herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle kolistin intravitreal dozlarını belirlerken MİK50 ve MİK90 değerlerini göz önüne aldık. İzolatların %50'sini inhibe eden en düşük antibiyotik konsantrasyonunu MİK50, %90'nını inhibe eden en düşük konsantrasyonu ise MİK90 olarak tanımladık (51). Çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* için belirtilen MİK50 ve MİK90 konsantrasyonları sırasıyla 6.3 µg/ml ve 1.6 µg/ml olarak belirtilmiştir (52). Doz hesaplanmasında tavşan vitreus hacmi 1.5 ml olarak alınmıştır. Görüldüğü üzere kullandığımız intravitreal ilaç dozları izolatların inhibisyonu için gerekli dozlardan çok daha fazladır. Bu durum, uyguladığımız dozların gerek etkinlik gerekse de emniyet ve güvenilirlik yönünden çok geniş bir aralık içinde bulunduğu bir kanıttır. Ayrıca Samant ve ark. tarafından 2013'te yayımlanan vaka serisinde kullanılan doz (0.1 mg / 0.1 ml) insanlarda etkin doz olarak kabul edildiğinde çalışmamızda toksisite sınırı olarak belirtilen 4 mg/ml ile kolistin güvenli ve etkili bir ilaç olduğu düşünülebilir.

Bizim çalışmamızda klinik muayene yöntemleriyle gözün görmesini, fizyolojisini ciddi ve geri dönüşümsüz düzeyde etkileyebilecek herhangi bir ciddi komplikasyon izlenmemiştir. Bu muayene yöntemleriyle saptanabilen tek komplikasyon katarakt olarak izlenmiştir. Katarakt komplikasyonu çalışmamızda toksik doz olarak kabul ettiğimiz 8 mg/ml ve 16mg/ml konsantrasyonlarında meydana gelmiştir. Kataraktın yüksek doz ilaç yapılan gözlerde izlenmiş olması kataraktojen etkinin ilaca bağlı olarak ortaya çıktığını doğrulayabilir. Her

şeye rağmen katarakt tedavi edilebilir ve gözün görsel fonksiyonunda kalıcı bir sekel bırakmayan nispeten selim bir komplikasyon olarak kabul edilebilir. Bu etki muhtemelen lokal olarak lensin biyokimyasal etkilenmesi sonrası ortaya çıkmakta ve lens kapsülünün fizyolojik işleyişi bozularak gerek lense sıvı geçişinin artması gerekse de kristalin lens proteinlerinin üretilmesinin bozulması yoluyla etkisini göstermektedir (53).

Gözlerin hiç birisinde enjeksiyon öncesinde ve enjeksiyon sonrasında tavşanlar için kabul edilebilen düzeylerin üstünde veya altında bir göz içi basıncı değeri saptanmamıştır. Bu durum da kolistinin göz içi basıncı üzerine arttırıcı veya azaltıcı bir etki yapmadığı şeklinde yorumlanabilir. Şu halde çalışmamızda, kolistinin intravitreal enjeksiyonu sonrasında, biyomikroskopi, oftalmoskopi ve Schiötz tonometriyi içeren klinik muayene yöntemleriyle yapılan klinik değerlendirmede, herhangi bir patoloji gözlenmemiş olması kolistinin intravitreal yoldan enjeksiyonunun tolere edilebilir bir uygulama olduğunu kanıtlar niteliktedir şeklinde yorumlanabilir.

Tavşanlarda elektrofizyolojik testlerin gerçekleştirilmesi teknik olarak çok zordur. Kullanılan elektrodların yerleştirilmesi, gerekli geçirgenlik ve yalıtımların sağlanması ve üstelik bu durumların tüm tavşanlarda enjeksiyon öncesinde ve sonrasında tüm paramaterleriyle bire bir aynı şekilde kurulabilmesi önem arzeder. İnsan uygulamalarında da elektrofizyolojik testlerin güvenilirlik ve tekrarlanabilirlik sorunları olduğu gibi yanlış pozitif ve yanlış negatif test sonuçlarının elde edilebildiği de bilinmektedir. Şu halde elektrofizyolojik testlerin kendinden ve yapıma tekniğinden kaynaklanan sorunları bir kenarda kalmak kaydıyla, çalışmamızda elde ettiğimiz verilerde 2 mg/ml ve daha düşük dozlardaki enjeksiyonlardan sonra saptanabilir bir patolojinin ortaya konulmamış olması, elektrofizyolojik testlerle dokumante edilebilen hücresel fizyolojik işleyiş düzeyinde bir patolojiye sebep olmadığının bir kanıtı olarak ortaya konulmuştur. 4 mg/ml ve üzeri dozlarda ise a ve b dalga amplitüdlerinde azalma saptanmıştır.

Çalışmamızda en önemli ve en güvenilir verilerinden diğeri de ışık mikroskopisini içeren histopatolojik değerlendirmeden elde edilmiştir. Sağlıklı tavşan retinasını da incelememizdeki amaç preparat hazırlanması veya enükleasyon esnasında iskemiye ve olası başka sebeplere bağlı oluşabilecek retinal hasarlanmayı kullandığımız antibiotiğe bağlama hatasından uzaklaşmaktır. Bu tavşan retinasında saptadığımız koroid konjesyonu bulgusu diğer tavşan retinalarında da görülmekteydi. Koroid konjesyonunun preparat hazırlığı veya enükleasyon sırasındaki işlemlere bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızda kolistin enjeksiyonunda kullandığımız 4mg/ml altındaki dozlarda histopatolojik düzeyde bir toksisiteye rastlanmıştır.

Ancak 4 mg/ml ve daha yüksek dozlarda histiyositik infiltrasyon, histiyositik vakuoller, koroidde inflamasyon ve retinal dejenerasyon saptanmamıştır. Bu veriler de yukarıda ortaya koyduğumuz pek çok veri gibi, ulaşabildiğimiz kadarıyla şu ana dek literatürde bulunmayan verilerdir.

Tavşan gözlerinde kolistinin toksik etkisinin oluşması ya da doza bağlı değişimi pek çok parametreye göre değişebilir. İlacın yarı ömrü, vitreus hacmi, bakteriye immun direncin düzeyi, lokal koruyucu faktörlerin varlığı gibi pek çok nedenin elde ettiğimiz sonuca etkisi olmuş olabilir. Buna bir de enfeksiyon varlığında doku hassasiyetinin artabileceği de eklenecek olursa, insan gözlerinde toksisite ve etkinlik için bir şey söylemek zor olacaktır.

Hızla gelişmekte olan bakteri direncine karşı savaşımızda sadece yeni antibiyotiklerin keşfi üzerinde durulmamalıdır. Ayrıca daha ileri klinik deneyler ile kolistin gibi daha eski antibiyotiklerin kullanımına akılcı yaklaşımlar aranması çok önemlidir.

Sonuç olarak; biz kolistinin düşük dozlarda hayvan gözlerinde retinaya toksik etki göstermediğini tespit ettik. Retinadaki histolojik değişiklikler göz önüne alındığında güvenli dozun 2 mg/ml olduğunu, 4 mg/ml üstü dozlarda ise katarakt gelişimi, elektrofizyolojik baskılanma ve retina tabakalarında patolojik değişikliklere yol açtığını gösterdik. Kolistinin insan dokularında oluşturabileceği etkiler ve gram negatif enfeksiyonlara bağlı endoftalmideki etkinliği açısından yeni çalışmaların yapılması gerekmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Durand ML. Bacterial and fungal endophthalmitis. *Clin Microbiol Rev.* 2017;30(3):597-613
2. Gentile RC, Shukla S, Shah M, Ritterband DC, Engelbert M, Davis A et al. Microbiological spectrum and antibiotic sensitivity in endophthalmitis: a 25-year review. *Ophthalmology.* 2014;121(8):1634-42.
3. Schwartz SG. Ocular infection: endophthalmitis, in *Retinal Pharmacotherapeutics.* Karger Publishers, 2016:176-88.
4. Relhan N, Albin TA, Pathengay A, Kuriyan AE, Miller D, Flynn HW. Endophthalmitis caused by Gram-positive organisms with reduced vancomycin susceptibility: literature review and options for treatment. *Br J Ophthalmol.* 2016;100(4):446-52.
5. Akar S Akyol S. Retinanın embriyogenezi- Fiziyojisi. In: Aydın O'Dwyer P, Aydın Akova Y. eds. *Temel Göz Hastalıkları.* 3. Baskı. Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 2015:634-40.
6. American Academy of Ophthalmology. *Retina and Vitreous.* United States of America 2008-2009;8-9
7. Ünal B. *Göz Hastalıkları.* 4. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara, 1998:163-5
8. Williams DL. *Laboratory Animal Ophthalmology.* In: *Veterinary Ophthalmology,* Ed.: K. N. Gelatt, 3th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 1999:1209-36.
9. Ofri, R. *Retina.* In: *Slatters Fundamentals of Veterinary Ophthalmology,* Ed.: D.J. Maggs, P.E. Miller, R. Ofri. 4th Ed. Philadelphia: Saunders, Elsevier, 2004:285-317
10. Maggs DJ. *Basic Diagnostic Techniques.* In: *Slatters Fundamentals of Veterinary Ophthalmology,* Ed.: D.J. Maggs, P.E. Miller, R. Ofri. 4th Ed. Philadelphia: Saunders, Elsevier, 2008:81-106.
11. Nusinowitz S, Heckenlively JR. *Evaluating retinal function in the mouse retina with the electroretinogram.* Cambridge, Massachusetts, USA. MIT Press, 2006:899-910.
12. Marmor MF, Fulton AB, Holder GE, Miyake Y, Brigell M, Bach M. *ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2008 update).* *Doc Ophthalmol.* 2009;118(1):69-77

13. Cameron MA, Barnard AR, Lucas RJ. The electroretinogram as a method for studying circadian rhythms in the mammalian retina. *J Genet.* 2008;87(5):459-66.
14. Sims M. Electrodiagnostic evaluation of vision. *Vet Ophthalmol.* 1999;3:483-507.
15. Marmor MF, Zrenner E. Standard for clinical electroretinography (1994 update). *Doc Ophthalmol.* 1995;89(3):199-210
16. Heckenlively JR, Arden GB. Principles and practice of clinical electrophysiology of vision. MIT press, 2006:139-84
17. Kaynak S, Koçak N, Aydın R. Endoftalmide klinik tanı ve tedavi yöntemleri In: Aydın O'Dwyer P, Aydın Akova Y. eds. Temel Göz Hastalıkları. 3. Baskı. Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 2015:780-820.
18. Özçetin H, Kaynak S. Vitreoretinal Cerrahi. Türk Oftalmoloji Derneği Eğitim Yayınları No: 3, 1.baskı. Bölüm XIV Endoftalmide Klinik Tanı ve Tedavi Yöntemleri, Scala Basım yayım, İstanbul, 2005:325-401.
19. Akbatur HH, Şengün A. Behçet Hastalığı Endoftalmiler ve Üveitler, Bölüm 31, Atlas Kitapçılık, İstanbul, 2002:415-461.
20. Kanski JJ. Clinical ophthalmology. 7th ed. China: Elsevier Saunders, 2011:290-3
21. Leopold IH. Intravitreal penetration of penicillin and penicillin therapy of infections of the vitreous. *Am J Ophthalmol.* 1946;29:599-601
22. Küçükdönmez FC, Zengin MÖ. İntravitreal enjeksiyonlar ilaç implantasyonları. In: Aydın O'Dwyer P, Aydın Akova Y. eds. Temel Göz Hastalıkları. 3. Baskı. Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, 2015:725-730.
23. Öncül O. Kolistin: Endikasyon ve klinik kullanımı. *Ankem Derg.* 2012;26(Ek 2):12-18.
24. Kwa A, Kasiakou SK, Tam VH, Falagas ME. Polymyxin B similarities to and differences from colistin (polymyxin E). *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2007;5(5):811-21.
25. Bardenstein DS, Intraocular lymphoma, *Cancer Control.* 1998;5(4):317-325.



26. Holz FG, Spaide RF. Essential in ophthalmology Medical Retina, Intravitreal Injection, Techniques and Sequelae, chapter 5, 2007:67-87.
27. Manzano RP, Peyman GA, Khan P, Kivilcim M. Testing intravitreal toxicity of bevacizumab (Avastin). *Retina*, 2006;26(3):257-61.
28. Giordano VE, Hernandez-Da Mota SE, Adabache-Guel TN, Castillejos-Chevez A, Corredor-Casas S, Salinas-Longoria SM et al. Safety of intravitreal quinupristin/dalfopristin in an animal model. *Int J Ophthalmol*. 2016; 9(3):373-8.
29. Androudi S, Ng EW, Stangos AN, D'Amico DJ, Brazitikos PD. Postoperative endophthalmitis. In: Albert DM, Miller JW, Azar DT, Blodi BA, editors. *Albert, Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology*. 3rd ed. WB Saunders, Philadelphia, 2000:2325-50.
30. Zghal I, Souguir A, Fekih O, Chebbi A, Romdhane O, Bouguila H et al. Postoperative Endophthalmitis: therapeutic results and Early vitrectomy. *Tunis Med*. 2017;95(3):172-8.
31. Kaufman PL, Gabelt BT. Aqueous humor hydrodynamics. In: Alm A, Kaufman PL Eds. *Adler's Physiology of the Eye*. 10th ed. St.Louis: Mosby, 2003:237-92
32. Andersen HL, Vitreous. In: Alm A, Kaufman PL Eds. *Adler's Physiology of the Eye*. 10th ed. St.Louis: Mosby, 2003:293-318
33. Ozcimen M, Ozcimen S, Sakarya Y, Sakarya R, Goktas S, Alpfidan I et al. Ocular penetration of intravenously administered colistin in rabbit uveitis model. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2014;30(8):681-5.
34. Seawright AA, Bourke RD, Cooling RJ. Macula toxicity after intravitreal amikacin. *Aust N Z J Ophthalmol*. 1996;24(2):143-6.
35. Esfahani MR, Kazi AA, Peyman GA, Dellacroce JT, Aydin E. Intravitreal toxicity of garenoxacin. *Retina*, 2006;26(2):182-6.
36. Ferrer C, Rodríguez A, Abad JL, Fernandez J, Alió JL. Bactericidal effect of intravitreal levofloxacin in an experimental model of endophthalmitis *Br J Ophthalmol*. 2008;92(5):678-82.

37. Reddy AK, Reddy RR, Paruvelli MR, Ambatipudi S, Rani A, Lodhi SA et al. Susceptibility of bacterial isolates to vancomycin and ceftazidime from patients with endophthalmitis: Is there a need to change the empirical therapy in suspected bacterial endophthalmitis? *Int Ophthalmol*. 2015;35(1):37-42
38. Wong CA, Galvis V, Tello A, Villareal D, Rey JJ. In vitro antibiotic susceptibility to fluoroquinolones. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2012;87(3):72-8.
39. Kernt M, Neubauer AS, Ulbig MW, Kampik A, Welge-Lüssen U. In vitro safety of intravitreal moxifloxacin for endophthalmitis treatment. *J Cataract Refract Surg*. 2008 Mar;34(3):480-8.
40. Akalın H. Kolistin. *Ankem Derg*. 2007;21: 26-8.
41. Öztürk O, Öztürk C, Delialioğlu N, Emekdaş G. Çoklu antibiyotik dirençli gram negatif bakterilerde kolistin duyarlılığının belirlenmesi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2010;3(3):15-20.
42. Rafailidis PI, Falagas ME. Options for treating carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27(6):479-83.
43. Fatima A, Naqvi SB, Khaliq SA, Perveen S, Jabeen S. Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients of lower respiratory tract infections. *SpringerPlus*, 2012;1(1):70.
44. Falagas ME, Kasiakou SK. Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2005;1;40(9):1333-41.
45. Group, E.V.S. Microbiologic factors and visual outcome in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Am J Ophthalmol*. 1996;122(6):830-46
46. Altan T, Acar N, Kapran Z, Unver YB, Yurttaser S, Küçüksümer Y et al. Acute-onset endophthalmitis after cataract surgery: success of initial therapy, visual outcomes, and related factors. *Retina*, 2009;29(5):606-12.
47. Ramphal R. Infections due to *Pseudomonas* species and related organisms. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, et al, eds. Chapter 152. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw Hill, New York, 2012.

48. Pollack M. The virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Infect Dis*. 1984 Sep-Oct;6 Suppl 3:S617-26.
49. Samant P, Ramugade S. Successful use of intravitreal and systemic colistin in treating multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* post-operative endophthalmitis. *Indian J Ophthalmol*. 2014;62(12):1167-70.
50. Del Amo EM, Urtti A. Rabbit as an animal model for intravitreal pharmacokinetics: Clinical predictability and quality of the published data. *Exp Eye Res*. 2015;137:111-24.
51. Azap ÖK, Timurkaynak F, Arslan H, Karaman SÖ. Hastane infeksiyon etkeni olarak izole edilen non-fermentatif gram negatif bakterilerde siprofloksasin, ofloksasin ve levofloksasinin in-vitro etkinliğinin karşılaştırılması. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*. 2004;57(4):189-94.
52. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin: old antibiotics for emerging multiresistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother*. 1999;33(9):960-7.
53. Doğan C. Non-Steroid Antiinflatuar İlaçların İntravitreal Kullanımının Oküler Etkileri (Tavşanlar Üzerinde Deneysel Çalışma), İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Hastalıkları Şubat, Doktora Tezi, 2012, İstanbul.