

Vitrektomize Tavşan Gözlerinde İndosiyanin Yeşilinin Toksisitesinin Araştırılması

Evaluation of Toxicity of Indocynine Green Dye in Vitrectomized Rabbit Eyes

Ali AYATA¹, Melih ÜNAL², Oğuz GÜLECEK³, Murat SÖNMEZ⁴, Yıldırım YILDIRIM⁵, Ümmühan İsoğlu ALKAÇ⁶

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, vitreoretinal cerrahi girişimlerde hızla artan internal limitan membran (ILM) soyulmasında kullanılan indosiyanin yeşilinin (İSY) boyasının, vitrektomize tavşan gözlerine toksik etkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem: On sekiz adet albino tavşan, biri kontrol olmak üzere üç gruba ayrıldı. Pars plana vitrektomi (PPV) ve arka hiyaloidin soyulmasından sonra, 1. gruba % 0.1'lik İSY, 2. gruba % 0.5'lik İSY, 3. gruba da (kontrol) dengeli tuz solüsyonu 0.1 ml miktarda verildikten sonra 3 dakika beklendi ve aspirasyonla verilen solüsyonlar tamamen geri alındı. Retinal toksisite; klinik muayene, histopatolojik inceleme ve elektroretinografik değerlendirme ile araştırıldı.

Bulgular: Altıncı hafta sonunda yapılan değerlendirmede, klinik ve histopatolojik incelemede bir patolojiye rastlanmadı. Elektroretinografik değerlendirmede, cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası altıncı haftada istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik izlenmedi.

Sonuç: Bu bulgular vitrektomize tavşan gözlerine 0.1 ml % 0.5 veya % 0.1 İSY solüsyonunun kısa süreli uygulamasının retinaya toksik etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: İndosiyanin Yeşili, Retinal Toksisite.

SUMMARY

Purpose: This study was designed to investigate toxicity of indocyanine green in vitrectomized rabbit eyes.

Materials and Methods: Eighteen New Zealand white rabbits were divided in to three groups (six in each). All rabbits were vitrectomized. After vitrectomy and posterior hyaloid peeling, 0.1 ml of 0.1 % or 0.5 % ICG or 0.1 ml balanced salt solution was injected slowly just over the optic disc. The dye was then aspirated actively three minutes later.

Clinical, light microscopic and electroretinographic evaluations were performed before and sixth week after the surgery.

Results: No clinical and light microscopic abnormalities were found in any group. Electroretinographic evaluations were also normal in all groups end of the sixth week.

Conclusion: No sign of toxicity was found short term presence of 0.1 ml 0.5% or 0.1% ICG in vitrectomized rabbit eyes.

Key Words: Indocyanine green, retinal toxicity.

Ret - Vit 2004; 12 : 161-166

1- Diyarbakır Askeri Hastanesi Göz Hastanesi, Diyarbakır, Uzm. Dr.
2- GATA H. Paşa Eğitim Hastanesi Göz Hastanesi Kliniği, İstanbul, Doç. Dr.
3- GATA H. Paşa Eğitim Hastanesi Göz Hastanesi Kliniği, İstanbul, Prof. Dr.
4- GATA H. Paşa Eğitim Hastanesi Göz Hastanesi Kliniği, İstanbul, Yrd. Doç. Dr.
5- GATA H. Paşa Eğitim Hastanesi Göz Hastanesi Kliniği, İstanbul, Uzm. Öğ. Dr.
6- İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D., İstanbul, Doç. Dr.

Geliş Tarih : 03/12/2003
Kabul Tarihi : 17/07/2004

GİRİŞ

İnternal limitan membran ve epiretinal membranların soyulması, maküler hol, maküler kırışıklık ve proliferatif vitreoretinopati gibi vitreoretinal hastalıklarda esastır. Bu membranların kısmen veya tamamen şeffaf olmalarından dolayı, cerrahi teknik olarak soyulmaları güçtür. Son yıllarda bu membranları görünür hale getirmek için İndosiyenin Yeşili (İSY) ve tripan mavisi (TM) boya ları vitreoretinal cerrahi sırasında kullanılmaktadır. Birçok klinik çalışmada da gösterilmiştir ki bu membranların soyulması klinik sonuçları olumlu etkilediği gibi nüks oranını da azaltarak cerrahi başarıyı artırmaktadır¹⁻⁴.

İSY, bir trikarbosiyanin boyası olup, tıpta uzun yıllardır karaciğer fonksiyonlarını değerlendirmede, oftalmolojide ise koroidal dolaşımın görüntülenmesinde otuz yılı aşkın bir süredir intravenöz olarak kullanılmaktadır. İntravenöz kullanımına ait toksik etki çok nadir olup, toksik etkiden ziyade idiyosinkrazik etkilerdir⁵. İSY, aynı zamanda beyaz kataraktlarda, TM gibi ön kapsülü boyamak için de kullanılmaktadır⁶.

İntravitreal kullanımının tartışmalı olmasına rağmen, güncel vitreoretinal cerrahide İSY halen değişik konsantrasyon, miktar ve sürelerde uygulanmaya devam edilmektedir. Holey ve ark.⁷ 3 dakika süre ile temasta bıraktıkları insan ve tavşan kornea endotel hücrelerinde herhangi bir toksik etki tespit etmediklerini bildirmişlerdir. Fakat nöroretinal yapıların ve retina pigment epiteli kompleksinin endotel hücrelerinden çok daha hassas ve sofistike bir yapı ve fonksiyonu olduğu ve de bir o kadar da hasarlanabilir olduğu aşıkardır.

Biz bu çalışmada vitreoretinal cerrahideki İSY'nin intravitreal kullanımının benzeştirerek oluşturduğumuz hayvan çalışması ile İSY'nin toksik etkilerini araştırdık .

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneklerin Hazırlanması ve Cerrahi Teknik

Ağırlıkları 2-2.5 kg. olan on sekiz Yeni Zellanda albino tavşanı, biyomikroskopik ve oftalmoskopik muayeneleri yapılarak rastgele altışarlı gruplara ayrıldı. Hayvanların bakımında "ARVO Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research" kriterlerine uyuldu. Anestezi için ketamine HCl (40 mg/kg) ve Xylazine HCl (4 mg/kg) karışımı kullanıldı. Gerekğinde ilk dozun yarısı kadar kadar idame uygulandı. Pupil dilatasyonu için %2.5 fenilefrin hidroklorid ve %0.5 tropik amid kullanıldı. Topikal anestezi için ise proparakain hidroklorid kullanıldı. Cerrahi öncesinde konjunktiva %5 povidone-iodine ile irrije edildikten sonra dengeli tuz solüsyonu ile yıkandı.

Her bir tavşanın sağ gözüne iki portlu pars plana vitrektomi uygulandı. Mikroskop ışığı, arka segmenti aydınlatmak için yeterli olduğundan endo-ilimünasyon probu için üçüncü portu açmaya ihtiyaç duyulmadı. Vitrektomi uygulandıktan sonra aspirasyon ve kesme hızı artırılarak arka hyaloid soyuldu. Sıvı hava değişimi yapıldıktan sonra, daha önce hazırlanmış olan 0.1 ml %

0.5 İSY solüsyonu veya 0.1 ml % 0.1 İSY solüsyonu yada 0.1 ml DTS arka kutba enjekte edildi ve 3 dakika beklenerek boyanın internal limitan membranı boyaması sağlandı ve verilen solüsyonun tamamı havası değişimi yapılarak aktif aspirasyon ile uzaklaştırıldı. Sklerotomiler 6/0 emilebilen ve konjunktiva 8/0 ipek sütün ile kapatıldı ve subkonjunktival profilaktik amaçlı antibiyotik (gentamisin) ve antiinflamatuvar (deksametazon) enjekte edilerek ameliyat sonlandırıldı. Postoperatif dönemde günde dört kez deksametazon asetat damla ve tobramisin damla şeklinde tedavi düzenlendi.

İSY Hazırlanışı

25 mg toz halindeki İSY flakonu (ICG-Pulsion, Pulsion; Stahlgruberring 28 D-81829 München) üzerine 0.5 ml distile su ilave edilerek homojen bir karışım elde edilinceye kadar, yaklaşık 5 dakika çalkalandı. Üzerine 4.5 ml dengeli tuz solüsyonu ilave edilerek 5 mg/ml konsantrasyonda % 0.5'lik İSY solüsyonu elde edildi. %5'lik İSY solüsyonundan 1 ml alınarak, üzerine 4 ml dengeli tuz solüsyonu ilave edildi ve 1 mg/ml konsantrasyonda % 0.1'lik İSY solüsyonu elde edildi.

Klinik Muayene

Ameliyat sonrası ilk hafta her gün ve sonrasında haftada bir kez olmak üzere lens, vitre ve retina biyomikroskopik ve indirekt oftalmoskopik olarak değerlendirildi. Boya artığı, vitreal veya arka kapsüller boyanma not edildi.

İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. ERG klinik yorumlandı ve %24'ün üzerindeki değişimler anlamlı olarak değerlendirildi. Çalışma verileri değerlendirilmesinde "Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi" kullanıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirildi.

Histopatolojik inceleme

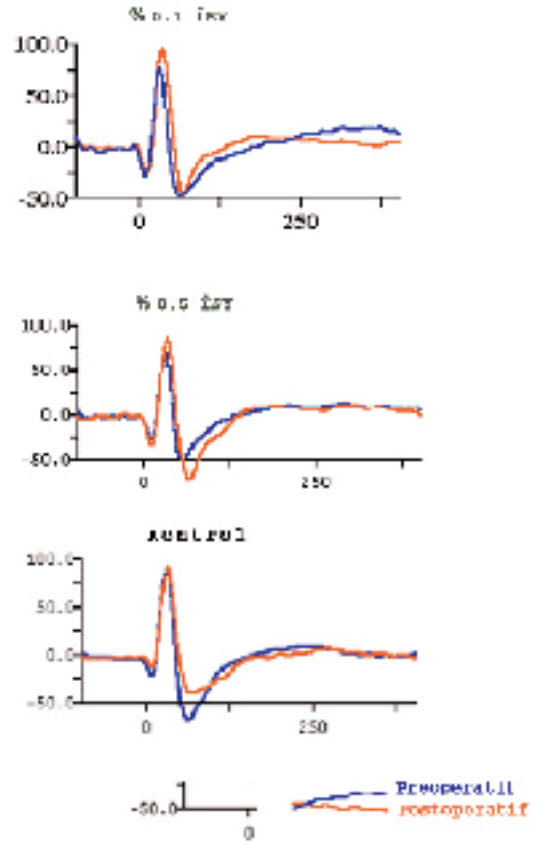
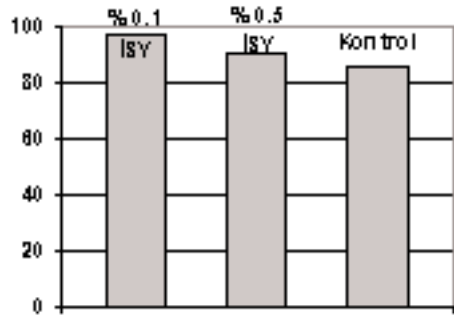
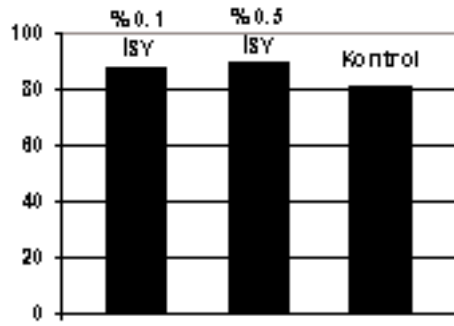
Tavşanlar, altıncı hafta sonunda ERG kayıtları tekrarlandıktan bir süre sonra anestezide edildi ve intrakardiyak 1 ml pentobarbital enjekte edilerek sakrifiye edildi. Gözlere enükleasyon uygulandıktan sonra %40' lık formaldehit solüsyonuna konarak fikse edildi. Gözler fikse edildikten sonra hazırlanan parafin bloklardan, 3µ kalınlığında kesitler alındı. Tüm kesitler Hematoksilen-Eozin boyasıyla boyanarak incelendi.

Ayrıca her gruptan birer tavşan üçüncü gün feda edilerek makroskopik olarak ve sadece parafin kesitleri mikroskopik olarak -boyama prosedürü uygulamadan- lens, vitre ve retina incelendi.

Elektroretinografi

Elektrofizyolojik kayıtlar için Nihon Kohden marka RM-6000 serisinde poligraf ve atın kaplama kontakt lens kullanıldı.

25 dakika karanlık adaptasyonunu takiben, ERG kaydı öncesi bütün tavşanlar önce 1 ml 50 mg/ml



Grafik 1: Grupların preoperatif ve 6. hafta sonunda ERG değerlerinin çubuk histogram şeklinde gösterimi.

Grafik 2: Grupların preoperatif ve 6. hafta sonunda ERG traselerinin üst üste bindirilmiş görünümü.

ketalar ve xylazine hidroklorid (4 mg/kg) im. enjeksiyonu ile anestezi yapıldı ve %1'lik tropikamid + %10'luk fenilefrin hidroklorür ile gözleri dilate edildi. Ortam aydınlatması 15 wattlık kırmızı ışık kaynağı ile yapılarak karanlık adaptasyonunun bozulmamasına dikkat edildi.

Karanlık adaptasyonunda, her hayvan için bireysel

olarak skotopik cevaplar kaydedildi. Artefaktlı dilimler atıldıktan sonra kalan dilimlerin ortalaması alınarak "a" ve "b" dalgalarının genlik ve latansları bilgisayar ortamında ölçüldü.

ERG kayıtları çalışma başlangıcında (cerrahi öncesi) ve altıncı hafta sonunda olmak üzere iki kez yapıldı.

Gruplar	A ve b dalga genlikleri		latans ve implisit zamanı	
	A (mv)	b (mv)	latans (ms)	İmplicit z. (ms)
I	Önce	91.75	8.96	29.18
	6. hf.	87.42	8.96	31.02
II	Önce	72.35	10.8	31.02
	6. hf.	84.29	10.8	34.7
Y	Önce	78.39	10.8	31.02
	6. hf.	86.48	8.96	32.86

Tablo 1: Gruplara göre başlangıç ve 6. hafta skotopik ERG değerleri

BULGULAR

Klinik Değerlendirme

Biomikroskopik ve indirekt oftalmoskop ile yapılan fundus muayenelerinde gruplar arasında farklılık izlenmedi. Klinik olarak bütün tavşan gözlerinin aynı olduğu gözlemlendi ve İSY veya DTS verilen gözlerde, klinik muayene bulgularına göre toksik etki bulgusuna rastlanmadı.

Elektrofizyolojik Değerlendirme

Cerrahi öncesi ve cerrahi sonrası 6. haftada uygulanan skotopik ERG değerleri tablo 1'de verilmiştir. Cerrahi öncesi alınan kayıtlarla, cerrahi sonrası alınan kayıtlar karşılaştırıldığında, hiçbir grupta klinik olarak anlamlı (%24'ten fazla) değişikliğe rastlanmadı.

İstatistiksel değerlendirmede; ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası bütün gruplarda, a ve b dalga genlikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe rastlanmadı ($p=0.5$; $p=0.225$). Ameliyat sonrası altıncı haftada latans ve cerrahi öncesi latans arasında da istatistiksel olarak anlamlı değişiklik izlenmedi ($p=0.376$).

Başlangıç ve 6. hafta sonrası ERG kayıtlarının çubuk histogram şeklindeki gösterimi grafik 1'de ERG traseleri üst üste bindirilmiş olarak ise Grafik 2'de izlenmektedir.

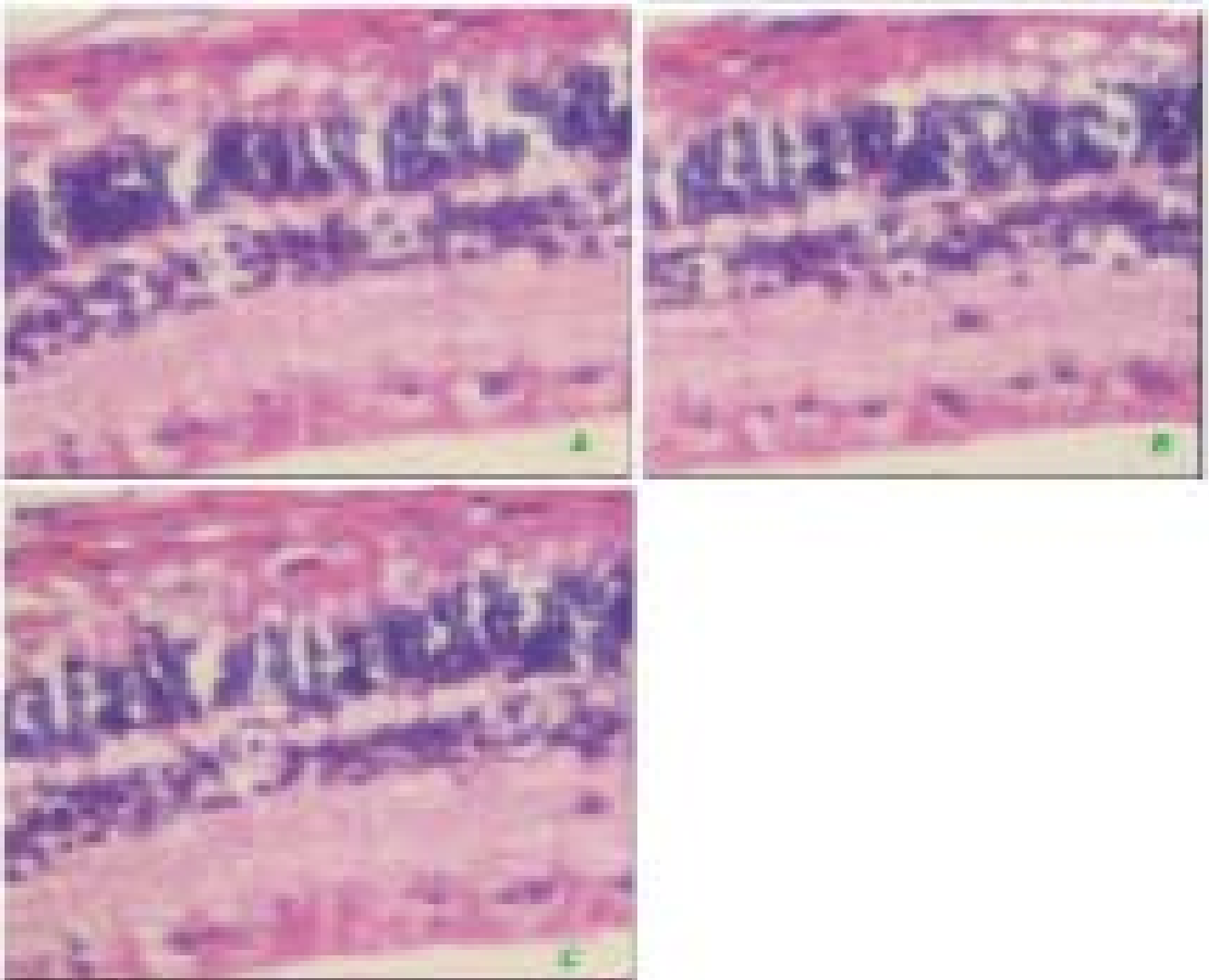
Histopatolojik Değerlendirme

Üçüncü gün sonunda enükle edilerek sadece parafin bloklama sonrası seri kesitleri alınan örneklerin, ışık mikroskobu incelemesinde bütün gruplarda retina katmanları içerisinde ve vitre boşluğunda, İSY'ne ait boyanmaya rastlanmadı.

Altıncı hafta sonunda hayvanların tamamı sakrifiye edilerek histopatolojik incelemeye alındı. Altıncı hafta sonunda gruplar arasında ve kontrole göre anlamlı histopatolojik değişiklik izlenmedi. Gruplara ait histopatolojik görünüm Resim 1 de izlenmektedir.

TARTIŞMA

Hem İSY hem de TM, gerek ön segment, gerekse arka segment cerrahilerinde sıkça kullanılmaktadır. Hem insan hem de tavşan korneası % 0.5 lik indosiyanın yeşili solüsyonuyla üç dakika süre ile temasta bırakıldıktan sonra, kornea endoteli canlı/ölü hücre sayımı, ödemin



Resim 1: a: Altıncı hafta sonunda % 0.1 İSY, ışık mikroskopik görünümü b: Altıncı hafta sonunda % 0.5 İSY, ışık mikroskopik görünümü c: DTS ;Kontrol (HE, 200x).

derecesinin değerlendirilmesi ve elektron mikroskopik inceleme şeklinde yapılan bir araştırmada, kontrole göre anlamlı farklılık izlenmemiş ve indosiyanın yeşilinin kornea endotel hücreleri üzerine toksik olmadığı bildirilmiştir⁷.

Miyopik, idiyopatik veya diyabetik maküler hol veya kırışıklığın cerrahi tedavisinde, epiretinal membranların ve yanı sıra ILM soyularak maküla üzerindeki traksiyonel güçlerin serbestleştirilmesi başarı oranını artırmakta ve nüksleri önleyerek ikincil cerrahi gereksinimini azaltmaktadır⁸⁻¹¹.

Ancak ILM soyulması maküler hol cerrahisinde postoperatif başarı üzerine olumlu etkisi tartışmalı olduğu gibi postoperatif komplikasyonları açısından da tartışmalıdır. Özellikle cerrahi sonrasında gözlenen RPE değişikliklerinin İSY kullanımına ait olup olmadığı konusu halen netlik kazanmamıştır. Tedavi uygulanmadan yalnızca takip edilen maküler hollerde, uzun dönemde maküler hol zemininde, cerrahi sonrası görülen RPE değişikliğine benzer bulguların izlenmesi, aslında maküler holün doğasına ait bu değişikliğin, cerrahi ile indüklendiği izlenimini vermektedir.

Mata ve ark. 24 hastada, Kwok ve ark. 10 hastada, Kadonosono ve ark. 13 hastada İSY kullanarak ILM soyulması uyguladığı maküler hol cerrahi sonrasında böyle bir komplikasyon bildirmemişlerdir^{1,13-14}. Engelbrecht ve ark., İSY kullanarak ILM soyulması uyguladığı maküla cerrahileri sonrasında 22 hastanın 10'unda maküler hol zemininde RPE atrofisi bildirmişlerdir. 22 hastanın 21'inde kapanma sağladıkları serilerinde, bu komplikasyonun, özellikle indosiyanın yeşilinin çıplak RPE ile temas etmesi sonucu geliştiği yorumunda bulunmuşlardır¹².

Kültüre edilmiş insan RPE hücreleri üzerine İSY'nin toksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; kültüre RPE hücreleri, 20 dakika süre ile dengeli tuz solüsyonu, 1 mg/ml konsantrasyonda indosiyanın yeşili ve dengeli tuz solüsyonu ile indosiyanın yeşiline ilave olarak 10 dakika endoeliminasyon ışığı uygulanmış. Işık kaynağı RPE hücrelerinde yaklaşık 3-4 mm uzaklıkta tutulmuş. Işık ve transmisyon elektron mikroskobu incelemesi ve mitokondriyal dehidrojenaz enzim seviyeleri ölçülmüş. Üç grupta da histolojik veya ultrastrüktrel olarak bir patoloji izlenmemiş. Fakat DTS veya İSY uygulanan gruplarda ve DTS'na ilave endoeliminasyon uygulanan grupta mitokondriyal enzim değerleri normalken, İSY ve beraberinde endoeliminasyon ışığı tutulan grupta RPE hücrelerinde, mitokondriyal dehidrojenaz enzim seviyelerinde ciddi oranda azalma saptanmıştır¹⁶. İndosiyanın yeşilinin aynı zaman da bir fotosensitör olarak ta oftalmolojide kullanıldığı gözönünde bulundurulduğunda ve bu çalışmaya dayanarak; ışığın, indosiyanın yeşilinin toksisitesinin amplifiye ettiği düşünülebilir¹⁷. Çalışmamızda kullandığımız tavşanların albino olmaları, cerrahi kolaylaştırmasının yanında; İSY'ne bağlı toksisitenin, fototoksiteden ayırında değer taşıyacağını düşünmekteyiz.

Gandorfer ve ark. kendi vakalarından elde ettikleri ILM'larda ILM'ın retinal yüzeyinde Müller hücrelerinin ayaksız çıkıntılarında ve bazı retinal elementlere rastladıklarını ve bu bulgulara İSY uygulanmadan yapılan cerrahilerden elde edilen ILM'ların incelemelerinde rastlanmadığı bildirirlerken, böyle bir sonucun kullanılan İSY'nin konsantrasyon, pH veya osmolaritesine bağlı olabileceği gibi, boyama sonrası daha belirgin hale gelen ILM'ın, cerrah tarafından daha agresif manüple edilmesine de bağlı olabileceğini ifade etmişlerdir. Dikkat çekici bir nokta ise Gandorfer ve ark. cerrahi sırasında kullandıkları İSY'nin 5 mg/ml konsantrasyon ve 1 ml ile literatürde bildirilen en yüksek değerler arasında olmasıdır^{15,18}.

Enaida ve ark.¹⁹, rat gözlerinde İSY'nin morfolojik ve fonksiyonel toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında; 0.05 ml pür SF₆ gazı enjekte ederek vitreolizis uyguladıkları rat gözlerine, sırasıyla 25 mg/ml, 2.5 mg/ml, 0.25 mg/ml ve 0.025 mg/ml konsantrasyonda, 0.05 ml İSY solüsyonunu vitre boşluğu içerisine enjekte etmişler. Kontrol gurubuna ise aynı miktarda DTS enjekte edilmiş. Değerlendirmede klinik, histopatolojik inceleme ve elektrofizyolojik inceleme yapılmış. Onuncu günde yapılan değerlendirmede yüksek doz olarak nitelendirdikleri 25 mg/ml ve 2.5 mg/ml konsantrasyonda 0.05 ml İSY verilen gruplarda ciddi morfolojik hasar izledikleri için bu grupların çalışılmasına son verilmiştir. Düşük doz gurubu olarak nitelenen, 0.25 ve 0.025 mg/ml konsantrasyonda 0.05 ml İSY verilen gruplarda ise; klinik, ışık ve elektron mikroskobunda histopatolojik değişim izlenmemiş. Elektrofizyolojik değerlendirmede; fotopik dalga değerlerinde bir patolojiye rastlanmazken, skotopik b dalga genliğinde istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşüklük izlenmiş ve bu düşüklüğü birinci ayda yapılan değerlendirmede de devam ettiği saptanmıştır¹⁹.

Bu çalışmada İSY'nin düşük dozlarda bile vitre içi kullanımının toksik etkilere sahip olduğu sonucu çıkmaktadır. Oluşan hasarın konsantrasyona bağlı ve (alt kadranlarda indosiyanın yeşilinin yer çekiminden dolayı toplanmasına bağlı olarak daha fazla olmakla birlikte) difüz olduğu ve bütün retina katlarının etkilendiği belirtilmiştir.

Fakat insan gözünde, vitrektomi sırasında, İSY'nin kullanımı bu çalışmadan farklıdır. Vitreoretinal cerrahide, vitre içerisine verilen 1 veya 5 mg/ml konsantrasyondaki 0.1 veya 0.3 ml İSY solüsyonu bir ila beş dakika kadar kalmakta ve daha sonra vitre içerisinden aktif olarak, tamamına yakını uzaklaştırılmaktadır. Bizim çalışmamızda da bu prosedüre yakın bir düzenleme yapılmış, boya maddesi göz içerisinde üç dakika tutulduktan sonra geri alınmıştır. Bu çalışmada ise, verilen İSY solüsyonu geri alınmayarak vitre içerisinde kendiliğinden temizlenmeye bırakılmış ve retinal dokuların İSY ile sürekli teması sağlanmıştır. Buna rağmen fotopik elektrofizyolojik cevaplarda bir patoloji izlenmemesi, bizim çalışmamızı sadece skotopik değerlerin anlamlı olabileceği ve muhtemel bir toksisiteyi yansıtabileceği şeklinde yönlendirmiştir.

Aslında indosiyanın yeşili kullanılsın veya kullanılmınsın ILM soyulması tamamen masum değildir. Cerrahi başarıyı ve ameliyat sonrası görme keskinliğini artırmakla birlikte maküler morfoloji ve fizyolojiyi olumsuz yönde etkilemektedir. Mevcut çalışmalar bu olumsuz etkiye indosiyanın yeşilinin katkısı olduğunu düşündürmektedir.

Bir diğer noktada, indosiyanın yeşili kullanılan cerrahilerde, cerrahi sonrası 6. hafta ile 6. aya kadar, hatta 1 yıla kadar uzayan, indosiyanın yeşiline bağlı otofloresanştır²⁰⁻²¹. Bizim çalışmamızda klinik muayenede ve makroskopik olarak indosiyanın yeşili kalıntısına rastlamadık. Üçüncü gün sakrifiye edilen tavşanların gerek lens arka yüzünde, gerekse retina ve vitrede histolojik boyama uygulanmadan yapılan mikroskopik incelemede de boyanma izlenmedi. Bu noktada parafin bloklamaya kadar geçen süreçte, indosiyanın yeşilinin çözünmüş olabileceği düşünülebilir.

SONUÇ

İSY'ni vitrektomize tavşan gözlerine uyguladığımız çalışmamızda klinik, histopatolojik ve elektrofizyolojik olarak toksisite bulgusuna rastlanmamıştır. Ancak teknik imkansızlıklar nedeniyle değerlendirmede kullanmadığımız elektron mikroskopi ile yapılacak incelemelerde toksisite lehine yorumlanabilecek değişikliklerin izlenebileceği gözardı edilmemelidir.

Aynı zamanda değerlendirme kriterlerimiz ve insan retinasının renk, derinlik ve kontrast görme gibi, yüksek fonksiyonları göz önünde bulundurulduğunda; elde ettiğimiz bu sonucun, insanda ki kullanımında da elde edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda tavşanlara uyguladığımız cerrahilerde ILM'ı soymadık ve deney hayvanlarında, retinayı hassaslaştıracak herhangi bir vitreoretinal patoloji yoktu. İnsandaki kullanımı değerlendirildiğinde; retinanın, anatomik ve fizyolojik bütünlüğünün bozulduğu ve hassaslaştığı bir patolojik ortam içerisinde ve RPE ile direkt teması sağlandığında bu İSY kullanılması toksisite lehine sonuçlar verebilir.

Problem olarak değerlendirdiğimiz diğer bir nokta ise; indosiyanın yeşilinin vitreoretinal cerrahide kullanımının belirli standartlar üzerine oturmamış olması ve değişik konsantrasyon ve miktarlarda, her kliniğin veya cerrahin kendince geliştirdiği tekniği benimsemesidir. Düzenlenecek deneysel bir çalışma ile İSY'in, ILM'ı boyamak için gerekli en düşük konsantrasyon ve miktarının belirlenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Kadonosono, K., Yazama, F., Itoh, N et al: Treatment of retinal detachment resulting from myopic macular hole with internal limiting membrane removal. *Am J Ophthalmol* 2001; 131:203-207.
2. Kusaka, S., Hayashi, N., Ohji, M et al: Indocyanine green facilitates removal of epiretinal and internal limiting membranes in myopic eyes with retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 2001; 131: 388-390
3. Tornambe, Paul E.: Intravitreal ICG dye enhances vitrectomy surgery: the vitreous society online journal [serial online] Apr 2001 www.vitreoussociety.org/journal/vol2no1/origin/tornambeicg/icg_vit_2.htm
4. Burk, SE., Da Mata, AP, Snyder, ME at al.: Indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane. *Ophthalmology* 2000; 107: 2010-2014.
5. Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES et al: Adverse reactions to indocyanine green. *Ophthalmology* 1994; 101:529
6. Horiguchi, M., Miyake, K., Ohta, I et al.: Staining of the lens capsule for circular continuous capsulorrhexis in eyes with white cataract. *Arch Ophthalmol*. 1998;116:535-537.
7. Holley, GP, Alam, A., Kiri, A et al: Effect of indocyanine green intraocular stain on human and rabbit corneal endothelial structure and viability. An in vitro study. *J Cataract Refract Surg* 2002; 28 :1027-1033.
8. Girard, P, Mimoun, G., Karpouzas, I et al: Clinical risk factor for proliferative vitreoretinopathy after retinal detachment surgery. *Retina*. 1994;14:417-424.
9. Brooks, HL Jr., Da Mata, AP, Burk, SE et al: Macular hole surgery with and without internal limiting membrane peeling. *Ophthalmology* 2000; 107:1939-1949.
10. Kusaka, S., Hayashi, N., Ohji, M et al: Indocyanine green facilitates removal of epiretinal and internal limiting membranes in myopic eyes with retinal detachment. *Am J Ophthalmol* 2001; 131:388-390
11. Burk, SE., Da Mata, AP, Snyder, ME et al: Indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane. *Ophthalmology* 2000; 107:2010-2014.
12. Engelbrecht, NE., Freeman J., Sternberg, P Jr et al: Retinal pigment epithelial changes after macular hole surgery with indocyanine green-assisted internal limiting membrane peeling. *Am J Ophthalmol* 2002;133:89-94.
13. Da Mata, AP, Burk, SE., Riemann, CD et al: Indocyanine green-assisted peeling of the retinal internal limiting membrane during vitrectomy surgery for macular hole repair. *Ophthalmology* 2001; 108:1187-1192
14. Kwok, AK., Li, WW, Pang, CP et al: Indocyanine green staining and removal of internal limiting membrane in macular hole surgery: histology and outcome. *Am J Ophthalmol* 2001; 132:178-178
15. Gandorfer, A., Haritoglou, C., Gass CA et al: Indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane may cause retinal damage. *Am J Ophthalmol* 2001; 132:431-433.
16. Sippy, BD., Engelbrecht, NE., Hubbard GB et al: Indocyanine green effect on cultured human retinal pigment epithelial cells: implication for macular hole surgery. *Am J Ophthalmol* 2001; 132:433-435
17. Costa, RA., Farah, ME., Freymuller, E et al: Choriocapillaris photodynamic therapy using indocyanine green. *Am J Ophthalmol* 2001; 132:557-565.
18. Gandorfer, A., Messmer, EM., Ulbig, MW. et al: Indocyanine green selectively stains the internal limiting membrane. *Am J Ophthalmol* 2001; 131:387-388
19. Enaida., H, Sakamoto., T, Hisatomi et al: Morphological and functional damage of the retina caused by intravitreal indocyanine green in rat eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240:209-213
20. Weinberger AW, Kirchof B, Mazinani BE et al: Persistent indocyanine green (ICG) fluorescence 6 weeks after intraocular ICG administration for macular hole surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001; 239:388-390
21. Kederli, B., Avcı, R.: Maküler cerrahide retina iç limitan membranin indocyanin yeşili ile boyanması. XXXV. Ulusal Oftalmoloji Kongresi Bülteni; 23-26 Eylül, İzmir, 201, 82.