



**TAVŞANLARDA DENEYSEL ALKALİ KORNEA
YANIKLARINDA *MYRTUS COMMUNIS* (MERSİN
AĞACI; YAPRAK VE GÖVDE) EKSTRESİ, E-PRP
(EYE PLATELET RİCH PLASMA) VE
GENTAMİSİN SÜLFAT AJANLARININ YARA
İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Arş. Grv. Fatma GÖRÜCÜ
Doktora Tezi
Danışman: Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN
Tez No: 2021-008
Afyonkarahisar

**SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
CERRAHİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**TAVŞANLARDA DENEYSEL ALKALİ KORNEA
YANIKLARINDA *MYRTUS COMMUNIS* (MERSİN AĞACI;
YAPRAK VE GÖVDE) EKSTRESİ, E-PRP (EYE PLATELET
RICH PLASMA) VE GENTAMİSİN SÜLFAT AJANLARININ
YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Arş. Grv. Fatma GÖRÜCÜ**

**Danışman
Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN**

Tez No: 2021-008

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Türkiye Bilimsel Ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)
Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: "120O192"**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Cerrahi Anabilim Dalı'nda** Fatma GÖRÜCÜ tarafından hazırlanan “Tavşanlarda Deneysel Alkali Kornea Yanıklarında *Myrtus Communis* (Mersin Ağacı; Yaprak Ve Gövde) Ekstresi, E-PRP (Eye Platelet Rich Plasma) Ve Gentamisin Sülfat Ajanlarının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 24/11/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Başkan

Prof. Dr. Mustafa ARICAN

İmza

Üye

Prof. Dr. Fahrettin ALKAN

İmza

Üye

Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN

İmza

Üye

Prof. Dr. Musa KORKMAZ

İmza

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih
BOZKURT

İmza

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... / / tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı **beyan ederim.**

24/11/2021

Fatma GÖRÜCÜ

ÖZET

Tavşanlarda Deneysel Alkali Kornea Yanıklarında *Myrtus communis* (Mersin Ağacı; Yaprak ve Gövde) Ekstresi, E-PRP (Eye Platelet Rich Plasma) ve Gentamisin Sülfat Ajanlarının Yara İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

Bu çalışmada, tavşanlarda deneysel alkali kornea yanıklarında Gentamisin sülfat (Kimyasal ajan), Eye platelet rich plasma (E-PRP) ve Oftalmik murt ağacı ekstresinin (OMAE) yara iyileşmesi üzerine etkilerini ortaya koymak amaçlandı. Çalışmanın hayvan materyalini 42 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı oluşturdu. Alkali yanık oluşturulduktan sonra tavşanlar kontrol (Grup I, n=7), Gentamisin (Grup II, n=7), E-PRP (Grup III, n=7), OMAE (Grup IV, n=7), E-PRP + Gentamisin (Grup V, n=7), OMAE + Gentamisin (Grup VI, n=7), olmak üzere altı gruba ayrıldı. Yanık oluşturulan sağ gözlere günde dört kez 60 µl damla çalışma süresi boyunca uygulandı. Yapılan klinik muayenelerde prulent akıntı bulgusuna Grup I, Grup III ve Grup IV'te rastlandı. Gentamisin uygulanan gruplarda prulent gözlenmedi. Göz içi basıncı tüm gruplarda çalışma boyunca dalgalanma gösterdi fakat normal değerlere en yakın ölçümler grup IV'de elde edildi. Schirmer gözyaşı testi-I açısından gruplar arası anlamlı farklılıklar saptanmadı ($p>0,05$). Korneadaki lezyon boyutu tüm gruplarda azaldı fakat gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmedi ($p>0,05$). Hematoloji ve serum biyokimyası ölçümlerinin tüm gruplarda referans değerler içinde olduğu gözlemlendi. Humor aközün total antioksidan seviyesi (TAS) değerlendirildiğinde gruplar arası fark olmadığı fakat Grup IV'te 0. gün ve 42. gündeki ölçümler arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptandı ($p<0,05$), bu farkın 42. gündeki TAS düzeyinin daha yüksek olmasından kaynaklandığı belirlendi. Humor aközdeki total oksidan statü değerleri için gruplar arası fark gözlenmedi ($p>0,05$). Histopatolojik incelemelerde kornea kalınlığı açısından gruplar arası anlamlı fark gözlenmezken, sağlıklı kornea kalınlığına en yakın değerler Grup IV'te elde edildi. İmmunohistokimyasal boyamalarda vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) skorlamasında gruplar arası anlamlı farklılıklara rastlanmadı ($p>0,05$), sayısal olarak en düşük skorlar Grup IV'te gözlemlendi. Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel fark görülmedi, sağlıklı korneaya en yakın değerler Grup IV'te elde edildi. Sonuç olarak OMAE preparasyonunun korneal yanık yarısı deney modelinde epitelizasyon, anti-enflamatuar ve antioksidan etkilerinin ön plana çıktığı korneal yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı gözlemlendi ve alkali kornea defektlerinde alternatif bir ürün olarak değerlendirilebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Alkali yanık, E-PRP, Gentamisin, Kornea, Murt ağacı ekstresi

SUMMARY

Comparison of The Effects of *Myrtus communis* (Myrtle Tree; Leaf and Trunk) Extract, E-PRP (Eye Platelet Rich Plasma) and Gentamycine Sulfate Agents on Wound Healing in Experimental Alkaline Corneal Burns in Rabbits

The purpose of this study was to evaluate the effects of Gentamicin sulfate (chemical agent), eye platelet rich plasma (E-PRP), and ophthalmic myrtle tree extract (OMTE) on wound healing in rabbits with experimentally induced alkaline cornea burn. The animal material of this study consisted of 42 male New Zealand rabbits. After inducing alkaline burn, rabbits were segregated into six groups such as control (Group I, n=7), Gentamicin (Group II, n=7), E-PRP (Group III, n=7), OMTE (Group IV, n=7), E-PRP + Gentamicin (Group V, n=7), OMTE + Gentamicin (Group VI). Drops were administered four times a day, with a volume of 60 μ L on the cornea burn-induced right eyes of the animals during the study period. According to the clinical examinations, prulent discharge were detected in Group I, Group III, and Group IV, however in gentamycin administered groups, no prulent discharge were detected. Intra-ocular pressure fluctuated among all groups, nevertheless, Group IV was measured close to the normal values. There were no statistically significant results among groups in terms of Schirmer tear test I ($p>0.05$). Corneal lesions were detected to be regressed in all groups, however, there were no significant differences among groups ($p>0.05$). Hematological and biochemical parameters of all groups were in reference values. When the Total antioxidant status (TAS) of humor aqueous was evaluated, there were no differences among groups. However in Group IV, significant differences were detected on the 0th and 42nd days, and the reason for this difference was determined to be the elevation in TAS levels on the 42nd day. There was no significant difference among groups with regards to total oxidant status in humor aqueous. According to the histopathological examinations, no significant differences were detected among groups, and the obtained results were closest to the healthy corneal thickness in Group IV. There were not any significant differences in vascular endothelial growth factor (VEGF) scoring ($p>0.05$) according to the immunochemical staining, and the lowest scores were obtained in Group IV. When evaluating matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), no statistically significant differences were determined among groups, and in Group IV, the obtained results were the closest to the values of a healthy cornea. As a result, in the experimental model of OMTE preparation on the corneal wound induced by alkaline burn; epithelization, anti-inflammatory, and antioxidant effects were remarkable, and it is concluded that myrtle tree extract can be used as an alternative product in alkaline cornea defects.

Keywords: Alkali burn, Cornea, E-PRP, Gentamycine, Myrtle tree extract

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince düşüncelerime her zaman önem veren, bana ışık olan, bilgisini, hayat tecrübelerini ve mesleki deneyimlerini bütün içtenliğiyle benimle paylaşan danışmanım Prof. Dr. İbrahim DEMİRKAN'a,

Bilgi ve destekleriyle yanımda olan Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Zülfükar Kadir SARITAŞ'a ve Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Musa KORKMAZ, Doç. Dr. Kamuran PAMUK ve Doç. Dr. Mustafa Volkan YAPRAKCI'ya, asistanlığa başladığımdan beri ve tez çalışmamın tüm aşamalarında her işimi bölüşen ve kolaylaştıran çalışma arkadaşım Arş. Grv. Yusuf KOÇ'a,

Tez çalışmamın projesinde görev alan Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih BOZKURT'a, Dr. Öğr. Üyesi Durmuş Fatih BAŞER'e, Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ'a, Prof. Dr. İbrahim KILIÇ'a, histoloji laboratuvarındaki çalışmalarında yardımcı olan Prof. Dr. Gülcan AVCI ve Arş. Grv. Elif Ece AKGÜN'e,

Tezimin deneysel aşamasında yardımlarından ötürü Vet. Hek. Burak KESGİN'e, Vet. Hek. Musa YILMAZ'a, Vet. Hek. Emre KAYA'ya, Vet. Hek. Melike Nur ÖLÇÜCÜOĞLU'na, Vet. Hek. Oğulcan Ahmet NURDOĞDU'ya, Vet. Hek. Serkan BOZACI'ya, Vet. Hek. Beyza Gül ERDOĞAN'a, Vet. Hek. Emin Doğukan ÖZTÜRK'e,

Bu günlere gelmemde bana olan inanç ve desteklerini her zaman hissettiğim, her şeyimi borçlu olduğum sevgili annem, babam, abim ve en çok da hayatımın her aşamasında özellikle tez çalışmam boyunca yar ve yardımcım olan varlığı hediye canım kardeşim Mehmet GÖRÜCÜ'ye,

Hayallerimi gerçekleştirmemde büyük payı olan nişanlım Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖZBEK'e,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde finansal destek veren TÜBİTAK'a teşekkür ediyorum.

Fatma GÖRÜCÜ

Afyonkarahisar

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZET	i
SUMMARY	ii
ÖNSÖZ SAYFASI	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER	vii
ÇİZELGELER	viii
RESİMLER	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Kornea Anatomisi	2
1.2. Kornea Histolojisi	5
1.3. Kornea Embriyolojisi	9
1.4. Korneal Metabolizma ve İnnervasyon	9
1.5. Kornea Hastalıklarında Korneada Gelişen Reaksiyonlar	11
1.5.1. Korneada Skar Oluşması (Fibrozis)	11
1.5.2. Korneal Vaskülarizasyon	12
1.5.3. Korneal Ödem/Şişkinlik	12
1.5.4. Korneal Melanozis (Pigmentasyon)	14
1.5.5. Stromaya Lökosit İnfiltrasyonu	14
1.5.6. Korneada Anormal Madde Birikimi	15
1.5.7. Stromal Malasi (Erime)	15
1.6. Korneal Yara İyileşmesi	16
1.6.1. Epitelyal İyileşme	16
1.6.2. Stromal İyileşme	18
1.6.3. Endotel ve Descemet Katın İyileşmesi	20
1.7. Korneanın Kimyasal Yaralanmaları	20
1.7.1. Alkali Yanıklar	21
1.7.2. Asit Yanıkları	28

1.7.3. Kornea Yanıklarında Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları	29
1.8. <i>Myrtus communis</i>	34
1.9. Eye Platelet Rich Plasma (E-PRP)	40
1.10. Gentamisin	43
2. MATERYAL ve METOT	44
2.1. Deney Hayvanları	44
2.2. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar	45
2.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler	46
2.4. Oftalmik Mersin Ağacı Ekstresinin (OMAE) Hazırlanması	47
2.5. Eye Platelet Rich Plasma (E-PRP) Damlanın Hazırlanması	47
2.6. Deneysel Alkali Kornea Yanık Modeli	51
2.7. Ajanların Uygulanması	54
2.8. Klinik Muayene ve Değerlendirme	55
2.9. Hematolojik ve Biyokimyasal İncelemeler	60
2.10. Patolojik İncelemeler	62
2.10.1. Histopatolojik Yöntem	64
2.10.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	64
2.11. İstatistiksel Analizler	65
3. BULGULAR	66
3.1. Klinik Muayene Bulguları	66
3.2. Hematolojik ve Biyokimyasal Bulgular	76
3.3. Histopatolojik Bulgular	106
3.4. İmmunohistokimyasal Bulgular	110
4. TARTIŞMA	116
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	125
6. KAYNAKLAR	127
7. EKLER	138
7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	138
ÖZGEÇMİŞ	139

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

ANOVA: Analysis of Variance (ANOVA)

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Enzim ilintili immun test)

E-PRP: Eye platelet rich plasma

GAG: Glikoz aminoglikan

GİB: Göz içi basıncı

HE: Hematoksilen eozin

HEC: Hidroksietil selüloz

µm: mikrometre

mmHg: milimetre civa

MMP: Matriks metalloproteinaz

MNH: Mononükleer hücre

NaOH: Sodyum hidroksit

NV: Neovaskülarizasyon

OMAE: Oftalmik Murt ağacı ekstresi

p: Anlamlılık (önemlilik) testine ilişkin olasılık değeri

PDGF: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü

pH: Power of Hydrogen (hidrojenin gücü)

Plt: Platelet

PMNL: Polimorfnükleer lökosit

ROS: Reaktif oksijen türleri

SS: Standart sapma

TAS: Total antioksidan statü

TOS: Total oksidan statü

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

\bar{X} : Ortalama

ŞEKİLLER

	SAYFA
Şekil 3.1. Gruplardaki prulent akıntı bulgusunun karşılaştırılma yüzdesi	68
Şekil 3.2. GİB ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	70
Şekil 3.3. Çalışma süresi boyunca GİB değerlerinin değişim grafiği	70
Şekil 3.4. STT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	72
Şekil 3.5. Çalışma süresi boyunca STT değerlerinin değişim grafiği	72
Şekil 3.6. Korneal yanık yarası boyutunun gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	75
Şekil 3.7. WBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	77
Şekil 3.8. LYM ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	79
Şekil 3.9. GRA ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	81
Şekil 3.10. RBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	83
Şekil 3.11. Hb ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	85
Şekil 3.12. HCT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	87
Şekil 3.13. Plt ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	89
Şekil 3.14. BUN ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	91
Şekil 3.15. Kreatininin ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	93
Şekil 3.16. AST ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	95
Şekil 3.17. ALT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	97
Şekil 3.18. GGT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	99
Şekil 3.19. TAS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	101
Şekil 3.20. TOS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği	103
Şekil 3.21. Dördüncü dereceden polinom fit standart eğrisi	104
Şekil 3.22. Kornea kalınlığının gruplar arası karşılaştırılması grafiği	108
Şekil 3.23. VEGF skorlamasının gruplar arası karşılaştırılması grafiği	111
Şekil 3.24. MMP-9 değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	114

ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 1.1. Prekorneal gözyaşı filmi, Humor aköz ve Korneanın Antioksidan Savunmaları	31
Çizelge 1.2. Korneanın toksik ajanlara maruz kalması sonucu oksidatif stres şekillenmesi	33
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	45
Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve kitler	46
Çizelge 2.3. Deney grupları, gruplara uygulanan ajanlar ve yapılan işlemler	55
Çizelge 2.4. Korneal opasite skorlama skalası	59
Çizelge 2.5. Damarlaşma skalası	59
Çizelge 2.6. Ödem düzeyi	59
Çizelge 3.1. Gruplardaki prulent akıntı bulgusunun karşılaştırılma yüzdesi	68
Çizelge 3.2. GİB ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mmHg)	69
Çizelge 3.3. STT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mm/dk)	71
Çizelge 3.4. Korneal damarlaşma skorlarının gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması	73
Çizelge 3.5. Korneal yanık yarası boyutunun gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mm ²)	74
Çizelge 3.6. WBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (10 ⁹ /l)	76
Çizelge 3.7. LYM ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (10 ⁹ /l)	78
Çizelge 3.8. GRA ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (10 ⁹ /l)	80
Çizelge 3.9. RBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (10 ¹² /l)	82
Çizelge 3.10. Hb ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (g/dl)	84
Çizelge 3.11. HCT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (%)	86
Çizelge 3.12. Plt ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (10 ⁹ /l)	88
Çizelge 3.13. BUN ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mg/dl)	90
Çizelge 3.14. Kreatininin ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mg/dl)	92
Çizelge 3.15. AST ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (U/l)	94
Çizelge 3.16. ALT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (U/l)	96
Çizelge 3.17. GGT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (U/l)	98

Çizelge 3.18. TAS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($\mu\text{mol Trolox eq/L}$)	100
Çizelge 3.19. TOS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eq/l}$)	102
Çizelge 3.20. PDGF-BB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması (pg/ml)	105
Çizelge 3.21. Gruplardaki epitelizasyon skorlarının gruplar arası karşılaştırılması	106
Çizelge 3.22. Kornea kalınlığının gruplar arası karşılaştırması (μm)	107
Çizelge 3.23. VEGF skorlamasının gruplar arası karşılaştırması	110
Çizelge 3.24. MMP-9 değerlerinin gruplar arası karşılaştırması	113



RESİMLER

	SAYFA
Resim 1.1. Gözün anatomik yapıları	2
Resim 2.1. Tavşanların bireysel olarak barındırıldığı tel kafes	44
Resim 2.2. E-PRP için kan toplanması. <i>Vena auricularis marginalis</i> punksiyonu	48
Resim 2.3. Pıhtılaşmayı önlemek için tüplerin karıştırıcıya yerleştirilmesi	49
Resim 2.4. Santrifüj cihazı	49
Resim 2.5. E-PRP'lerin hazırlanması, şişelenmesi	50
Resim 2.6. Santrifüj sonrası plazmanın fraksiyonları (1. Trombositten fakir plazma, 2. Trombositten zengin plazma, 3. Alyuvar hücreleri)	50
Resim 2.7. NaOH emdirilmiş disklerin görüntüsü	52
Resim 2.8. NaOH emdirilmiş diskin cornea merkezine yerleştirilmesi	53
Resim 2.9: Litmus kağıdı ile pH ölçümü	53
Resim 2.10: Tavşanların tespit aparatına yerleştirilmesi ve ajanların uygulanması	54
Resim 2.11. Muayene formu	56
Resim 2.12. Direkt oftalmoskopi (plusMED, 6040-40-51/097, Pakistan), Rebound tonometre (Tonovet) (RBT, Icare VET, Helsinki, Finland), yarı lamba biyomikroskopisi (Shin-Nippon XL-1, Japan)	57
Resim 2.13. Fluorescein (ERC, Türkiye) boya ve Schirmer-I testi (ERC, Türkiye)	58
Resim 2.14. A: Fluorescein boya uygulaması, B: Schirmer-I testinin uygulanması	58
Resim 2.15. Humer aköz örneklerinin toplanması	61
Resim 2.16. Humor aköz örneklerinin bulunduğu 96 kuyucuklu plate	62
Resim 2.17. Enükleasyon uygulanmış göz	63
Resim 2.18. Kornea dokusunun histopatolojik muayeneler için küçültülmesi	63
Resim 3.1. Grupların fluorescein boyama görüntüleri	67
Resim 3.2. Kornea dokusunun ışık mikroskopundaki görünümü	109
Resim 3.3. VEGF boyaması yapılan kornea dokularının ışık mikroskopundaki görünümü	112
Resim 3.4. MMP-9 boyaması yapılan kornea dokularının ışık mikroskopundaki görünümü	115

1. GİRİŞ

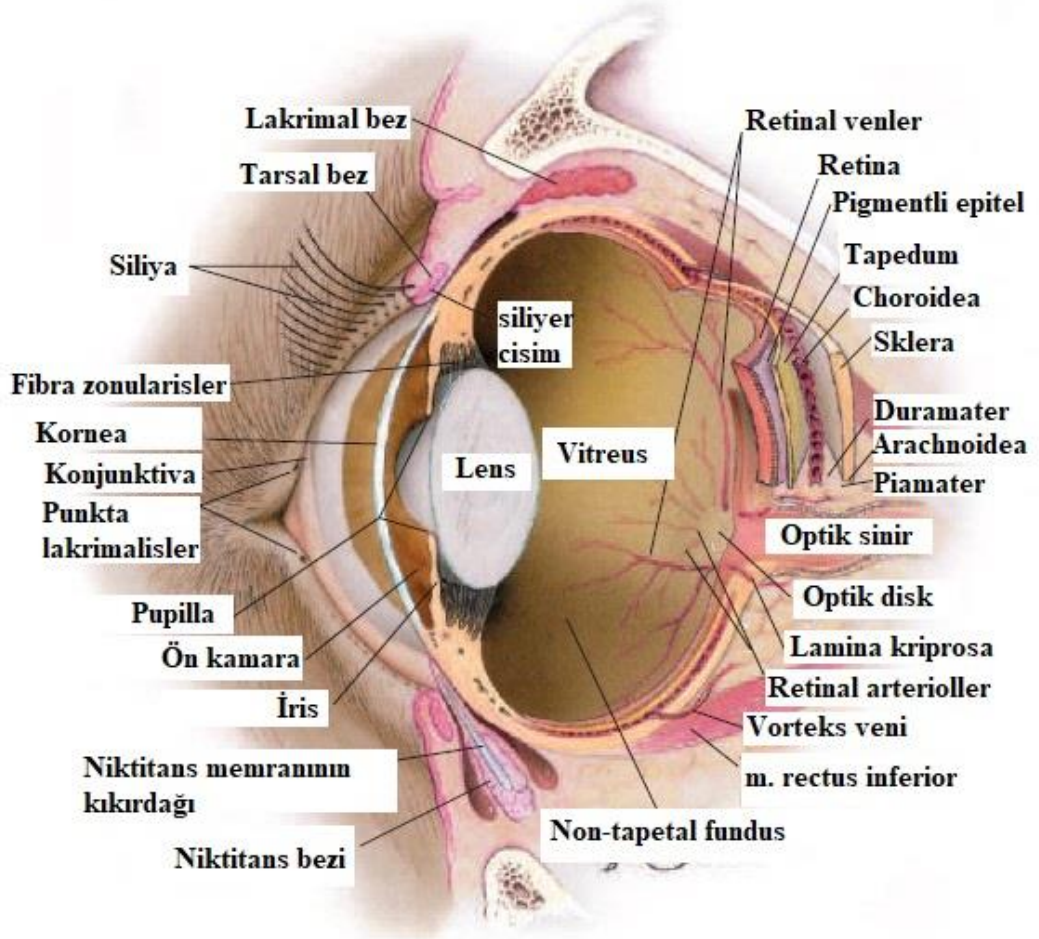
Göz, görme görevini yüklenmiş önemli bir organdır ve diğer duyu organları arasında dış etkenlere ve hastalıklara karşı en dayanıksız olanıdır. Görme organı göz küresi de denilen *bulbus oculi*'dir ve orbitada yer alır. Biri önde, küçük (*bulbus oculi*'nin 1/6 kısmını oluşturur), aynı zamanda saydam kornea; diğeri arkada, büyük (*bulbus oculi*'nin 5/6 kısmını oluşturur) ve saydam olmayan skleradan oluşur (Dursun, 2001; Evans ve De Lahunta, 2013).

Bulbus oculi birbiri üzerine yaslanmış üç kattan oluşur. Dıştan içe doğru bu katmanlar *tunica fibrosa bulbi*, *tunica vasculosa bulbi*, *tunica interna (nervosa) bulbi*'dir (Resim 1.1). *Tunica fibrosa bulbi*, kornea ve sklera olmak üzere iki kısımdan oluşur. *Tunica vasculosa bulbi*, *choroidea*, *corpus ciliare* ve *iris*'ten oluşur. *Tunica interna bulbi retina* ve *discus opticus*'tan oluşur (Dursun, 2001; Akın ve Samsar, 2005; Gelatt ve Plummer, 2017).

Tavşanların gözleri büyük, belirgin ve başın yan tarafında konumlanmıştır. Gözlerin bu şekildeki lokalizasyonu tavşanlara yaklaşık 360 derecelik bir görüş alanı sağlar (Maini ve Hartley, 2019). Ancak, görüş açılarının geniş olmasına rağmen akomodasyon yetenekleri zayıftır (Varga, 2014).

Konjunktiva, palpebral ve bulbar konjunktiva olarak ikiye ayrılır ve nispeten incedir (10-40 µm). Yetişkin bir tavşanın korneasının ışığı kırma gücü 40-43 diyoptridir. Lens büyük ve küreseldir ve siliyer cisimleri zayıftır. Retina meranjiotiktir. Dış oftalmik arter, *bulbus oculi* de dâhil olmak üzere orbital yapıların ana arteriyel kaynağıdır. Venöz sinüs, kas konisini tamamen çevreler ve Harder bezini kaplar. Tavşanlar saatte yaklaşık 10-12 kere göz kırpar ve gözyaşı filmleri çok stabil olduğu için uzun süre göz kırpmamaya karşı dayanıklılık sağlar (Varga, 2014). Tavşan

gözyaşının elektrolit konsantrasyonu plazmaya benzerlik gösterir. Gözyaşı, ortalama pH'sı 7,5 olan berrak ve hafif alkali bir çözeltidir. Tavşanda her göz için tek bir nazolakrimal punktum vardır (Jekl, 2012).



Resim 1.1: Gözün anatomik yapıları (Maggs, 2008).

1.1. Kornea Anatomisi

Gözün en dış katmanı olan *tunica fibrosa bulbi* anteriorunda şeffaf kornea ile posteriorunda opak yapıdaki skleradan oluşur (Lim, 2015). Skleranın anterioru yarı saydam özellikteki bulbar konjunktiva ile örtülüdür. Kornea, sklera ve bulbar konjunktivanın birleştiği noktaya *limbus* adı verilir (Gonzales-Adrades vd., 2019;

Moore, 2019). Evcil hayvanlarda korneanın horizontal çapı vertikal çapından daha büyüktür. Korneanın kalınlığı türler arasında değişkenlik gösterse de genellikle 0,5 ile 0,8 mm arasındadır (Maggs, 2008). Tavşanlarda kornea *bulbus oculi*'nin yaklaşık %30'unu oluşturur, göz küresinin horizontal uzunluğu 15 mm vertikal uzunluğu ise 14 mm'dir. Yapılan çalışmalarda kornea kalınlığının kedi ve köpeklere kıyasla daha az ve yaklaşık 407 ± 20 μm olduğu bildirilmiştir (Andrew, 2002).

Korneayı prekorneal gözyaşı filmi tabakası örter ve bu tabaka üç ana bileşenden oluşur (Alkan vd., 2004).

1. Lipid katman: Meibomian bezleri tarafından üretilir.

- Prekorneal gözyaşı filminin erken buharlaşmasını engeller.

2. Aköz katman: Üçüncü göz kapağı gözyaşı bezi ile orbital lakrimal bez tarafından salgılanır.

- Gözün yüzeyini nemlendirir.
- Göz kapaklarının oküler yüzeydeki hareketini kolaylaştırır.
- İmmunolojik fonksiyonu vardır (antimikrobiyal ajanların çözünmesini sağlar).
- Korneanın beslenmesinde görev alır.
- Kornea yüzeyinden atık maddeleri uzaklaştırır.

3. Müsin katman: Konjunktivadaki goblet hücreleri ve kornea epitel hücreleri tarafından üretilir.

- Gözyaşını korneaya bağlar.

- Kornea yüzeyindeki bozuklukları düzenler.
- Yüzeydeki yabancı cisimleri uzaklaştırır.
- Buharlaşmayı önlemek için gözyaşı filmini dengede tutar.

Gözyaşı filminin eksikliği veya işlevini yerine getirememesi durumunda kornea kurur, göz kapakları ve kornea arasında sürtünme şekillenir. Bu sebeple, gözyaşı filminin eksikliği veya fonksiyon bozukluğu durumunda diğer oküler yüzey yangılarında gözlenen klinik belirtiler şekillenir. Bunlar;

- Blefarospazm
- Konjunktival hiperemi
- Süperfisial korneal vaskülarizasyon
- Korneal ödem
- Korneal fibrozis
- Korneal melanozis
- Kornea yüzeyinde kuruma ve düzensizleşme
- Mukoid veya mukoprulent gözyaşı akıntısıdır (Andrew, 2002; Akın ve Samsar, 2005; Lim, 2015).

- Korneanın görevleri

Kornea şeffaftır ve göz ile çevre arasında sert, fiziksel ve geçirimsiz bir bariyer sağlarken önemli bir ışık kırma fonksiyonuna sahiptir. Korneanın saydamlığı, ışığın kırılmasında ve retinada görüntünün oluşması için göze yeterli miktar ve kalitede ışığın girmesinde önemli rol oynar. Retinada görüntü oluşması için korneayı dış yüzeyinin pürüzsüz olması gerekir. Bu kısmen yüzey epitelinin sürekli değiştirilmesi

ve sağlıklı bir prekorneal gözyaşı filminin devamlılığı ile sağlanır (Ledbetter ve Gilger, 2013).

- Korneal dehidratasyon

Hipertonik özellikteki prekorneal gözyaşı filmi, sıvıları korneanın dışına doğru çeker. Hidrofobik kornea epiteli korneaya sıvı girişini engelleyen bir bariyer olarak görev yapar. Kornea endotelindeki pompa kornea stromasındaki sıvıyı aktif olarak humor aköze aktarır (Lim, 2015).

1.2. Kornea Histolojisi

Kornea beş katmandan oluşmaktadır. Bunlar dıştan içe doğru sırasıyla;

- *Epithelium anterioris cornea*
- *Lamina limitans anterior* (Epitel katın bazal membranı)
- *Substansia propria cornea* (Kollajen stroma)
- *Lamina limitans posterior* (Descemet membranı)
- *Endotelium camera anterioris*'dir (Akın ve Samsar, 2005; Anderson vd., 2014; Moore, 2019). Ayrıca Dua vd. (2013) tarafından Descemet ile stroma arasında daha önce tanımlanmamış, aselüler, hava geçirmez, ince ve güçlü bir katman (Dua Tabakası) daha olduğunu bildirilmiştir.

Tavşan korneasındaki en dıştaki epitel, 30 ila 40 µm kalınlığında non-keratinize bir katmandır (Andrew, 2002). Kornea epiteli çok katlı (5-11), yassı ve hidrofobik özelliktedir (Lim, 2015; Moore, 2019). İçten dışa doğru bazal membran, bazal epitel hücreleri, kanat hücreleri ve yassı yüzey epitel hücrelerinden oluşmaktadır (Saghizadeh vd., 2017; Gonzales–Agrades vd., 2019). Bazal hücreler

hemidezmozomlar aracılığıyla bazal membrana bağlanmaktadır. Bazal hücreler bölünmeye uğradıklarında yeni oluşan hücreler yüzeye doğru itilir, bu hücreler düzleşir ve kanat hücrelerine dönüşür ve büyük bir kısmı organellerini kaybeder. Bazal hücreler limbustaki kök hücrelerin mitoz geçirip merkeze doğru göç etmesi ile yerine konulmaktadır. Yüzeydeki yassı epitel hücreleri prekorneal filmin müsin katmanına bağlanmaya ve stabil tutmaya yarayan çok sayıda glikokalisklerle kaplı mikrovillus ve mikropikalara sahiptir (Maggs, 2008; Moore, 2019).

Stromada keratositler, kollajen ve ekstraselüler matriks bulunmaktadır ve hidrofiliktir (Maggs, 2008; Lim, 2015; Gonzales–Adrades vd., 2019). Kornea kalınlığının %90 kısmını oluşturmakta ve *bulbus oculi*'nin rijiditesine katkı sağlamaktadır. Kollajen fibriller birbirlerine paralel uzanmaktadır ve bu fibriller arasında keratositler (fibroblastlardan köken alırlar), lenfositler, makrofajlar ve nötrofiller dağılmış haldedir (Maggs, 2008; Moore, 2019). Kollajen fibriller birbirlerine paraleldir fakat aynı doğrultuda seyretmezler. En düzenli veya paralel oldukları yer stromanın posteriorudur. Anteriordaki epitel altındaki kollajen fibriller daha obliktir. Bu düzen anterior stromanın daha kırıncı olmasını sağlar (Moore, 2019). Sınırlar stroma içinde bulunur; liflerin yoğunluğu stroma'nın yüzeysel üçte birinde en yüksektir (Lim, 2015). Stroma esas olarak tip I kollajenden oluşur fakat yapısında tip V ve tip VI kollajen de bulunmaktadır. Stromada kan ve lenf damarları olmadığı için immünolojik bakımdan ayrıcalıklıdır. Bu özellik optimal şeffaflığın sağlanmasında önemlidir (Gonzales–Adrades vd., 2019; Moore, 2019).

Kollajen fibriller arasındaki boşluğu dolduran ekstraselüler madde glikozaminoglikanlardan (GAG) olan keratin sülfat ve proteoglikanlardan oluşur. Dermatan sülfat da stromadaki önemli bir diğer GAG'dır. GAG'lar anyon gibi davranarak suyu tutarlar. Keratin sülfat çoğunlukla posterior korneada bulunurken, dermatan sülfat anterior korneada daha yoğundur. GAG'lar korneal hidrasyonun korunmasını ve korneanın şeffaflığı için gerekli olan kollajen fibriller arasındaki boşluğun düzenli olmasını sağlar (Moore, 2019).

Descemet membranı stromanın arkası ile endotel katman arasında bulunur ve endotel katın bazal membranıdır. Descemet zarı 7 ila 8 μm kalınlığındadır, ömür boyu kalınlaşır ve yaşlı tavşanlarda kalınlığı 15 μm 'ye kadar ulaşır (Andrew, 2002). Endotel hücrelerden ömür boyu salgılandığı için yaşlanma ile birlikte kalınlığı artar. Oldukça elastik bir yapıda olmasına rağmen penetran yaralanmalar, ruptüre ülserler, ilerlemiş glokomla ilişkili buftalmus gibi durumlarda yapısı bozulabilmekte ya da yırtılabilmektedir. Bu membran stromanın tamamıyla kaybolması ile açığa çıkmaktadır (Desematosel). Hidrofobiktir, fluorescein boyama ile boya almaz, siyah ve saydam görünür (Maggs, 2008; Lim, 2015).

En içteki endotel, korneayı saydam tutmada çok önemli rolü olan sodyum-ATPaz pompasının bulunduğu tek katlı hegzagonal hücrelerin bulunduğu bir tabakadır (Moore, 2019). Descemet membranının arkasında ön kamaranın önünde yer almaktadır. Endotel hücreleri, iyonların stromadan humor aköze aktif taşıma ile aktarılmasında pompa görevi görmektedir (Gonzales–Agradés vd., 2019). İyonların hareketini suyun çıkışı izler ve bu kornea stromasının kısmen dehidre kalmasını sağlar. Bu fonksiyon korneanın şeffaflığının sürdürülmesine büyük oranda katkı sağlamaktadır. Erişkin hayvanlarda endotel hücrelerinin sayıları sabittir ve çoğu türde bu hücrelerin replikasyon kapasitesi sınırlıdır. Yaşlanma ile birlikte endotel hücre sayısında azalma şekillenir. Korneanın endotel hücre yoğunluğu birçok memeli hayvanda 2800 hücre/ mm^2 'dir. Bu yoğunluk 500-800 hücre/ mm^2 'ye düştüğünde korneal dekompenzasyon ve suyun uzaklaştırılması sekteye uğrar. Altı haftalık tavşanlarda endotel hücre yoğunluğu 4100 hücre/ mm^2 'dir ve 2 yaşına kadar 2000 hücre/ mm^2 'ye düşer (Andrew, 2002). Endotel tabakası metabolik olarak aktiftir fakat mitotik aktivitesi anterior epitelden çok daha düşüktür (Moore, 2019). Endotel hücreler, genetik yatkınlık (endotelyal distrofi), travma (eksojen nedenler ve lensin anteriora luksasyonu), intraoküler cerrahi, kornea cerrahisi, intraoküler yangı (üveitis) ve glokom gibi hastalıklar sonucu zarar görebilir ve sayıca azalabilir. Bu da bölgedeki hücrelerin kompenzasyon mekanizmasının bozulmasına, kornea ödeme ve opasitenin kalıcı hale gelmesine neden olur (Maggs, 2008; Moore, 2019).

Yetişkin hayvanlarda iyileşme mitoz yerine hücrelerin büyümesi ve göçü ile gerçekleşir. Tavşanlarda korneanın endotel tabakasında rejenerasyon şekillenir. Diğer türlerde (örneğin kediler, primatlar) endotel hücreleri boşlukları doldurmak için genişlerken tavşanlarda bu hücreler yara kenarında bölünür. Yaşlı tavşanlarda (1 yaşlı), endotel katın iyileşmesi daha genç tavşanlara göre (yaş, 6-8 hafta) yaklaşık %50 oranında daha yavaş gerçekleşir (Andrew, 2002; Cejka vd., 2016).

Gözün kırıcılığı en yüksek bileşeni korneanın yüzeyidir. Kırıcılığın yüksek olması; kornea yüzeyinin düzgün ve şeffaf olması sayesinde. Korneanın şeffaflığı çok sayıda anatomik ve fizyolojik özellikler sayesinde korunmakta ve sürdürülmektedir.

Bunlar;

- Kan damarlarının olmaması
- Hücre yoğunluğunun göreceli olarak düşük olması
- Melanin veya diğer pigmentlerden yoksun olması
- Kısmen dehidre durumda olması
- Optik yüzeyin düzgün olması (Prekorneal film tabakası tarafından sağlanır)
- Stromadaki kollajen fibrillerin oldukça nizami sıralanması
- Keratinizasyonun olmaması (Maggs, 2008; Lim, 2015; Moore, 2019).

Korneal ödem, korneada skar dokusunun oluşması, epitel hücre kaybı, prekorneal gözyaşı film tabasındaki değişimler, göz içi basıncın (GİB) artması, endotel hücre hasarı, GAG içeriğinin değişmesi, melanozis, korneal vaskülarizasyon ve lökositlerin stromaya infiltre olması gibi durumlar bu faktörleri değiştirerek kollajen örgüsü ve kollajen fibrillerin arasındaki boşluğu, optik yüzeyi veya kollajen tipini değiştirerek korneanın şeffaflığını bozar (Maggs, 2008).

1.3. Kornea Embriyolojisi

Posteriodaki sklera anterioa doğru devam ederek lens ve irisi örten korneayı şekillendirir. Optik kadeh ve lens vezikülü yüzey ektodermin kornea epiteline dönüşmesini sağlar. Kısa zamanda bazal tabakadaki epitel hücrelerin içindeki salgı organelleri geliştiği için hücrelerin boyu uzar. Bu hücrelerde golgi aygıtı, primer stroma olarak bilinen ekstraselüler matriksi salgılamak için bazal yüzeye doğru göç eder. Kornea gelişimindeki bundan sonraki en önemli aşama korneal endotel hücrelerinin hücresel olmayan primer stromanın içine göçüdür. Bu korneal endotel hücreleri optik kadehin göz kapağı çevresindeki kan damarları ile birleşen mezodermal mezenşiminden köken alır. Endotel hücreler göç ettiği zaman şekilleri kübik iken yassı hale gelir ve korneanın iç yüzünü tamamen sararlar, bu sürede en dıştaki epitel oluşur. Bu epitelin altında Bowman membranının, kornea epitelinin altında ise Descemet membranının oluşumunu tamamlanır (Zık, 2007; Gonzales–Adrades vd., 2019).

1.4. Korneal Metabolizma ve İnnervasyon

Kornea, damardan yoksun olduğu için ihtiyacı olan besinleri almak ve metabolik atıkları uzaklaştırmak için alternatif yollar kullanmaktadır. Bu yollar humor aköz, prekorneal gözyaşı filmi ve atmosfer, komşu skleradaki kapillar yatak, bulbar ve palpebral konjunktivalardan oluşmaktadır. Stromanın arka kısmı ve endotel katmanı besin ihtiyacının büyük kısmını humor aközden karşılamaktadır. Glukoz heksos monofosfat şantı ve anaerobik glikoliz yolu ile metabolize edilir. Stromal metabolizma oldukça yavaştır (Moore, 2019). Anterior kornea ise bu ihtiyaçlar için çoğunlukla gözyaşı filmi ve atmosferi kullanmaktadır (Maggs, 2008).

Korneaya gelen oksijenin (O₂) büyük kısmını epitel ve endotel katları kullanır ve bu oksijenin en büyük kaynağı atmosferdir.

O₂'nin kaynakları

- Humor aköz (Endotel için büyük öneme sahiptir)
- Limbal kapillar damarlar
- Göz kapakları kapalı durumda iken, tarsustaki kapillar damarlar
- Gözyaşı film tabakasındaki çözünmüş oksijendir (En önemli kaynak).

Kornea vücuttaki diğer dokulara göre sinir yönünden çok zengindir. Kornea sinirleri trigeminal gangliondan çıkar ve limbusun yakınından kornea stromasına girer. Korneanın innervasyonu beşinci kranial sinir olan trigeminal sinirin *ramus ophthalmicus* dalı ile sağlanır (Stepp vd., 2017; Asena vd., 2018; Moore, 2019). Kornea epiteli vücuttaki en yoğun innerve edilen epitel dokudur. Korneaya köpeklerde ortalama 12 sinir gövdesi kedilerde ise 19 sinir gövdesi girer. Bu sinir sonları ağrı, basınç ve sıcaklığa karşı duyarlıdır. Epiteldeki sinir uçları yoğun olduğu için süperfisiyal epitel kayıplarında ağrı ciddi boyuttadır. Fakat derin ülserleşme olgularında aynı şiddette ağrı ortaya çıkmamaktadır. Korneanın duyarlılığı Cochet-Bonnet esteziyometre ile ölçülmüş ve köpek, kedi, at, sığır, koyun ve keçilerde benzer sonuçlar alınmıştır. Duyarlılıktaki farklılıklar, korneadaki bölgeye, kafatası biçimine, hayvanın yaşına, sağlık durumuna ve gözdeki patolojinin durumuna bağlı ortaya çıkmaktadır. Köpeklerde korneanın merkezi periferinden daha duyarlıdır. Brahiosefalik ırkların dolikosefalik ve mesatisefalik ırklara göre daha az duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca brachiosefalik kedi ırklarının evcil kısa tüylü ırklara nazaran kornealarının merkezinin periferine göre daha duyarlı olduğu bilinmektedir (Andrew, 2002; Moore, 2019).

Duyusal innervasyonun kornea epiteli üstünde pozitif trofik etisi vardır. Korneanın periferinde veya limbusta oluşturulan korneal ensizyon, laserasyon veya komşu sklerada meydana gelen herhangi bir yaralanma korneada kısmi denervasyona ve nörotrofik etkinin kaybolmasına neden olarak epitel dokunun yavaş iyileşmesi neden olur (Moore, 2019).

Korneal innervasyon sadece korneanın duyarlılığında değil aynı zamanda korneal rejenerasyon ve yara iyileşmesinde esansiyel trofik faktörlerin salgılanmasında da görev yapar. İntraepitelyal sinir uçları korneanın tüm katlarını innerve eder (Gonzales–Adrades vd., 2019).

1.5. Kornea Hastalıklarında Korneada Gelişen Reaksiyonlar

1.5.1. Korneal Skar Oluşumu (Fibrozis)

Korneal epitel skar dokusu oluşmaksızın da iyileşebilir. Fakat stroma hasar gördüğü zaman fibroplazi ile birlikte stromanın düzensizleşmesi sonucu belli derecelerde rezidüel skar dokusu oluşur. Klinik olarak skar dokuları genellikle büyüklük ve yoğunluklarına göre isimlendirilir.

- Nebula: Küçük, belirsiz skar veya opasite
- Makula: Küçük fakat belirgin beyaz bir opasite
- Lökoma: Büyük, yoğun beyaz opasite
- Yapışık lökoma: Yoğun beyaz skar ile altındaki iris dokusuna adezyon olarak tanımlanmaktadır (Maggs, 2008; Moore, 2019).

1.5.2. Korneal Vaskülarizasyon

Oküler vasküler homeostazis; neovaskülarizasyon inhibitörleri ile stimülatörleri arasındaki denge olarak bilinmektedir. Çok sayıda mediyatör bu sürecin çeşitli aşamalarında görev alır. Korneal neovaskülarizasyon; keratitler (ülseratif veya non-ülseratif) ve/veya intraoküler hastalıklar (üveitis ve/veya glokom) varlığında şekillenir. Süperfisiyal neovaskülarizasyonda korneal damarlar uzun ve dallıdır (ülseratif/non-ülseratif keratitlerde). Derin neovaskülarizasyonda korneal damarlar düzdür, dallanma yoktur (derin/komplike keratitlerde). Limbus etrafında 360° korneal damarların varlığı üveitis ve/veya glokomu işaret eder (Ormerod vd., 1989; Moore, 2019).

Çok sayıda anjiyogenez inhibitörleri (Anjiyostatin, endostatin, trombostatin, platelet faktör-4, fibronektin, prolaktin vs.) bulunmaktadır. Fakat bu ajanların etkinlikleri karmaşıktır ve tam olarak anlaşılammıştır. Matriks metalloproteinazlar (MMP) ekstraselüler matriksi yıkıma uğratan enzimlerdir. Endotel hücre göçünü uyaran nötrofiller de korneada neovaskülarizasyon oluşumuna neden olurlar. Lökopenik hayvanlarda da neovaskülarizasyon oluşur fakat nötrofiller süreci daha da şiddetlendirir (Moore, 2019; Perçin ve Sarıtaş, 2020).

1.5.3. Korneal Ödem/Şişkinlik

Normal şartlar altında korneanın kalınlığı sabittir. Göz kapakları kapalı olduğunda gözyaşının buharlaşmamasından dolayı hafif bir kalınlık artışı şekillenmektedir. Korneanın %75-80 kısmı sudan oluşmaktadır. Fakat yine de daha fazla suya karşı affinitesi vardır. Bir parça kornea suyun içine konulduğunda, korneanın şişmeye başladığı görülmüştür. Bu şişme genellikle anterior-posterior yönde şekillenir.

Teğetsel uzunluk bir miktar kısalır. Korneada meydana gelen ödem her zaman şeffaflığın kaybedilmesi ile birlikte seyreder. Suyun immibisyonu stromal ekstraselüler matriks ve GAG'lerden dolayı meydana gelir. Sağlıklı kornea kısmen dehidredir. Herhangi bir hasar veya epitel kaybı, epitel rejenerasyonunun hızlı gerçekleşmesinden dolayı geçici ve lokalize bir ödeme neden olur. Endotel hasarı meydana geldiğinde bu katın rejenerasyon kapasitesi düşük olduğundan kalıcı bir opasite şekillenir. Korneanın dehidre kalmasını endotel ve epitelin bir bariyer ve metabolik pompa olarak görev yapması sağlar. Bu bariyerler hücreler arası su sızdıran bağlantılardan oluşur. Bunlar aktif bir pompa ile suyu dışarı atar. Eğer bu bariyer herhangi bir nedenle zarar görürse stromal ödem meydana gelir. Korneadaki suyun humor aköze pompalanma mekanizması henüz tam anlamıyla bilinmemektedir. Mevcut teorilerde suyun bikarbonat ve sodyum iyonunu takip ederek sekonder olarak humor aköze geçtiğini bildirmektedir. Na/K⁺ ATPaz metabolik pompa lateraldeki endotel hücre zarlarında bulunur ve Na⁺ iyonlarını humor aköze pompalar. Bu durum bir ozmotik değişim meydana getirir ve suyu stromadan humor aköze doğru çeker. Bikarbonat da karbonik anhidraz ve/veya bikarbonat ATPaz pompası ile humor aköze pompalanır. Şaşırtıcı bir şekilde topikal veya sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri (KAİ) bazı ender durumlar hariç korneal dekompenzasyona neden olmaz (Akın ve Samsar, 2005; Gelatt ve Plummer, 2017; Moore, 2019).

Ödemli kornea mavi-gri renkte görülür. Süperfisyal korneal ödem fokal özelliğindedir, tipik olarak kornea epiteli kaybı ve/veya korneal neovaskülarizasyon ile ilişkilidir. Derin korneal ödem generalize karakter gösterir ve kaldırım taşı görünümündedir. Bu ödemler endotel katın fonksiyon bozukluğu (dejenerasyon, üveitis, glokom veya travma) nedeniyle şekillenir (Ormerod vd., 1989; Akın ve Samsar, 2005; Gelatt ve Plummer, 2017; Moore, 2019).

1.5.4. Korneal Melanozis (Pigmentasyon)

Kornea melanozu, her biri farklı tedavi ve prognoza sahip birçok nedenden kaynaklanabilen kronik kornea iritasyonu sonucu meydana gelir. Melanin, kornea epitelinde ve bazen ön stromada birikir ve korneadaki yangı sırasında normal limbal melanositlerin çoğalması ve yer değiştirmesinden kaynaklanır. Limbus ne kadar yoğun melanotikse, kornea melanozu o kadar olası ve yoğundur. Kornea melanozu, lagoftalmi, fasiyal sinir disfonksiyonu, makropalpebral fissür, friksiyonel iritasyon (distikiyazis, entropion, burun derisi kıvrımları vb.), gözyaşı filmi anormallikleri [özellikle keratokonjunktivit sicca (KCS) veya pannus (kronik süperfisiyal keratokonjunktivit)] gibi kronik immünolojik stimülasyon ile görülen kronik kornea hasarına bağlı gelişen ve spesifik olmayan bir yanıttır. Bu hastalıklarda, etkenin ortadan kaldırılması genellikle melanozun ilerlemesini engeller veya yavaşlatır, ancak gerilemesine katkı sağlamayabilir. Şiddetli ve/veya kronik iritasyon şekillendiğinde melanozise kornea epitelinde kalınlaşma, metaplazi, vaskülarizasyon ve keratinizasyon gibi değişiklikler eşlik eder. Korneal melanozise köpeklerin aşırı derecede duyarlı, kuşların aşırı dirençli, atların ve kedilerin orta derecede dirençli olduğu bildirilmiştir. Kornea melanozu (pigmenter keratit) bir hastalık değil, kronik kornea hasarının önemli bir semptomudur (Akın ve Samsar, 2005; Maggs, 2008; Gelatt ve Plummer, 2017).

1.5.5. Stromal Lökosit İnfiltrasyonu

Kornea stromasının inflamatuvar hücre infiltrasyonu sarımsı-yeşil renk değişikliği olarak görünür. Genellikle enfeksiyon veya korneadaki yabancı cisimlere yanıt olarak ortaya çıkar. Ayrıca korneanın septik olmayan yangılarında da hücre infiltrasyonu meydana gelebilir. Bu bulgu genellikle atların ve köpeklerin korneasında ve nispeten de seyrek olarak kedilerde görülür. Enflamatuvar hücreler

gözyaşı filminden, limbustan veya uveadan (humor aköz yoluyla) köken alır ve kornea stroması içinde güçlü kemotaksi nedeniyle çok hızlı birikir. Kültür ve duyarlılık testleri ile birlikte kornea sitolojisi yapılması ve geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine acilen başlanması önerilir. Kornea muayeneleri sık aralıklarla tekrarlanmalıdır (Ormerod vd., 1989; Maggs, 2008; Gelatt ve Plummer, 2017).

1.5.6. Korneada Anormal Madde Birikimi

Lipid ve/veya mineral birikimi, korneada ışıltılı, kristalimsi veya parlak beyaz alanlar olarak görünür. Bu birikimler sıklıkla çeşitli kombinasyonlarda kolesterol ve/veya kalsiyum içerir. Tüm kornea katmanları tutulabilir, ancak lipid/mineral birikintileri genellikle subepitelyaldır, bu nedenle kornea florescein boyasını tutmaz. Korneal lipid dejenerasyonu, genellikle tek taraflıdır ve sıklıkla enflamasyonla (keratit, sklerit veya üveit) ilişkilidir. Lipid birikimiyle birlikte kornea ödemi, vaskülarizasyon, fibrozis ve melanozis de yaygın olarak görülür. Korneal lipid birikimi bazen uzun süreli kortikosteroid kullanımıyla ilişkili olarak ortaya çıkabilir (Maggs, 2008; Gelatt ve Plummer, 2017).

1.5.7. Stromal Malasi (Erime)

Stromal malasi veya "erime", özellikle kornea stromasındaki nötrofil gibi yangı hücreleri, mikroorganizmalar, kornea epitel hücreleri veya keratositlerden kaynaklanan kolajenazın serbest kalmasına bağlı olarak kolajen yıkımının sonucu olarak ortaya çıkar. Kornea kollajeninin sertliğinin ve yapısının bozulması sonucu stromanın ventral kornea veya göz kapağı üzerinde "sarkması" veya "sızması" ve ardından derin ülser veya desmatosel gelişimiyle birlikte stromada kayıp şekillenir (Maggs, 2008; Samuelson ve Brooks, 2011).

1.6. Korneal Yara İyileşmesi

Korneanın her bir bileşeni değişik derecelerde, değişik oranda ve tamamiyle farklı mekanizmalarla iyileşmektedir. Bu farklılıkların bilinmesi; anormal bir iyileşmenin olup olmadığının farkedilmesi, klinik iyileşmenin gecikmesinin veya kötüleşmesinin engellenmesi için doğru adımların atılması ve kornea yaralanması veya hastalığından sonra prognozun daha doğru belirlenmesinde önem arz etmektedir (Maggs, 2008).

1.6.1. Epitelyal İyileşme

Hücre göçü (migrasyon), proliferasyon ve adezyon olmak üzere üç hücresel evreden oluşmaktadır (Huang vd., 2001; Moore, 2019).

Hücre göçü: İlk olarak yaranın kenarındaki epitel hücreleri geri çekilir ve bu hücreler travmayı takip eden ilk bir saat içinde kalınlaşır. Epitelyal defekte fibrinöz madde ve 1-3 saat içinde gözyaşı filminden gelen nötrofiller görülür. Hemidezmozomal bağlantılar yaranın kenarlarında çözülür, süperfisiyal hücreler dökülür ve bölgede tek katlı hücre tabakası kalır. Üç-altı saatlik latent fazdan sonra kayma veya hücre göçü meydana gelir. Hücreler düzleşerek ve su ile hacmini artırarak yüzey alanlarını genişletir. Küçük defektler tek kat hücre ile örtülür ve hücrelerin proliferasyonu ile kalınlaşır (Maggs, 2008; Moore, 2019).

Hücre proliferasyonu: Mitoz, epitel katın yeniden kalınlaştırılması amacıyla yaralanmadan 24 saat sonra gerçekleşir. Kornea epiteline farklılaşacak kök hücreler limbusta bulunur. Limbal kök hücreler mitoz geçiren, hücre replasmanı ve doku iyileşmesinden sorumlu uzun ömürlü hücrelerdir. Bunlar limbustan merkeze doğru hareket ederler. İyileşme hücre katları tarafından tamamlanmamışsa, göç eden hücre

grupları sarmal veya girdap deseni oluşturur. Kök hücreler tarafından üretilen geçici doğurucu hücreler hızlıca bölünür ve nihai hücreye farklılaşır. Kornea epitelinin doğurucu hücreleri bazal hücrelerdir. Süperfisiyal hücreler ise postmitotik ve tamamen farklılaşmış hücrelerdir. Tüm epitel katın veya limbal epitelyumun çıkarılması, korneaya konjunktival epitel hücrelerinin göç etmesine neden olur, iyileşme bu şekilde sağlanır. Korneanın merkezinde oluşan lezyonlar bile konjunktival epitel hücrelerinin mitoz oranında artışa sebep olur. Ayrıca bu epitel hücreleri korneadaki goblet hücrelerini üretir. Goblet hücreleri 6 hafta veya daha uzun süre kornea epitel hücrelerine transdiferansiyon geçirir. Kornea vaskülarizasyonu şekillenirse, konjunktival epitel özellikleri korunur ve transdiferansiyon geciktirilir. Topikal retinoidler bu transdiferansiyonu inhibe eder ve inhibisyondan sorumlu kan-kaynaklı faktör olarak düşünülmektedir (Maggs, 2008; Moore, 2019).

Hücre adezyonu: Epitel yenilenmesinin çok hızlı olmasına rağmen, defekt kapatılana kadar tüm bağlantılar oluşmaz. Bazal lamina sağlam ise hemidezmozomlar 1 hafta içinde şekillenir. Eğer sağlam değilse bu süreç çok daha yavaş (6-7 hafta) tamamlanır. Sonuç olarak bazal lamina kaybında, epitel katman uzun bir süre boyunca yeniden yaralanmaya yatkın hale gelir. Çünkü epitelin bazal laminaya bağlanması stromal yapışmanın sağlanması için gereklidir (Maggs, 2008; Moore, 2019).

Kısaca kornea epitel hücreleri önemli ölçüde rejenerasyon kapasitesine sahiptir. Lezyon oluştuktan dakikalar sonra epitel hücreleri defektin etrafını sarar ve kayarak etkilenen alanın üzerini örter. Bu kayma sırasında limbustan gelen melanositler şeffaf bölgelerde melanozise neden olabilir. Korneanın tamamı 4-7 gün içinde yeniden epitel ile örtülür. Fakat epitelin tam kalınlığını kazanması ve maturasyonu tamamlaması daha uzun sürer. Epitel hücreler lezyonlu bölgeyi örtmek için kaydıklarında mitoz bölünme geçirirler böylece çok katlı epitel yüzeyi yeniden şekillendirilir. Epitel hücrelerin bazal membrana sıkıca bağlanmaları için hemidezmozomlar tekrar oluşturulur (Maggs, 2008; Saghizadeh vd., 2017).

1.6.2. Stromal İyileşme

Stromal kollajen, limbustan köken alan fibrovasküler yapı tarafından (vasküler iyileşme), keratositlerin aktivasyonu ve aktif fibroblastlara dönüşmesiyle (avasküler iyileşme) veya bu iki mekanizmanın kombinasyonu ile yeniden oluşturulur. Komplike olmayan veya basit stromal yaralar avasküler iyileşme ile düzelmeye meyillidir. Fakat enfekte veya destrüktif lezyonlar vücudun diğer yerlerinde olduğu gibi vasküler iyileşmeye ihtiyaç duyar. Lezyon şekillendikten sonra stromadaki keratositler, kollajen, GAG ve mukoproteinleri sentezler. Keratositler transparan özelliği olmayan kollajenleri üreten fibroblastlara dönüşür. Stromal kollajenin yeniden yapılanma oranı ve tamiri türler arasında değişkenlik gösterir ve yıllarca sürebilir. Epitel katmanın stromadan daha hızlı iyileşmesinin sebebi, stromal defeklerin kollajen ile doldurulmasından önce epitel kat oluşturulması ve stromal rejenerasyon bu yeni epitel katın altında şekillenmesidir (Maggs, 2008; Saghizadeh vd., 2017).

- Stromada avasküler iyileşme

1. Nötrofiller kemotaktik maddeler aracılığıyla lezyonlu bölgeye gelir ve etrafını çevreler. Bu hücreler gözyaşı film tabakasından, humor aközden ve limbal damarlardan salındıktan sonra korneal stromaya doğru göç ederek lezyona ulaşırlar.

2. Lezyon yakınındaki keratositler ölür. Etraftaki keratositler fibroblastlara dönüşür kollajen ve ekstraselüler matriks sentezlemek için hasarlı alana göç ederler. Kollajen fibriller stromal iyileşme sırasında düzensiz sıralanırlar ve korneanın şeffaf yapısını bozarlar.

3. Yaklaşık 48 saat sonra makrofajlar lezyonu istila eder ve hücre debrisini ortadan kaldırır.

4. Takip eden haftalarda skar dokusunun yoğunluğu azalır ama tamamen kaybolmaz. Skar dokusunun yoğunluğu (tür, yaş ve bireysel) değişkendir (Maggs, 2008).

- Stromada vasküler iyileşme

Destruktif lezyonlarda hücresel infiltrasyon çok daha fazladır. Lezyona ulaşan damarlar limbustan köken alır. Granülasyon dokusu oluşur ve avasküler iyileşmeye göre daha yoğun bir skar şekillenir. Nihayetinde damarlar kollabe olur fakat kaybolmazlar. Bunlar “hayalet damar” olarak kalırlar ve yarık lamba mikroskobu ile yapılan muayenelerde görülürler. Bu bölgede daha sonra şekillenecek yangılarda klinik bulgular daha şiddetli olacaktır. Korneadaki sinir hasarları kademeli olarak düzelir ve duyarlılık yavaşça geri döner (Maggs, 2008).

İyileşme bölgeye birkaç saat içinde gözyaşı filminden veya limbustan gelen lökositlerin invazyonu ile başlar. İlk 1 saat içinde yara kenarındaki keratositlerde dejenerasyonlar meydana gelir. Fakat yara hattının kenarındaki keratositler aktive olurlar. Yaralanmadan 2-3 gün sonra yara çeperi fibroblast ve keratositlerle doldurulur. Fibroblastların hepsinin keratositlere dönüştüğü veya keratosit ve monosit karışımı olup olmadığı tartışmalıdır. 3-6 gün sonra fibroblastlar yaradaki fibrin pıhtıyı istila eder. Skar dokusunda ilk oluşan madde dermatan sülfattır. Ancak travmayı takip eden 15.-30. günlerde fibroblastların keratositlere dönüştüğünü işaret eden keratin sülfat varlığı tespit edilmiştir. Keratin sülfatın normal seviyesine ulaşması gereken süre yaklaşık olarak 3 aydır. Stromal iyileşmenin olduğu alan düzensiz ve geniş kollajen fibrillerinden oluştuğu için transparan değildir. Yaranın gerilim kuvvetindeki gelişme yavaş bir şekilde gerçekleşir. Kornea merkezinde oluşan yaralar ilk 100 günde gerilim kuvvetlerinin sadece %50 kadarını geri

kazanmış olur. İyileşmekte olan stromanın üstünde epitel katın olmaması yaradaki gerilim kuvvetinin azalmasına neden olur (Moore, 2019).

1.6.3. Endotel ve Descemet Katın İyileşmesi

Desment membranı elastik yapıda olduğundan dolayı hasar aldığında geri çekilir ve ön kamaraya doğru kıvrılır. Komşu endotel hücreleri bölgeye kayarak lezyonu örter ve yeni Descemet membranı oluşturulur. Şiddetli lezyonlarda endotel bölgeyi örtemeyebilir bunun sonucunda stroma şişer ve bölgedeki ödem kalıcı hale gelir. Endotelin rejenerasyon yeteneği türe ve yaşa göre değişkenlik gösterir. Kedilerde minimum yavru köpeklerde ise iyidir. Yetişkin evcil hayvanlarda genellikle bu yetenek çok azdır (Maggs, 2008; Moore, 2019).

1.7. Korneanın Kimyasal Yaralanmaları

Korneanın kimyasal yaralanmaları oftalmolojik yönden acil müdahale gerektirir ve körlük oluşturma riski oldukça yüksektir. Yaralanmayı takiben korneanın iyileşmesi ve şeffaflığının korunması için acil olarak değerlendirilmesi ve tedavisinin yapılması gerekmektedir. Ayrıca enflamasyon, anjiyogenez ve konjunktivalizasyondan dolayı limbusun yanı sıra merkezde de epitel kaybı oluşur (Yao vd., 2012; Almaliotis vd., 2015).

Kimyasal yanıklara alkali veya asidik ajanlar neden olabilir. Yaygın alkali maddeler arasında gübre üretiminde kullanılan amonyum hidroksit, drenaj ve boruların temizlenmesi için kullanılan sodyum hidroksit (kostik soda) ve kireç, sıva ve çimentoda bulunan kalsiyum hidroksit bulunur (Dua vd., 2001; Kim ve Khosla-Gupta, 2002).

Oküler yaralanmanın şiddeti kimyasal ajanın gücü, konsantrasyonu, solüsyonun hacmi ve maruziyet süresine göre değişir (Kim ve Khosla-Gupta, 2002; Kuckelkorn vd., 2002).

Hem asit hem de alkali hasarlarındaki tedavi yönetimi benzerdir, ancak uzun vadede prognozları farklıdır. Tedavinin ortak hedefleri arasında kimyasal ajanın uzaklaştırılması, ağrı, göz içi basıncı ve yangının kontrolü, enfeksiyonun önlenmesi ve epitel katın iyileşmesinin teşvik edilmesi bulunur (Şenel ve Ergin, 2014).

1.7.1. Alkali Yanıklar

Alkali yanıklar gözde meydana gelen kimyasal yanıklarının en ciddi ve oluşma sıklığı da tüm kornea yanıkları içerisinde en yüksek (%50-80) olanıdır (Hirst vd., 2004; Kompa vd., 2005). Kornea asitlere kıyasla alkali maddelere karşı daha dayanıksızdır (Kompa vd., 2005). Asitlerin hidrofilik olması bu maddelerin lipofilik membranlara penetre olmasını engellemektedir (Beiran vd., 1997).

Korneal alkali yanıklar epitel yapıda bozulma, stromal hücrelerde ölüm ve yangı oluşturarak şiddetli hasara yol açar ve kalıcı görme kaybıyla sonuçlanır. Oluşan hasarlar alkali maddenin konsantrasyonu ve temas süresi ile doğru orantılıdır (Kompa vd., 2005). Bu yanıkların en çok karşılaşılan komplikasyonları tekrarlayan epitelyal erozyonlar, korneal ülserasyon, korneal opaklaşma, yoğun skar dokusu oluşumu, konjunktival hipertrofi, glokom, stromal enflamasyon, stromal ödem ve neovaskülarizasyondur (Kompa vd., 2005; Ye vd., 2006; Lee vd., 2014).

Alkali maddeler asitlerden daha hızlı penetre olur. Hidroksil iyonu (OH⁻) hücre yıkımı ve ölümü ile birlikte hücre zarının yağ asitli bileşenlerini saponifikasyona uğratarken, kation ise ilgili alkalilerin penetrasyon işlemlerinden sorumludur. OH⁻ iyonu ayrıca kollajen liflerinin kalınlaşması, kısalması ve ödemleşmesine neden olur. Alkali yaralanmalarıyla ilişkili lipid sabunlaşması, çoğu asidik bileşiğin aksine, alkali maddenin dokuya hızlı bir şekilde nüfuz etmesine izin verir. Penetrasyon oranı, sırasıyla kalsiyum hidroksitten (CaOH₂) (en yavaş), potasyum hidroksit (KOH) (hızlı), sodyum hidroksit (NaOH) (daha hızlı), amonyum hidroksite (NH₄OH) (en hızlı) doğru artmaktadır. Amonyum birkaç dakika, sodyum hidroksit amonyak kadar olmasa da ön kamaraya hızlı nüfuz eder ve üç dakikada ön kamaraya ulaşabilir (Kim ve Khosla-Gupta, 2002; Kuckelkorn vd., 2002).

Penetrasyon derecesine göre kornea ve konjunktiva epiteli, stromal keratositler ve endotel hücreleri ölür. GAG'ların hidrasyonu stromanın şeffağını kaybetmesi ile sonuçlanır. Konjunktival ve episkleral damarların endoteli yıkımlandığında episkleral damarlarda tromboz şekillenir. İris, siliyer cisim ve trabeküler ağ gibi göz içi bileşenler de alkali maddenin penetrasyon derecesine ve humor aközün pH'sına bağlı olarak etkilenebilir. İrrigasyona rağmen humor aközün pH'sı otuz dakikadan üç saate kadar yüksek kalabilir. Alkali maddenin kuvveti arttıkça penetrasyon yeteneği de artar. pH 11,5'in üstüne çıktığında oluşan hasarlar geri döndürülemez (Dua vd., 2001; Kim ve Khosla-Gupta, 2002; Kuckelkorn vd., 2002).

Alkali maddeler inflamatuvar sitokin sürecini başlatır ve çok sayıda yangı hücrelerini lezyonlu bölgeye çeker. Bu hücreler etkilenen bölgeye ulaştıktan sonra vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve MMP gibi pre-anjiyojenik faktörlerin salınmasına neden olur (Lee vd., 2014; Şenel ve Ergin, 2014).

Korneada oluşan skar dokusu görme kalitesinin düşmesine neden olur ve ön kamaradaki humor aköz drenajının sağlandığı açığa hasar vererek sekonder glokom şekillenmesine neden olur. Orta şiddetli vakalarda dahi iridosklitis oluşur ve yara iyileşmesi tamamlanana kadar devam eder. Kornea stroma ödemi ve kollajen denatürasyonundan dolayı opak beyaz bir görünüm kazanır (Chew vd., 1994).

Alkali yanıklarda askorbat seviyelerinin düşmesi, siliyer cismin aktif taşıma mekanizmasının bozulmasından kaynaklanmaktadır (Kim ve Khosla-Gupta, 2002; Hamill vd., 2013). Stromal kornea ülseri de meydana gelebilir. Ülserasyonu etkileyen faktörler arasında kornea epitelindeki bozukluklar, enflamasyon, proteolitik enzimlerin salınması, anestezi, gözyaşı eksikliği ve kollajen sentezindeki bozulmalar bulunur. Tip I kollajenaz, kornea ülserasyonunda önemli bir rol oynar ve bu enzim keratositler ve polimorfonükleer lökositler (PMNL'ler) tarafından salınır. Yapılan çalışmalarda Tip I kollajenazın, yaralanmadan dokuz saat sonra tespit edildiği ve 14-21 gün sonra zirve yaptığı bildirilmiştir (Brown ve Weller, 1970; Berman vd., 1971).

Tip I kollajenaz normalde epitelyal sitokinler tarafından inhibe edilir, bu da sağlam bir epitelin ülserin önlenmesindeki önemini ortaya koyar. Epitel kaynağı ne olursa olsun, kimyasal yaralanmada yeniden epitelizasyon süreci enflamasyon ve bazal membran hasarı nedeniyle normalden daha yavaş olabilir (Gartaganis vd., 1987).

Enflamasyon ayrıca alkali yanıkların patogenezinde önemli bir rol oynar. PMNL'lerin ve mononükleer lökositlerin infiltrasyonu, alkali ajanın maruziyetinden 12 ila 24 saat sonra meydana gelir. Bu hücreler, nekrotik dokudan salınan hücresel ve hücre dışı proteinler ve hasar görmüş kan damarları tarafından kemotaktik etkinliğe maruz kalırlar (Brown ve Weller, 1970; Burnett vd., 1990).

MMP'ler bazı hastalıklarda ve normal durumlarda ekstraselüler matriksin yıkılmasından sorumlu çinko bağımlı önemli bir enzim grubudur. Kollajenaz (bir metalloproteinaz) alkali maddeler gibi kimyasal yaralanmalardan sonra kornea tarafından salgılanmaktadır. Nötrofiller tarafından salınan tip I kollajenaza ek olarak, süperoksit serbest radikalleri, bu nötrofillerin oksidatif solunum patlamaları tarafından oluşturulur ve daha fazla doku hasarına neden olur. Korneadaki stromal hasarı onaran fibroblastlar olgunlaşmamış kollajenler üretir (Brown vd., 1970). Bu kollajenler normal kollajen gibi üçlü sarmal yapıya sahip değildir ve düzensizdir. Ek olarak, bu yeni kollajen enzimatik parçalanmaya karşı savunmasızdır (Pfister ve Pfister, 1997).

Kollajenazlar mononükleer hücreler (MNH) ve fibroblastlar tarafından stromada üretilir. Kornea yeni hücrelerin üretildiği periferde sağlamdır. Bu da yeni gelen fibroblast hücreleri tarafından kollajen üretilmesi ve stromada üretilen kollajenaz enzimi arasındaki denge ile ilişkilidir. Fakat iyileşme hattında epitel ile fibroblastlar arasındaki etkileşim daha büyük miktarda enzim salgılanmasını stimüle eder (Brown vd., 1970; Huang vd., 2001). MMP-9, MNH tarafından üretilen Tip IV kollajenazdır (Arıcan ve Çalım, 2004). MMP'lerin MNH tarafından üretimi, enflamasyon bölgesindeki diğer enflamatuvar hücreler tarafından üretilen kemokinler ve sitokinler tarafından tetiklenir. MMP-9, ekstraselüler matriksin bozulmasına yol açar. Korneal stroma, kornea kimyasal yanıklarında MMP-9 yukarı regülasyonu ile aşamalı olarak inceltilir. MMP-9'un baskılanması, korneanın incelmelerini önlemek için önemlidir (Kim vd., 2015). MMP-2 ve MMP-9, tekrarlayan kornea erozyonları olan hastalarda yukarı regüle edilir ve korneal stromal kollajenin yeniden şekillenmesi ve bozulmasında rol oynar (Sakimoto vd., 2007).

Akut fazda enflamasyonun kontrol altına alınması hayati önem taşımaktadır. Daha sonraki aşamada korneal opasite ve neovaskülarizasyon (NV) oluşumu kalıcı görme kaybının esas nedenidir. Korneal NV sırasında anjiyojenik faktörler ile anti-anjiyojenik faktörler arasındaki denge anjiyojenik faktörler lehine kayar

(Hosseini vd., 2007). Korneal NV, kornea hipoksisine neden olur ve organizma, VEGF aktivitesini artırarak kornea dokusuna gerekli besinleri ve oksijeni sağlamaya çalışır ve bu da yeni damar oluşumunu tetikler (Dohlman vd., 2011; Abdelkawi ve Hassan, 2012). Bu nedenle, enflamatuar sitokinlerin baskılanması, kornea enflamasyonunu ve anjiyogenezi azaltabilir (Kim vd., 2015). Korneanın kimyasal yanıklarındaki VEGF'nin rolü önceki çalışmalarda araştırılmıştır (Kwon vd., 2005; Sakimoto vd., 2012). NV travmadan hemen sonra başlatılır. Vasküler endotel proliferasyonu yangının indüklenmesinden sonra 24 saat içinde başlar. Yeni damarlar kapillar ve prekorneal pleksustan gelen venüllerden köken alır. MNH invazyonu daha şiddetli yangı oluşturur. Sadece lökositler değil aynı zamanda kornea epiteli, stroma ve endotel hücreleri de VEGF'nin önemli kaynaklarıdır. Korneanın damardan yoksun halde kalması VEGF reseptör 3'ün salgılanmasına bağlıdır. Bu sebeple korneal NV'nin engellenmesi için VEGF inhibitörleri kullanılır (Yoeruek vd., 2008).

Kornea en az iki hafta sağlam ve aselüler kalır. Fakat epitel hücreleri ve fibroblast ve MNH ilişkili stromal NV yavaş seyirli sentral progresyon gösterir (Brown vd., 1970). Topikal steroidlerin kullanılmasına rağmen oluşan yangısal yanıt ödem, lipit birikmesi ve korneada skar dokusu formasyonuna neden olur (Yoeruek vd., 2008).

Genellikle kimyasal yanıklar immediyat, akut, erken onarım ve geç onarım evresi olmak üzere dört evreye ayrılır. Akut faz sırasında yapılan tedavi girişimleri kritik öneme sahiptir. Akut evrede ortaya çıkan en yaygın komplikasyonlar yavaş epitelizasyon, inatçı ülserasyon, korneal perforasyon ve anjiyogenezistir. Bu komplikasyonlar kimyasal yaralanma sonrası korneanın yara iyileşmesinde esansiyel bir evre olan yangısal süreçle yakından ilişkilidir. Dolayısıyla akut evrede anti-enflamatuarlar, antianjiyogenezikler ve epitel iyileşmesini hızlandıran ajanlar büyük önem taşır. Birçok tedavi planı bulunmasına rağmen ideal tedavi henüz tanımlanamamıştır (Chew vd., 1994; Yao vd., 2012).

Tedavinin ilk basamağı gözün bol su veya steril serum ile yıkanmasıdır. pH normal değerlere düştükten sonra tedavi protokolü başlatılır (Sekundo vd., 2002; Hamill vd., 2013). Alkali yanıklar kornea ülserasyonu ve perforasyonuna neden olacak şekilde ilerleyici bir karakter gösterir, yanık sonrası ülserasyon ve perforasyonun önlenmesi amacıyla yapılan tedaviler 5 kategoriye ayrılmaktadır.

1. PMNL hücrelerin göçünü ve yıkım ürünlerini inhibe eden ajanlar: Sodyum sitrat gibi.

2. Reepitelizasyon ve PMNL hücrelerin korneaya infiltre olmasını engelleyen ajanlar: Siyanoakrilat doku yapıştırıcıları, fibronektin, retinoik asit, sodyum hyaluronat, epidermal büyüme faktörü, steroidler, askorbat, sitrat, MMP inhibitörleri, yumuşak kontakt lensler kullanılmakya ve konjunktival transplantasyon, limbal, mezenşimal kök hücre implantasyonu, amniyotik membran transplantasyonu ve keratoplasti uygulanmaktadır (He vd., 2006).

Amniyotik membran, epitelizasyonu teşvik eder ve kornea epitelinin farklılaşmasını sağlar. Özellikle epidermal büyüme faktörü ve keratosit büyüme faktörü olmak üzere büyüme faktörleri bakımından zengindir. Dönüştürücü büyüme faktörü- β sinyal regülasyonu ve proenflamatuar sitokin üretimini inhibe ederek yangısal yanıtı ve skar dokusu oluşumunu azaltır. Hayvan çalışmaları amniyotik membranın daha hızlı yara iyileşmesi sağladığını ve korneal opasite ile neovaskülarizasyonu azalttığını göstermiştir (Shahriari vd., 2008; Gu vd., 2011).

Mezenşimal kök hücreler multipotent hücre özelliği taşır. Kemik iliğinden izole edildiği gibi yağ doku, kalp dokusu, kordon kanı ve ağız dokularından da elde edilebilir. Bu hücrelerin doku tamiri/rejenerasyonu, anti-enflamatuar ve immunmodülatör fonksiyonları bulunur. Bu sebeple tedavide kullanılır (Yao vd., 2012).

3. Kollajenaz inhibitörleri: asetilsistein, terasiklinler (doksisisiklin; en etkili ajan), Na₂EDTA, penisilamin, tetrasiklinler, β-merkaptometil, tiyol bileşikleri, kan serumu gibi.

Kollajenaz ve diğer MMP'ler normal yapı ve fonksiyonlarını sürdürebilmek için kalsiyum, çinko, magnezyum gibi katyonlara ihtiyaç duyarlar. Tetrasiklinler bu metal iyonlarını bağlayarak şelat oluşturur. Böyle kollajenaz enzimlerin aktivitesi azaltılmış olur. Ayrıca tetrasiklinler lökositlerdeki askorbat seviyesini düşürerek kemotaksis ve fagositozu azaltırlar (Seedor vd., 1987; Arıcan ve Çalım, 2004).

4. Anti-enflamatuar ajanlar (medroksiprogesteron, steroidler gibi): Steroidler; prednisolon asetat ön kamaraya penetrasyon yeteneği en fazla olan ajandır. Alkali yanıkların akut fazından (İlk 7 gün) sonra topikal veya subkonjunktival steroid uygulanması, yara iyileşmesini engellemesi ve kollajen üretiminde değişikliklere neden olması sebebiyle ülserasyon ve perforasyon riskini artırmaktadır.

5. Kollajen üretimini artıran ajanlar: Askorbik asit, sitrat gibi. (Levinson vd., 1976; Seedor vd., 1987; Burns vd., 1990; Huang vd., 2001; Hamill vd., 2013, Şenel ve Ergin 2014).

Askorbik asit kollajen üretiminde önemlidir. Prolin hidroksilasyonunda kofaktördür ve mononükleer hücrelerden fibroblastların üretilmesi için gereklidir. Ayrıca sağlıklı hayvanların humor aközündeki askorbik asit konsantrasyonu çok yüksektir (plazmadaki oranın 20 katı). Alkali yanık sonrası askorbik asit yoğunluğu 1/3 oranında azalır. Yapılan hayvan çalışmalarında askorbik asitin hem topikal hem oral yolla kullanımının (şiddetli yanıklarda özellikle topikal kullanım) perforasyon ve ülserasyon oranını düşürdüğü bildirilmiştir (Levinson vd., 1976; Pfister vd., 1980;

Sekundo vd., 2002). Sitrat benzer şekilde nötrofillerin yangısal cevabını inhibe ederek yara iyileşmesinde rol oynar. Yapılan çalışmalar sitratın göze topikal yolla uygulamasının iyileşmeyi artırdığı ve askorbik asit ile additif etki gösterdiğini bildirmiştir (Sekundo vd., 2002; Hamill vd., 2013).

Anti-VEGF ajanları yeni damar oluşumunun engellenmesi ve yavaşlatılmasında etkilidir (Hosseini vd., 2007).

1.7.2. Asit Yanıkları

Sülfürik asit (H_2SO_4), sülfüröz asit (H_2SO_3) ve hidroklorik asit (HCl) asit yanıklarının oluşmasında en çok rol oynayan ajanlardır (Kuckelkorn vd., 2002).

Alkali bileşiklerde olduğu gibi hasarın şiddeti, asidin gücü, konsantrasyonu, çözelti hacmi ve maruz kalma süresine bağlıdır. Oküler yaralanmanın boyutu ayrıca asidik bileşiğin dokuya yapışma ve nüfuz etme kabiliyetine de bağlıdır. Asidin dokuya nüfuz etme yeteneği, lipid çözünürlüğü ile yakından ilişkilidir. Asit kaynaklı kimyasal yanıkların en yaygın nedeni sülfürik asittir. Hem hidrofobik hem de hidrofilik maddelerdeki çözünürlüğü iyidir ve bu nedenle nüfuz etme kapasitesi de yüksektir. Sülfüröz asit dokuya hidroklorik, sülfürik veya fosforik asitten daha hızlı nüfuz eder. Hidroflorik asit de dokuya kolayca nüfuz eder. Zayıf bir asit olmasına rağmen, florür anyonu hücre zarlarını eritebilir. Ayrıca, küçük moleküler boyutu ve ağırlığı da dokuya girişi kolaylaştırır (Kim ve Khosla-Gupta, 2002).

Asitler, çözelti içinde hidrojen iyonlarına ayrışır. Bu serbest hidrojen iyonları hücresel nekroza asit anyonu ise protein denatürasyonuna ve çökmesine neden olur. Bu proteinler çökeldikçe, daha fazla asit penetrasyonunu önlemek için bir bariyer

oluşturur, böylece göz korunmuş olur. Bu çökme, gözde “buzlu cam” görünümü oluşturur. Bu bariyer zayıf asitlere karşı koruma sağlayabilir, ancak güçlü asitler derinlemesine nüfuz etmeye devam eder (Dua vd., 2001; Kuckelkorn vd., 2002).

Korneanın kendisi asitlere karşı kısmi tampon görevi görebilir. Kornea pH'sı on beş dakika içinde nötrleşmeye başlar ve bir saat içinde normale dönebilir. Hidroflorik asit zayıf bir asit olmasına rağmen, anyonu oldukça reaktiftir ve bir alkali görevi görür. Çok toksiktir ve dokuya kolayca nüfuz eder. Kornea stromasına asit penetrasyonundan sonra hücre dışı GAG'lar çöker, epitel hücreleri pıhtılaşarak kornea opasifikasyonuna neden olur ve kollajen fibrillerinde hidrasyon ve kısalma meydana gelir. Trabeküler ağdaki kollajen büzülmesi ve distorsiyonu nedeniyle göz içi basıncı yükselir. Göz içi basıncındaki artış prostaglandin salınımı ile en az 3 saat devam eder (Chinag vd., 1971; Paterson vd., 1979).

Askorbat seviyeleri, alkali yaralanmalarında olduğu gibi asit yaralanmalarında da azalır. Düşük askorbat seviyeleri, muhtemelen askorbatın aktif taşınmasının azalmasına ve kan-aköz bariyerin bozulmasına neden olan siliyer cisimdeki hasar mekanizmasından kaynaklanmaktadır (Kim ve Khosla-Gupta, 2002).

1.7.3. Kornea Yanıklarında Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Kimyasal yanıklar, gözde oksidatif stres oluşturan nedenlerden biridir. Alkali yanıklarda serbest oksijen radikalleri ortaya çıkmaktadır. Oksijen kökenli serbest radikaller reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinmektedir. Süperoksit anyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-), peroksil radikali (RO_2^-) ve tekli oksijen (1O_2) ROS örnekleridir. Bunlar başlıca lökositler ve mitokondriyal solunum

zinciri tarafından oluşturulur (Conners vd., 1997; Sekundo vd., 2002; Bashkaran vd., 2011).

Oksidatif stres, “oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine potansiyel hasara yol açacak şekilde bozulması” olarak tanımlanır (Erejuva vd., 2012). Oksidatif stres birçok patofizyolojik olayda rol oynamaktadır. Pro-oksidan ve antioksidan dengesinin bozulması, şiddetli hasara yol açar. ROS, yalnızca çeşitli patolojilerde zararlı faktörler olarak kabul edilmez, aynı zamanda sinyal iletimi gibi çok çeşitli fizyolojik olaylarda görev alır. Düşük ROS konsantrasyonlarının, ikinci bir haberci olarak hücrel çoğalmayı uyarabildiği bildirilmiştir. ROS, hücre içi seviyelerine bağlı olarak birkaç hücrel işlemin düzenlenmesinde rol oynar. Yüksek ROS seviyelerinin hücreler için toksik olmasına rağmen, düşük ROS seviyeleri, uygun sinyal iletimi, kinaz aktivasyonu ve reseptör sinyalleme ile ilişkili biyolojik yanıtlar için çeşitli fizyolojik rollere sahiptir. İlâveten ROS'un enflamasyonu modüle ettiği ve enflamatuar sitokinleri teşvik ettiği ortaya konmuştur. Bu nedenle, antioksidanlar yangıyı baskılama potansiyeline sahip olabilir. ROS'un enflamasyonu indükleyebildiği bildirildikten sonra, antioksidanların enflamasyon üzerindeki etkisini ortaya koymak için birçok çalışma yapılmıştır (Erejuva vd., 2012; Cejka ve Cejkova, 2015; Kim vd., 2015).

Total oksidan statüsü (TOS) tüm oksidan moleküllerin seviyesini temsil eder. Sadece bir veya daha fazla oksidan molekülün ayrı ayrı ölçülmesinin hastanın total oksidan seviyesini doğru olarak vermeyeceği rapor edilmiştir. Oksidan moleküller birbirleriyle sinerjik etkileşim halinde olduğundan bir maddenin toplam oksidatif kapasitesi oksidan moleküllerin ayrı ayrı toplamından yüksek olabilir. Bu bilgiler ışığında TOS' un ölçümü hem daha kolay hem de daha güvenilirdir (Erel, 2005).

Kimyasal yanıklar korneada şiddetli oksidatif strese yol açar (Gakhramanov vd., 2006). Alkali yanıklarda serbest radikallerin üretimi söz konusudur. Alkali ajanların

kornea için bağımsız olarak toksik olmaları haricinde canlı hücelere zarar vermeleri de büyük ölçüde ROS oluşumuna aracılık etmektedir. ROS'un neden olduğu hasarla başa çıkmak için korneanın bütünleşmiş enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemleri vardır (Çizelge 1.1) (Gunay vd., 2015).

Çizelge 1.1: Prekorneal gözyaşı filmi, humor aköz ve korneanın antioksidan savunmaları

Kompartman	Antioksidanlar	
	Enzimatik	Enzimatik olmayan
Gözyaşı filmi tabakası	Süperoksit dismutaz (SOD)	Ürik asit
		Askorbik asit
		Glutasyon
		<i>L</i> - tirozin
		<i>L</i> - sistein
Kornea	Süperoksit dismutaz	Askorbik asit
	Glutasyon peroksidaz (GPX)	Glutasyon
	Glutasyon redüktaz	NADPH
	Katalaz (CAT)	α - tokoferol
	Glukoz-6- Fosfatdehidrogenaz	Retinol
	Aldehit dehidrogenaz 3A1	Ferritin
	Aldehit dehidrogenaz 1A1	Albumin
Humor aköz	Süperoksit dismutaz	Ascorbik Asit
		<i>L</i> - tirozin
		Ürik asit
		<i>L</i> - sistein
		Glutasyon

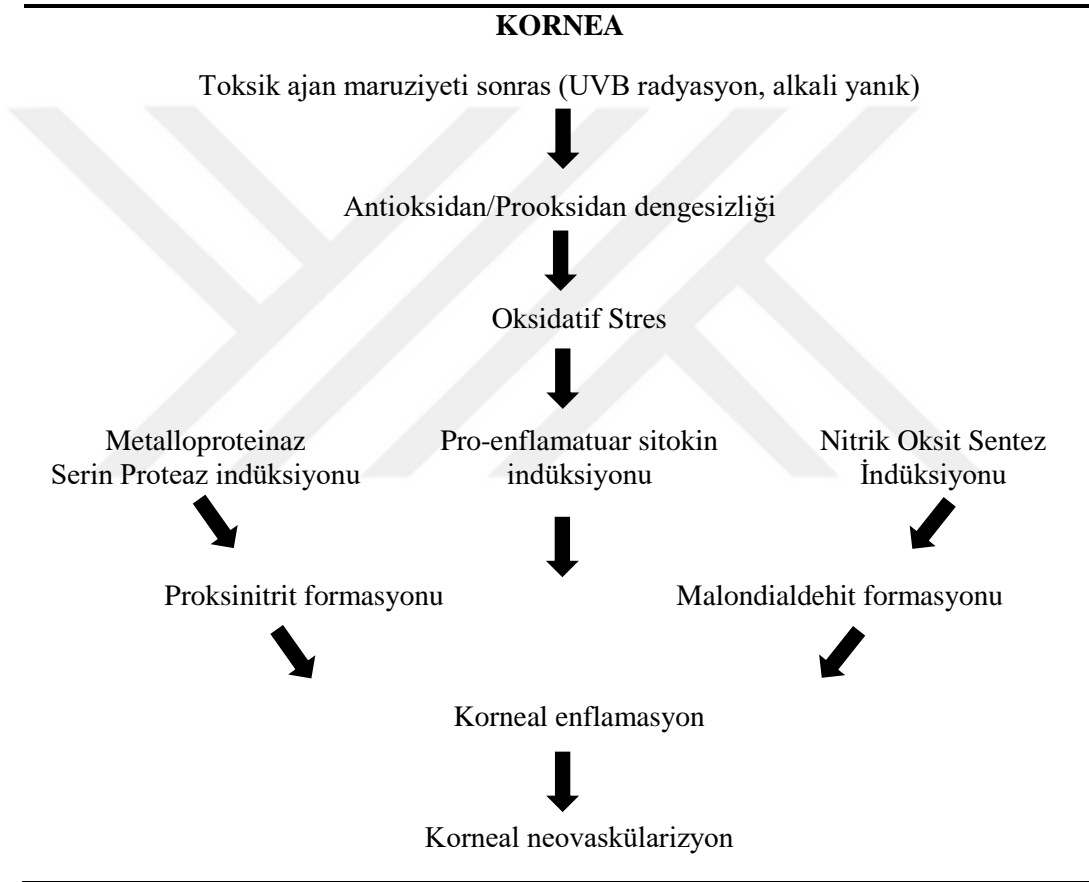
Antioksidan savunma enzimleri, ROS ve serbest radikal zincir reaksiyonlarının hücrel ürünleri ile reaksiyona girerek onları toksik olmayan ürünlere dönüştürür.

ROS, nekrotik dokunun yanmış hücrelerinden ve alkali yanıktan sonra hasarlı bölgedeki infiltrate polimorfonükleer hücreler tarafından üretilebilir (Salman vd., 2011). Düşük konsantrasyonlu alkaliler korneada oksidatif stresi meydana getirmek suretiyle görme kaybı oluşturur, yüksek konsantrasyonlu alkaliler ise korneanın tüm katmanlarında şiddetli tahribata yol açar ve daha dramatik sonuçlar doğurur (Kubota vd., 2011).

Endojen ve gıda kaynaklı antioksidanlar sistemdeki total antioksidan statüyü (TAS) temsil eder (Bashkaran vd., 2011). Mancino vd. (2011) tüm antioksidan parametrelerin ayrı ayrı ölçülmesinin zor olacağını ve her bir antioksidan molekül seviyesinin farklı hastalarda hastalık derecesi ve kimyasalın miktarına göre değişkenlik gösterebileceğini belirtmiş ve bu yüzden bütün antioksidanların toplamı anlamına gelen TAS'ın ölçümünün yapılmasının daha güvenilir olacağını bildirmişlerdir.

Alkali yanıklar ve UVB radyasyon gibi çeşitli toksik ajanların temasından sonra kornea epitelinde antioksidan enzimler azalırken, prooksidan enzimler fizyolojik seviyelerde kalır ve hatta artış gösterir. Bu, korneada antioksidan/prooksidan dengesizliğine ve oksidatif strese yol açar. Oksidatif stres, pro-inflamatuar sitokinlerin, metaloproteinazların, serin proteazların ve nitrik oksit sentazlarının indüksiyonu ile ilişkilidir. Süperoksit ve nitrik oksit arasında bir reaksiyon ürünü olan peroksinitrit ortaya çıkar. Malondialdehit, korneadaki lipid peroksidasyonunun göstergesidir ve şiddetli kornea yangısı ve NV şekillenmesine (Çizelge 1.2) yol açar (Cejkova ve Cejka, 2015).

Çizelge 1.2: Korneanın toksik ajanlara maruz kalması sonucu oksidatif stres şikillenmesi



Halliwell ve Gutteridge (2007) tarafından antioksidan; "hedef moleküldeki oksidatif hasarı geciktiren, önleyen veya ortadan kaldıran herhangi bir madde" olarak tanımlanmıştır (Erejuva vd., 2012). Normal kornea epitelinde toplam SOD seviyesinin, GPX'inkinden daha yüksek olan CAT aktivitesinden çok daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Ek olarak, korneada bol miktarda eksprese edilen aldehit dehidrojenaz (ALDH) ailesinin belirli üyelerinin antioksidan görevi gördüğü kabul

edilmektedir. Siliyer cisim tarafından salgılanan humor aköz, kornea ile lens arasındaki boşluğu dolduran berrak ve hafif alkali bir sıvıdır. Kornea endoteli ve lensin ön kapsül epitelinin beslenmesinde ve korunmasında çok önemli bir rol oynar. Ayrıca kornea ve lensin ürettiği metabolik atıkları ve biyokimyasal ürünleri de ortadan kaldırır. Bu nedenle ROS, humor aközde H_2O_2 , O_2^- , 1O_2 , ve RO_2^- şeklinde sürekli olarak üretilebilir. Humor aközün antioksidan profili, gözyaşı filmininkine benzer. Diurnal türlerin humor aközlerindeki yüksek askorbik asit konsantrasyonu, muhtemelen bu molekülün daha yüksek seviyede sekresyonundan kaynaklanmaktadır (Shoham vd., 2008; Chen vd., 2009).

Akut kornea yangısında doku hasarının boyutu, üretilen serbest radikaller ile yerel antioksidasyon savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasının bir sonucu olarak ortaya çıkar. Yaygın oksijen kaynaklı serbest radikal toksisitesine karşı organik koruma, esas olarak, askorbat ve E vitamini gibi bazı organik serbest radikal temizleyicilerle birlikte SOD, katalaz ve peroksidazlar gibi endojen antioksidan enzim sistemleri tarafından desteklenmektedir. Kornea epitelinde ve endotelyumda SOD konsantrasyonu nispeten yüksektir, ancak stromada bulunmamaktadır. Enflamasyon sırasında oksidasyona bağlı kornea hasarının nihai boyutu, bu endojen antioksidanlar tarafından sınırlandırılır. Antioksidan savunma mekanizmalarını aşan çok sayıda serbest radikallerin varlığı, korneanın oksidatif strese maruz kalmasına ve muhtemelen daha fazla yangılanmasına yol açar (Alio vd., 1995; Chen vd., 2009; Kim vd., 2015).

Gakhramanov vd. (2006) yaptığı bir çalışmada gözde meydana getirilen kimyasal yanıkların gözyaşı ve kan plazmasının antioksidan potansiyelini azalttığını bildirmiştir. Kornea yanıklarının tedavisinde ise antioksidanların yararlı etkileri belirtilmiştir (Erejuva vd., 2012).

1.8. *Myrtus communis*

Myrtus communis L., ılıman, tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen yaklaşık 145 cins ve 5500 türü içeren Myrtaceae familyasına ait küçük bir cinstir. *M. communis*, Avrupa'ya mahsus tek *Myrtaceae* türüdür. Akdeniz bölgesine özgü bu endemik bitki bölgede yaygındır ve yabani olarak yetişir (Amensour vd., 2009; Özkan ve Güray, 2009; Mimica-Dukic vd., 2010; Tuberoso vd., 2010; Snow vd., 2011; Aleksic ve Knezevic, 2014).

Türkiye'de kayalık yamaçlarda, kızılçam ormanlarında, makilerde, sahil kumulları bölgelerinde, deniz seviyesinin hemen üzerinde 550 m'ye kadar yerleşim gösterir (özellikle Batı ve Güney'de). *Myrtus communis* ülkemizde “mersin”, “murt”, “murt pürü”, “hambeles”, “bahar”, “elduran” ve “sazak” olarak bilinir (Gönüllü, 1994; Özkan ve Güray, 2009; Karademir ve Avunduk, 2015).

Yüksekliği yaklaşık 1-5 m'ye kadar ulaşan yaz kış yeşil kalan bir çalıdır. Yaprakları, 2-5 cm uzunluğunda dökülmeyen kalın oval-mızrak şeklinde, sert, pürüzsüz, noktalı glandüler yapıdadır. Ezildiklerinde hoş aromatik bir koku ortaya çıkar. Çiçeklerinde beş taç, beş çanak yaprağı ve bir yığın tepeli organı bulunan beyaz, yıldız şeklindedir. Haziran ile Eylül ayları arasında görülür. Yazdan sonra, olgunlaşma sırasında mavimsi-siyah (veya nadiren sarımsı-beyaz) olan elipsoid meyveler Kasım ayı boyunca mevcudiyetini korur (Mendes vd., 2001; Özkan ve Güray, 2009; Nassar vd., 2010; Zomorodian vd., 2013; Aleksic ve Knezevic, 2014).

Aşk ve ölümsüzlüğün sembolü olarak bilinen Mersin bitkisi, Dioscorides (M.S. 40-90) zamanından beri şifa kaynağı olarak kullanılmaktadır (Aleksic ve Knezevic, 2014; Tumen vd., 2017). Eski Mısır tıbbi metinlerinde mersin bitkisi, idrar yolu yangısı, mide ağrısı, ekşimesi ve şişmesinde, kas sertliği, öksürük tedavisinde ve mukolitik olarak kullanıldığı ifade edilmiştir. Antik Mısır hekimliğinde, mersin esansiyel yağı, taze sedef yağı ile birlikte deri hastalıklarının tedavisinde de kullanılmıştır (Özkan ve Güray, 2009).

Türk halk (folklorik) tıbbında, *M. communis*'in yaprakları, meyveleri ve uçucu yağı çeşitli amaçlar için kullanılmıştır. Yapraklar aromatik, balzamik, hemostatik ve tonik özelliklere sahiptir. Ekstraktı anti-enflamatuar, antikarsinojen, hipokolesterolemik, hepatoprotektif, hipoglisemik, antihistaminik, antiandrojenik, antiartritik, antihipotansif, antioksidan, antiseptik, dezenfektan, analjezik, antigenotoksik, antibakteriyel, antimikrobik özelliklere sahiptir. Hemoroid, soğuk algınlığı, kalp, böbrek ve üretra hastalıkları, ishal, romatizmal ağrı, ekstremitelerde ödem, iştah uyarıcı, yara tedavisi, epistaksis, konjunktivit, kanama durdurucu, egzama ve dermatit gibi çeşitli dermatolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Amensour vd., 2009; Özkan ve Güray, 2009; Nassar vd., 2010; Akaydın vd., 2013; Karademir ve Avunduk, 2015; Aksay, 2016; Meriem, 2016; Qader vd., 2017).

Meyvelerinin astrenjan etkileri yüksektir ve diyare, hemoroid, ağız ve göz hastalıkları tedavisinde kullanılmaktadır (Nassar vd., 2010; Hennia vd., 2018; Raeiszadeh vd., 2018; Özcan vd., 2019). *M. communis*'ten elde edilen sulu ve metanolik ekstraktların antitrombotik ve kardiyoprotektif olduğu kanıtlanmıştır (Amensour vd., 2009; Sumbul vd., 2011; Lim, 2012; Zomorodian vd., 2013; Qader vd., 2017; Özcan vd., 2019).

Yaprakları geleneksel olarak dezenfektan, hipoglisemik ve antiseptik olarak kullanılır. Mersin bitkisi, güneş yanığı, akut yaralar gibi farklı deri hastalıklarında ve derinin iyileşme sürecini hızlandırmak için daha çok cilt losyonlarında kullanılan doğal bitkisel ürünler arasında yer almaktadır. *Myrtus* ekstresi kızarıklık, alerji, yara iyileşmesi, sivilce gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan saf, doğal, toksik ve steroidal olmayan ve yaygın olarak bulunan bir bitki özüdür (Mimica-Dukic vd., 2010; Gültepe vd., 2020).

M. communis'in esas metabolitleri polifenoller ve uçucu yağlardır (Nassar vd., 2010). Yapraklar tanenler, kuersetin, kateşin ve mirisetin türevleri gibi flavonoidler ve uçucu yağlar içerir. Bitkinin meyveleri çoğunlukla uçucu yağlar, tanenler, şekerler, flavonoidler ve sitrik ve malik asitler gibi organik asitlerden oluşur. Türkiye'de yetişen *M. communis* L.'nin yapraklarında majör bileşenler olarak 1,8-sineol, linalool, mirtenil asetat ve mirenol bulunur (Kanoun vd., 2014; Keven-Karademir ve Avunduk, 2015). Kurutulmuş yaprakları 1,8-sineyol (%13,5-19,6), linalol (%7,7-15,8), linalil asetat (%2,5-6), terpineol, terpinolen, tanenler ve flavonoid bileşiklerini içerir. Meyveler tanenler, antosiyaninler (%0,2-54), yağ ve organik asitlerden (%9-52) oluşur ve bu içeriklerin oranları kullanılan ekstraksiyon çözücüsüne ve/veya olgunlaşma süresine bağlı olarak değişiklik gösterir. Genellikle mersin yaprağı, gövdesi ve çiçeklerinde bulunan en yaygın bileşikler α -pinen (~%10-60) ve 1,8-sineyoldür (~%12-34) (Nassar vd., 2010).

M. communis bitkisinin esansiyel yağ bileşikleri, terpenler (monoterpen hidrokarbonlar ve seskiterpen hidrokarbonlar), terpenoidler (oksijenli monoterpenler ve oksijenli seskiterpenler) ve fenilpropanoidler üç ana kategoriye ayrılabilir; fakat aynı zamanda hidrokarbonlar ve oksijenli bileşikler olarak da sınıflandırılabilir (Nassar vd., 2010; Serçe vd., 2010).

Bununla birlikte, mersin sapı tanenler bakımından zayıf ve flavonoidler açısından orta derecede zengindir. Son zamanlarda, fenolikler veya polifenoller, antioksidan, antimutajenik ve antitümör aktiviteleri de dâhil olmak üzere fizyolojik işlevleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Mersin yaprağında en çok bulunan polifenolik sınıf hidrolize edilebilir tanenlerdir. Tanenlerin anti-kanser, antiviral ve lipid peroksidasyonunun inhibisyonu gibi biyolojik aktiviteleri vardır (Wannes vd., 2010).

Oksidatif stres, birçok hastalığın patogenezinde rol oynar ve serbest radikaller tarafından oluşturulur. Bununla birlikte, terapötik olarak optimal bir doğal

antioksidan bulunamamıştır, bu nedenle halk hekimliğinde anti enflamatuar ilaç olarak kullanılan bir bitki olan mersin yapraklarının polifenol içerikleri üzerine çalışmalar yapılmıştır (Romani vd., 2004; Nassar vd., 2010; Baharvand- Ahmadi vd., 2015).

Yapraklar tanenler, kuersetin, kateşin myrtucommulone (MC) ve mirisetin türevleri ve uçucu yağlar gibi flavonoidler içerir. Mersin meyveleri çoğunlukla uçucu yağlar, tanenler, karbonhidratlar, flavonoidler, sitrik asit ve malik asit gibi organik asitlerden oluşur. Son zamanlarda çeşitli alanlarda mersin bitkisi ile ilgili oldukça fazla çalışma yapılmaktadır. Uçucu yağlarının yanı sıra fenolik bileşikler (fenolik asitler, polifenoller ve flavonoidler), gıda ürünlerinde ve hastalıkların tedavisinde antioksidan aktiviteleri nedeniyle ilgi görmektedir (Amensour vd., 2009; Amessis-Ouchemoukh vd., 2014; Aksay, 2016; Tumen vd., 2017).

Temel esansiyel yağ asidi (linolenik asit metil ester), membranları hasarlara karşı koruyabilen bir antioksidandır (Qader vd., 2017). Mersin bitkisinin antioksidan etkinliği alkaloidler, tanenler, fenol, flavonoidler (kuersetin, kateşin ve mirisetin türevleri), şekerler, organik asitler (sitrik ve malik asitler), saponin, antrakınonlar, uçucu yağlar, hidrokarbonlar, alkoller, antosiyanin pigmentleri, esterler ve yağ asitleri gibi kimyasal bileşenlerinden ileri gelmektedir (Qader vd., 2017; Kaveh vd., 2019).

Antioksidan, “oksidlenebilir bir madde ile karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonda bile, o substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya önleyen herhangi bir madde” olarak tanımlanır (Asgarpanah ve Ariamanesh, 2015). Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona giren, onları nötralize eden ve böylece canlı vücudundaki zararlı etkilerini önleyen veya azaltan bileşiklerdir. Günümüzde araştırmacılar, sentetik katkı maddelerinin yerini alabilecek yeni doğal antioksidanlar elde etmek için şifalı bitkiler üzerinde çalışmaktadır (Kanoun vd., 2014).

Birçok çalışma, mersin yapraklarından elde edilen farklı ekstraktların ve bileşiklerin antioksidan aktivitelerini rapor etmiştir. Flavonoidler, tanenler ve α -tokoferol gibi çeşitli bilinen antioksidanlar mersin bitkisinden izole edilmiştir (Nassar vd., 2010; Baharvand- Ahmadi vd., 2015).

Bitkilerin antioksidan kapasitesi ile toplam fenol içeriği arasında yüksek bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Amensour vd., 2009). Aromatik ve tıbbi bitkiler, polifenoller ve uçucu yağlar gibi sekonder metabolitleri sayesinde doğal antioksidanların kaynağıdır. Fenolik bileşikler, fenilpropanoidler adı verilen fenolik grubunu üreten, şikimik asit metabolik yoluyla biyokimyasal olarak sentezlenir. Şiddetli reaktif radikallere hidrojen vererek antioksidan olarak etkinlik gösterirler, böylece daha fazla radikal oluşumunu önlerler (Wannes vd., 2010; Amessis-Ouchemoukh vd., 2014; Aksay, 2016; Ozcan vd., 2019).

Mansouri vd. (2001) *M. communis* bitkisinin 8-sineyol, linalol, öjenol, α -terpineol ve γ -terpinen gibi esansiyel yağ bileşenleri, 6 Gram pozitif ve 4 Gram negatif bakteri de dahil olmak üzere 10 mikroorganizmaya karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir (Nassar vd., 2010; Snoussi vd., 2011; Zomorodian vd., 2013). Konuyla ilgili yayınlanan çok sayıda makaleye göre, mersin esansiyel yağlarının güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olması onu kozmetik, ilaç ve gıda endüstrileri için değerli bir hammadde haline getirmiştir (Maxia vd., 2011).

MC ve semimyrtucommulone (S-MC), mersin yapraklarından elde edilen doğal prenile edilmemiş asilfloroglusinolün in vitro ve in vivo olarak siklooksijenaz-1 ve 5-lipoksijenazı doğrudan inhibe ederek eikosanoidlerin biyosentezini güçlü bir şekilde baskıladığı gösterilmiştir (Feisst vd., 2005). MC ve S-MC'nin, sırasıyla 0,55 ve 4,5 m karşılaştırılabilir konsantrasyonlarda MIC50 değerlerinde G protein sinyal yollarının aracılık ettiği polimorfonükleer lökositlerde Ca^{2+} mobilizasyonunu önlediğini ve

reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve elastaz salınımını baskıladığını gösterdiler. MC'nin, siklooksijenaz (COX) 1 ve 2 enziminin önemli bir inhibisyonu olmaksızın PGE-2 oluşumunu etkili bir şekilde baskılayan mikrozomal prostaglandin E2 sentaz (mPGES) -1'i inhibe ettiği bulunmuştur (Lim, 2012). Hem S-MC hem de MC, linoleik asidi serbest radikal saldırısına karşı koruyan ve otoksidasyonunu ve FeCl₃ ve EDTA aracılı oksidasyonunu engelleyen güçlü antioksidan özellikler göstermiştir. S-MC'nin MC'ye göre daha güçlü olduğu bildirilmiştir (Asgarpanah ve Ariamanesh, 2015).

Meriem (2016), yaptığı çalışmada α -pinen, mirtenil asetat ve 1,8 sineyol'un daha önce anti-enflamatuar aktivitelere sahip olduğunu ortaya koymuş ve bu çalışma sonucunda, MAE'nin yangısal deri hastalıklarında anti-enflamatuar ajan olarak kullanılabileceğini rapor etmiştir.

Yapılan çalışmalarda, MAE'nin normal hücrelerde mitoz bölünmeyi hızlandırdığı ve anormal veya defektli hücrelerde mitozu yavaşlattığını bildirilmiştir. Ayrıca MAE'nin korneadaki epitelizasyonunu artırdığı, kornea ödemi azalttığı, göz yaşı üretimini kalitatif ve kantitatif olarak artırdığı, anti-enflamatuar (Quercetin, Rosmarinik asit), anti-fibrotik, kollajen üretimini düzenleyici rolü olduğunu, anti-oksidan (Quercetin, Catechin, Rosmarinik asit) ve anti-karsinojenik özellikler taşıdığı savunulmuştur. *In vitro* bir çalışmada MAE kornea skarlaşmasında TGF- β ekspresyonunu kontrol ederek başarılı bir terapötik ajan olabileceği rapor edilmiş ancak bunun *in vivo* çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (Tretiakova vd., 2008; Abengózar-Vela vd., 2015; Jabri vd., 2016; Mckay ve Karamichos, 2017; Rafalyuk ve Gaydamaka, 2018). Ayrıca yapılan Santez projesi çalışmalarında göz iritasyon ve sensitizasyon testi sonucunda kullanılan MAE'nin iritasyona ve sensitizasyona neden olmadığı ortaya konmuştur. Aynı Santez projesinde yapılan akut sistemik toksisite çalışmasında murt ağacı ekstresinin dalak, karaciger, akciğer, böbrek, kalp ve pankreastan alınan doku örnekleri incelenmiş ve her bir doku örneğinden 3 doku kesiti alınarak skorlama yapılmıştır. Neticede

herhangi bir toksikasyon bulgusuna rastlanılmamıştır (Proje kodu: 0352.STZ.2013-2, Sayı: 78507420 – 205.99E.3046, 2016).

1.9. Eye Platelet Rich Plasma (E-PRP)

Oküler yüzey hastalıklarının tedavisinde kandan elde edilen göz damlalarının kullanımını son yıllarda giderek daha popüler hale gelmiştir. Etki mekanizması, oküler yüzeyde aktif bir büyüme faktörleri ve sitokin karışımı sağlayarak hücresel çoğalma ve göçün uyarılmasıdır, böylece doğal gözyaşının fonksiyonu yerine getirilir. Kandan elde edilen göz damlaları, son yıllarda başta kuru göz hastalığı olmak üzere, kalıcı kornea epitel defekti, kornea ülseri, kornea yanıkları, tekrarlayan kornea erozyonu ve limbal kök hücre eksikliği gibi çeşitli oküler yüzey hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır (Giannaccare vd., 2017).

Otolog serum, trombosit zengin plazma, büyüme faktörleri ve trombosit açısından zengin plazma gibi hastanın kendi periferik kan serumundan (otolog kaynak) veya allojenik periferik kan serumu gibi donörlerden (homolog kaynak) ve göbek kordon kanı serumundan hazırlanan göz damlaları kullanılmaktadır (Giannaccare vd., 2017).

Trombositler, yara iyileşme sürecinde önemli rol oynayan çeşitli sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin kaynağıdır (Ziaei vd., 2018). Trombosit bakımından zengin plazma (PRP), bazal seviyenin üzerinde trombosit konsantrasyonuna sahip otolog kanın plazma fraksiyonunun bir parçası olarak tanımlanmıştır (Marx, 2001). PRP yüksek düzeyde büyüme faktörleri içerir ve *in vitro* çalışmalarda kornea epitel hücre proliferasyonunu serumdan daha etkili bir şekilde desteklediği gösterilmiştir (Ziaei vd., 2018).

Acosta vd. (2014), topikal PRP uygulanan tavşanlarda kornea epitel iyileşme hızını artırdığını bildirmiştir. Hassan vd. (2021) 1 N NaOH ile kornealarına yanık oluşturulan hayvanlara bir gruba intrastromal PRP enjeksiyonu diğer gruba topikal PRP damla uygulamışlar ve tek subkonjunktival enjeksiyonla tedavi edilen kornealarda epitel iyileşme oranının PRP damlalarıyla tedavi edilenlerden daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Oftalmolojide kullanılan E-PRP (gözde kullanılan trombosit bakımından zengin plazma), trombositler açısından zengin fakat Marx (2001), tarafından tanımlanan PRP'den farklı olan otolog bir plazma preparatıdır. E-PRP'de antikoagülan olarak sodyum sitrat kullanılır ve gerektiğinde E-PRP aktivasyonu için CaCl_2 kullanılır. E-PRP'nin elde edilmesi, tek aşamalı bir santrifüleme işlemi kullanılarak gerçekleştirilir ve trombosit konsantrasyonunun nihai miktarı; göz damlası (aktif olmayan) veya pıhtı (aktif) olarak kullanılıp kullanılmayacağına bağlıdır. E-PRP'nin elde edilmesi için spesifik cihazlar gerekli değildir. E-PRP'deki trombosit miktarı tam kanda bulunan trombosit miktarının 1,6-2,5 katıdır. Topikal göz damlası şeklindeki otolog E-PRP kornea yüzeyindeki lezyonlara uygulanır. Oküler rekonstrüksiyon için yapılan cerrahi işlemler sonrası ise pıhtı formundaki E-PRP kullanılır (Alio vd., 2012). E-PRP hazırlarken, kan antikoagülan olarak %3,2 sodyum sitrat içeren tüplere alınır santrifüj edilir (1600 rpm'de 10 dakika), böylece üç katman elde edilir. Üstte trombositten zayıf plazma (PPP), altta PRP ve lökositler eritrositlerin üstünde bulunur. PRP aspire edilir ve 3-4 ml'lik alikotlar, göz damlası aplikatörlü 10 ml'lik yeni sterilize edilmiş amber renkli cam şişelere aktarılır. Kullanılan şişe buzdolabında +4 °C'de 1 hafta, geri kalan şişeler ise -20 °C'de derin dondurucuda saklanmalıdır (Giannaccare vd., 2017).

Göz damlası şeklindeki otolog E-PRP ise oküler yüzeyin çeşitli patolojik durumlarının topikal tedavisinde kullanılmaktadır. E-PRP'nin içeriğinde yüksek konsantrasyonda büyüme faktörü (EGF, PDGF-BB) ve fibronektin bulunmaktadır. E-PRP'nin, korneanın rejeneratif tedavisinde gerekli olan büyüme faktörleri ve

adezyon proteinlerini içerdiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Rodriguez ve Del Barrio, 2019). Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) reseptörü, kornea fibroblastlarında ve endotel hücrelerinde bulunabilir. PDGF-BB, bazal membranın epitele katıldığı yerde üretilir. PDGF-BB, 15 ng/ml üzerindeki konsantrasyonlarda endotel hücrelerinin proliferasyonunu uyarır, buna karşın migrasyon daha düşük konsantrasyonlarda gerçekleşir. PDGF-BB'nin doza bağlı bir şekilde fibroblast göçünü uyardığı ve hem PDGF-AA hem de PDGF-BB'nin fibronektin varlığında epitel hücreleri üzerinde kemotaktik bir etki sergilediği gözlemlenmiştir (Riestra vd., 2016). E-PRP'nin antibakteriyel etkisinin olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Drago vd., 2013).

1.10. Gentamisin

Tüm kornea ülserlerinde topikal antibiyotik kullanımı gereklidir (Maggs, 2008). Süperfisiyal ülserlerde, sekonder bakteriyel enfeksiyonu önlemek için günde iki ila dört kez %0,5 kloramfenikol veya neomisin-polimiksin B gibi geniş spektrumlu oftalmik antibiyotikler topikal yolla kullanılır (Kern, 1997; Andrew, 2002). Gentamisin oftalmik solüsyonu tavşanlar için mevcut olan başka bir lisanslı preparattır (Varga, 2014).

Gentamisin alkali kornea yanıklarında yaygın olarak kullanılan bakterisit özellik taşıyan bir antibakteriyel ajandır (Christmas, 1991; Maggs vd., 2013). Gentamisin genel olarak gram negatif bakterilere (*Pseudomonas spp.*, *E. coli*, *Aerobacter*, *Klebsiella* ve *Proteus spp.*) ve *S. aureus* (gram pozitif) karşı etkilidir. Gentamisin epiteliotoksiktir. Buna rağmen göz yüzeyinde topikal olarak bakteriyel profilaksi amacıyla çok yaygın kullanılmaktadır. Dirençli organizmalara karşı etkinliği düşüktür (Maggs vd., 2013).

Bu çalışmanın amacı; tavşan korneasında 1 N NaOH ile oluşturulan alkali yanıkların oftalmik mersin ağacı ekstresi (OMAE) ile tedavi etkinliğinin incelenmesi ve bunun yanı sıra OMAE'nin (bitkisel ajan) tedavi etkinliğinin E-PRP (biyolojik ajan) ve gentamisin sülfat (kimyasal ajan) ile karşılaştırılmasıdır.



2. MATERYAL VE METOT

Çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu (No: 63-19 ve 24.02.2020 tarihli protokol izni) kapsamında gerçekleştirilmiştir.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Abdeham Deneysel Hayvan Üretim ve Tedarik Merkezi'nde (Bursa) üretilen ve yetiştirilen 2,5-3,5 kg ağırlığı arasında değişen 6 aylık, 42 adet erkek Yeni Zelanda Albino tavşan kullanıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsü olan, standart sıcaklık (15-21°C) ve nem (%40-50) koşullarında çelik tel kafeslerde bireysel olarak (Resim 2.1) AKÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde barındırıldı. Günlük standart pelet yem ve su *ad-libitum* olarak verildi.



Resim 2.1: Tavşanların bireysel olarak barındırıldığı tel kafes

Deney ve kontrol gruplarının oluşturulması sürecinde her bir deneğe bir numara verilerek ve sistematik tesadüfi örnekleme yöntemiyle denekler objektif bir şekilde seçildi. Her grupta yedi hayvan olacak şekilde deneklerin gruplara ataması yapıldı. Bu çerçevede çalışma, 1 kontrol ve 5 çalışma (deney) grubu olmak üzere toplam 6 gruptan oluştu.

2.2. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada aşağıda listesi verilen alet ve cihazlar kullanılmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1: Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Cihazın Adı	Marka, Model ve Menşei
Kan Sayım Cihazı	HumaCount 80TS, Vet Mode, Germany
Otoanalizör	Roche Cobas İntegra 400 plus
ELISA Cihazı	ChemWell 2910, Awareness Technology, USA
ELISA Cihazı	Thermo Scientific, Multiskan Go Spectrophotometer w/cuvette, USA
Santrifüj Cihazı	NF 200, Nüve, Türkiye
Santrifüj Cihazı	NF 800R, Nüve, Türkiye
Buzdolabı	Arçelik
Derin Dondurucu -20 °C	UCF 410 SSL, Uğur, Türkiye
Derin Dondurucu -80 °C	Panasonic, MDF-U700VX, Japan
Oftalmoskop	plusMED, 6040-40-51/097, Pakistan
Tonometre	RBT, Icare VET, Helsinki, Finland
Yarıklı Lamba Biyomikroskopisi	Shin-Nippon XL-1, Japan
Işık Mikroskobu	Ziess Lab.A1- AxioCam ICc 5, Zen 3.1, Germany
Fotoğraf Makinesi,	Nikon, D90 Japan
Restrainer Aparatı	Polycarbonate Rabbit Restrainer, PY2 52-6673, Harvard Apparatus, US
Biyogüvenlik Kabini	Teknomar, Chemocell LRCX-UV TPN, Türkiye
Shaker Cihazı	Shaker-Rocker MR-12, BioSan, UK
Diğer laboratuvar ve muayene malzemeleri (EDTA'lı tüpler, %3,2 Sodyum sitratlı tüpler, Antikoagülsüz tüpler, İntraket, Whatman filtre kağıdı (3 Numara), Schirmer gözyaşı testi strip, Fluorescein sodyum strip, %70 Etil Alkol, Punch biyopsi aleti, Tek kullanımlık enjektörler vs.)	

2.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Kitler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve kitler aşağıda listelenmiştir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2: Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve kitler

Kimyasal/Kit Adı	Kit/Katalog No, Marka ve Menşei
1 N NAOH Çözeltisi 100 Ml	(Kat. No. 129447.0100), Advanced Diagnostics & Research Group, Türkiye
Ksilazin HCL Enjeksiyonluk Çözelti	Rompun %2 Enjeksiyonluk Çözelti, Bayer, ABD
Ketamin HCL Enjeksiyonluk Çözelti	Ketasol %10 Enejksiyonluk Çözelti, İnterhas, Ankara
PBS	DPBS, PAN BIOTECH, Germany
Proparakain Hidroklorür Göz Damlası Çözelti	Alcaine %0,5 15 ml, Alcon, Belgium
Anti-VEGF Kit	sc-152, Santa Cruz Biotechnology, US
Anti-MMP-9 Kit	ab58803, Abcam, Cambridge, GB, UK
Biotinli Anti-Fare Antikoru	Vectorlab, BA-2000, US
Rabbit PDGF-BB ELISA Kit	(Kat. No. E0024Rb), Bioassay Technology Laboratory, China
Total Oksidan Statüsü ELISA Kiti	(Kit LOT: KM201240), Rel Assay Diagnostics Total Oxidant Status Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye
Total Antioksidan Statüsü ELISA Kiti	(Kit LOT: KM20112A), Rel Assay Diagnostics Total Antioxidant Status Mega Tıp, Gaziantep, Türkiye

2.4. Oftalmik Mersin Ağacı Ekstresi (OMAE) Hazırlanması

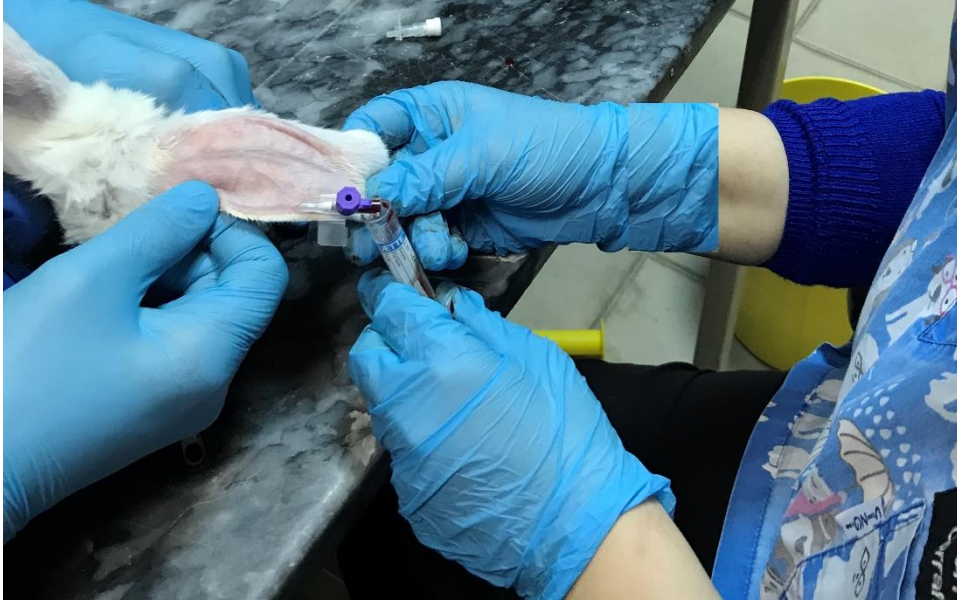
Myrtus communis bitkisinin 2 g gövde ve 2 g yaprak kısmı önce mekanik parçalayıcıda küçültüldükten sonra pH'sı 4,5 olan distile su içerisinde 98 °C'de 22 dakika bekletildi. Bu şekilde hazırlanan çözelti soğumaya bırakıldıktan sonra tampon çözelti olarak Na₂HPO₄ (Disodyum fosfat) kullanılarak asitliği dengelendi.

Hazırlanan çözelti orta hızla akışlı kül içeriği <%0,01, 0,2 mm kalınlıkta filtreden geçirilip (Aksay, 2016), ardından solüsyona yüzeyde oluşturduğu özellikler nedeni ile kornea temas süresini uzatmak ve göz içi ilaç seviyelerini artırmak amacıyla oftalmik formülasyonlarda viskozite artırıcı bir madde olarak kullanılan %0,4'lük Hidroksietil selüloz (HEC) eklendi ve %0,4 formülasyonu elde edildi (Durand-Cavagna vd., 1989). Bu hali ile solüsyon şişelendi ve kullanılabildiği kadar buzdolabında saklandı (Oftalmik MAE Ars Arthro Biyoteknoloji ANKARA firmasından temin edildi).

2.5. Eye Platelet Rich Plasma (E-PRP) Damla Hazırlanması

Yanık oluşturmadan 7 gün önce hayvanların *v. auriculus marjinalis*'inden steril koşullar altında 10 ml kan 2 ml 'lik %3,2 sodyum sitrat (pıhtılaşmayı önlemek için) içeren tüplere (2 ml, Vacuetta, Austria) (Resim 2.2). Tüpler ışığa maruz kalmaması için alüminyum folyaya sarıldı ve santirüj edilmeden önce trombositlerin kümeleşmesini en aza indirmek için 30 dakika karıştırıcıya (Shaker-Rocker MR-12, BioSan, UK) konuldu (Resim 2.3).

E-PRP hazırlanması esnasında tüm işlemler steril koşullar altında gerçekleştirildi. Sodyum sitratlı tüplerdeki kan dakikada 23 °C, 300 G'de 10 dakika santrifüj (NF 800R, Nüve, Türkiye) edildi (Donatti vd., 2013) (Resim 2.4). Santrifüj sonrası plazmanın %90 kısmı son ürün olarak toplandı ve kullanıldı (Resim 2.5, 2.6). Trombosit miktarları kliniğimizde bulunan tam otomatik kan sayım cihazında (HumaCount 80TS, Vet Mode, Germany) ölçüldü.



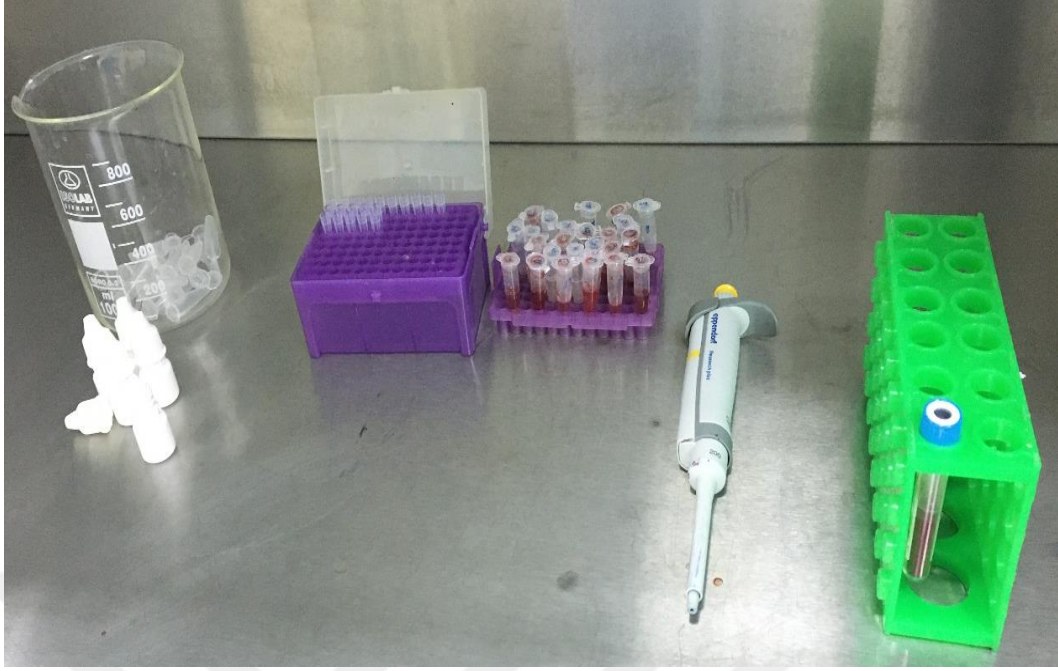
Resim 2.2: E-PRP için kan toplanması. *Vena auricularis marginalis* punksiyonu



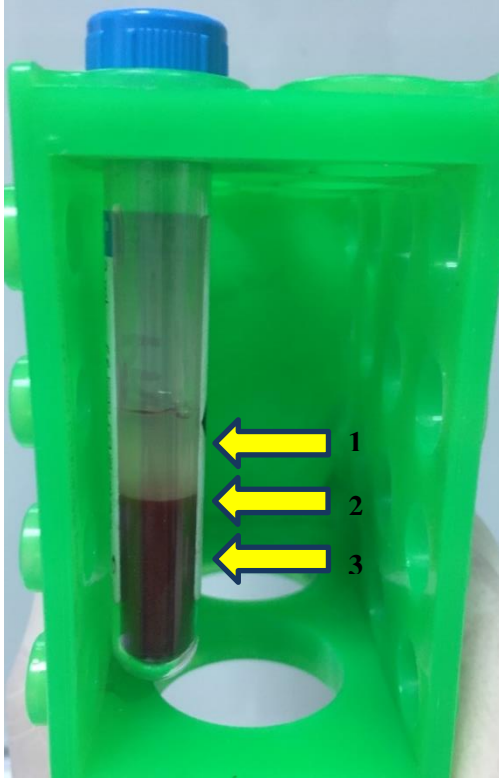
Resim 2.3: Pıhtılaşmanın önlenmesi için tüplerin karıştırıcıya yerleştirilmesi



Resim 2.4: Santrifüj cihazı



Resim 2.5: E-PRP'lerin hazırlanması, şişelenmesi



Resim 2.6: Santrifüj sonrası plazmanın fraksiyonları

(1. Trombositten fakir plazma, 2. Trombositten zengin plazma, 3. Alyuvar hücreleri)

Toplanan E-PRP örnekleri -20 °C'de muhafaza edildi. Uygulamada kullanılmak üzere 3-4 ml E-PRP, göz damlası aplikatörlerine sahip yeni, sterilize edilmiş 10 ml'lik amber cam şişelere konuldu ve +4 °C'de 7 gün saklandı ve bu süre dolduktan sonra atıldı (Alio vd., 2012).

E-PRP de PDGF seviyesinin ELISA ile ölçümü: E-PRP'de PDGF seviyeleri Rabbit PDGF-BB ELISA Kit (Kat. No. E0024Rb, Bioassay Technology Laboratory, China) kullanıldı ve firmanın kataloğundaki talimatlara göre ELISA okuyucuda (Thermo Scientific, Multiskan Go Spectrophotometer w/ cuvette, USA) ölçüm yapıldı.

E-PRP'lerin -80, -20, +4 ve 0 °C'deki PDGF-BB düzeyleri standart değerlere dördüncü dereceden polinom fit standart eğrisine göre ölçüldü. Standart eğrisi ve numune ölçümleri CurveExpert 1.3 yazılımı kullanılarak yapıldı.

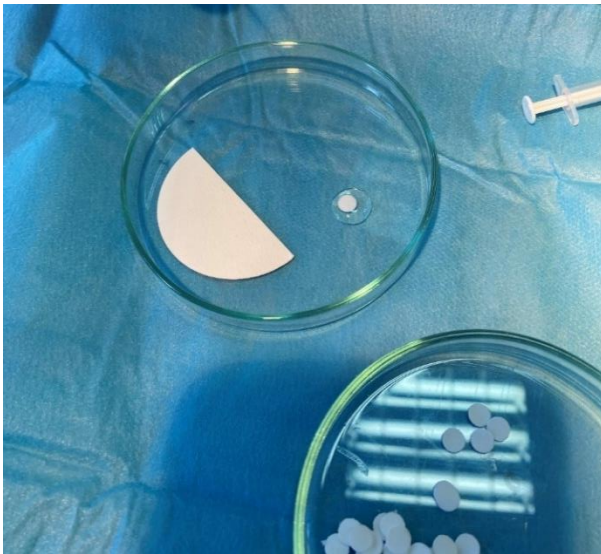
2.6. Deneysel Alkali Kornea Yanık Modeli

Tavşanların ortama alışmaları için 1 hafta beklendi (Yoeruek vd., 2008) ve deney öncesi tüm tavşanların göz muayeneleri taşınabilir yarık lamba biyomikroskopisi (Shin-Nippon XL-1, Japan) ile yapılarak kornealarının sağlıklı olduğu belirlendi.

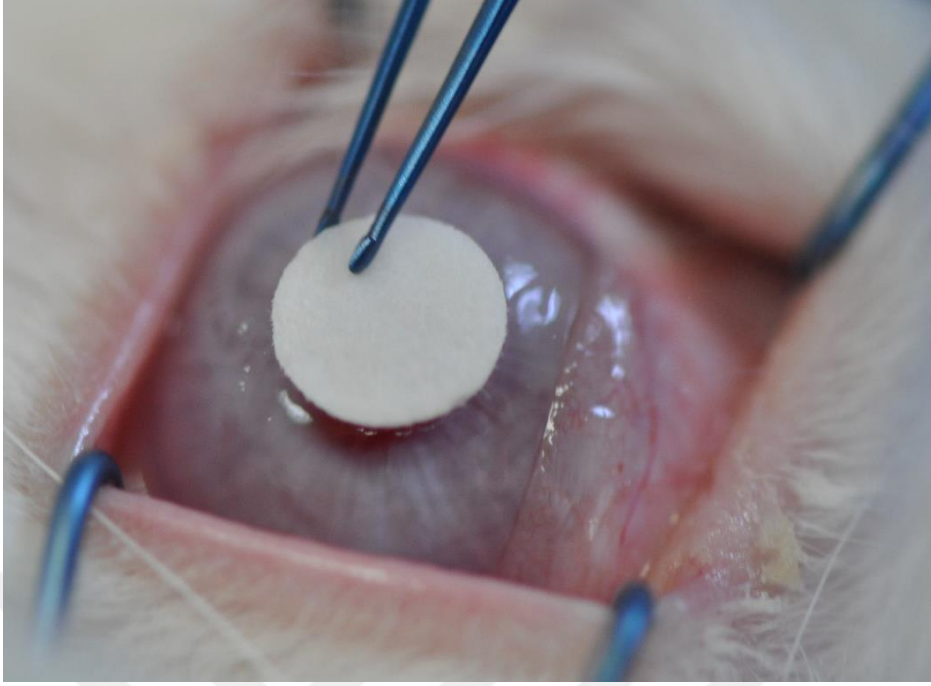
Hayvanların anestezisi; intramusküler yoldan verilen 5 mg/kg dozunda Ksilazin HCl (Rompun %2 Enjeksiyonluk Çözelti, Bayer, ABD) ve 35 mg/kg dozundaki Ketamin HCl (Ketasol %10 Enejksiyonluk Çözelti, İnterhas, Ankara) ile sağlandı. Hayvanların sağ gözlerine 2 damla lokal anestetik Proparakain HCl (Alcaine %0,5, Alcon, Belçika) (Kompa vd., 2005) damlatıldı. Tavşanlarda anestezinin derinliğinin belirlenmesinde genellikle palpebral, korneal, pedal ve pinna refleksinin varlığı/yokluğu değerlendirilir. Pinna refleksinin (sıkıştırma kuvvetine yanıt olarak kulağın hareket etmesi) anestezinin derinliğinin en doğru ölçüsü olduğu ve bunu

sırasıyla pedal reflkes, kornea ve palpebral reflekslerin izlediği yaygın olarak kabul edilmektedir (Borkowski vd., 1990; Lipman vd., 1997). Hayvanların anestezi derinliği pinna, pedal, korneal ve palpebral refleks kontrol edilerek değerlendirildi (Wenger, 2012) ve ağrı duyumunun olmadığı tespit edilince kornealarda yanık oluşturma işlemine başlandı (Anderson vd., 2014).

Üç numara Whatman filtre kâğıdından 6 mm çaplı punch biyopsi aleti kullanılarak 6 mm çaplı diskler elde edildi. Bu diskler 1 N NaOH (pH:13,6) içinde 30 saniye bekletilerek 1 N NaOH emdirildi (Resim 2.7). Otuz saniye sonunda diskteki fazla sıvı kuru filtre kâğına sürölerek fazlalık uzaklaştırıldı. Tel göz spekulumu kullanarak sağ göz kapakları açılarak kornea yanık oluşturmak için hazır hale getirildi. NaOH emdirilmiş diskler steril penset kullanılarak kornea merkezine 60 saniye boyunca bırakıldı (Ormerod vd., 1989; Yang vd., 2010) (Resim 2.8). Süre sonunda NaOH emdirilmiş disk kaldırıldı ve yanık oluşturulduktan hemen sonra gözler 20 ml fosfat tamponlu tuz özeltisi (PBS) (Kompa vd., 2005) ile 1 dakika boyunca yıkandı. Korneada yanık oluşturulduktan ve 20 ml PBS ile irrigasyon yapıldıktan sonra kornea pH'sı lateral inferior fornikse yerleştirilen Litmus kağıdı ile ölçüldü (Resim 2.9) (Hamill vd., 2013).



Resim 2.7: NaOH emdirilmiş disklerin görünümü



Resim 2.8: NaOH emdirilmiş diskin kornea merkezine yerleştirilmesi



Resim 2.9: Litmus kağıdı ile pH ölçümü

2.7. Ajanların Uygulanması

Hayvanların sağ gözlerine ilaçlar 6 hafta boyunca; 08.00 ile 21.00 saatleri arası (Pfister vd., 1978) 4 kez uygulandı. Hayvanlar tavşan tespit aparatına yerleştirildikten sonra (Polycarbonate Rabbit Restrainer, PY2 52-6673, Harvard Apparatus, US), Grup II'deki hayvanlara gentamisin göz damlası (Genta %0,3, Menarini, İtalya) Grup III'teki hayvanlara E-PRP damla, Grup IV'teki hayvanlara OMAE damla, Grup V'teki hayvanlara E-PRP ve gentamisin göz damlası, Grup VI'daki hayvanlara OMAE ve gentamisin göz damlası ve grup I'deki hayvanlara hiçbir ilaç uygulaması yapılmayarak yanık oluşturulmayan sol gözleri normal göz dokusu ve normal humor aköz yönünden negatif kontrol grubu olarak değerlendirildi. Aynı göze uygulanacak farklı damlalar; uygulanan ilk damlanın yeterince emilmesi ve dilüsyon faktörünü azaltmak için Grup V ve VI'daki hayvanlara önce gentamisin sülfat göz damlası ve takiben yaklaşık 30 dakika sonra Grup V'teki hayvanlara E-PRP ve Grup VI'daki hayvanlara OMAE damla uygulandı (Resim 2.10) (Bohigian ve Foster, 1977). Gruplara ilişkin bilgiler Çizelge 2.3'te belirtilmiştir.



Resim 2.10: Tavşanların tespit aparatına yerleştirilmesi ve ajanların uygulanması

Çizelge 2.3: Deney grupları, gruplara uygulanan ajanlar ve yapılan işlemler

	Grup No	n	Uygulanan Ajan (60 µl)	Uyg. Sıklığı/ Saati	Muayene [#]		Kan alınma ¹ zamanları	Humor aköz alınma ¹ zamanları
					1. hafta	2.-6. hafta		
Çalışma (Deney) Grupları	I*	7	-	-	İki Günde Bir	Üç Günde Bir	0. gün 3. hafta 6. hafta ⁺	0. gün 6. hafta
	II	7	Gentamisin damla	Günde 4 kez (08:00-21:00)	İki Günde Bir	Üç Günde Bir	0. gün 3. hafta 6. hafta	0. gün 6. hafta
	III	7	E-PRP damla	Günde 4 kez (08:00-21:00)	İki Günde Bir	Üç Günde Bir	0. gün 3. hafta 6. hafta	0. gün 6. hafta
	IV	7	OMAE damla	Günde 4 kez (08:00-21:00)	İki Günde Bir	Üç Günde Bir	0. gün 3. hafta 6. hafta	0. gün 6. hafta
	V	7	E-PRP + Gentamisin damla	Günde 4 kez (08:00-21:00)	İki Günde Bir	Üç Günde Bir	0. gün 3. hafta 6. hafta	0. gün 6. hafta
	VI	7	OMAE + Gentamisin damla	Günde 4 kez (08:00-21:00)	İki Günde Bir	Üç Günde Bir	0. gün 3. hafta 6. hafta	0. gün 6. hafta

* : Grup-I: Bu grupta yer alan hayvanların kornealarında yanık oluşturuldu ve herhangi bir ajan uygulanmadı. Bu gruptaki hayvanların sol gözleri sağlıklı kontrol grubu olarak kullanıldı (Sağgöz vd., 2018).

: Yarık Lamba Biyomikroskopisi Direkt Oftalmoskopi, Tonometri, Schirmer-I testi, Fluorescein boyama.

¹ : Tüm muayeneler araştırmacı tarafından yapıldı. Kan ve humor aköz numuneleri de aynı araştırmacı tarafından alındı.

⁺ : Çalışmanın sonlandırıldığı gün.

⁺⁺ : Ajanların uygulaması günde 4 kez olmak üzere; 1. uygulama Saat 08.00'de, 2. uygulama Saat 12.20'de, 3. uygulama Saat 16.40'da, 4. uygulama saat 21.00'da yapıldı.



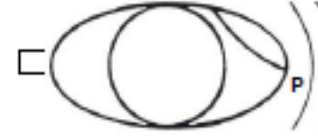
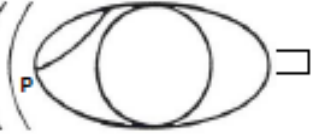
2.8. Klinik Muayene ve Değerlendirme

Klinik muayene bulguları muayene formuna kaydedildi (Resim 2.11). Makroskopik muayene günde 1 kez her gün yapıldı (He vd., 2006).

Tavşan Göz Muayene Formu

Tarih: _____ Grup: _____
Ağırlık: _____ Olgu no: _____

Uyg. Saati: 08:00 12:20 16:40 21:00

	Sağ	Sol	Sağ Göz	Sol Göz
PLR				
Direkt				
Palpebral				
Corneal				
IOB (mmHg)				
STT (mm/dk)				
Fluorescein				
Yank lamba biyomikroskopisi IOP (mmHg) Direkt oftalmoskopi				

☆ Göz içi basınç ölçümü, Direkt oftalmoskopi, Yank lamba biyomikroskopisi ilk 7 gün 2 günde bir, sonraki haftalarda 3 günde bir kez yapılacaktır. Fluorescein boyama ve Schimer-I testi ilk 7 gün 2 günde bir, sonraki haftalarda 3 günde bir kez yapılacaktır.

Korneal opasite	Damarlaşma	Korneal ödem
0 Tamamen net, bulanıklaşma yok.	0 Yok.	0 Yok.
1 Hafif bulanık, iris ve pupilla kolaylıkla görülebilir.	1 Mikroskop altında görülür.	1 Az.
2 Hafif bulanık, iris ve pupilla hala ayırt edilebilir.	2 Mikroskop altında kolay görülür.	2 Ciddi
3 Opak, pupilla zorlukla fark edilebilir.	3 Mikroskop olmadan görülür.	
4 Tamamıyla opak ve pupilla görülemez.		

Makroskopik muayene (Her gün) 18:00

Kornea Epitelinde Defekt			
Öliserasyon			
Perforasyon			
Vaskülarizasyon			
Akıntı			

Kan Muayeneleri 0. Gün 3. Hafta 6. Hafta

Humor Aköz Muayeneleri 0. Gün 6. Hafta

Resim 2.11: Muayene formu

Tüm gözler, kornea epitelinde defekt, ülserasyon, perforasyon, vaskülarizasyon ve akıntı yönünden kontrol edildi. Korneadaki yanık yarası çapı ve büyüklüğü fluorescein boyama, direkt oftalmoskopi ve yarık lamba biyomikroskopisi ile ölçüldü. Göz içi basınç ölçümü (Tonovet) (RBT, Icare VET, Helsinki, Finland), Direkt oftalmoskopi (plusMED, 6040-40-51/097, Pakistan), yarık lamba biyomikroskopisi (Shin-Nippon XL-1, Japan) (Resim 2.12) ilk 7 gün 2 günde bir; sonraki haftalarda 3 günde bir kez yapıldı (He vd., 2006).

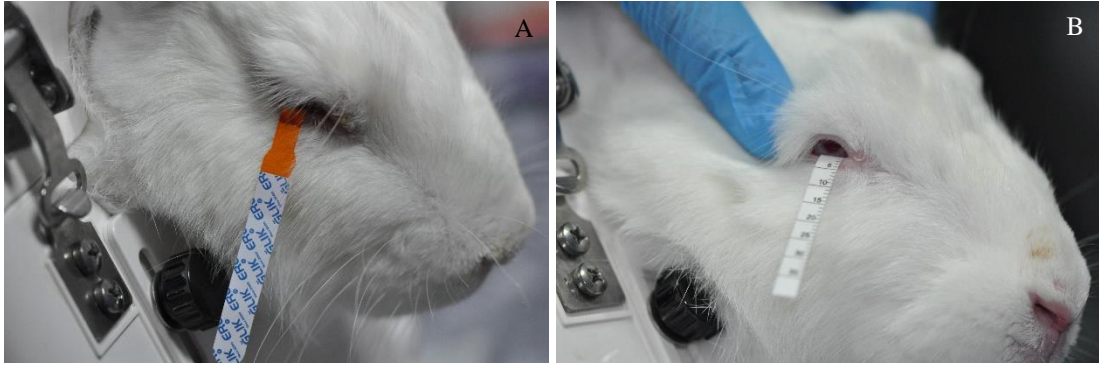


Resim 2.12: Çalışmada kullanılan Direkt oftalmoskopi (plusMED, 6040-40-51/097, Pakistan), Rebound tonometre (Tonovet) (RBT, Icare VET, Helsinki, Finland), Yarık lamba biyomikroskopisi (Shin-Nippon XL-1, Japan)

Fluorescein (ERC, Türkiye) boyama ve Schirmer-I testi (ERC, Türkiye) (Resim 2.13, Resim 2.14) ilk 7 gün 2 günde bir; sonraki haftalarda 3 günde bir kez yapıldı. Yanık yaralarının fotoğrafları dijital kamera (Nikon, D90 Japan) ile çekildi. Yara boyutu ölçümü imageJ (Imagej, Scion Corp., Frederick, MD, USA) programı ile gerçekleştirildi (Yang vd., 2010).



Resim 2.13: Fluorescein boya (ERC, Türkiye) ve Schirmer-I testi (ERC, Türkiye)



Resim 2.14: A: Fluorescein boya uygulaması, B: Schirmer-I testinin uygulanması

Korneal Opasite 0-4 (Çizelge 2.4), Damarlaşma 0-3 (Çizelge 2.5) ve Ödem 0-2 (Çizelge 2.6) değerleri arasında skorlandı (Yoeruek vd., 2008).

Çizelge 2.4: Korneal opasite skollama skalası

Puan	Görünüm
0	Tamamen net, bulanıklaşma yok
1	Hafif bulanık, iris ve pupilla kolaylıkla görülebilir
2	Hafif bulanık, iris ve pupilla hala ayırt edilebilir
3	Opak, pupilla zorlukla fark edilebilir
4	Tamamıyla opak ve pupilla görülemez

Çizelge 2.5: Damarlaşma skalası

Puan	Görünüm
0	Damar yok
1	Damarlar mikroskop altında görülebilir
2	Damarlar mikroskop altında kolaylıkla görülebilir
3	Damarlar mikroskop olmadan görülür

Çizelge 2.6: Ödem düzeyi

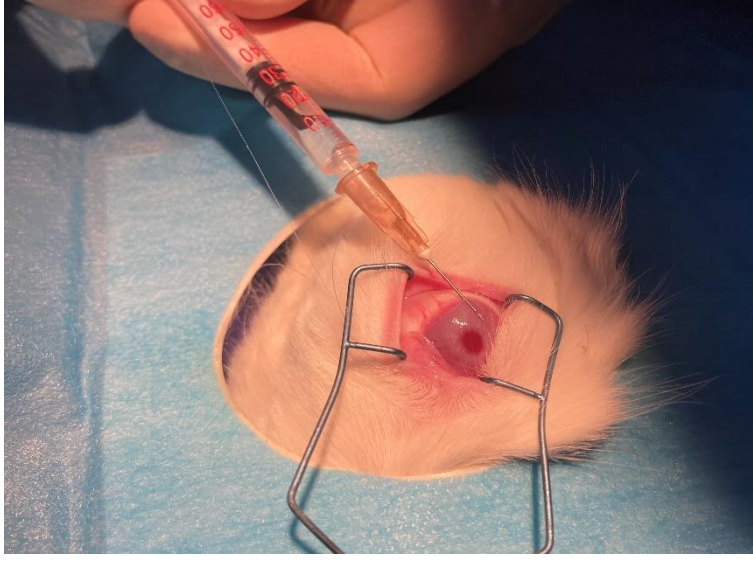
Puan	Görünüm
0	Yok
1	Az miktarda ödem var
2	Ciddi derecede ödem var

2.9. Hematolojik ve Biyokimyasal İncelemeler

Çalışmadaki tüm hayvanların kornealarında yanık oluşturulan gün 0. gün kabul edildi; 0. günde, 21. gün ve çalışma sonlandırıldığında (42. gün) tavşanların kulak venasından (*v. auricularis marginalis*) kan alınarak antikoagülanlı (EDTA) tüpe konularak hemogram (tam kan sayımı; WBC, LYM, GRA, RBC, Hb, HCT, Plt) ölçümü (HumaCount 80TS, Vet Mode, Germany) yapıldı.

Aynı şekilde alınan kanlar herhangi bir antikoagulan madde içermeyen tüplere konularak santrifüj edildikten sonra alınan serum örnekleri üçer adet 200 µl olacak şekilde alikotlara konularak topikal uygulanacak olan ajanların (gentamisin sülfat, E-PRP ve özellikle OMAE) karaciğer ve böbrek enzimleri üzerine herhangi bir toksikasyona sebep olup olmayacağını ortaya koymak amacıyla rutin serum biyokimyası testleri (BUN, Kreatinin, AST, ALT, GGT, yapılmak üzere -80 °C'de (Panasonic, MDF-U700VX, Japan) saklandı.

Sağlıklı tavşanların sağ ve sol gözlerinin humor aköz bileşenleri aynı olduğundan (Kinsey, 1951), yanık oluşturulmadan hemen önce tavşanların sol gözlerinden (sağ gözde yanık oluşturulacağından iyileşme etkilenmemesi için) ve çalışma sonlandırıldığı gün tavşanların yanık oluşturulan sağ gözlerinin limbal bölgesinden 27 G iğne takılmış insülin enjektörü ile parasentez yapılarak yaklaşık 150-200 µl humor aköz örnekleri toplandı (Resim 2.15). Alınan humor aköz örnekleri iki adet mikrosantrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra etiketlenerek -80 °C'de saklandı. Humor aköz örneklerinde TAS ve TOS ölçümleri ELISA kit prosedürüne uygun şekilde gerçekleştirildi (Bashkaran vd., 2011).



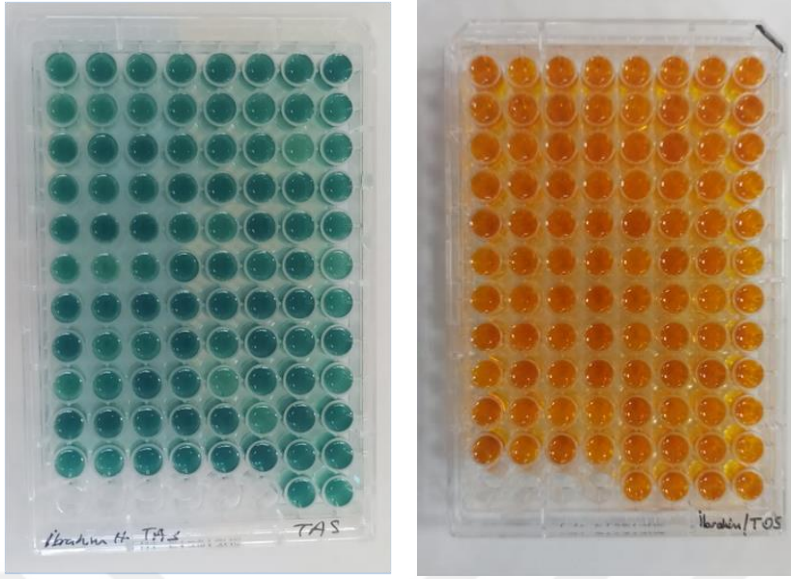
Resim 2.15: Humar aköz örneklerinin toplanması

- **Humor aköz TAS düzeylerinin ölçümü**

Humor aközde TAS ölçümü Rel Assay Diagnostics marka Total Antioxidant Status Assay Kiti ile yapıldı (Mega Tıp San ve Tic Ltd Sti, Sahinbey/Gaziantep/TURKEY). Absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında gerçekleştirildi (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar mmol Trolox Equiv./L prt olarak verildi (Resim 2.16).

- **Humor aköz TOS düzeylerinin ölçümü**

Humor aközde TOS ölçümü Rel Assay Diagnostics marka Total Oxidant Status Assay Kiti ile (Mega Tıp San ve Tic Ltd Sti, Sahinbey/Gaziantep/TURKEY), absorbans okuması ChemWell 2910 marka elisa okuyucu cihazında yapıldı. (Awareness Technology, Inc. Martin Hwy. Palm City, USA). Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L prt olarak verildi (Resim 2.16).



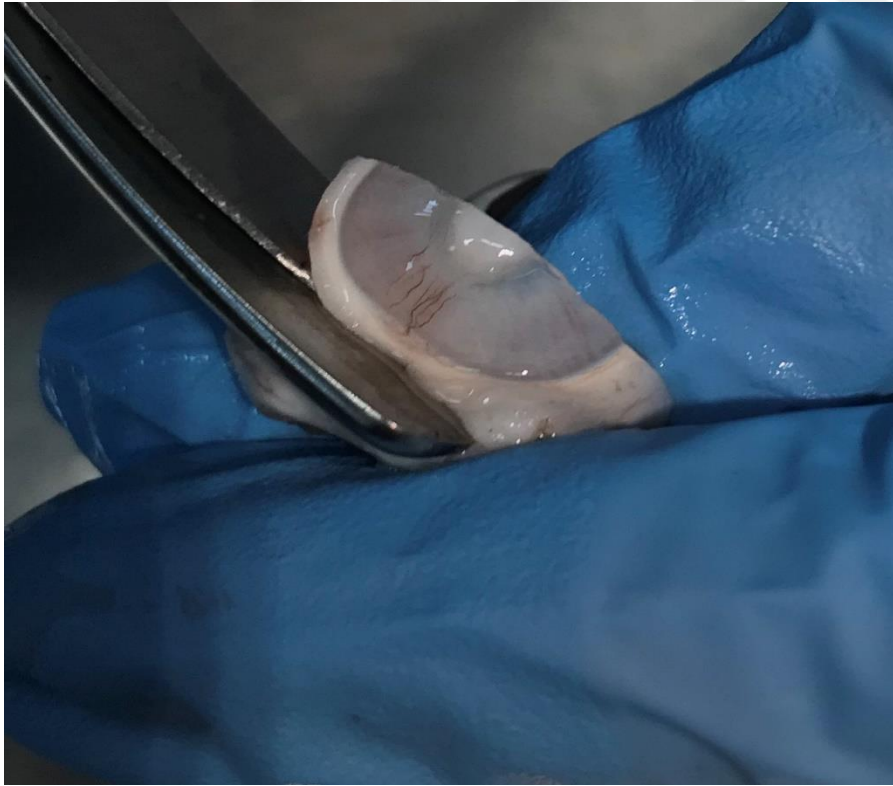
Resim 2.16: Humor aköz örneklerinin bulunduğu 96 kuyucuklu plate.

2.10. Patolojik İncelemeler

Altıncı haftanın sonunda hayvanlar yüksek doz anestezi (pentobarbital sodyum 125 mg/kg, intravenöz) madde kullanılarak sakrifiye edildi (Bashkaran vd., 2011). Hayvanların gözlerine enükleasyon uygulandı (Resim 2.17) ve korneaları histopatolojik incelemeler için alındı (Resim 2.18) (Kompa vd., 2005).



Resim 2.17: Enükleasyon uygulanmış göz



Resim 2.18: Kornea dokusunun histopatolojik muayeneler için küçültülmesi

2.10.1. Histopatolojik Yöntem

Alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonuna konuldu. Kırk sekiz saat tamponlu nötral %10'luk formalin solüsyonunda tespitinden sonra doku takip işlemi gerçekleştirildi. Dokular parafin bloklara alınarak 4-5 µm kalınlığında normal ve adhesivli lamlara kesitler alındı. Normal lamlar Hematoksilen-Eozin (HE) yöntemiyle boyanarak ışık mikroskopunda genel olarak incelendi.

2.10.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

Alınan dokular nötral tamponlu formalin solüsyonunda 48 saat süre ile tespit edildi. Rutin doku takibi yapılarak parafinde bloklandı. Yapıştırıcı ile kaplanmış lamlara kesitler alındı. Bu kesitler 2 saat süreyle 59 °C'de etüvlenerek immunohistokimyasal teknik ile boyanmaya hazır hale getirildi. Bu amaçla avidin biotin kompleks-peroksidaz (ABC) yöntemi kullanıldı. Ksilen serilerinden geçirilerek lamlar deparafinize edildi. Peşi sıra büyük dereceli alkolden başlayıp küçük dereceli alkole doğru, alkol serilerinden geçirilerek rehidrasyon yapıldı. Endojen perkoksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, 15 dakika boyunca, metanol içinde %3'lük hidrojen peroksit maruz bırakıldı. Distile sudan geçirildi. 30 dakika boyunca pH 6,0 Sitrat bufferda mikrodalga kullanılarak kaynatıldı.

Lamlara primer antikor damlatılmadan önce, nonspesifik bağlantıları ortadan kaldırmak amacıyla serum damlatıldı. Daha sonra serum döküldü ve yıkanmadan primer antikorlar; fare anti-VEGF (sc-152, Santa Cruz Biotechnology, US) ve fare anti-MMP-9 (ab58803, Abcam, Cambridge, GB) damlatılarak kesitler 3 saat boyunca 25 °C oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Bunun ardından biotinli anti-fare antikor

(Vectorlab, BA-2000) kesitlere damlatılıp oda ısısında 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda yeniden kesitler PBS solüsyonu ile 3 dakika 2 kez yıkandı.

Kesitler nemli kamarada tutulmaya devam edilirken bu kez avidinli peroksidaz içeren solüsyon (TA-125-UDX, UltraVision Polyvalent HRP Kit, LabVision/ThermoScientific-US) damlatılıp, tavşan antikoru ile birleşen biotine avidinin bağlanması sağlandı. Oda ısısında bir saat inkübe edilip tekrar PBS solüsyonu ile üç dakika iki kez yıkandı. Kontrol amacı ile ekstra alınan kesitlere primer ve sekonder antikorumların yerine keçi ve tavşan serumu damlatıldı. Peroksidaz enzimini de renkli bir peroksidaz substratı olan AEC kromojeni (TA-125-HA, Thermo-Scientific) ile renklendirmek amacı ile damlatılıp 20 dakika tüm enzim uçları kapatılıncaya kadar inkübe edildi. Lamlar distile su ile yıkandı. Bunun arkasından zemini boyamak amacı ile alkol içermeyen Gill's (III) hematoksilini hazırlanıp lamlar bu solüsyonda 60 saniye boyandı. 20 dakika akan çeşme suyunda yıkandı. Distile suya alındı. AEC alkolde çözüdür olduğundan su bazlı yapıştırıcı damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Elde edilen boyanmış lamlar kuruması için oda ısısında bir gün karanlıkta bekletilip akabinde incelemeye alındı. Işık mikroskopunda ve görüntüleme sisteminde (Ziess Lab.A1- AxioCam ICc 5, Zen 3.1) incelendi.

2.11. İstatistiksel analizler

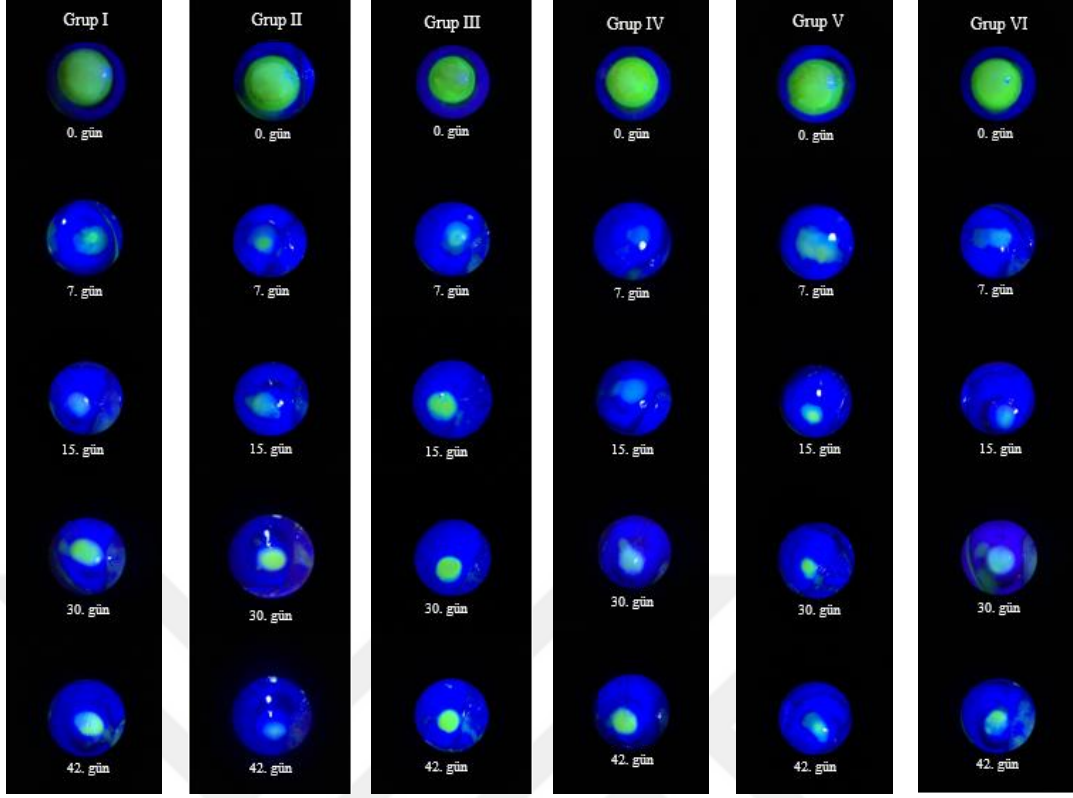
Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 18.0 for Windows paket programında analiz edildi. Enfeksiyon verileri frekans yüzde dağılımı ile sunuldu. Ayrıca gruplara göre One Way ANOVA varyans analizi zamanlara göre karşılaştırılması ise tekrarlı ölçümler için varyans analizi uygunlandı. Varyans analizi sonucunda gruplar ya da ölçümler arasındaki farklılıkların kaynağını ortaya koymak için çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testi uygulandı. Ayrıca çalışmada PDGF-BB açısından tüm gruplar Shapiro-wilk testi ile normalite açısından değerlendirildi.

3. BULGULAR

Yapılan bu çalışmada Yeni Zelanda tavşanlarında deneysel alkali yanık oluşturulduktan sonra göze topikal olarak damlatılan Gentamisin sülfat (kimyasal), E-PRP (biyolojik) ve OMAE (bitkisel) ajanlarının kornea yanığı iyileşmesi üzerine etkileri klinik, hematolojik ve biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal muayeneler yapılarak değerlendirilmiş ve elde edilen bulgular sunulmuştur.

3.1. Klinik Muayene Bulguları

Tavşanların kornealarına yanık oluşturulan gün 0. gün olarak belirlendi. Tüm gözler 0. gün fluorescein boya ile boyandı ve fotoğrafları çekildi yara boyutlarının tüm gruplarda benzer olduğu görüldü (Resim 3.1). Yanık oluşturulduğunda tüm deneklerde, epifora, blefarospazm, fotofobi ve NaOH emdirilmiş disk kaldırıldıktan sonra merkezde kenarları belirgin bir opaklık şekillendi. PBS ile yapılan irrigasyon sonrası ödem miktarında artış olduğu görüldü. Grup V'teki 5. hayvan çalışmanın 14. gününde sebebi bilinmeyen bir şekilde ex oldu. Çalışmanın 18. gününde oftalmoskop ve yarık lamba biyomikroskopu ile yapılan muayenede Grup IV'teki 7 numaralı denekte anterior üveitis, hipopion ve blefaritis saptandı. İki gün sonra adı geçen deneğin bu bulguları ortadan kalktı. Tüm gruplarda tekrarlayan erozyonlar karşılaşılma sıklığı çoktan aza doğru sırasıyla Grup II, Grup I, Grup V, Grup III, Grup IV ve Grup VI'da şekillendi. Bütün gruplarda çalışmanın ilk 4 gününde opasitelerin merkezinde berraklaşma şekillendi. Bu şeffaflığın birkaç gün sonra tamamen opaklaştığı gözlemlendi.



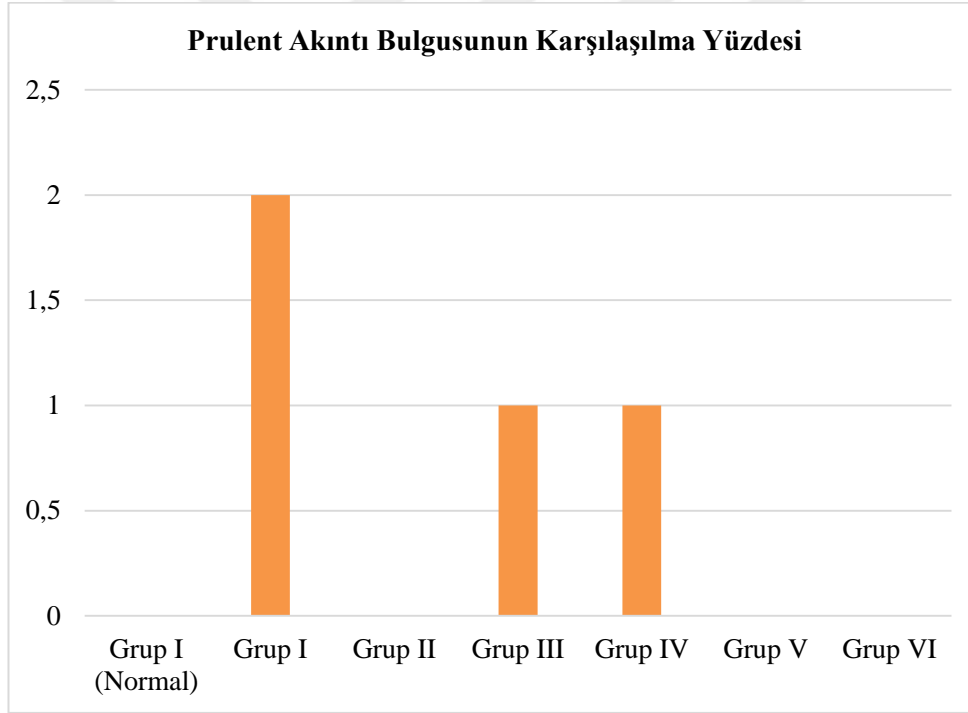
Resim 3.1: Grupların fluorescein boyama görüntüleri

Gruplardaki purulent akıntı bulgusunun karşılaşımla yüzdesi Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1’de verildi. Çalışma süresi boyunca yapılan makroskopik muayenelerde purulent akıntı bulgusuna Grup I (Kontrol), Grup III (E-PRP) ve Grup IV’te (OMAE) rastlandı. Diğer gruplarda purulent akıntı bulgusuna rastlanmadı.

Çizelge 3.1: Gruplardaki prulent akıntı bulgusunun karşılaştırma yüzdesi

Gruplar	n	%
Grup I (Normal)	0	-
Grup I	2	28,57
Grup II	0	-
Grup III	1	14,28
Grup IV	1	14,28
Grup V	0	-
Grup VI	0	-

n: hayvan sayısı, %: Yüzde



Şekil 3.1: Gruplardaki prulent akıntı bulgusunun karşılaştırma yüzdesi

Göz içi basıncının (GİB) grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.2 ve Şekil 3.2’de verildi. GİB değeri için 24. 36. ve 42. günde anlamlı farklılıklar görülürken ($p<0,05$), 0. ve 12. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 12. 24. 36. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Normal) hariç bütün gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklara rastlandı ($p<0,05$). Çalışma süresi boyunca GİB değerlerinin değişim grafiği Şekil 3.3’te sunuldu.

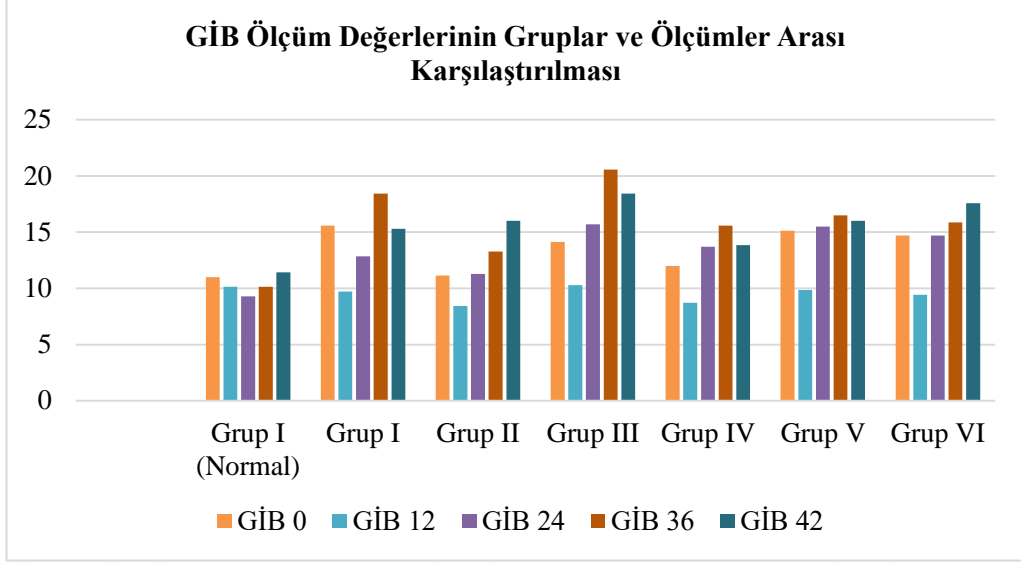
Çizelge 3.2: GİB ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mmHg)

Gruplar	GİB ₀	GİB ₁₂	GİB ₂₄	GİB ₃₆	GİB ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I (Normal)	11,00±1,15 ^B	10,14±1,06	9,29±1,38 ^C	10,14±1,67 ^C	11,43±2,87 ^B	0,209
Grup I	15,57±5,82 ^{Aa}	9,71±1,38 ^c	12,86±3,57 ^{Bb}	18,43±5,22 ^{Aa}	15,29±6,62 ^{Ab}	0,004*
Grup II	11,14±1,34 ^{Bc}	8,43±2,93 ^c	11,29±2,05 ^{Bb}	13,29±3,30 ^{Cb}	16,00±2,00 ^{Aa}	0,000*
Grup III	14,14±1,34 ^b	10,29±1,89 ^c	15,71±1,70 ^{Ab}	20,57±2,87 ^{Aa}	18,43±4,15 ^{Aa}	0,000*
Grup IV	12,00±3,05 ^a	8,71±2,13 ^b	13,71±2,43 ^{Aa}	15,57±4,75 ^{Ba}	13,86±2,41 ^{Ba}	0,003*
Grup V	15,14±3,76 ^{Aa}	9,86±1,46 ^b	15,50±1,22 ^{Aa}	16,50±2,07 ^{Ba}	16,00±3,89 ^{Aa}	0,002*
Grup VI	14,71±2,43 ^a	9,43±3,15 ^b	14,71±1,89 ^{Aa}	15,86±3,43 ^{Ba}	17,57±3,59 ^{Aa}	0,000*
P	0,060	0,604	0,000*	0,000*	0,039*	

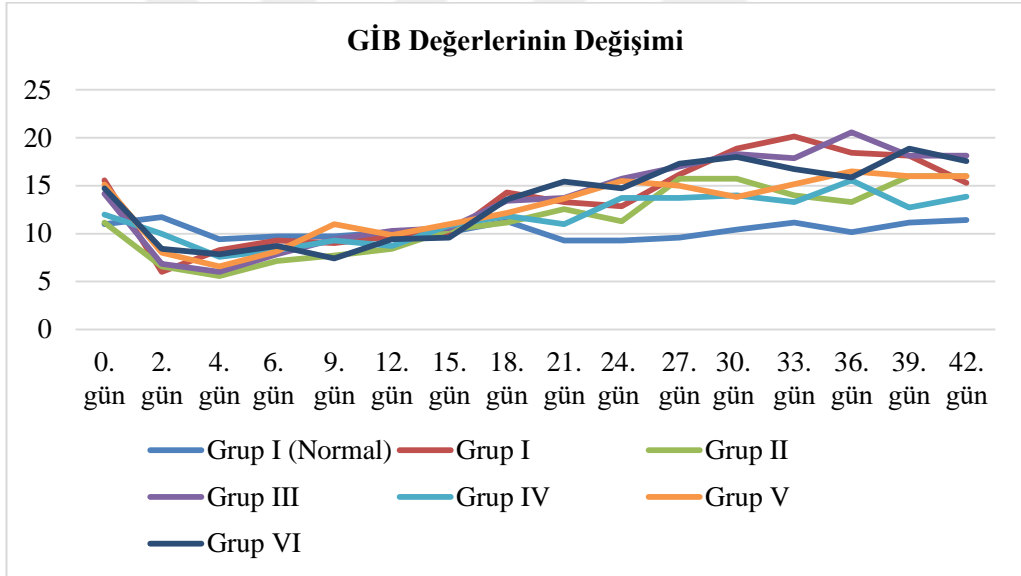
GİB: Göz içi basıncı

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.2: GİB ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği



Şekil 3.3: Çalışma süresi boyunca GİB değerlerinin değişim grafiği

Schirmer gözyaşı testi (STT) sonuçlarının grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.3 ve Şekil 3.4'te verildi. STT değeri için 0. günde anlamlı farklılıklar görülürken ($p<0,05$), 12. 24. 36. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 12. 24. 36. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Normal) hariç bütün gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklara rastlandı ($p<0,05$). STT değerlerindeki çalışma boyunca yapılan muayenelerdeki değişim grafiği Şekil 3.5'te verildi.

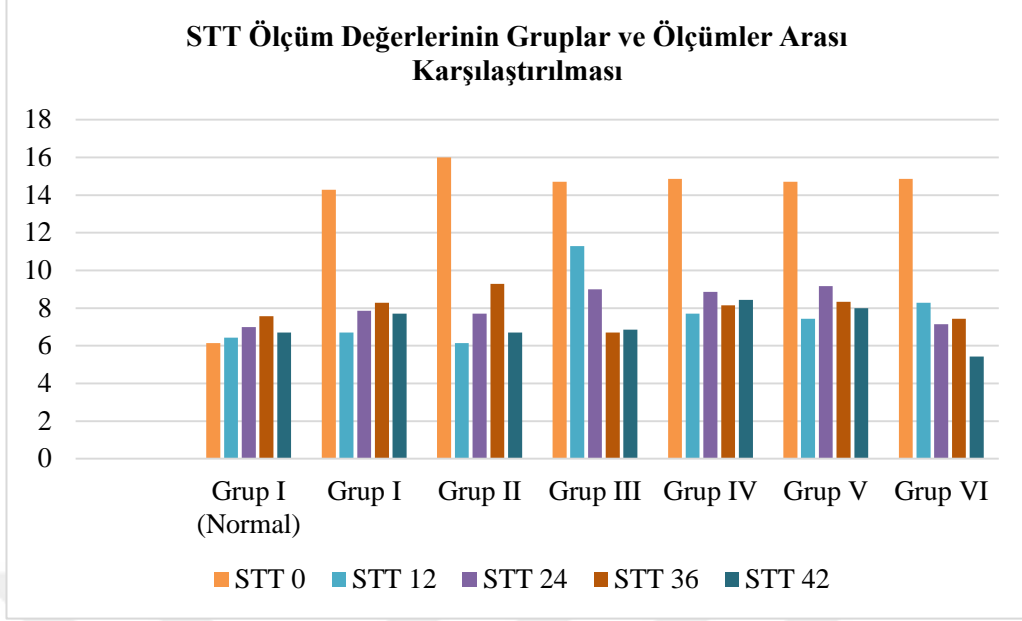
Çizelge 3.3: STT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mm/dk)

Gruplar	STT ₀	STT ₁₂	STT ₂₄	STT ₃₆	STT ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I (Normal)	6,14±0,90 ^B	6,43±2,93	7,00±3,73	7,57±2,37	6,71±2,36	0,806
Grup I	14,29±2,05 ^{Aa}	6,71±1,97 ^b	7,86±3,89 ^b	8,29±1,60 ^b	7,71±2,56 ^b	0,000*
Grup II	16,00±1,82 ^{Aa}	6,14±1,46 ^b	7,71±2,81 ^b	9,29±3,35 ^b	6,71±2,56 ^b	0,000*
Grup III	14,71±1,79 ^{Aa}	11,29±6,21	9,00±3,05 ^b	6,71±2,49 ^b	6,86±1,77 ^b	0,002*
Grup IV	14,86±3,07 ^{Aa}	7,71±3,03 ^b	8,86±2,47 ^b	8,14±2,73 ^b	8,43±4,03 ^b	0,000*
Grup V	14,71±2,05 ^{Aa}	7,43±3,25 ^b	9,17±2,13 ^b	8,33±2,50 ^b	8,00±3,40 ^b	0,000*
Grup VI	14,86±1,95 ^{Aa}	8,29±2,56 ^b	7,14±2,19 ^c	7,43±1,81 ^c	5,43±1,98 ^d	0,000*
P	0,000*	0,108	0,725	0,601	0,489	

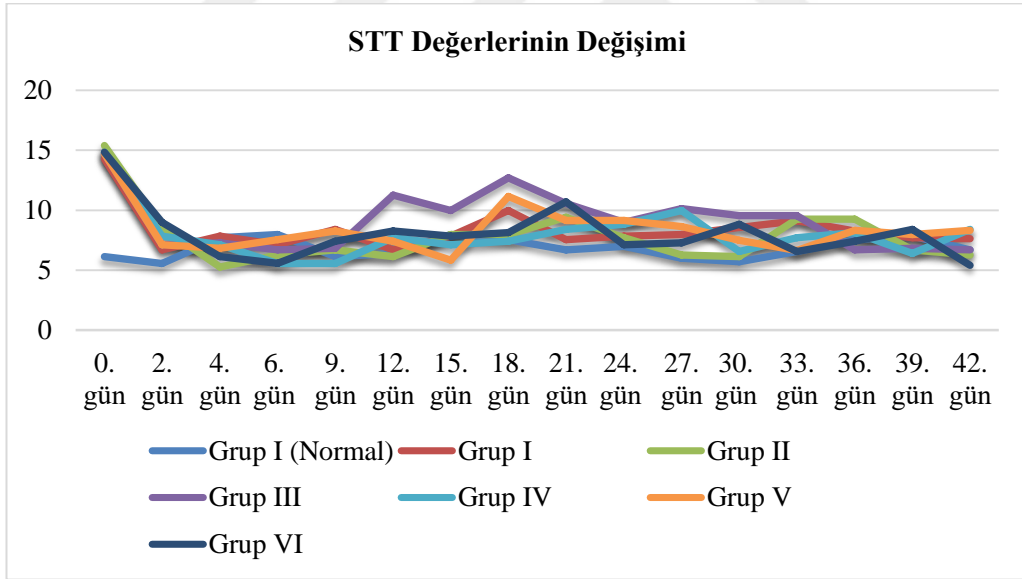
STT: Schirmer tear test (Schirmer gözyaşı testi)

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.4: STT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği



Şekil 3.5: Çalışma süresi boyunca STT değerlerinin değişim grafiği

Korneal damarlaşmanın makroskopik olarak skorlanmasına ilişkin grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.4'te verildi. Damarlaşma değeri için 0. 12. 24. 36. ve 42. günde anlamlı farklılıklar görüldü ($p<0,05$). Her bir grup için 0. 12. 24. 36. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup V (E-PRP+Gentamisin) hariç bütün gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklara rastlandı ($p<0,05$).

Çizelge 3.4: Korneal damarlaşma skorlarının gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması

Gruplar	DAM ₀	DAM ₁₂	DAM ₂₄	DAM ₃₆	DAM ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	0,00±0,00	1,00±0,00 ^B	2,29±0,48 ^{Ab}	3,00±0,00 ^{aA}	3,00±0,00 ^{aA}	0,000*
Grup II	0,00±0,00 ^c	0,00±0,00 ^{cD}	1,14±0,69 ^{bC}	1,71±0,95 ^{aB}	2,14±0,90 ^{aA}	0,000*
Grup III	0,00±0,00 ^b	0,57±0,78 ^{bC}	1,71±1,60 ^{aB}	1,71±1,60 ^{aB}	1,71±1,60 ^{aB}	0,001*
Grup IV	0,00±0,00 ^b	2,71±0,75 ^{Aa}	3,00±0,00 ^A	3,00±0,00 ^A	3,00±0,00 ^A	0,000*
Grup V	0,00±0,00	0,29±0,48 ^C	1,00±1,54 ^B	1,00±1,54 ^B	1,00±1,54 ^B	0,075
Grup VI	0,00±0,00 ^b	2,86±0,37 ^{Aa}	3,00±0,00 ^A	3,00±0,00 ^A	3,00±0,00 ^A	0,000*
P		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	

DAM: Damarlaşma

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

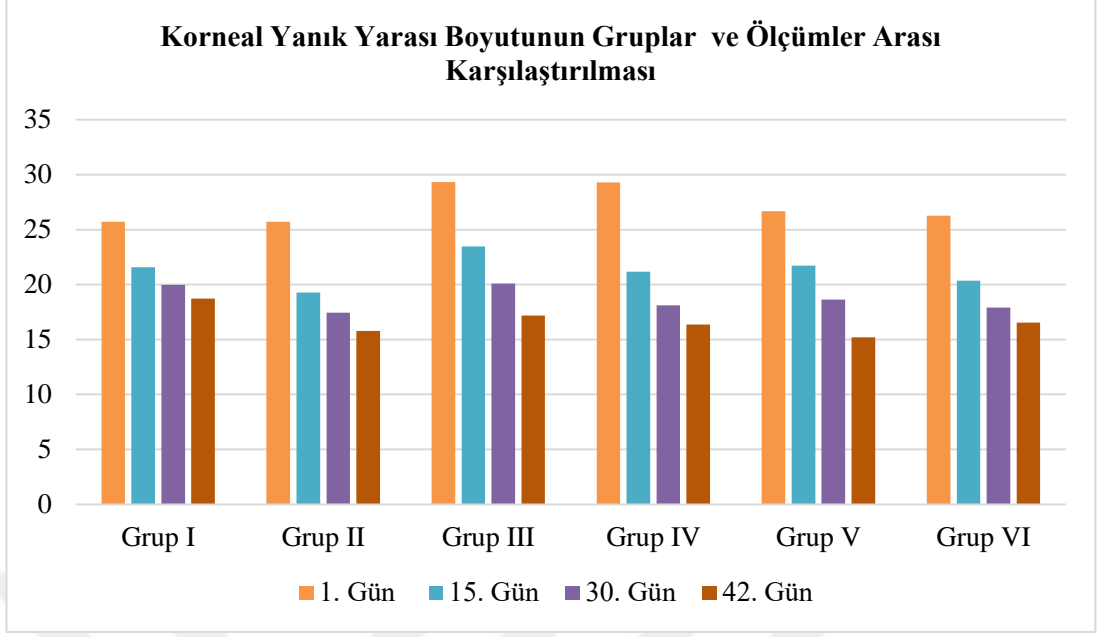
* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.

Kornea yanık yarasının Image J programı ile ölçülmesine ilişkin grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.5'te verildi. Yanık yarasının boyutu için 1. 15. 30. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 1. 15. 30. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde bütün gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklara rastlandı ($p<0,05$). Yanık yarası boyutunun değişimine ilişkin grafik Şekil 3.6'da verildi.

Çizelge 3.5: Korneal yanık yarası boyutunun gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mm^2)

Gruplar	Yara boyutu ₁	Yara boyutu ₁₅	Yara boyutu ₃₀	Yara boyutu ₄₂	P
	$\bar{X}\pm\text{SS}$	$\bar{X}\pm\text{SS}$	$\bar{X}\pm\text{SS}$	$\bar{X}\pm\text{SS}$	
Grup I	25,71±3,10 ^a	21,57±2,59 ^b	19,99±2,80 ^c	18,73±2,65 ^d	0,000*
Grup II	25,73±3,10 ^a	19,27±4,47 ^a	17,44±4,38 ^b	15,79±4,49 ^c	0,026*
Grup III	29,32±4,00 ^a	23,47±2,12 ^a	20,09±1,87 ^b	17,17±2,24 ^c	0,000*
Grup IV	29,30±2,22 ^a	21,17±2,12 ^b	18,10±2,16 ^c	16,36±1,45 ^d	0,000*
Grup V	26,67±3,21 ^a	21,72±3,16 ^b	18,65±3,17 ^c	15,19±1,94 ^c	0,000*
Grup VI	26,27±2,51 ^a	20,37±1,68 ^b	17,92±1,79 ^c	16,54±2,39 ^c	0,000*
P	0,097	0,154	0,393	0,259	

* $p<0,05$ a, b, c, d: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.6: Korneal yanık yarası boyutunun gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

3.2. Hematolojik ve Biyokimyasal Bulgular

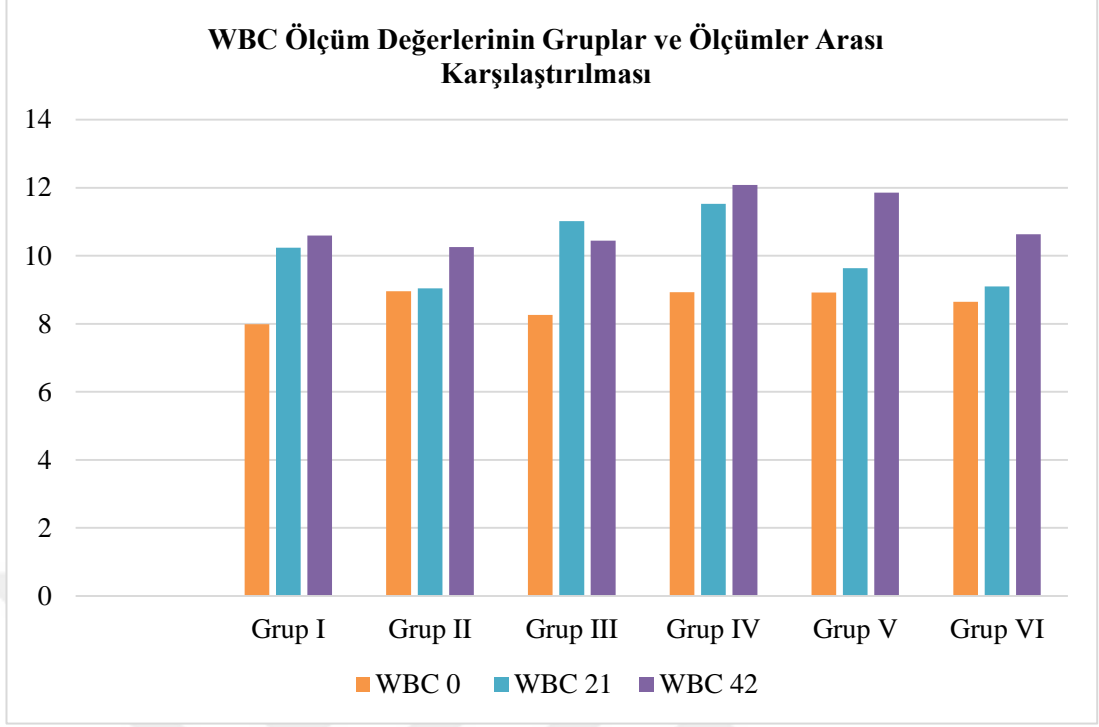
Akyuvar hücre sayısının (WBC) grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.6 ve Şekil 3.7’de verildi. WBC değeri için 0. 21. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol), Grup III (E-PRP) ve Grup IV’te (OMAE) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin WBC değerleri normal referans aralığında olduğu belirlendi (Zimmerman vd., 2010; Moore vd., 2015).

Çizelge 3.6: WBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($10^9/l$)

Gruplar	Wbc ₀	WBC ₂₁	WBC ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	7,99±1,51 ^b	10,24±1,11 ^a	10,60±1,06 ^a	0,000*
Grup II	8,96±3,30	9,04±2,92	10,26±2,69	0,146
Grup III	8,26±1,06 ^b	11,02±1,81 ^a	10,45±1,74 ^a	0,020*
Grup IV	8,93±1,09 ^b	11,53±1,27 ^a	12,08±1,40 ^a	0,000*
Grup V	8,92±2,67	9,64±1,79	11,86±1,56	0,060
Grup VI	8,65±2,16	9,10±1,56	10,63±1,62	0,080
P	0,922	0,092	0,295	

WBC: Akyuvar (Lökosit)

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı farklılıklar vardır.



Şekil 3.7: WBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

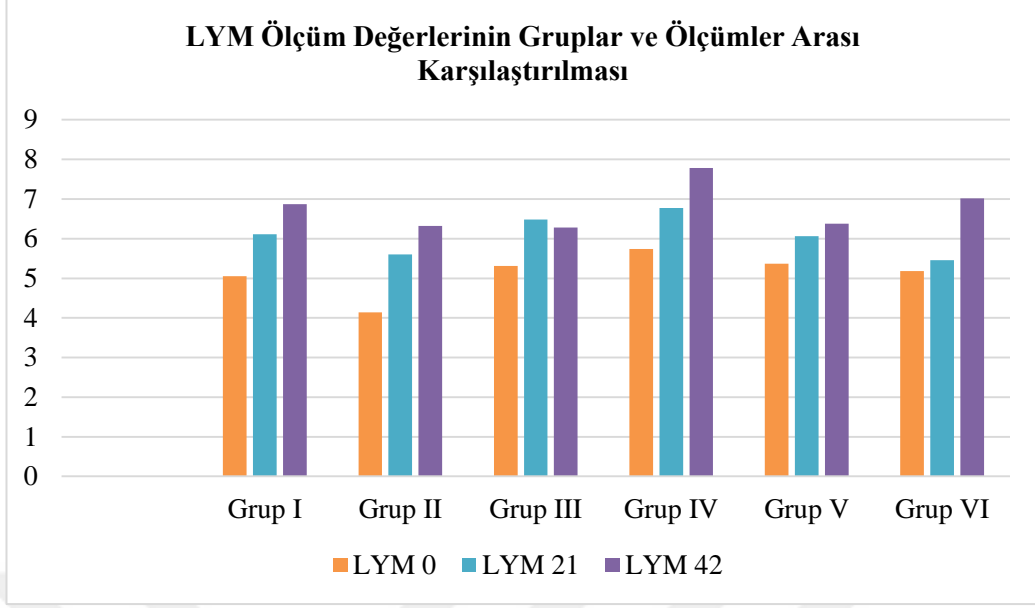
Lenfosit sayısının (LYM) grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.7 ve Şekil 3.8’de verildi. LYM değeri için 0. 21. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol), Grup IV (OMAE), Grup V (E-PRP+Gentamisin) ve Grup VI’da (OMAE+Gentamisin) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin LYM değerleri normal referans aralığındadır (Króliczewska vd., 2018).

Çizelge 3.7: LYM ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($10^9/l$)

Gruplar	LYM ₀	LYM ₂₁	LYM ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	5,05±1,39 ^c	6,11±0,85 ^b	6,87±0,86 ^a	0,000*
Grup II	4,14±2,01	5,60±2,34	6,32±2,07	0,158
Grup III	5,31±0,72	6,48±1,20	6,28±1,35	0,098
Grup IV	5,74±1,40 ^b	6,77±1,75	7,78±1,33 ^a	0,008*
Grup V	5,37±1,53 ^b	6,06±1,55 ^a	6,38±1,25	0,024*
Grup VI	5,18±0,98 ^b	5,46±1,10 ^b	7,02±1,39 ^a	0,008*
P	0,529	0,671	0,405	

LYM: Lenfosit hücreleri

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı farklılıklar vardır.



Şekil 3.8: LYM ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

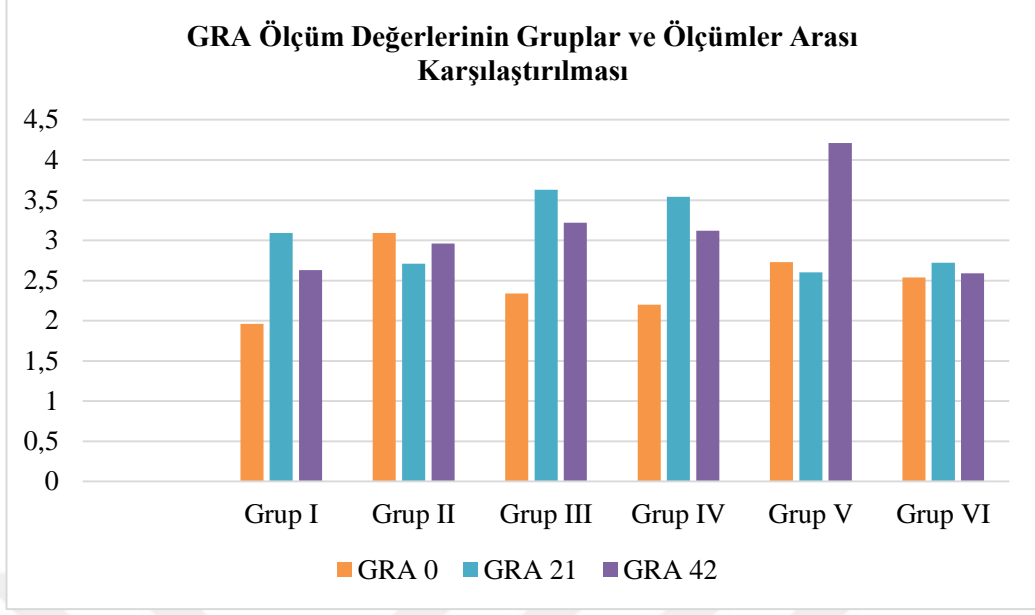
Granülosit sayısının (GRA) grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.8 ve Şekil 3.9’da verildi. GRA değeri için 0. 21. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol), Grup III (E-PRP), Grup IV (OMAE) ve Grup V’te (E-PRP+Gentamisin) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin GRA değerleri normal referans aralığında olduğu gözlendi (Króliczewska vd., 2018).

Çizelge 3.8: GRA ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($10^9/l$)

Gruplar	GRA ₀	GRA ₂₁	GRA ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	1,96±0,58 ^b	3,09±1,24 ^a	2,63±0,80 ^a	0,013*
Grup II	3,09±1,08	2,71±0,64	2,96±1,13	0,626
Grup III	2,34±0,56 ^a	3,63±0,61 ^b	3,22±0,68 ^b	0,000*
Grup IV	2,20±0,55 ^b	3,54±0,91 ^a	3,12±0,41 ^a	0,000*
Grup V	2,73±1,43 ^b	2,60±0,64 ^b	4,21±1,79 ^a	0,034*
Grup VI	2,54±1,05	2,72±0,95	2,59±2,24	0,953
P	0,207	0,276	0,292	

GRA: Granülosit

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı farklılıklar vardır.



Şekil 3.9: GRA ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

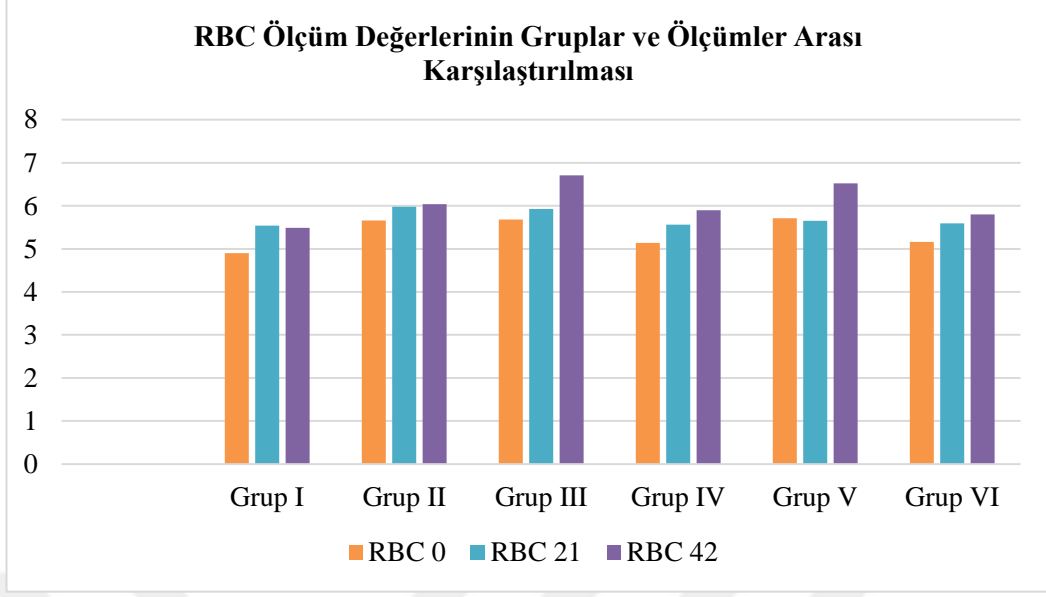
Alyuvar hücre sayısının (RBC) grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.9 ve Şekil 3.10'da verildi. RBC değeri için 0. 21. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar görüldü ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup VI (OMAE+Gentamisin) haricindeki tüm ölçümler arasında anlamlı farka rastlandı ($p<0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin RBC değerleri normal referans aralığında olduğu izlendi (Zimmerman vd., 2010; Alam vd., 2018).

Çizelge 3.9: RBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($10^{12}/l$)

Gruplar	RBC ₀	RBC ₂₁	RBC ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	4,90±0,51 ^{Bb}	5,54±0,18 ^{Ba}	5,49±0,31 ^{Ba}	0,016*
Grup II	5,66±0,30 ^{Ab}	5,98±0,35 ^{Aa}	6,04±0,47 ^B	0,046*
Grup III	5,68±0,24 ^{Ac}	5,93±0,22 ^{Ab}	6,71±0,56 ^{Aa}	0,000*
Grup IV	5,14±0,57 ^{Bb}	5,56±0,33 ^B	5,90±0,36 ^{Ba}	0,015*
Grup V	5,71±0,26 ^A	5,65±0,33 ^b	6,52±0,84 ^{Aa}	0,020*
Grup VI	5,16±0,72 ^B	5,59±0,43 ^B	5,80±0,56 ^B	0,136
P	0,003*	0,025*	0,000*	

RBC: Alyuvar hücreleri (Eritrosit)

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı farklılıklar vardır.



Şekil 3.10: RBC ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Hemoglobinin (Hb) grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.10 ve Şekil 3.11’de verildi. Hb değeri için 0. ve 21. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol) ve Grup II’de (Gentamisin) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin Hb değerleri normal referans aralığındadır (Olayemi ve Nottidge, 2007).

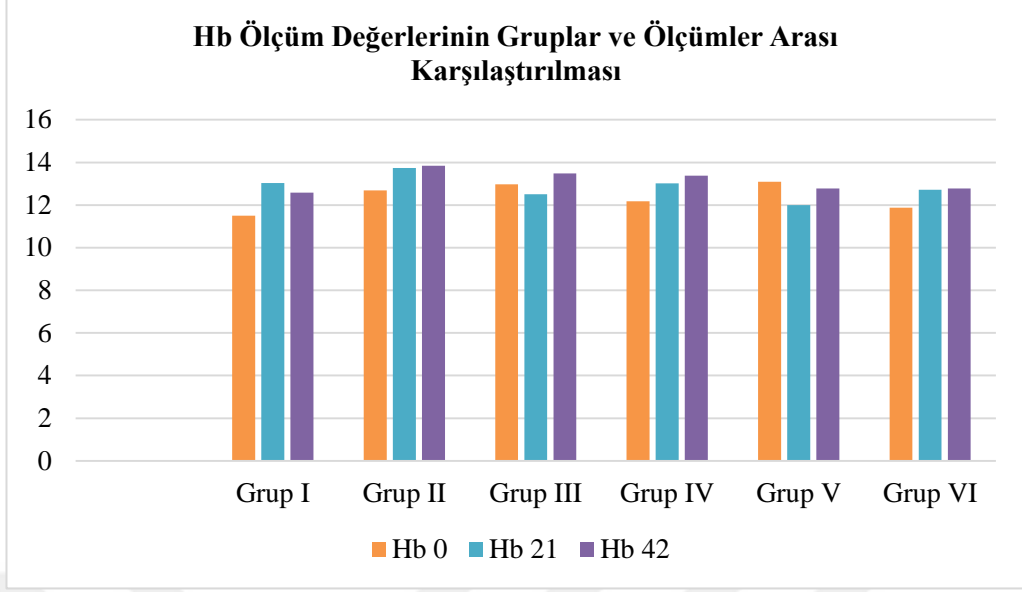
Çizelge 3.10: Hb ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (g/dl)

Gruplar	Hb ₀	Hb ₂₁	Hb ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	11,50±1,20 ^{Bb}	13,04±0,32 ^{Aa}	12,58±0,62 ^a	0,005*
Grup II	12,68±0,71 ^{Ab}	13,74±0,77 ^{Aa}	13,84±1,20 ^a	0,004*
Grup III	12,97±0,58 ^{Ab}	12,50±1,38 ^B	13,48±0,61 ^a	0,099
Grup IV	12,17±1,12	13,02±0,67 ^A	13,38±0,79	0,053
Grup V	13,10±0,42 ^A	12,00±0,50 ^B	12,78±1,49	0,088
Grup VI	11,88±1,68 ^B	12,72±0,54 ^B	12,78±0,80	0,258
P	0,028*	0,006*	0,079	

Hb: Hemoglobin

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.11: Hb ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Hematokrit (HCT) değerinin grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları izelge 3.11 ve Şekil 3.12’de verildi. HCT değeri için 21. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 0. ve 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup II (Gentamisin) ve Grup III’te (E-PRP) lmler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin HCT değerleri normal referans aralığında olduğu tespit edildi (Olayemi ve Nottidge, 2007).

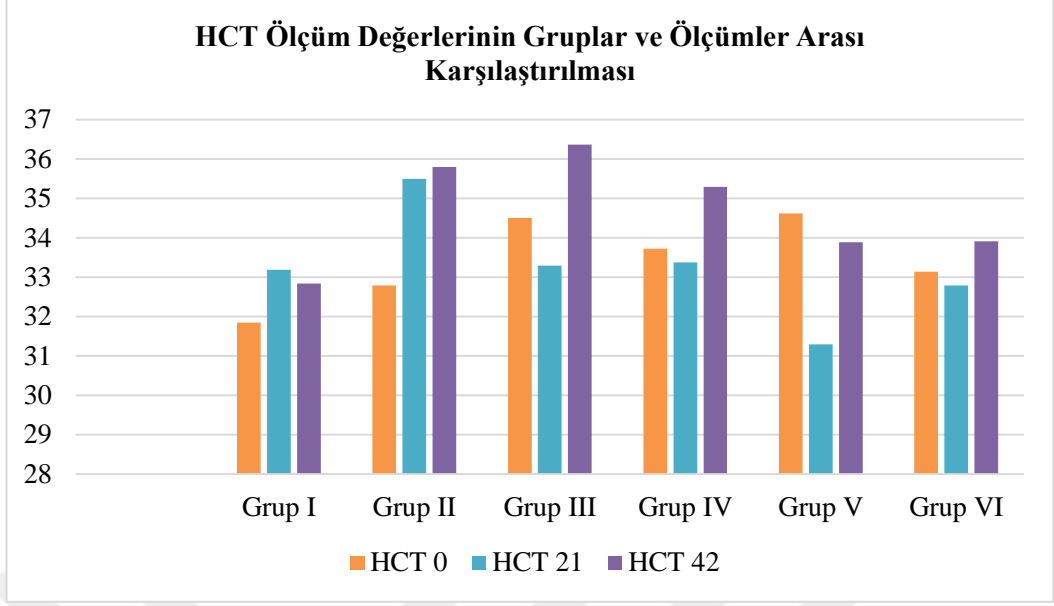
Çizelge 3.11: HCT lm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (%)

Gruplar	HCT ₀	HCT ₂₁	HCT ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	31,85±3,40	33,19±0,96 ^B	32,84±1,90 ^B	0,499
Grup II	32,79±1,45 ^b	35,50±1,88 ^{Aa}	35,80±2,96 ^{Aa}	0,004*
Grup III	34,51±1,30 ^b	33,30±3,11 ^{Bb}	36,37±1,65 ^{Aa}	0,027*
Grup IV	33,73±3,09	33,38±1,91 ^B	35,30±1,81	0,280
Grup V	34,62±0,95 ^a	31,30±1,28 ^{Bb}	33,89±4,35	0,071
Grup VI	33,14±4,48	32,79±1,41 ^B	33,91±1,98	0,750
P	0,371	0,014*	0,054	

HCT: Hematokrit

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.12: HCT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Trombosit (Plt) sayısının grup ve zamana göre karşılaştırılmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.12 ve Şekil 3.13'te verildi. Plt değeri için 0. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 21. ve 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol) ile Grup III (E-PRP) arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin Plt değerleri normal referans aralığında olduğu görüldü (Hewitt vd., 1989; Zimmerman vd., 2010).

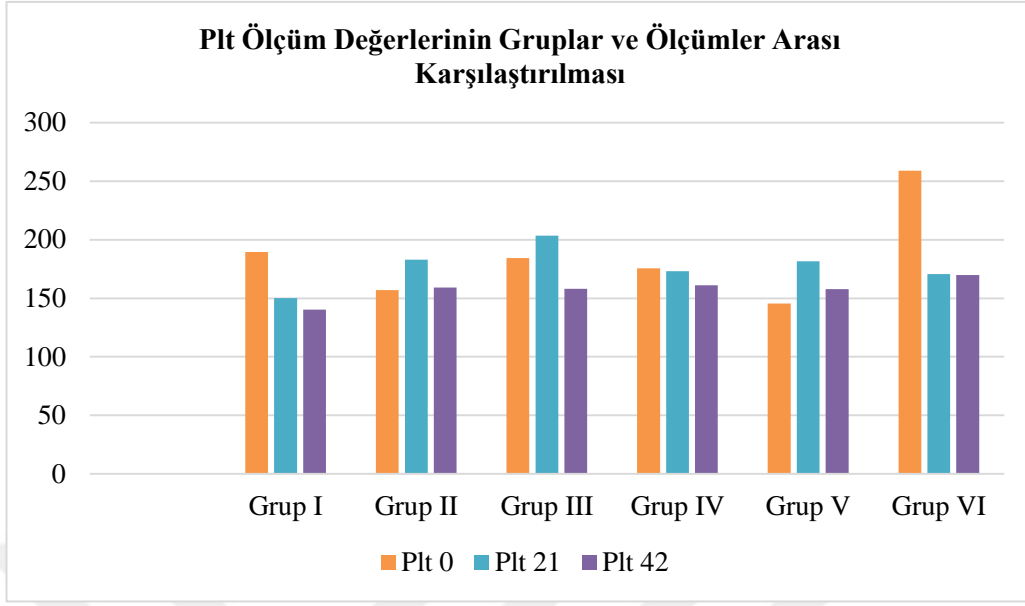
Çizelge 3.12: Plt ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($10^9/l$)

Gruplar	Plt ₀	Plt ₂₁	Plt ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	189,71±38,38 ^{Ba}	150,14±17,81 ^b	140,42±30,42 ^b	0,004*
Grup II	157,00±54,74 ^B	183,14±44,94	159,28±33,46	0,172
Grup III	184,28±25,62 ^{Ba}	203,57±43,40 ^a	158,00±18,16 ^b	0,009*
Grup IV	175,71±34,58 ^B	173,14±45,61	161,14±34,35	0,568
Grup V	145,42±33,43 ^B	181,66±39,00	157,83±78,49	0,390
Grup VI	259,14±119,72 ^A	170,71±27,28	170,00±52,06	0,077
P	0,022*	0,090	0,829	

Plt: Trombosit

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.13: Plt ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

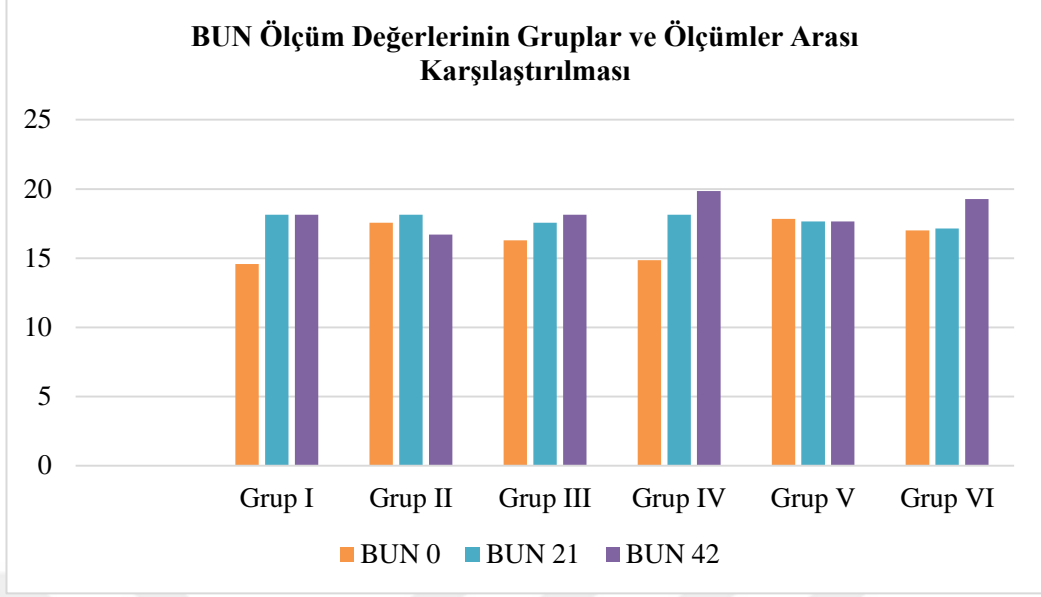
Kan üre azotu (BUN) değerinin grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.13 ve Şekil 3.14'te verildi. BUN değeri için 0. 21. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol) ile Grup IV (OMAE) arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve BUN değerleri normal referans aralığındadır (Hewitt vd., 1989).

Çizelge 3.13: BUN ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mg/dl)

Gruplar	BUN ₀	BUN ₂₁	BUN ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	14,57±14,57 ^b	18,14±2,54 ^a	18,14±2,79 ^a	0,004*
Grup II	17,57±17,57	18,14±2,34	16,71±2,05	0,641
Grup III	16,28±16,28	17,57±1,90	18,14±1,21	0,065
Grup IV	14,85±14,85 ^b	18,14±1,57 ^a	19,85±3,71 ^a	0,009*
Grup V	17,85±17,85	17,66±1,03	17,66±2,87	0,973
Grup VI	17,00±17,00	17,14±1,57	19,28±1,88	0,284
P	0,062	0,947	0,375	

BUN: Kan üre azotu

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı farklılıklar vardır.



Şekil 3.14: BUN ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

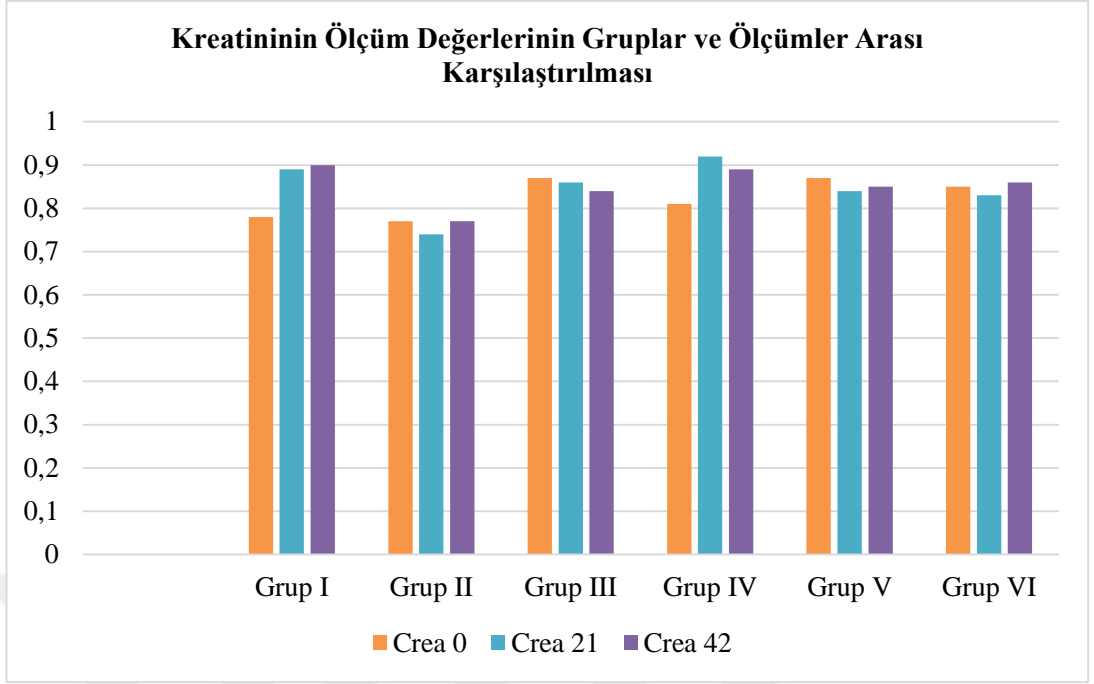
Kreatinin değerinin grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları izelge 3.14 ve Şekil 3.15'te verildi. Kreatinin değeri için 0. 21. ve 42. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I'de (Kontrol) lmler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin Kreatinin değerleri normal referans aralığındadır (Melillo, 2007).

Çizelge 3.14. Kreatininin lm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (mg/dl)

Gruplar	Crea ₀	Crea ₂₁	Crea ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	0,78±0,08 ^b	0,89±0,12 ^a	0,90±0,11 ^a	0,007*
Grup II	0,77±0,10	0,74±0,07	0,77±0,06	0,846
Grup III	0,87±0,07	0,86±0,11	0,84±0,08	0,817
Grup IV	0,81±0,14	0,92±0,11	0,89±0,13	0,238
Grup V	0,87±0,07	0,84±0,20	0,85±0,13	0,826
Grup VI	0,85±0,18	0,83±0,14	0,86±0,10	0,890
P	0,440	0,270	0,326	

Crea: Kreatinin

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı farklılıklar vardır.



Şekil 3.15: Kreatininin ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Aspartat aminotransferaz (AST) enziminin grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.15 ve Şekil 3.16’da verildi. AST değeri için 0. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 21. ve 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup II’de (Gentamisin) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin AST değerleri normal referans aralığındadır (Melillo, 2007).

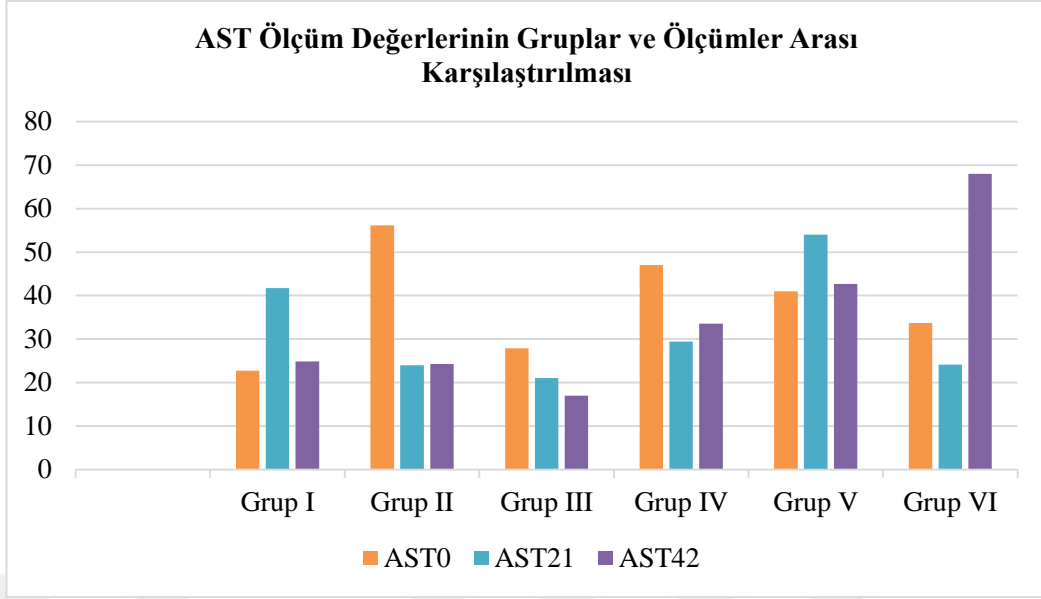
Çizelge 3.15: AST ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (U/I)

Gruplar	AST ₀	AST ₂₁	AST ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	22,71±5,82 ^B	41,71±33,36	24,85±13,04	0,142
Grup II	56,14±23,45 ^{Aa}	24,00±9,46 ^b	24,28±11,47 ^b	0,000*
Grup III	27,85±12,28 ^B	21,00±9,46	17,00±5,22	0,080
Grup IV	47,00±30,90 ^A	29,42±16,40	33,57±35,11	0,429
Grup V	41,00±14,11	54,00±60,73	42,66±55,95	0,845
Grup VI	33,71±18,35 ^B	24,14±16,01	68,00±114,88	0,501
P	0,006*	0,366	0,573	

AST: Aspartat aminotransferaz

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.16: AST ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Alanin aminotransferaz (ALT) enziminin grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.16 ve Şekil 3.17’de verildi. ALT değeri için 0. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 21. ve 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup II’de (Gentamisin) 0. 21. ve 42. günler arasında anlamlı fark gözlenirken ($p<0,05$) diğer gruplarda gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin ALT değerleri normal referans aralığındadır (Melillo, 2007).

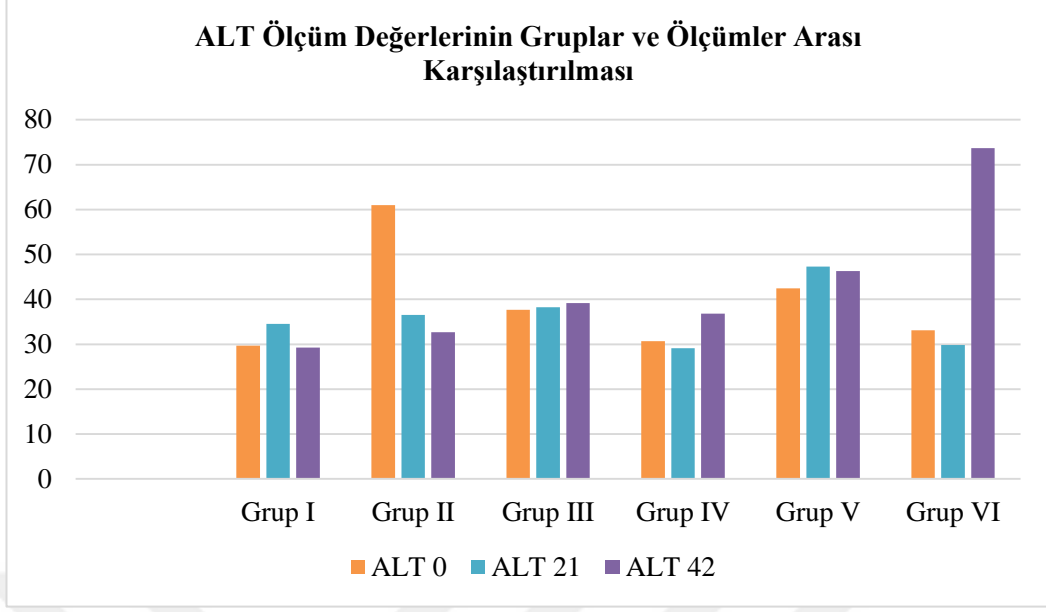
Çizelge 3.16: ALT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (U/I)

Gruplar	ALT ₀	ALT ₂₁	ALT ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	29,71±11,36 ^B	34,57±10,50	29,28±6,52	0,185
Grup II	61,00±37,14 ^{Aa}	36,57±18,21 ^b	32,71±16,80 ^b	0,002*
Grup III	37,71±8,59 ^B	38,28±11,49	39,14±17,71	0,948
Grup IV	30,71±9,34 ^B	29,14±11,63	36,85±28,69	0,573
Grup V	42,42±11,02 ^B	47,33±24,95	46,33±28,14	0,957
Grup VI	33,14±12,08 ^B	29,85±12,49	73,71±111,56	0,421
P	0,015*	0,389	0,576	

ALT: Alanin amino transferaz

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.17: ALT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Gama glutamil transferaz (GGT) enziminin grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.17 ve Şekil 3.18’de verildi. GGT değeri için 0. ve 21. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. 21. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Kontrol) ve Grup II’de (Gentamisin) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$). Tüm grup ve ölçümlerin GGT değerleri normal referans aralığındadır (Hewitt vd., 1989).

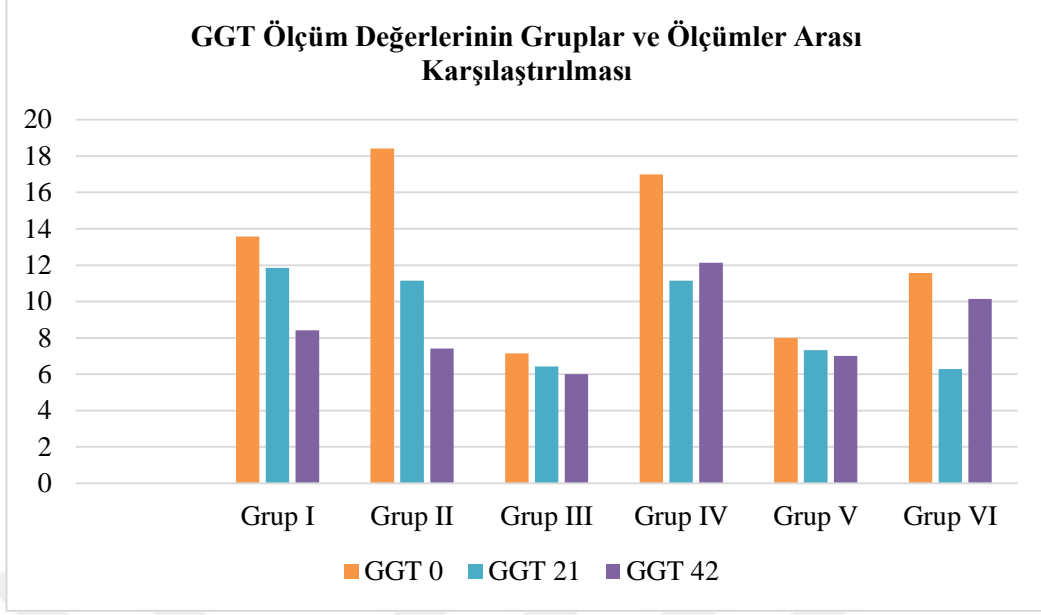
Çizelge 3.17: GGT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması (U/l)

Gruplar	GGT ₀	GGT ₂₁	GGT ₄₂	P
	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	$\bar{X}\pm SS$	
Grup I	13,57±5,44 ^{Aa}	11,85±5,58 ^A	8,42±4,11 ^b	0,004*
Grup II	18,42±7,13 ^{Aa}	11,14±2,47 ^{Ab}	7,42±1,27 ^c	0,000*
Grup III	7,14±3,13 ^B	6,42±3,95 ^B	6,00±3,65	0,063
Grup IV	17,00±9,41 ^A	11,14±3,43 ^A	12,14±6,56	0,100
Grup V	8,00±4,08 ^B	7,33±3,38 ^B	7,00±2,75	0,278
Grup VI	11,57±4,50 ^B	6,28±2,49 ^B	10,14±7,77	0,241
P	0,006*	0,020*	0,292	

GGT: Gama glutamil transferaz

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.18: GGT ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Tavşanların 0. ve 42. günlerde ön kamaradan alınan humor aköz örneklerinden ölçülen Total antioksidan statüsünün (TAS) grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.18 ve Şekil 3.19’da verildi. TAS değeri için 0. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup I (Normal, Kontrol) ve Grup IV’te (OMAE) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$).

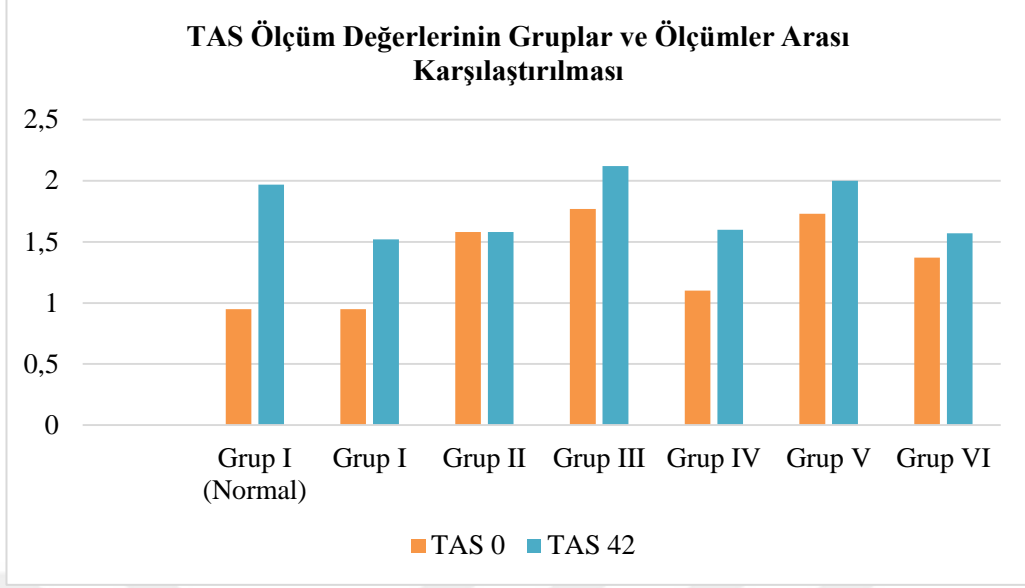
Çizelge 3.18: TAS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($\mu\text{mol Trolox eq/l}$)

Gruplar	TAS ₀	TAS ₄₂	P
	$\bar{X}\pm\text{SS}$	$\bar{X}\pm\text{SS}$	
Grup I (Normal)	0,95±0,29 ^{Bb}	1,97±0,46 ^a	0,008*
Grup I	0,95±0,29 ^{Bb}	1,52±0,39 ^a	0,006*
Grup II	1,58±0,36 ^A	1,58±0,35	0,993
Grup III	1,77±0,51 ^A	2,12±0,51	0,256
Grup IV	1,10±0,21 ^{Bb}	1,60±0,53 ^a	0,026*
Grup V	1,73±0,74 ^A	2,00±0,56	0,339
Grup VI	1,37±0,42	1,57±0,73	0,463
P	0,002*	0,196	

TAS: Total antioksidan statü

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b, c: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.19: TAS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

Tavşanların 0.ve 42. günlerde ön kamaradan alınan humor aköz örneklerinden ölçülen Total oksidan statüsünün (TOS) grup ve zamana göre karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.19 ve Şekil 3.20’de verildi. TOS değeri için 0. günde gruplar arasında anlamlı farklılıklar gözlenirken ($p<0,05$), 42. günde anlamlı farklılıklara rastlanılmadı ($p>0,05$). Her bir grup için 0. ve 42. gündeki ölçümler arasındaki farklar incelendiğinde Grup II (Gentamisin), Grup III’te (E-PRP) ve Grup V’te (E-PRP+Gentamisin) ölçümler arasında anlamlı fark varken ($p<0,05$) diğer gruplarda ölçümler arasında anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0,05$).

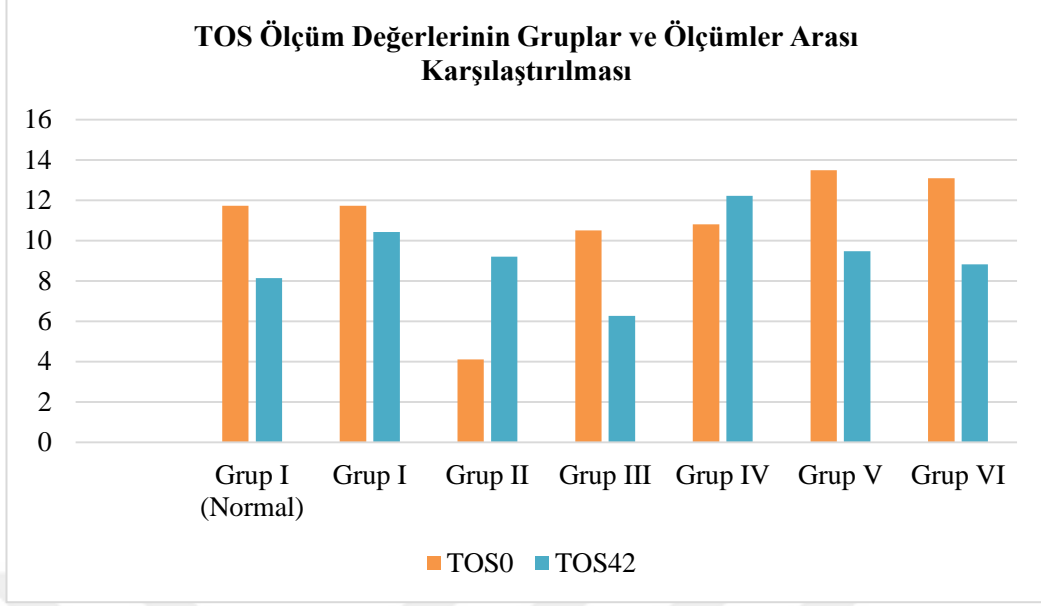
Çizelge 3.19: TOS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eq/l)

Gruplar	TOS ₀	TOS ₄₂	P
	$\bar{X}\pm\text{SS}$	$\bar{X}\pm\text{SS}$	
Grup I (Normal)	11,74±3,03 ^A	8,14±4,40	0,094
Grup I	11,74±3,03 ^A	10,44±3,51	0,094
Grup II	4,12±1,93 ^{Bb}	9,21±1,98 ^a	0,005 [*]
Grup III	10,51±2,80 ^{Aa}	6,27±4,80 ^b	0,047 [*]
Grup IV	10,82±2,22 ^A	12,23±2,06	0,296
Grup V	13,50±2,47 ^{Aa}	9,48±4,38 ^b	0,026 [*]
Grup VI	13,10±3,75 ^A	8,83±5,29	0,171
P	0,000 [*]	0,193	

TOS: Total oksidan statü

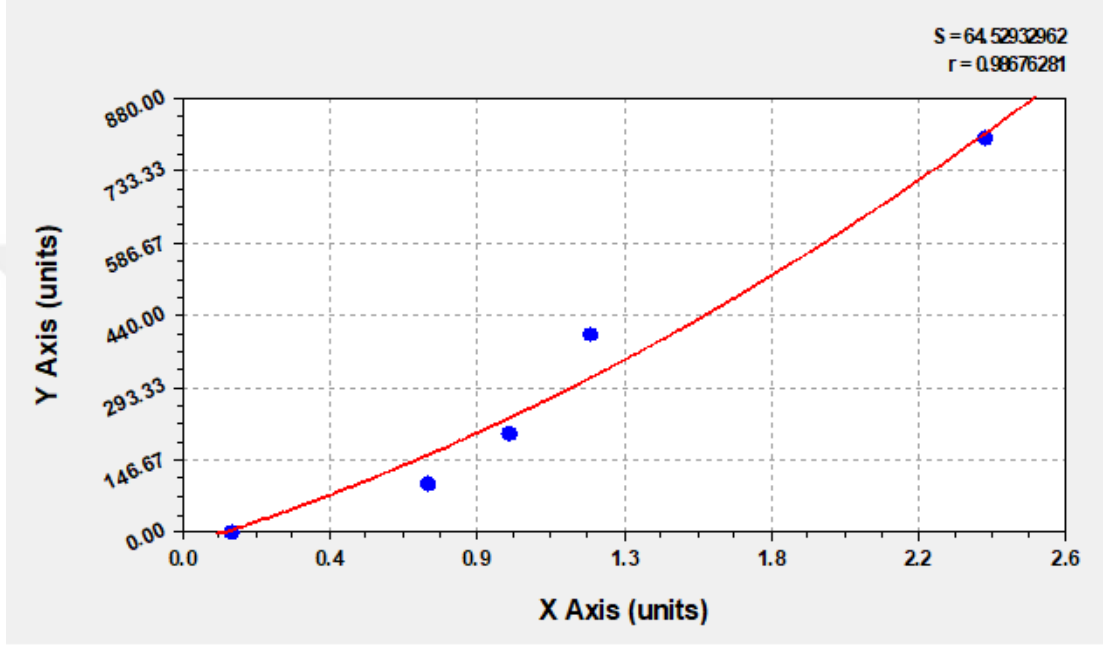
* $p<0,05$ A, B: farklı büyük harfleri gösteren gruplar arasında anlamlı farklılıklar vardır.

* $p<0,05$ a, b: farklı küçük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.20: TOS ölçüm değerlerinin gruplar ve ölçümler arası karşılaştırılması grafiği

E-PRP'lerin -80, -20, +4 ve 0 °C'deki PDGF-BB düzeyleri standart değerlere dördüncü dereceden polinom fit standart eğrisine (Şekil 3.21) göre ölçüldü (R=0,98676281). Standart eğrisi ve numune ölçümleri CurveExpert 1.3 yazılımı kullanılarak yapıldı.



Şekil 3.21: Dördüncü dereceden polinom fit standart eğrisi

Hazırlanan E-PRP'lerin PDFG-BB gruplar arası karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.20'de verildi. Sonuçlar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p < 0,05$).

Çizelge 3.20: PDGF-BB düzeylerinin gruplar arası karşılaştırması (pg/ml)

Gruplar	Ortalama fark	Anlamlılık	P
-80 °C vs. -20 °C	14,05	ns	0,47
-80 °C vs. 4 °C	-8,191	ns	0,91
-80 °C vs. CaCl ₂	-5,844	ns	0,96
-80 °C vs. 0 °C	-1,517	ns	0,99
-20 °C vs. 4 °C	-22,24	ns	0,12
-20 °C vs. CaCl ₂	-19,89	ns	0,10
-20 °C vs. 0 °C	-15,56	ns	0,50
4 °C vs. CaCl ₂	2,348	ns	0,99
4 °C vs. 0 °C	6,674	ns	0,97
CaCl ₂ vs. 0 °C	4,327	ns	0,99

ns: Fark yok

Gruplar arası PDGF-BB bakımından +4, 0, -20, -80 °C ve CaCl₂ arasında bir fark gözlenmediği için literatür bilgiye dayanarak E-PRP'ler -20 de depolandı ve kullanılırken +4 °C'de bir hafta saklandı.

3.3. Histopatolojik Bulgular

Alınan örneklerin HE tekniği ile boyanan kesitlerinde çeşitli lezyonlara rastlandı. Genelde dokuların çoğunda fibröz değişiklikler ön plandaydı. Ayrıca, korneal epitelizasyonda değişiklikler, hafif damarlaşma ve hafif yangısal hücre infiltrasyonu ile karakterize lezyonlara rastlandı. Tüm örneklerde Descemet membran bütünlüğünü koruduğu gözlemlendi. Epitelizasyon durumu, yok (0), var (1) olmak üzere skorlandı. Epitelizasyon durumunun gruplar arası karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.21’de verildi ve istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$).

Çizelge 3.21: Gruplardaki epitelizasyon skorlarının gruplar arası karşılaştırılması

Gruplar	Epitelizasyon Skoru
	$\bar{X}\pm SS$
Grup I (Normal)	1,00±0,00 ^A
Grup I	1,00±0,00 ^A
Grup II	0,42±0,53 ^B
Grup III	0,42±0,53 ^B
Grup IV	0,85±0,37 ^A
Grup V	0,71±0,48
Grup VI	1,00±0,00 ^A
P	0,007*

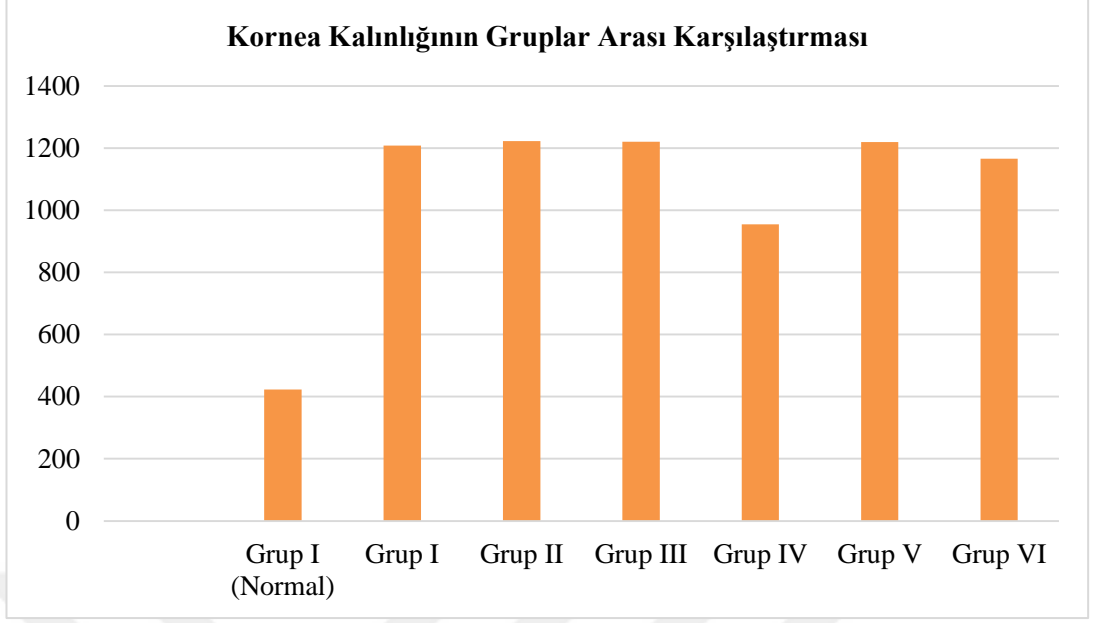
* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.

Kornea dokularına hakim fibröz reaksiyon nedeni ile tüm örneklerde kornea kalınlığı mikroskopik olarak korneanın en kubbeli kısmından ölçüldü. Kornea kalınlığının gruplar arası karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.22, Şekil 3.22 ve Resim 3.2’de verildi ve istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Gruplar arasındaki bu anlam normal kornea kalınlığının diğer gruplardan az olmasından kaynaklanmaktadır.

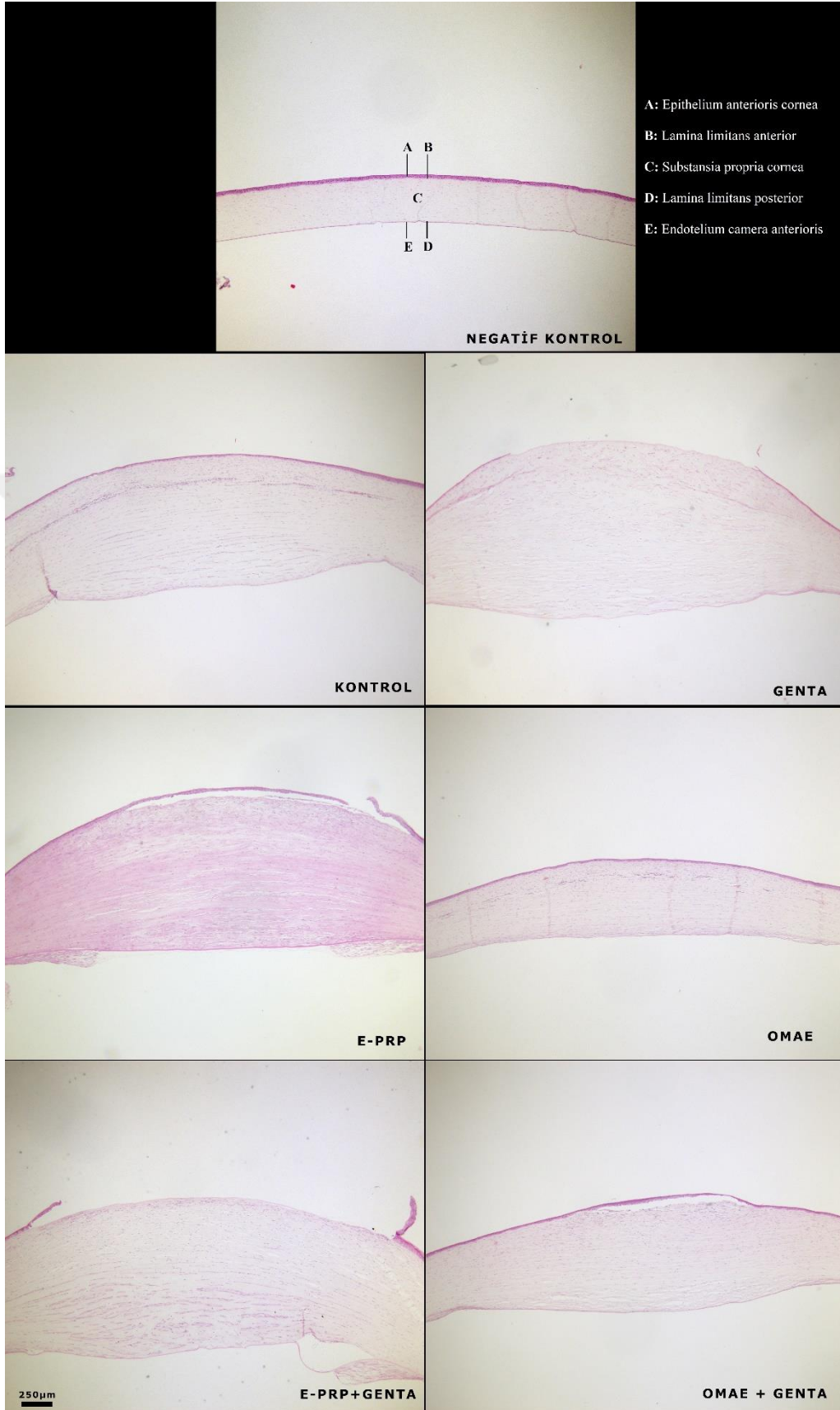
Çizelge 3.22: Kornea kalınlığının gruplar arası karşılaştırması (μm)

Gruplar	Kornea Kalınlığı
	$\bar{X}\pm\text{SS}$
Grup I (Normal)	423,02 \pm 49,66 ^B
Grup I	1208,27 \pm 314,88 ^A
Grup II	1222,85 \pm 359,90 ^A
Grup III	1220,88 \pm 323,85 ^A
Grup IV	954,87 \pm 233,83 ^A
Grup V	1219,21 \pm 176,06 ^A
Grup VI	1165,71 \pm 298,72 ^A
P	0,000*

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 3.22: Kornea kalınlığının gruplar arası karşılaştırması grafiği



Resim 3.2: Kornea dokusunun ışık mikroskopundaki görünümü

3.4. İmmunohistokimyasal Bulgular

- İmmunohistokimyasal Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) değerlendirilmesi

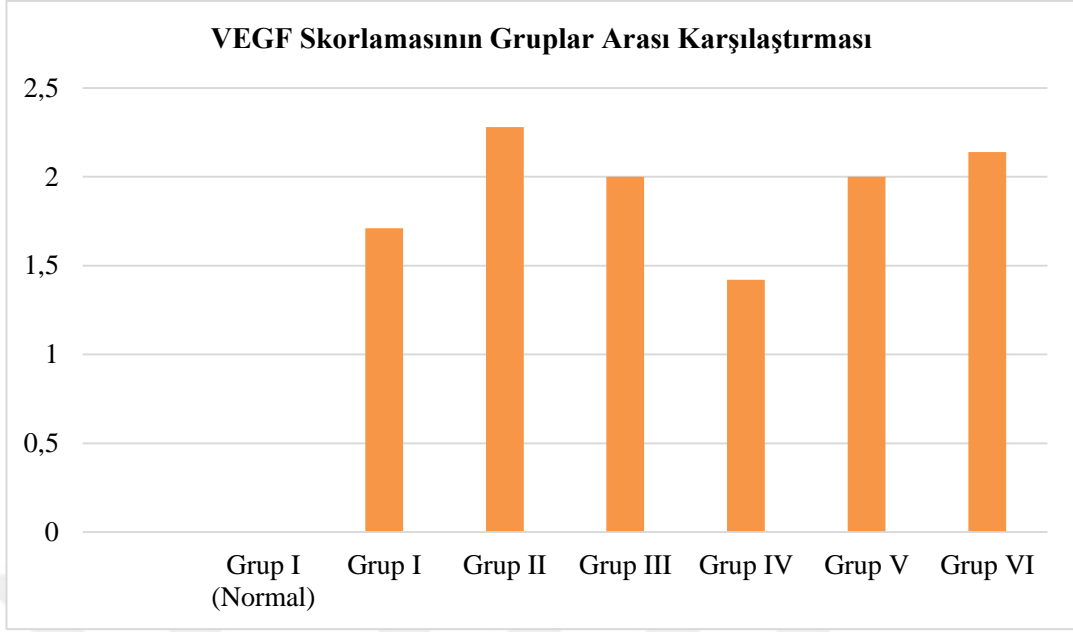
Vasküler endotelyal büyüme faktörü boyaması genelde yangısal iyileşmeye ilişkin neovaskülarizasyon sahalarında mevcuttu. Bu sahaların yoğunluğuna göre; pozitiflik yok (0), hafif pozitiflik (1), orta seviyede pozitiflik (2) ve şiddetli pozitiflik (3) olmak üzere skorlandı. VEGF değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.23, Şekil 3.23 ve Resim 3.3'te verildi ve istatistiksel bakımdan anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). Gruplar arasındaki farkın anlamlı olması normal kornea dokusundaki VEGF değerlerinin diğer gruplardan düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 3.23: VEGF skorlamasının gruplar arası karşılaştırması

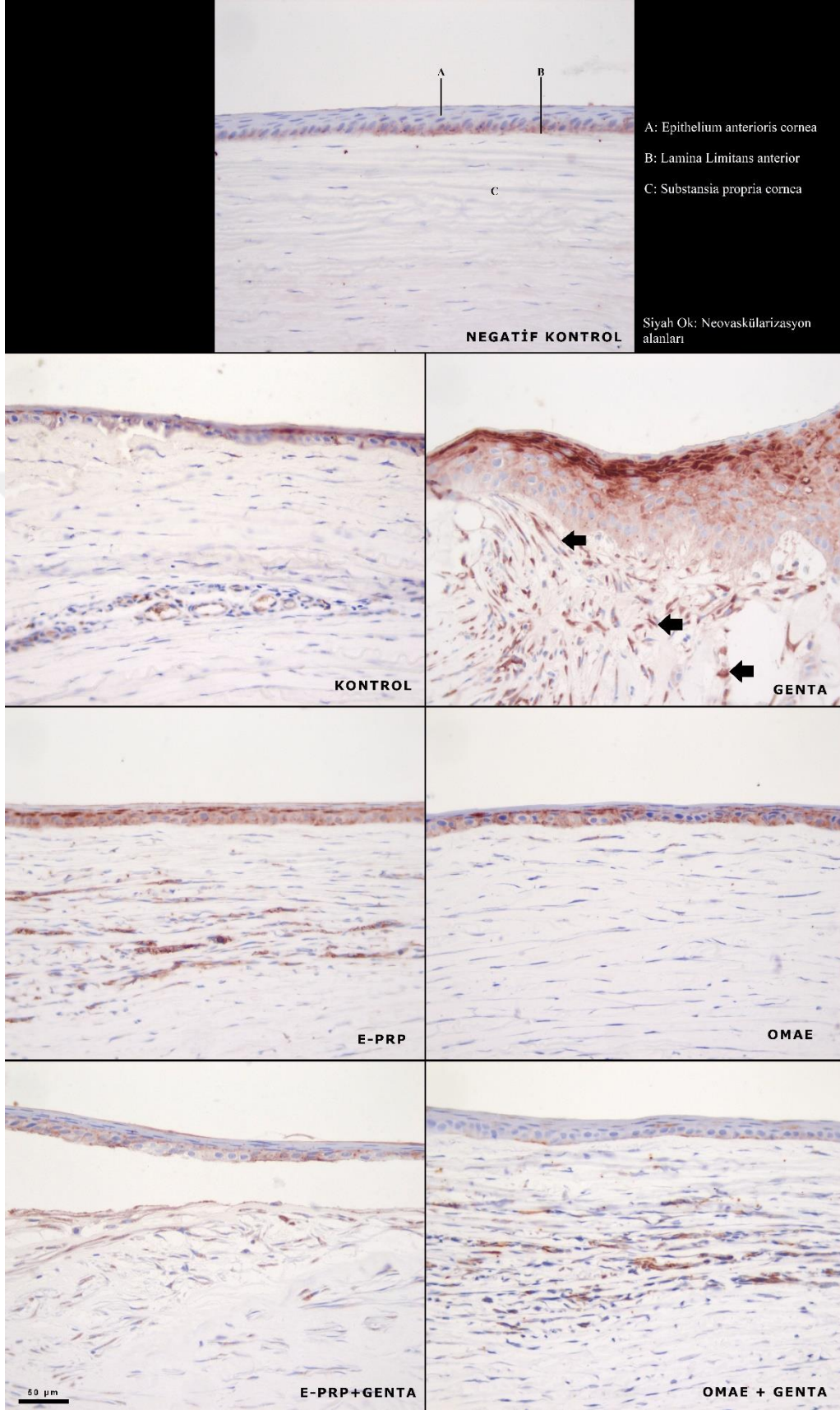
Gruplar	VEGF skoru
	$\bar{X}\pm SS$
Grup I (Normal)	0,00±0,00 ^A
Grup I	1,71±1,11 ^B
Grup II	2,28±0,95 ^B
Grup III	2,00±0,81 ^B
Grup IV	1,42±0,53 ^B
Grup V	2,00±0,69 ^B
Grup VI	2,14±0,69 ^B
P	0,000*

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

* $p<0,05$ A, B, C: farklı büyük harfleri gösteren ölçümler (zamanlar) arasında anlamlı bir fark vardır



Şekil 3.23: VEGF skorlamasının gruplar arası karşılaştırması grafiği



Resim 3.3: VEGF boyaması yapılan kornea dokularının ışık mikroskopundaki görünümü

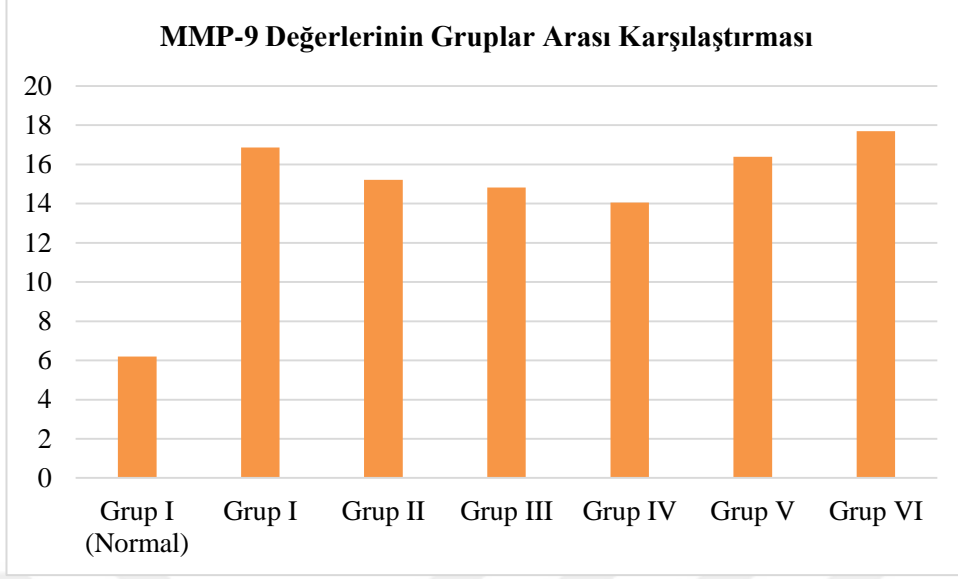
- İmmunohistokimyasal Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) değerlendirilmesi

Matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) enzimi pozitifliği genelde fibroz iyileşme sahalarında, epitel dokuda ve makrofajlarda rastlandı. Çalışmada görülen değişiklikler genelde fibröz değişiklikler olduğunda dolayı korneadaki fibröz iyileşme alanları incelendi. ImageJ (U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) programı ile renk yoğunluğu tespit edildi. MMP-9 değerlerinin gruplar arası karşılaştırmasına yönelik varyans analizi sonuçları Çizelge 3.24, Şekil 3.24 ve Resim 3.4'te verildi ve istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p<0,05$)

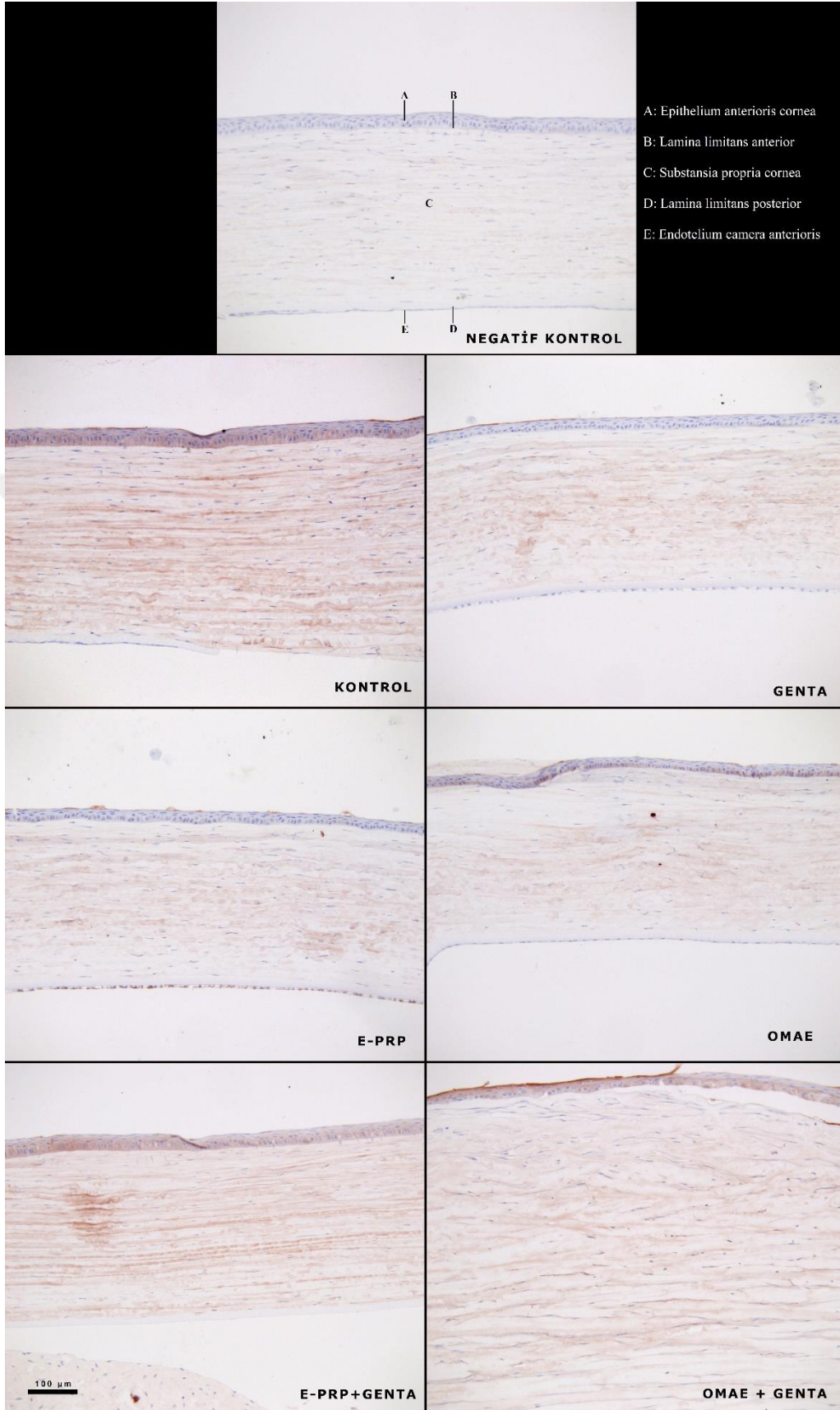
Çizelge 3.24: MMP-9 değerlerinin gruplar arası karşılaştırması

Gruplar	MMP-9
	$\bar{X}\pm SS$
Grup I (Normal)	6,19±2.30
Grup I	16,86± 10,71
Grup II	15,22±11,37
Grup III	14,83±10,69
Grup IV	14,05±4,82
Grup V	16,39±6,89
Grup VI	17,70±12,02
P	0,296

MMP-9: Matriks metalloproteinaz-9



Şekil 3.24: MMP-9 değerlerinin gruplar arası karşılaştırması



Resim 3.4: MMP-9 boyaması yapılan kornea dokularının ışık mikroskopundaki görünümü

4. TARTIŞMA

Çalışmada yapılan makroskopik muayenede Grup I (2 numaralı denekte 10 gün, 6 numaralı denekte 5 gün), Grup III (4 numaralı denekte 6 gün) ve Grup IV'te (3 numaralı denekte 10 gün) prulent akıntı gözlemlendi. He vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmanın sonuçlarına benzer olarak alkali yanık oluşturulan tavşan kornealarına, %0,3'lük gentamisin uygulanmasından sonra hiçbir denekte prulent akıntı bulgusuna rastlanmamıştır. Birçok çalışmada MAE (*M. communis* bitkisinin 6 Gram pozitif ve 4 Gram negatif bakteri de dahil olmak üzere 10 mikroorganizmaya karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu) ve E-PRP'nin antibakteriyel etkinliği olduğu bildirilmiştir (Mansouri vd. 2001; Snoussi vd., 2011; Drago vd., 2013; Zomorodian vd., 2013). Grup III ve Grup IV'te birer denekte prulent akıntı görülmesine rağmen diğer deneklerde bu bulgunun görülmemesi MAE ve E-PRP'nin yine de antibakteriyel etkinliğinin olabileceği düşünülmektedir.

Fluorescein suda çözünebilen bir boyadır korneanın hidrofobik kısımları boya almazken hidrofilik katmanlarının hepsi boya alır. Kornea ülserlerinde normalde hidrofobik olan epitel kat yıkımlandığından hidrofilik yapıdaki stroma boyanır. Solüsyon şeklindeki fluorescein bakteriyel kontaminasyon riski taşıdığından fluorescein emdirilmiş test stripleri daha çok tercih edilir (Maggs,2008). Tüm gruplarda kornea merkezinde 1 N NaOH ile yanık oluşturulduktan sonra ülserasyonu belirlemek için fluorescein boyama yapıldı ve stromal ülser şekillendiği belirlendi. Bashkaran vd. (2011) yaptıkları çalışmada epitel katın iyileşmesinin 7. günde

şekillendiğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada Bashkaran vd. (2011) benzer şekilde tüm gruplarda 7. günde epitel katın boya almadığı gözlemlendi.

Alkali yanıklardan sonra morfolojik tablo iki fazda incelenebilir. İlk aşamada, hücrelerin ölümü ile birlikte korneaya PMN lökositlerin infiltrasyonu şekillenir. Bu aşamada epitel hücreleri yenilenmeye başlar ve yedinci günde epitelizasyonun tamamlanması beklenir (Pahlitzsch ve Sinha, 1985). İkinci aşamada, şiddetli yaralanmalarda 7. günde başlayan ve 14. ve 21. günler arasında zirveye ulaşan ikinci bir inflamatuvar hücre infiltrasyonu dalgası oluşur. Nötrofillerden kollajenaz enzimi salgılanır ve solunum patlamaları serbest radikalleri oluşturur ve daha fazla doku hasarına neden olur (Öztürk vd., 2000; Kim ve Khosla-Gupta, 2002). Reepitelizasyon açısından değerlendirildiğinde 7. günde reepitelize olan kornealarda 14. ve 21. günde yeniden kornea erozyonlarının görüldüğü Şaroğlu ve Arıkan (2002) tarafından bildirilmiştir. Çalışmamızda 7. günde tüm kornealar iyileşmiş fakat tekrarlayan erozyonlar gözlenmiştir. Tekrarlayan erozyonlara, alkali yanık oluşmuş kornea dokusundan iyileşme sırasında proteolitik enzimlerin salgılanması ve kronik enflamasyonun etkili olduğu düşünülmektedir.

Ormerod vd. (1989) yaptıkları çalışmada, vasküler proliferasyonun NaOH'ın 0,2 N ve 0,5 N konsantrasyonlarında genellikle superior limbusta görülürken, 1 N konsantrasyonda ise anjiyojenik yanıtın, inferior limbus'ta superior limbus'tan çok daha fazla şekillendiğini bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada, yanık oluşturulduktan

sonra limbal bölgedeki damarlarda belirginleşme şekillendi. Damarlaşmanın çoğunlukla superior limbus'ta merkezdeki defekte doğru olduğu görüldü.

Çalışmada, NaOH emdirilmiş disk kaldırıldıktan sonra merkezde kenarları belirgin bir opaklık şekillendi. Yanık oluşturulduktan sonra PBS ile yapılan irrigasyon sonrası epitel katın ortadan kalkması sonucu stromanın kısmen dehidre durumunun idame edilememesi nedeniyle ödem miktarında artış görüldü. Bu bulgular literatür verileriyle uyumludur (Ormerod vd., 1989). Kornea stroması ödem ve kollajen denatürasyonundan dolayı opak beyaz bir görünüm kazandı (Chew vd., 1994). Korneal ödem ilk günlerde tüm korneada hafif belirgin iken çalışma boyunca merkezi opasite halinde devam etmiştir.

Göz içi basıncın (GİB) değerlendirilmesinde sıklıkla rebound veya aplanasyon tonometreleri kullanılmaktadır. Rebound tonometre ile ölçüm yapılırken aplanasyon tonometresinin aksine lokal anestezi gerekli değildir, iyi tolere edilir ve rahatsızlığa neden olmaz (Maini ve Hartley, 2019). Aillegas vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada 12 tane tavşanın normal göz içi basınçlarının $11,39 \pm 0,92$ mmHg, Ma vd. (2016) $11,06 \pm 1,16$ mmHg, Oria vd. (2014) $12,89 \pm 2,80$ mmHg olduğunu bildirmişlerdir. Pereira vd. (2011) yaptıkları çalışmada 38 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanmış ve 380 ölçüm yapmıştır. Tonovet ile saat 06:00, 09:00, 12:00, 15:00 ve 18:00'de göz içi basınçlarını ölçmüş $9,51 \pm 2,62$ mmHg olarak rapor etmişlerdir. Sunulan bu çalışmada kontrol grubundaki 7 hayvanın sağlıklı gözlerinin GİB'i 112 kere Tonovet

ile ölçüldü ve $10,4 \pm 1,62$ mmHg olarak bulundu. Bu değerler daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Kimyasal yanıkların göz içi basıncı üzerine etkileri karmaşıktır. Kimyasal maddeler kollajen fibrillerin büzüşmesine, kornea ve skleranın kontraksiyonuna ve uveal kan dolaşımının bozulmasına sebep olarak GİB’de akut ve kronik yükselme şekillenmektedir. GİB’deki bu yükselmeyi, normalleşme veya silier cismin zarar görmesi nedeniyle hipotoni daha sonra tekrar yükselme izleyebilir (Almaliotis vd., 2015). Alkali maddeler 15 saniye içinde ön kamaraya ulaşır ve trabeküler ağ, lens ve silier cisimde yıkımlanmalara sebep olur. Alkali maddeye ilk maruz kalımdan sonra penetrasyon uzun süre daha devam eder. Sonuç olarak trabeküler ağın kalıcı olarak hasar görmesi ve yangısal debrisin akümüasyonu GİB değerlerinin yüksek seyretmesine neden olabilir (Almaliotis vd., 2015). Yapılan bu çalışmada 12. günde GİB açısından gruplar arası anlamlı bir fark görülmezken ($p > 0,05$) 24., 36. ve 42. günde gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Sağlıklı gözlerin GİB değerlerinde ölçümler arası fark bulunmamış fakat deney gruplarının ölçümler arası değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Tüm gruplarda 12. günde 0. güne göre düşüş, 24. ve 36. günde artış şekillendiği 42. günde ise II. ve VI. grupta değerlerin arttığı diğer gruplarda ise azaldığı kaydedildi. 42. Günde GİB düzeyinin referans değerlere en yakın olan grubun Grup IV olduğu görüldü.

Tavşanlarda gözyaşı sekresyonunun değerlendirilmesinde çoğunlukla Schirmer gözyaşı testi (STT) kullanılmaktadır (Alkan vd., 2004; Alkan vd., 2005; Maini ve Hartley, 2019). STT-I hem bazal hem de reflektörük gözyaşı miktarını ifade eder. Test stribi alt göz kapağının orta ya da lateral 1/3 üne yerleştirilir (Maggs, 2008). Kimyasal yaralanmalar, lakrimal bez, konjunktival ve göz kapağı bezlerinin hasar görmesi nedeniyle gözyaşı üretiminin bozulmasıyla sıklıkla komplike hale gelir ve kornea kuruluğu gelişmesine neden olabilir (Arora vd., 2005). Bu nedenle korneanın alkali yaralanmalarında STT değerleri genellikle normalin dışındadır (Almaliotis vd., 2015). Yapılan çalışmalarda Yeni Zelanda tavşanlarının normal STT-I değerlerinin $7,27\pm 2,51$ mm/dk (Oria vd., 2014), $5,30\pm 2,96$ mm/dk (Abrams vd., 1990), $2-11$ mm/dk (Gürkan ve Hayat, 2005), $5,3\pm 2,9$ mm/dk (Williams, 2007) olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada kontrol grubundaki 7 hayvanda 112 kere STT-I testi yapıldı ve normal STT-I değerleri $6,77\pm 2,45$ mm/dk olarak bulundu. Bulunan değerler literatür verileriyle uyumludur. Bu çalışmada da yanık oluşturulan günde (0. gün) yangıya bağlı olarak STT-I in referans değerlerin üstünde olduğu gözlemlendi ve literatür bilgileriyle benzer olduğu bulundu (Şaroğlu ve Arıkan, 2002). Kwon vd. (2003) yaptıkları çalışmada alkali yanıklarda gözyaşı miktarının azaldığı ve STT-I değerlerinin normalin altında olduğu, Almaliotis vd. (2015) ise STT-I seviyelerinin referans değerler arasında olduğunu ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da Kwon vd. (2003) aksine ve Almaliotis vd. (2015) benzer şekilde 0. gün hariç istatistiksel açıdan anlam ifade eden bir fark görülmedi ($p>0,05$). Gruplardaki gözyaşı miktarının referans aralıkta olması; alkali ajanın kornea merkezine filtre kağıdıyla sınırları belli bir şekilde uygulanması, filtre

kağıdının uzaklaştırılmasının ardından PBS ile yıkanmasıyla birlikte lakrimal bezlerin yeterince hasar görmemesinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Kornea merkezindeki skar dokusu ImageJ programı kullanılarak ölçüldü. Yara boyutunun Grup IV'te birim olarak daha fazla küçüldüğü belirlendi fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Yang vd., 2010).

Naji vd. (2019) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada saf MAE'nin 0,1 ml/kg dozunda 2 ay boyunca oral olarak kullanılmasının vücut ağırlığına ve bazı kan parametreleri (RBC, WBC, Hb, PCV, Plt) üzerine yan etkisinin olmadığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ajanlar lokal olarak kullanıldı, hemogram ve biyokimya parametrelerinin (BUN, Crea, AST, ALT, GGT) referans değerler aralığında olduğu bulundu.

Kimyasal yanıklar kornealarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini uyarır (Connors vd., 1997; Bashkaran vd., 2011). ROS üretimi düşük veya orta düzeyde olduğunda, oksidatif stres, SOD, katalaz, glutatyon peroksidazlar ve peroksiredoksinler gibi hücre içi antioksidan sistemler tarafından engellenir. Bununla birlikte, ROS üretimi hücrel antioksidan kapasitesini aşarsa, yüksek düzeyde oksidatif stres, mitokondriyal permeabilitenin bozulmasına neden olur ve elektron transferini bozarak hücrenin apoptozuna veya nekroza yol açar (Saika vd., 2005).

Endojen ve ekzojen antioksidanlar sistemdeki TAS düzeyini temsil eder (Bashkaran vd., 2011). Bashkaran vd., (2011) yaptıkları bir çalışmada 2 N NaOH çözeltisini 60 saniye süre ile tavşan korneasına uygulamış ve humor aközde TAS düzeyini değerlendirmişlerdir. Geleneksel tedavi grubu ($1,74 \pm 0,68$ mM) ile bal uygulanan grup ($3,19 \pm 1,82$ mM) karşılaştırıldığında, bal ile tedavi edilen grupta TAS seviyesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Oral antioksidanlar ve topikal antiinflamatuvar ilaçlar ile tedavi edilen gruplarda humor aközdeki toplam antioksidan aktivitenin, sadece topikal antiinflamatuvar ilaçların verildiği kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu kaydedilmiş ve oral takviyenin tavşanların göz dokularındaki antioksidan kapasiteyi artırabileceği bildirilmiştir (Gakhramanov, 2005). Bu çalışmada, herhangi bir ajan uygulanmadan ve 42. günde alınan humor aköz örneklerinde TAS düzeyi ölçüldü tüm gruplarda 0. gün ile kıyaslandığında 42. günde artış olduğu, fakat yalnızca Grup IV'te ölçümler arası fark olduğu görüldü. Kırk ikinci günde yapılan ölçümler arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($p > 0,05$). Tüm gruplardaki TAS değerlerindeki artış, devam eden enflamasyon ve oksidatif strese yanıt olarak şekillenmiş olabilir.

TOS organizmadaki tüm oksidan moleküllerin seviyesini temsil eder (Erel, 2005). Yılmaz vd. (2020) yaptıkları bir çalışmada TOS'un diyabetik kataraktlarda, glokom gibi göz hastalıklarında arttığını bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada, yanık oluşturulan tüm gruplar karşılaştırıldığında Bashkaran vd. (2011) belirttiği gibi TOS seviyesi istatistik olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05$).

Kornea epitelinin kaybı, stroma tarafından su alınması nedeniyle kornea kalınlığında hızlı bir artışa neden olur. Bunu, epitel bariyeri yeniden kurulurken korneanın kademeli olarak normal kalınlığa dönüşü takip eder (John vd., 1982). Korneanın histopatolojik muayenesinde epitel katın iyileştiği (Grup II’de dört, Grup III’te dört, Grup IV’te bir, Grup V’te ise iki denek hariç) ve Descemet membranının tüm gruplarda sağlam olduğu belirlendi. Kollajen liflerin düzensiz, dağınık olduğu görüldü. Bu bulgular literatür verileri ile uyumludur (Ahmed vd., 2015).

Çalışmamızda normal kornea kalınlığı $423,02 \pm 49,66$ μm olarak ölçüldü ve literatür verileriyle benzer olduğu gözlemlendi (Vidan vd., 2002). Alkali yanıkların stromada kollajen liflerin denatürasyonuna ve ödeme neden olarak kornea kalınlığını artırdığı bilinmektedir (Cejka vd., 2016). Bizim çalışmamızda da kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda kornea kalınlığının arttığı görüldü. Kornea kalınlığındaki azalma en çok Grup IV’te ve Grup VI’da tespit edildi. Fakat gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).

Alkali maddeler inflamatuvar sitokin fırtınasını başlatır ve çok sayıda yangı hücrelerini lezyonlu bölgeye çeker. Bu hücreler etkilenen bölgeye ulaştıktan sonra VEGF ve MMP gibi pre-anjiyojenik faktörlerin salınmasına neden olur (Lee vd., 2014). Kornea yaralanmasından sonra yara iyileşmesi sürecinde, aktive edilmiş keratositler matriks metalloproteinazları salgırlar. Cejka vd. (2016) yaptıkları bir çalışmada sağlıklı kornealarda MMP-9 ekspresyonunun çok düşük olduğunu, yanık oluşturulmuş ve tedavi edilmemiş kornealarda yüksek olduğunu bildirmiştir.

Takahashi vd. (2007) yaptıkları bir çalışmada, alkali yanıklardan sonra MMP-9 ekspresyonunun belirgin şekilde arttığını belirtmişlerdir. Sunulan bu çalışmada normal kornea dokusundaki MMP-9 seviyesi $6,19 \pm 2,30$ olarak bulundu. MMP'lerin ekspresyonu iyileşme sürecindeki miyofibroblastik farklılaşma ile yakından ilişkili olduğundan, tüm deney gruplarında MMP-9 seviyeleri normal kornea dokusuna göre artış gösterdi. Bu artış en az Grup IV'te şekillendi. Fakat gruplar arası istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$).

Cejka vd. (2016) sağlıklı kontrol kornealarında VEGF ekspresyonu çok düşük olduğu, yaralanmadan sonraki 15. günde, tedavi edilmemiş kornealarda VEGF ekspresyonu yüksek olduğu rapor edilmiştir. Chung vd. (2009) yaptıkları çalışmada, kornea epitelinde meydana gelen travmalar korneadaki VEGF değerlerinde artışa neden olduğunu ortaya koymuştur. Bizim çalışmamızda sağlıklı kornealarda VEGF ekspresyonunun olmadığı gözlemlendi ve kontrol grubuna kıyasla VEGF skoru en çok Grup IV'te azaldı. Diğer gruplarda VEGF skoru sayısal olarak kontrole göre yüksek bulundu. Fakat istatistik açısından anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0,05$). E-PRP'nin VEGF gibi büyüme faktörleri açısından zengin olması kontrol grubuna göre daha yüksek skorlamaya sahip olmasını açıklayabilir. Gentamisin uygulanan gruplarda VEGF skorunun yüksek olmasının, gentamisinin epiteliotoksik etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında aşağıdaki sonuç ve öneriler ön plana çıkmaktadır.

- Enfeksiyon bulgusunun gentamisin uygulanmayan gruplarda ortaya çıkması, gentamisinin antibakteriyel etkinliğini ortaya koymaktadır. Bu noktada enfeksiyon her zaman görülme de alkali yanık tedavisinde antibakteriyel ajanlara yer verilmesi faydalı olacaktır.
- E-PRP gibi biyolojik ajanların kornea hastalıklarının tedavisinde kullanımı yaygındır. Fakat tavşan gibi küçük hayvanlarda kan almak zor ve hayvanları strese sokan bir durum olduğundan uzun süreli uygulamalarda problem oluşabileceği dikkate alınmalıdır.
- *Myrtus communis* Akdeniz bölgesine özgü endemik bir bitkidir. Elde edilmesi kolay ve ucuzdur. Yapılan çalışmalarda anti-enflamatuar, antibakteriyel, antioksidan, antiseptik vb. özellikleri ortaya konulmuştur. Çalışmamızda OMAE'nin korneadaki yanık yarası deney modelinde epitelizasyon, anti-enflamatuar ve antioksidan etkilerinin ön plana çıktığı korneal yara iyileşmesine olumlu katkı sağladığı gözlemlendi. OMAE'nin tavşanlar tarafından iyi tolere edilmesi ve herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmaş olması ürünün güvenle kullanılabilabileceğini göstermektedir.
- İlerde yapılacak çalışmalarda antioksidan etkinliğinin lokal ve sistemik olarak karşılaştırılması için OMAE preparasyonunun peroral etkinliğinin ayrıca araştırılması düşünülmektedir.
- Klinik olgularda OMAE'nin etkinliğinin değerlendirilmesi önerilmektedir.

- OMAE'nin MMP-9 üzerine muhtemel TIMP etkisinin hem *in-vitro* hem de *in-vivo* araştırılması önerilmektedir.
- OMAE'nin yerli ürün olma kapasitesinin olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, OMAE'nin korneanın alkali yanıkları üzerine; diğer ajanlara göre göz içi basıncının daha stabil olması, epitel ve stomana iyileşmesinin daha düzenli, kornea kalınlığının normale daha çok yaklaştığı, VEGF ve MMP-9 ekspresyonunun daha az olduğu görüldü. Bu çalışma OMAE'nin alkali yanıkların iyileşmesindeki etkinliğini ilk defa ortaya konmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Abdelkawi, S. A., Hassan, A. A. (2012). Evaluation of protein change and oxidative stress index after photodynamic therapy of corneal neovascularization. *Gen Physiol Biophys*, 31(4): 449-455.
- Abengózar-Vela, A., Calonge, M., Stern, M. E., González-García, M. J., Enríquez-De-Salamanca, A. (2015). Quercetin and resveratrol decrease the inflammatory and oxidative responses in human ocular surface epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 56(4): 2709-2719.
- Abrams, K. L., Brooks, D. E., Funk, R. S., Theran, P. (1990). Evaluation of the Schirmer tear test in clinically normal rabbits. *Am J Anim Vet Sci*, 51(12): 1912-1913.
- Acosta, L., Castro, M., Fernandez, M., Oliveres, E., Gomez-Demmel, E., Tartara, L. (2014). Treatment of corneal ulcers with platelet rich plasma. *Arch Soc Esp Oftalmol (Eng Ed)*, 89(2): 48-52.
- Ahmed, S. K., Soliman, A. A., Omar, S. M., Mohammed, W. R. (2015). Bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model (a histological and immune histo-chemical study). *Int J Stem Cell*, 8(1): 69.
- Aillegas, N. A., Tártara, L. I., Caballero, G., Campana, V., Allemandi, D. A., Palma, S. D. (2019). Antioxidant status in rabbit aqueous humor after instillation of ascorbyl laurate-based nanostructures. *Pharmacol Rep*, 71(5): 794-797.
- Akaydin, G., Şimşek, I., Arituluk, Z. C., Yeşilada, E. (2013). An ethnobotanical survey in selected towns of the Mediterranean subregion (Turkey). *Turk J Biol*, 37(2): 230-247.
- Akın, F., Samsar, E. (2005). Göz Hastalıkları. Medipress Yayıncılık. Malatya.
- Aksay, S. (2016). Total phenolic content and antioxidant properties of various extracts of myrtle (*Myrtus communis* L.) berries. *Çukurova J Agric Food Sci*, 31(2): 43-50.
- Alam, R., Fawzi, E. M., Alkhalif, M. I., Alansari, W. S., Aleya, L., Abdel-Daim, M. M. (2018). Anti-inflammatory, immunomodulatory, and antioxidant activities of allicin, norfloxacin, or their combination against *Pasteurella multocida* infection in male New Zealand rabbits. *Oxid Med Cell Longev*, DOI:10.1155/2018/1780956.
- Aleksic, V., Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiol Res*, 169(4): 240-254.
- Alio, J. L., Arnalich-Montiel, F., E Rodriguez, A. (2012). The role of “eye platelet rich plasma” (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol*, 13(7): 1257-1265.
- Alio, J. L., Ayala, M. J., Mulet, M. E., Artola, A., Ruiz, J. M., Bellot, J. (1995). Antioxidant therapy in the treatment of experimental acute corneal inflammation. *Ophthalmic Res*, 27(3): 136-143.
- Alkan, F., İzci, C., Tepeli, C., Koç, Y. (2004). Evaluation of the schirmer tear test in two Turkish breeds of shepherd dogs. *Rev Med Vet*, 155(2): 67-70.
- Alkan, F., Koç, Y., Kamış, U. (2005). Effects of preanaesthetic medications on basal tear production in rabbits. *Indian Vet J*, 82: 1053-1055.
- Almaliotis, D., Koliakos, G., Papakonstantinou, E., Komnenou, A., Thomas, A., Petrakis, S., Nakos, I., Gounari, E., Karampatakis, V. (2015). Mesenchymal stem cells improve

- healing of the cornea after alkali injury. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 253(7): 1121-1135.
- Amenour, M., Sendra, E., Abrini, J., Bouhdid, S., Pérez-Alvarez, J. A., Fernández-López, J. (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Nat Prod Commun*, 4(6): 350-366.
- Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L., Serralheiro, M. L., Araújo, M. E. M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Ind Crops Prod*, 53: 6-15.
- Anderson, C., Zhou, Q., Wang, S. (2014). An alkali-burn injury model of corneal neovascularization in the mouse. *J Vis Exp*, DOI:10.3791/51159.
- Andrew, S. E. (2002). Corneal diseases of rabbits. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 5(2): 341-356.
- Arıcan, M., Çalım, K. N. (2004). Köpek artritlerinin oluşumunda enzimlerin rolü ve sağaltımına yeni bir bakış I: Osteoarthritis, romatoid arthritıs, etiyołoji, patogenezi, teşhis, tedavi. *Eurasian J Vet Sci*, 20(1): 71-76.
- Arora, R., Mehta, D., Jain, V. (2005). Amniotic membrane transplantation in acute chemical burns. *Eye*, 19(3): 273-278.
- Asena, L., Alkayid, H., Altınörs, D. D. (2018). Corneal epithelial wound healing and management strategies. In *Plastic and Thoracic Surgery, Orthopedics and Ophthalmology*. Springer, Cham, p:91-102.
- Asgarpanah, J., Ariamanesh, A. (2015). Phytochemistry and pharmacological properties of *Myrtus communis* L. *Indian J Tradit Knowl*, 14(1): 82-87.
- Baharvand-Ahmadi, B., Bahmani, M., Naghdi, N., Saki, K., Baharvand-Ahmadi, S., Rafieian-Kopaei, M. (2015). Review on phytochemistry, therapeutic and pharmacological effects of myrtle (*Myrtus communis*). *Der Pharmacia Lettre*, 7(11): 160-165.
- Bashkaran, K., Zunaina, E., Bakiah, S., Sulaiman, S. A., Sirajudeen, K. N. S., Naik, V. (2011). Anti-inflammatory and antioxidant effects of Tualang honey in alkali injury on the eyes of rabbits: experimental animal study. *BMC Complement Altern Med*, 11(1): 1-11.
- Beiran, I., Miller, B., Bentur, Y. (1997). The efficacy of calcium gluconate in ocular hydrofluoric acid burns. *Hum Exp Toxicol*, 16(4): 223-228.
- Berman, M., Dohlman, C. H., Gnädinger, M., Davison, P. (1971). Characterization of collagenolytic activity in the ulcerating cornea. *Exp Eye Res*, 11(2): 255-257.
- Bohigian, G. M., Foster, C. S. (1977). Treatment of *Pseudomonas* keratitis in the rabbit with antibiotic-steroid combinations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 16(6): 553-556.
- Borkowski, G. L., Danneman, R J., Russell, G. B., Lang, C. M. (1990). Evaluation of three intravenous anesthetic regimens in New Zealand rabbits. *Lab Anim Sci*, 40: 270-276.
- Brown, S. I., Weller, C. A. (1970). The pathogenesis and treatment of collagenase-induced diseases of the cornea. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*, 74(2): 375-383.
- Brown, S. I., Weller, C. A., Akiya, S. (1970). Pathogenesis of ulcers of the alkali-burned cornea. *Arch Ophthalmol*, 83(2): 205-208.
- Burnett, J. M., Smith, L. E., Prauss, J. (1981). Acute inflammatory cells and collagenase in tears of human melting corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 20: 173.

- Burns, F. R., Gray, R. D., Paterson, C. A. (1990). Inhibition of alkali-induced corneal ulceration and perforation by a thiol peptide. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31(1): 107-114.
- Cejka, C., Cejkova, J. (2015). Oxidative stress to the cornea, changes in corneal optical properties, and advances in treatment of corneal oxidative injuries. *Oxid Med Cell Longev*, DOI:10.1155/2015/591530.
- Cejka, C., Holan, V., Trosan, P., Zajicova, A., Javorkova, E., Cejkova, J. (2016). The favorable effect of mesenchymal stem cell treatment on the antioxidant protective mechanism in the corneal epithelium and renewal of corneal optical properties changed after alkali burns. *Oxid Med Cell Longev*, DOI:10.1155/2016/5843809.
- Čejková, J., Čejka, Č. (2015). The role of oxidative stress in corneal diseases and injuries. *Histol Histopathol*, 30(8): 893-900.
- Chen, Y., Mehta, G., Vasiliou, V. (2009). Antioxidant defenses in the ocular surface. *Ocul Surf*, 7(4): 176-185.
- Chew, S. J., Beuerman, R. W., Kaufman, H. (1994). In-vivo real-time tandem scanning confocal microscopic examination of wound healing in the cornea following an alkali burn. *Ophth Tech IV Curr Opt Photonics*, 2126: 128-135.
- Chinag, T., Moorman, L., Thomas, R. (1971). Ocular hypertensive response following acid and alkali burns in rabbits. *Invest Ophthalmol*, 10: 270–273.
- Christmas, R. (1991). Management of chemical burns of the canine cornea. *Can Vet J*, 32(10): 608.
- Chung, J. L., Hong, J. P., Min, K., Seo, K. Y., Kim, E. K. (2009). Bevacizumab application delays epithelial healing in rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 50(10): 4653-4659.
- Clements, J. L., Dana, R. (2011). Inflammatory corneal neovascularization: etiopathogenesis. *Semin Ophthalmol*, 26: (4-5) 235-245.
- Conners, M. S., Urbano, F., Vafeas, C., Stoltz, R. A., Dunn, M. W., Schwartzman, M. L. (1997). Alkali burn-induced synthesis of inflammatory eicosanoids in rabbit corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 38(10): 1963-1971.
- Dohlman, C.H., Cade, F., Pfister, R. (2011). Chemical burns to the eye: paradigm shifts in treatment. *Cornea*, 30: 613–614.
- Donatti, C., Brandão, C. V. S., Ranzani, J. J. T., Perches, C. S., Padovani, C. R., Pellizzon, C. H., Sereno, M. G. (2013). Uso do plasma rico em plaquetas no reparo de úlceras de córnea profundas induzidas em coelhos Avaliação clínica e histomorfométrica. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 65(3): 809-818.
- Drago, L., Bortolin, M., Vassena, C., Taschieri, S., Del Fabbro, M. (2013). Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC microbiol*, 13(1): 1-5.
- Dua, H. S., Faraj, L. A., Said, D. G., Gray, T., Lowe, J. (2013). Human corneal anatomy redefined: a novel pre Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology*, 120: 1778–1785.
- Dua, H. S., King, A. J., Joseph, A. (2001). A new classification of ocular surface burns. *Br J Ophthalmol*, 85(11): 1379-1383.
- Dubielzig, R. R., Ketring, K. L., McLellan, G. J., Albert, D. M. (2010). Veterinary Ocular Pathology E-Book: A Comparative Review. China, Elsevier Health Sciences. p: 95.

- Durand-Cavagna, G., Delort, P., Duprat, P., Bailly, Y., Plazonnet, B., Gordon, L. R. (1989). Corneal toxicity studies in rabbits and dogs with hydroxyethyl cellulose and benzalkonium chloride. *Toxicol Sci*, 13(3): 500-508.
- Dursun, A., Arici, M. K., Dursun, F., Ozec, A. V., Toker, M. I., Erdogan, H., Topalkara, A. (2012). Comparison of the effects of bevacizumab and ranibizumab injection on corneal angiogenesis in an alkali burn induced model. *Int J Ophthalmol*, 5(4): 448.
- Dursun, N. (2001). Veteriner Anatomi III. Medisan Yayınevi. Ankara.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Ab Wahab, M. S. (2012). Honey: a novel antioxidant. *Molecules*, 17(4): 4400-4423.
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 38(12): 1103-1111.
- Evans, H. E., De lahunta, A. (2013). Miller's anatomy of the dog-E-Book.4th Ed. St. Louis, Missouri, Elsevier Health Sciences.
- Feisst, C., Franke, L., Appendino, G., Werz, O. (2005). Identification of molecular targets of the oligomeric nonprenylated acylphloroglucinols from *Myrtus communis* and their implication as anti-inflammatory compounds. *J Pharmacol Exp Ther*, 315(1): 389-396.
- Gakhramanov, F.S., Kerimov, K.T., Dzhafarov, A.I. (2006). Use of natural antioxidants for the correction of changes in general and local parameters of lipid peroxidation and antioxidant defense system during experimental eye burn. *Bull Exp Biol Med*, 142(6): 696-699.
- Gartaganis, S. P., Margaritis, L. H., Koliopoulos, J. X. (1987). The corneal epithelium basement membrane complexes after alkali burn: an ultrastructural study. *Ann Ophthalmol*, 19(7): 263-268.
- Gelatt, K. N., Plummer, C. E. (2017). Color atlas of veterinary ophthalmology. 2nd ed. UK: John Wiley & Sons.
- Giannaccare, G., Versura, P., Buzzi, M., Primavera, L., Pellegrini, M., Campos, E. C. (2017). Blood derived eye drops for the treatment of cornea and ocular surface diseases. *Transfus Apher Sci*, 56(4): 595-604.
- Gonzales-Andrades, M., Argüeso, P., Gipson, I. (2019). Corneal Anatomy. In: Corneal Regeneration Threpy and Surgery. Eds.: Alio, J.L., Alio del Barrio, J.L., Arnalich-Montiel, F. Switzerland: Springer.
- Gönüllü, A. R. (1994). Alanya halk inançlarında “Ağaç” motifi. *Türk Kültürü Araştırmaları Dergisi*, 376: 505-509
- Gu, H. W., Bian, D. M., Hu, N., Zhang, J. F. (2011). Effects of amniotic membrane transplantation on cytokines expression in chemically burned rat corneas. *Int J Ophthalmol*, 4(1): 33.
- Gultepe, E. E., Iqbal, A., Cetingul, I. S., Uyarlar, C., Ozcinar, U., Bayram, I. (2020). Effect of *Myrtus communis* L. Plant Extract as a Drinking Water Supplement on Performance, Some Blood Parameters, Egg Quality and Immune Response of Older Laying Hens. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 26(1): 9-16.
- Gunay, C., Sagliyan, A., Yilmaz, S., Kandemir, F. M., Han, M. C., Ozkaraca, M., Kulualp, K. (2015). Evaluation of autologous serum eyedrops for the treatment of experimentally induced corneal alcali burns. *Revue Méd Vét*, 166: 63-71.

- Gürkan, T., Hayat, A. (2005). Evaluation of the Schirmer and phenol red thread tests for measuring tear secretion in rabbits. *Vet Rec*, 156: 485-487.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine* 4th ed. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Hamill, C. E., Bozorg, S., Chang, H. Y. P., Lee, H., Sayegh, R. R., Shukla, A. N., Chodosh, J. (2013). Corneal alkali burns: a review of the literature and proposed protocol for evaluation and treatment. *Int Ophthalmol Clin*, 53(4): 185-194.
- Hassan, M. A., AboZakaib, F., Nasr El-din, N., Elzeftawy, M., Nasif, M., El-Sherif, M. (2021). Effect of Platelet Rich Plasma on Corneal Alkali Burn Ulcer in Rabbits. *JCVR*, 3(2): 73-83.
- He, J., Bazan, N. G., Bazan, H. E. (2006). Alkali-induced corneal stromal melting prevention by a novel platelet-activating factor receptor antagonist. *Arch Ophthalmol*, 124(1): 70-78.
- Hennia, A., Miguel, M. G., Nemmiche, S. (2018). Antioxidant activity of *Myrtus communis* L. and *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. extracts: a brief review. *Medicines*, 5(3): 89.
- Hewitt, C. D., Innes, D. J., Savory, J., Wills, M. R. (1989). Normal biochemical and hematological values in New Zealand white rabbits. *Clin chem*, 35(8): 1777-1779.
- Hirst, L. W., Summers, P. M., Griffiths, D., Bancroft, J., Lillicrap, G. R. (2004). Controlled trial of hyperbaric oxygen treatment for alkali corneal burn in the rabbit. *Clin Exp Ophthalmol*, 32(1): 67-70.
- Hosseini, H., Nejabat, M., Mehryar, M., Yazdchi, T., Sedaghat, A., Noori, F. (2007). Bevacizumab inhibits corneal neovascularization in an alkali burn induced model of corneal angiogenesis. *Clin Exp Ophthalmol*, 35(8): 745-748.
- Huang, Y., Meek, K. M., Ho, M. W., Paterson, C. A. (2001). Analysis of birefringence during wound healing and remodeling following alkali burns in rabbit cornea. *Exp Eye Res*, 73(4): 521-532.
- Jabri, M. A., Tounsi, H., Rtibi, K., Marzouki, L., Sakly, M., Sebai, H. (2016). Ameliorative and antioxidant effects of myrtle berry seed (*Myrtus communis*) extract during reflux-induced esophagitis in rats. *Pharm biol*, 54(9): 1575-1585.
- Jeckl, V. Rabbit Ophthalmology. BSAVA World Congress. April 11-15, 2012. Birmingham, United Kingdom.
- John, L. U., Edelhauser, H., Sha, D. (1982). Measurement of corneal epithelial healing rates and corneal thickness for evaluation of ocular toxicity of chemical substances. *Cutan Ocul Toxicol*, 1(2): 133-145.
- Kanoun, K., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N., Bekkara, F. A. (2014). Comparative studies on antioxidant activities of extracts from the leaf, stem and berry of *Myrtus communis* L. *Int Food Res J*, 21(5): 1957.
- Kaveh, K., Mohamadyan, M., Ebrahimzadeh, M. A. (2019). Antihypoxic activities of *sambucus ebulus* leaf and fruit and *myrtus communis* leaf in mice. *J Maz Univ Med Sci*, 29(176): 61-73.
- Kern, T. J. (1997). Rabbit and rodent ophthalmology. *Semin Avian Exot Pet Med*, 6(3): 138-145.
- Keven-Karademir, F., Avunduk, S. (2015). Antibacterial and antioxidant activity of *Myrtus communis* L. growing wild in Marmaris. *GIDA Journal of Food*, 40: 193-199.

- Kim, E., Yoon, S. Y., Shin, Y. J. (2015). In: Studies on the Cornea and Lens. 1st Ed. Eds: Babizhayev, M. A., Li, D. W., Kasus-Jacopi, A., Zoric, L., Alio, J. L. London UK: Humana Press, Springer.
- Kim, T., Khosla-Gupta, B. A. (2002). Chemical and thermal injuries to the ocular surface. In Ocular Surface Disease Medical and Surgical Management. New York, NY: Springer.
- Kinsey, V. E. (1951). The chemical composition and the osmotic pressure of the aqueous humor and plasma of the rabbit. *J Gen Physiol*, 34(3): 389-402.
- Koç, Y., Alkan, F., Tepeli, C. (2005). Schirmer tear test in different rabbit breeds. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 15(2): 1-5.
- Kompa, S., Redbrake, C., Hilgers, C., Wüstemeyer, H., Schrage, N., Remky, A. (2005). Effect of different irrigating solutions on aqueous humour pH changes, intraocular pressure and histological findings after induced alkali burns. *Acta Ophthalmol Scand*, 83(4): 467-470.
- Króliczewska, B., Miśta, D., Ziarnik, A., Żuk, M., Szopa, J., Pecka-Kiełb, E., Zawadzki, W., Króliczewski, J. (2018). The effects of seed from *Linum usitatissimum* cultivar with increased phenylpropanoid compounds and hydrolysable tannin in a high cholesterol-fed rabbit. *Lipids Health Dis*, 17(1): 1-14.
- Kubota, M., Shimmura, S., Kubota, S., Miyashita, H., Kato, N., Noda, K., Ozawa, Y., Usui, T., Ishida, S., Umezawa, K., Kurihara, T., Tsubota, K. (2011). Hydrogen and N-acetyl-L-cysteine rescue oxidative stress-induced angiogenesis in a mouse corneal alkali-burn model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52(1): 427-433.
- Kuckelkorn, R., Schrage, N., Keller, G., Redbrake, C. (2002). Emergency treatment of chemical and thermal eye burns, *Acta Ophthalmol Scand*, 80(1): 4-10.
- Kwon, J. W., Kim, J. S., Choi, S. B., Lee, J. H., Wee, W. R. (2003). An Automatic System for the Delivery of Eye-Drops Using a Microinfusion Pump. *J Korean Ophthalmol Soc*, 44(9): 2117-2121.
- Kwon, Y.S., Hong, H.S., Kim, J.C., Shin, J.S., Son, Y. (2005). Inhibitory effect of rapamycin on corneal neovascularization in vitro and in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 46(2): 454-460.
- Ledbetter, E.C., Gilger, B.C. (2013). Diseases and Surgery of the Canine Cornea and Sclera. In: Veterinary Ophthalmology. 5th ed. Eds: Gelatt, K.N., Gilger, B.C., Kern, T.J. John. Iowa, USA: Wiley & Sons, Inc.
- Lee, H. S., Lee, J. H., Kim, C. E., Yang, J. W. (2014). Anti-neovascular effect of chondrocyte-derived extracellular matrix on corneal alkaline burns in rabbits. *Graef Arch Clin Exp*, 252(6): 951-961.
- Levinson, R. A., Paterson, C. A., Pfister, R. R. (1976). Ascorbic acid prevents corneal ulceration and perforation following experimental alkali burns. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 15(12): 986-993.
- Lim, C.C. (2015). Small Animal Ophthalmology Atlas and Guide. Iowa, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Lim, T. K. (2012). "Myrtus communis". Edible medicinal and non medicinal plants. Dordrecht: Springer.
- Lipman, N. S., Marini, R. P., Flecknell, P. A. (1997). Anesthesia and analgesia in rabbits. In: Anesthesia and analgesia in laboratory animals, Elsevier.

- Ma, D., Chen, C. B., Liang, J., Lu, Z., Chen, H., Zhang, M. (2016). Repeatability, reproducibility and agreement of intraocular pressure measurement in rabbits by the TonoVet and Tono-Pen. *Sci Rep*, 6(1): 1-7.
- Maggs, D.J. (2008). Cornea and Sclera. In: Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. 4th ed., Eds.: Maggs, D., Miller, P., Ofri, R. Saunders, St. Louis, Missouri.
- Maggs, D.J., Miller, P., Mrcpsych, M.D., Ofri, R. (2013). Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology, 5th ed., Elsevier Health Sciences. St. Louis, Missouri.
- Maini, S., Hartley, C. (2019). "Guide to ophthalmology in rabbits", *In Practice*, 41(7): 310-320.
- Mancino, R., Di Pierro, D., Varesi, C., Cerulli, A., Feraco, A., Cedrone, C., Pinazo-Duran, M. D., Coletta, M., Nucci, C. (2011). Lipid peroxidation and total antioxidant capacity in vitreous, aqueous humor, and blood samples from patients with diabetic retinopathy. *Mol Vis*, 17: 1298.
- Mansouri, S., Foroumadi, A., Ghaneie, T., Najar, A. G. (2001). Antibacterial activity of the crude extracts and fractionated constituents of *Myrtus communis*. *Pharm biol*, 39(5): 399-401.
- Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP. *Implant dent*, 10(4): 225-228.
- Maxia, A., Frau, M. A., Falconieri, D., Karchuli, M. S., Kasture, S. (2011). Essential oil of *Myrtus communis* inhibits inflammation in rats by reducing serum IL-6 and TNF- α . *Nat Prod Commun*, 6(10): 1545-1548.
- Mckay, T. B., Karamichos, D. (2017). Quercetin and the ocular surface: What we know and where we are going. *Exp Biol Med*, 242(6): 565-572.
- Melillo, A. (2007). Rabbit clinical pathology. *J Exot Pet Med*, 16(3): 135-145.
- Mendes, M.M., Gazarini, L.C., Rodrigues, M.L. (2001). Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments: effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environ Exp Bot*, 45(2): 165-178.
- Meriem, T. O. U. A. I. B. I. A. (2016). Chemical composition and anti-inflammatory activity of *Myrtus communis* L. essential oil. *AJAE*, 6(2): 73-82.
- Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., Jovin, E., Couladis, M. (2010). Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules*, 15(4): 2759-2770.
- Moore, D. M., Zimmerman, K., Smith, S. A. (2015). Hematological assessment in pet rabbits: Blood sample collection and blood cell identification. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 18(1): 9-19.
- Moore, P.A. (2019). Cornea and Sclera. In: Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine. 2nd ed., Eds.: Martin, C.L., Pickett, J.P., Spiess, B.M. Taylor & Francis Group. Newyork.
- Naji, H. H., Khudhair, O. S., Opyas, A. J., Albawi, F. H. K. (2019). Effects of Use Myrtle Oil (*Myrtus communis*) on Body Weight and Some Blood Parameters in Local Male Rabbits. *JUBPAS*, 27(1): 164-170.
- Nassar, M. I., Aboutabl, E. S. A., Ahmed, R. F., El-Khrisy, E. D. A., Ibrahim, K. M., Sleem, A. A. (2010). Secondary metabolites and bioactivities of *Myrtus communis*. *Pharm res*, 2(6): 325.

- Olayemi, F. O., Nottidge, H. O. (2007). Effect of age on the blood profiles of the New Zealand rabbit in Nigeria. *Afr J Biomed Res*, 10(1): 73-76.
- Oriá, A. P., Gomes Junior, D. C., Arraes, E. A., Estrela-Lima, A., Pinna, M. H., Meneses, I. D., Martins Filho, E. F. (2014). Tear production, intraocular pressure and conjunctival microbiota, cytology and histology of New Zealand rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Pesqui Vet Bras*, 34: 1024-1028.
- Ormerod, L. D., Abelson, M. B., Kenyon, K. R. (1989). Standard models of corneal injury using alkali-immersed filter discs. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30(10): 2148-2153.
- Ozcan, O., Ipekci, H., Alev, B., Ustundag, U. V., Ak, E., Sen, A., Emekli Alturfan., E., Sener., G., Yarat., A., Cetinel, S., Akbay, T. T. (2019). Protective effect of Myrtle (*Myrtus communis*) on burn induced skin injury. *Burns*, 45(8): 1856-1863.
- Özkan, A. M. G., Güray, Ç. G. (2009). A Mediterranean: *Myrtus communis L.*(Myrtle)". Plants and Culture: Seeds of the Cultural Heritage of Europe. Eds: More I JP, Mercuri in AM. Bari: Edipuglia.
- Özkan, C., Kaya, A., Akgül, Y. (2012). Normal values of haematological and some biochemical parameters in serum and urine of New Zealand White rabbits. *World Rabbit Sci*, 20(4): 253-259.
- Öztürk, F., Kurt, E., Çerçi, M., Emiroglu, L., İnan, Ü., Türker, M., Ilker, S. (2000). The effect of propolis extract in experimental chemical corneal injury. *Ophthalmic Res*, 32(1): 13-18.
- Pahlitzsch, T., Sinha, P. (1985). The alkali burned cornea: electron microscopical, enzyme histochemical, and biochemical observations. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 223(5): 278-286.
- Paterson, C., Eakins, K., Paterson, R. (1979). The ocular hypertensive response following experimental acid burns in the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 18: 67-74.
- Percin, H. C., Sarıtaş, Z. K. (2020). Evaluation of the early term healing effects of resveratrol on corneal wounds in rats. *Turk J Vet Anim Sci*, 44(5): 1032-1038.
- Pereira, F. Q., Bercht, B. S., Soares, M. G., da Mota, M. G. B., Pigatto, J. A. T. (2011). Comparison of a rebound and an applanation tonometer for measuring intraocular pressure in normal rabbits. *Vet ophthalmol*, 14(5): 321-326.
- Pfister, R. R., Paterson, C. A., Hayes, S. A. (1978). Topical ascorbate decreases the incidence of corneal ulceration after experimental alkali burns. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 17(10): 1019-1024.
- Pfister, R. R., Paterson, C. A., Spiers, J. W., Hayes, S. A. (1980). The efficacy of ascorbate treatment after severe experimental alkali burns depends upon the route of administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 19(12): 1526-1529.
- Pfister, R., Pfister, D. (1997). Alkali-Injuries of the eye. In: Cornea and External Disease: Clinical Diagnosis and Management. Eds: Krachmer M, Mannis M, Holland E. St. Louis: Mosby-Year Book.
- Qader, K. O., Al-Saadi, S. A. M., Al-Saadi, T. A. (2017). Chemical composition of *Myrtus communis L.*(Myrtaceae) fruits. *J Appl Life Sci Int*, 12(3): 1-8.
- Raeiszadeh, M., Esmaeili-Tarzi, M., Bahrapour-Juybari, K., Nematollahi-mahani, S. N., Pardakhty, A., Nematollahi, M. H., Mehrabani, M. (2018). Evaluation the effect of *Myrtus communis L.* extract on several underlying mechanisms involved in wound healing: An in vitro study. *S Afr J Bot*, 118: 144-150.

- Rafalyuk, S. Y., Gaydamaka, T. B. (2018). Efficacy of bioflavonoid quercetin in treatment of herpetic keratitis patients with dry eye syndrome. *J Ophthalmol (Ukraine)*, (5): 484.
- Rahman, M. M. (2018). Hematology and Biochemistry of New Zealand White Rabbits. DOI:10.13140/RG.2.2.11903.05287/1
- Riestra, A. C., Alonso-Herreros, J. M., Merayo-Llodes, J. (2016). Platelet rich plasma in ocular surface. *Arch Soc Esp Ophthalmol (Eng Ed)*, 91(10): 475-490.
- Rodríguez, A. E., Alió, J. L. (2019). Eye Platelet-Rich Plasma (E-PRP) for Corneal Regeneration. *Corneal Regeneration Therapy and Surgery*. Eds:Alió, Jorge L., del Barrio, Jorge L. Alió, Arnalich-Montiel, Francisco. Switzerland: Springer, Cham.
- Romani, A., Coinu, R., Carta, S., Pinelli, P., Galardi, C., Vincieri, F. F., Franconi, F. (2004). Evaluation of antioxidant effect of different extracts of *Myrtus communis* L. *Free radic res*, 38(1): 97-103.
- Saghizadeh, M., Kramerov, A. A., Svendsen, C. N., Ljubimov, A. V. (2017). Concise review: stem cells for corneal wound healing. *Stem Cells*, 35(10): 2105-2114.
- Sağsöz, H., Topaloğlu, U., Saruhan, B. G., Akbalık, M. E., Ketani, M. A., Altan, S., Oğurtan, Z. (2018). "Tavşanlarda Asidik Korneal Yanıklarda CD8 ve CD68 Pozitif Hücrelerin Dağılımı", *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 11(1): 22-28.
- Saika, S., Miyamoto, T., Yamanaka, O., Kato, T., Ohnishi, Y., Flanders, K. C., Ikeda, K., Nakajima, Y., Kao, W. W. Y., Sato, M., Muragaki, Y., Ooshima, A. (2005). Therapeutic effect of topical administration of SN50, an inhibitor of nuclear factor- κ B, in treatment of corneal alkali burns in mice. *Am J Pathol*, 166(5): 1393-1403.
- Sakimoto, T., Shoji, J., Yamada, A., Sawa, M. (2007). Upregulation of matrix metalloproteinase in tear fluid of patients with recurrent corneal erosion. *Jpn J Ophthalmol*, 51(5): 343-346.
- Sakimoto, T., Sugaya, S., Ishimori, A., Sawa, M. (2012). Anti-inflammatory effect of IL-6 receptor blockade in corneal alkali burn. *Exp Eye Res*, 97(1): 98-104.
- Salman, I. A., Kiziltunc, A., Baykal, O. (2011). The effect of alkali burn on corneal glutathione peroxidase activities in rabbits. *Turk J Med Sci*, 41(3): 483-486.
- Samuelson, D., Brooks, D. (2011). Small animal ophthalmology: Self-assessment color review. Manson Publishing Ltd. London.
- Sancak, İ. G., Bozkurt, M. F. (2010). Yeni Zelanda Tavşanında (*Oryctolagus cuniculus*) kornea konjunktival transpozisyon (KKT) tekniğinin korneal iyileşmeye etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 57: 235-240.
- Seedor, J. A., Perry, H. D., McNamara, T. F., Golub, L. M., Buxton, D. F., Guthrie, D. S. (1987). Systemic tetracycline treatment of alkali-induced corneal ulceration in rabbits. *Arch Ophthalmol*, 105(2): 268-271.
- Sekundo, W., Augustin, A. J., Stempel, I. (2002). Topical allopurinol or corticosteroids and acetylcysteine in the early treatment of experimental corneal alkali burns: a pilot study. *Eur J Ophthalmol*, 12(5): 366-372.
- Serce, S., Ercisli, S., Sengul, M., Gunduz, K., Orhan, E. (2010). Antioxidant activities and fatty acid composition of wild grown myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits. *Pharmacogn Mag*, 6(21): 9-12.
- Shahriari, H. A., Tokhmehchi, F., Reza, M., Hashemi, N. F. (2008). Comparison of the effect of amniotic membrane suspension and autologous serum on alkaline corneal epithelial wound healing in the rabbit model. *Cornea*, 27(10): 1148-1150.

- Shoham, A., Hadziahmetovic, M., Dunaief, J. L., Mydlarski, M. B., Schipper, H. M. (2008). Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free Radic Biol Med*, 45(8): 1047-1055.
- Snoussi, A., Chaabouni, M. M., Bouzouita, N., Kachouri, F. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of *Myrtus communis* L. floral buds essential oil. *J Essent Oil Res*, 23(2): 10-14.
- Snow, N., McFadden, J., Evans Evans, T. M., Salywon Salywon, A. M., Wojciechowski, M. F., Wilson, P. G. (2011). Morphological and molecular evidence of polyphyly in *Rhodomyrtus* (Myrtaceae: Myrteae). *Syst Bot*, 36(2): 390-404.
- Stepp, M. A., Tadvalkar, G., Hakh, R., Pal-Ghosh, S. (2017). Corneal epithelial cells function as surrogate Schwann cells for their sensory nerves. *Glia*, 65(6): 851-863.
- Sumbul, S., Ahmad, M. A., Asif, M., Akhtar, M. (2011). *Myrtus communis* Linn.-A review. *Indian J Nat Prod Resour*, 2(4): 395-402.
- Şaroğlu, M., Arıkan, N. (1999). Tavşanlarda Deneysel Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Bazı Antikollajenazik İlaçların Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar. *Istanb Univ Vet Fak Derg*, 28(2): 287-300.
- Şenel, O. O., Ergin, İ. (2014). Medical and surgical treatment of severe corneal alkaline burn in a cat. *J Vet Med Soc*, 85(1): 24-28.
- Takahashi, H., Igarashi, T., Fujimoto, C., Ozaki, N., Ishizaki, M. (2007). Immunohistochemical observation of amniotic membrane patching on a corneal alkali burn in vivo. *Jpn J Ophthalmol*, 51(1): 3-9.
- Tretiakova, I., Blaesiu, D., Maxia, L., Wesselborg, S., Schulze-Osthoff, K., Cinatl, J.Jr., (2008). "Myrtucommulone from *Myrtus communis* induces apoptosis in cancer cells via the mitochondrial pathway involving caspase-9. *Apoptosis*, 13: 119-31.
- Tuberoso, C. I. G., Rosa, A., Bifulco, E., Melis, M. P., Atzeri, A., Pirisi, F. M., Dessì, M. A. (2010). Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chem*, 123(4): 1242-1251.
- Tumen, I., Akkol, E. K., Suntar, I., Erbey, G., Kurtca, M., Keles, H., Reunanen, M., Pranovich, A. (2017). Evaluation of the wound healing and anti-inflammatory activities and phytochemical analysis of *Myrtus communis* L. *Fresenius Envir Bull*, 26(7): 4420-4428.
- Varga, M. (2014). Textbook of rabbit medicine. (2nd ed). Butterworth-Heinemann. Edinburgh.
- Vidan, A., Amir, A., Turetz, J., Buch, H., Kadar, T. (2002). Corneal Neovascularization in Two Models of Chemical Burn: Alkali and Sulfur Mustard. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 43(13): 1742-1742.
- Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M. B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M. E. Marzouk, B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food Chem Toxicol*, 48(5): 1362-1370.
- Wenger, S. (2012). Anesthesia and analgesia in rabbits and rodents. *J Exot Pet Med*, 21(1): 7-16.
- Williams, D. (2007). Rabbit and rodent ophthalmology. *EJCAP*, 17(2): 42-52.

- Yang, G., Espandar, L., Mamalis, N., Prestwich, G. D. (2010). A cross-linked hyaluronan gel accelerates healing of corneal epithelial abrasion and alkali burn injuries in rabbits. *Vet ophthalmol*, 13(3): 144-150.
- Yao, L., Li, Z. R., Su, W. R., Li, Y. P., Lin, M. L., Zhang, W. X., Liu, Y., Wan, Q., Liang, D. (2012). Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn. *PLoS one*, 7(2): e30842.
- Ye, J., Yao, K., Kim, J. C. (2006). Mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model: engraftment and involvement in wound healing. *Eye*, 20(4): 482-490.
- Yılmaz, M., Ekinci Koktekir, B., Bozkurt, B., Akyurek, F., Okudan, S., Unlu, A. (2020). Evaluation of Total Oxidant Status, Total Antioxidant Capacity and Oxidative Stress Levels in Humor Aqueous of Diabetic Cataract Patients. *Int J Retina Vitreous*, 29(1): 25-29.
- Yoeruek, E., Ziemssen, F., Henke-Fahle, S., Tatar, O., Tura, A., Grisanti, S., Bartz-Schmidt, K. U., Szurman P., Tübingen Bevacizumab Study Group. (2008). Safety, penetration and efficacy of topically applied bevacizumab: evaluation of eyedrops in corneal neovascularization after chemical burn. *Acta ophthalmol*, 86(3): 322-328.
- Yokoi, M., Yamagishi, S. I., Takeuchi, M., Ohgami, K., Okamoto, T., Saito, W., Muramatsu, M., Imaizumi, T., Ohno, S. (2005). Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol*, 89(6): 673-675.
- Zık, B. (2007). Duyu Organları. Veteriner Embriyoloji (3. Baskı). Ed: Özer, A. Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti. Ankara.
- Ziaei, M., Greene, C., Green, C. R. (2018). Wound healing in the eye: therapeutic prospects. *Adv Drug Deliv Rev*, 126: 162-176.
- Zimmerman, K. L., Moore, D. M., Smith, S. A. (2010). Hematology of laboratory rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Schalm's Veterinary Hematology*. Eds: Weiss, D. J., Wardrop, K.J. Iowa, USA: John Wiley & Sons, Inc. p: 862-868.
- Zomorodian, K., Moein, M., Lori, Z. G., Ghasemi, Y., Rahimi, M. J., Bandegani, A., Pakshin, K., Bazargani, A., Mirzamphammadi, S, Abbasi, N. (2013). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Myrtus communis* leaves. *J Essent Oil-Bear Plants*, 16(1): 76-84.

