



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TAVŞANLARDA DENEYSEL KORNEA ALKALİ  
YANIKLARININ SAĞALTIMINDA  
KORNEA-KONJUNKTİVAL TRANSPOZİSYON İLE  
LİMBAL KÖK HÜCRE TRANSPLANTASYON  
TEKNİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**İrem GÜL SANCAK**

**CERRAHİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Zeki ALKAN**

**2009-ANKARA  
TÜRKİYE CUMHURİYETİ**

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TAVŞANLARDA DENEYSEL KORNEA ALKALİ  
YANIKLARININ SAĞALTIMINDA  
KORNEA-KONJUNKTİVAL TRANSPOZİSYON İLE  
LİMBAL KÖK HÜCRE TRANSPLANTASYON  
TEKNİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**İrem GÜL SANCAK**

**CERRAHİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Zeki ALKAN**

**Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından  
2007-08-100-06 HPD numarası ile desteklenmiştir  
2009-ANKARA**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                               |             |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Kabul ve Onay</b>                                                                          | <b>ii</b>   |
| <b>İçindekiler</b>                                                                            | <b>iii</b>  |
| <b>Önsöz</b>                                                                                  | <b>vii</b>  |
| <b>Simgeler ve Kısaltmalar</b>                                                                | <b>viii</b> |
| <b>Şekiller</b>                                                                               | <b>x</b>    |
| <b>Çizelgeler</b>                                                                             | <b>xii</b>  |
| <b>1. GİRİŞ</b>                                                                               | <b>1</b>    |
| 1. Kornea                                                                                     | 6           |
| 1.1.Epityum Anterioris Kornea ve Lamina Limitans Anterior<br>(Kornea Epiteli ve Bazal Lamina) | 7           |
| 1.2. Substansia propria kornea (Stroma)                                                       | 9           |
| 1.3.Lamina Limitans Posterior (Desement's membran)                                            | 9           |
| 1.4.Endotelium Kamera Anterioris (Kornea Endoteli)                                            | 10          |
| 2. Limbus                                                                                     | 12          |
| 3. Korneal Hastalıklarda Yara İyileşmesi                                                      | 15          |
| 3.1. Epiteliyal Defektlerde İyileşme                                                          | 16          |
| 3.2. Epiteliyal ve Yüzeyel Stromal Yara İyileşmesi                                            | 16          |
| 3.3. Avasküler İyileşme                                                                       | 16          |
| 3.4. Vasküler İyileşme                                                                        | 16          |
| 3.5. Endotelle Birlikte Tüm Katların Defektinde İyileşme                                      | 17          |
| 4. Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler                                               | 17          |
| 5. Kök Hücre ve Kornea                                                                        | 19          |
| 6. Korneal Patolojik Reaksiyonlar                                                             | 24          |
| 6.1. Korneal Ödem                                                                             | 25          |

|                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.2. Korneal Vaskülarizasyon (Neovaskülarizasyon)                                    | 25 |
| 6.3. Korneal Skar (Granülasyon Dokusu) Oluşumu                                       | 26 |
| 6.4. Korneal Pigmentasyon                                                            | 26 |
| 6.5. Hücresel İnfiltrasyon                                                           | 26 |
| 7. Veteriner Hekimlikte Sağaltımlarında Cerrahi İşlem Gerektiren Korneal Hastalıklar | 27 |
| 7.1. Ülseratif Keratitiser                                                           | 27 |
| 7.2. Refraktorik Korneal Ülserler                                                    | 28 |
| 7.3. Stromal Ülserler                                                                | 29 |
| 7.4. Bakteriyel Korneal Ülserler                                                     | 29 |
| 7.5. Melting (erimeli) Ülserler                                                      | 29 |
| 7.6. Desamatosel                                                                     | 30 |
| 7.7. Mikotik Keratitis                                                               | 31 |
| 7.8. Korneal Apse                                                                    | 31 |
| 7.9. Bulloz Keratopati                                                               | 31 |
| 7.10 . Kalsiyum Birikimli Senil Keratopati                                           | 32 |
| 7.11 . Korneal Travmalar                                                             | 32 |
| 7.12 . Limbal Melanom                                                                | 34 |
| 7.13. Nörotrofik Keratitis                                                           | 34 |
| 7.14. Felin Kornea Nekrozu (FKN, korneal sekester, korneal mumifikasyon)             | 35 |
| 7.15. Dermoid                                                                        | 36 |
| 8. İnsan Hekimliğinde Limbal Kök Hücre Yetmezliğine Neden Olan Korneal Hastalıklar   | 36 |
| 8.1. Stevens-Johnson Sendromu (SJS)                                                  | 37 |
| 8.2. Oküler Sikatrisyel Pemfigoid (OSP)                                              | 38 |
| 8.3. Sjörger's Sendromu                                                              | 38 |
| 8.4. Kimyasal Yanıklar                                                               | 39 |
| 8.4.1.Asit Yanıkları                                                                 | 39 |
| 8.4.2.Alkali Yanıkları                                                               | 39 |
| 8.4.3.Kimyasal Yanıklarda Derecelendirme                                             | 40 |
| 9. Kornea Cerrahisi Ekipman ve Prensipleri                                           | 44 |
| 9.1. Konjunktival Greft Uygulamaları                                                 | 45 |

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| 9.2. Keratoplasti                                         | 46 |
| 9.3.Kornea- Konjunktival Transpozisyon (KKT)              | 47 |
| 9.4.Limbal Kök Hücre Transplantasyonu (LKHT)              | 49 |
| 9.4.1.Limbal Kök hücre Transplantasyon Teknikleri         | 51 |
| 9.4.1.1. Otogreft                                         | 51 |
| 9.4.1.2. Allogreft                                        | 52 |
| 9.4.1.2.1.Keratolimbal Allogreft                          | 52 |
| 9.4.1.2.2.Konjunktival-Limbal Allogreft                   | 52 |
| 9.5.Amniotik Membran Uygulamaları                         | 53 |
| 9.6.Amniyotik Membranda Çoğaltılmış LKH kullanımı         | 54 |
| 9.7.LKH ile Beraber Kornea Transplantasyonu (KT)          | 54 |
| <b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>                                 | 56 |
| 2.1. Alkali Yanık Oluşturma Modeli                        | 58 |
| 2.2. Anestezi ve Operasyon Protokolü                      | 60 |
| 2.3. Kornea-konjunktival Transpozisyon (KKT) Uygulamaları | 60 |
| 2.4. Limbal Kök Hücre Transplantasyonu (LKHT)             | 63 |
| 2.5. Postoperatif Muayene                                 | 66 |
| 2.6. Histopatolojik Muayene                               | 67 |
| 2.7. İstatistiksel Değerlendirme                          | 68 |
| <b>3. BULGULAR</b>                                        | 69 |
| 3.1. Perioperatif Bulgular                                | 69 |
| 3.2. KKT, LKHT ve Kontrol Grubuna ait Bulgular            | 70 |
| 3.2.1. Postoperatif İlk Gün Muayene Bulguları             | 70 |
| 3.2.2. Postoperatif Onbeşinci Gün Muayene Bulguları       | 71 |
| 3.2.3. Postoperatif Birinci Ay Sonu Muayene Bulguları     | 73 |
| 3.2.4. Postoperatif İkinci Ay Sonu Muayene Bulguları      | 74 |
| 3.2.5. Postoperatif Üçüncü Ay Sonu Muayene Bulguları      | 76 |
| 3.2.6. Postoperatif Dördüncü Ay Sonu Muayene Bulguları    | 76 |

|                                                          |     |
|----------------------------------------------------------|-----|
| 3.2.7. Postoperatif Beşinci Ay Sonu Muayene Bulguları    | 77  |
| 3.2.8. Postoperatif Altıncı Ay Sonu Muayene Bulguları    | 77  |
| 3.3. Histopatolojik Bulgular                             | 81  |
| 3.3.1. KKT Olgularının Histopatolojik Muayene Bulguları  | 81  |
| 3.3.2. LKHT Olgularının Histopatolojik Muayene Bulguları | 84  |
| 3.3.3. Kontrol Grubunun Histopatolojik Muayene Bulguları | 87  |
| 3.3.4. İstatistiksel Analiz Bulguları                    | 90  |
| <b>4. TARTIŞMA</b>                                       | 92  |
| <b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                              | 105 |
| <b>ÖZET</b>                                              | 107 |
| <b>SUMMARY</b>                                           | 109 |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                         | 111 |
| <b>EKLER</b>                                             | 117 |
| <b>EK-1: Etik Kurul Kararı</b>                           | 118 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                                          | 120 |

## ÖNSÖZ

Kök hücreler organizmada; sınırsız bölünebilme, kendilerini yenileyebilme, organ oluşturabilme özelliklerinden dolayı insan hekimliğinde sinir sistemi, metabolizma, kalp, kemik hastalıkları ile organ yetmezlikleri ve hasarları başta olmak üzere her geçen gün artarak değişik hastalıkların tedavisinde kullanım alanı bulmaktadır. İnsan hekimliğinde limbal kök hücre yetmezliği tanımlanmış olup korneanın değişik lezyonlarında limbal allo ve oto transplantasyon cerrahi teknikleri uygulanmaktadır. Veteriner hekimlikte kedi, köpek ve atlarda gözlenen korneal hastalıklarda henüz limbal kök hücre yetmezliğine ait bir tanımlamanın yapılmadığı bilinmektedir. Cerrahi işlem gerektiren bu korneal hastalıkların tedavisinde; konvansiyonel olarak KPG, KKT, lamellar-penetran keratoplasti teknikleri kullanılmakta olup, postoperatif dönemde görsel rehabilitasyonun sağlanmasında önemli bir kriter olan korneal saydamlık istenilen düzeyde sağlanamamakta olup bu hastalıkların kaynağında da limbal kök hücre yetmezliğinin yattığı düşünülmektedir.

Oküler yüzeyde bozukluğa sebep olan hastalıkların sağaltımında kullanılan klasik yöntemlerin dışında limbal kök hücrelerin limbus bölgesinde lokalize olduğunun anlaşılmasıyla birlikte birçok yeni yöntem kullanıma girmiştir. Klasik tedavi yöntemlerinden olan kornea konjunktival transpozisyon yöntemi ile oküler yüzey bozukluğunda limbal kök hücre desteği sağlamak amacıyla kullanılan limbal kök hücre transplantasyon yöntemi bu çalışmada karşılaştırılmıştır. Limbal kök hücre yetmezliğine yol açan alkali yanıkların tedavisinde limbal kök hücre transplantasyonunun ne oranda etkili olduğu kontrol grubu bulguları ile desteklenmiştir.

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında katkılarından dolayı danışmanım Prof. Dr. Zeki ALKAN'a ve değerli hocalarım Prof.Dr. Eser ÖZGENCİL ile Prof. Dr. Fatih KAREL'e, çalışma ve uygulama sırasındaki yardımlarından dolayı Gazi Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi çalışanlarından Dr. Şeyda DİKER'e, çalışma süresince sağladıkları katkılar için tüm Cerrahi Anabilim Dalı çalışanlarına ve doktoram boyunca bana destek olan eşime ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

|                    |                                     |
|--------------------|-------------------------------------|
| <sup>0</sup>       | Derece                              |
| N                  | Normal                              |
| NaOH               | Sodyum Hidroksit                    |
| ml                 | Mililitre                           |
| mm                 | Milimetre                           |
| sn                 | Saniye                              |
| mg/kg              | Miligram bölü kilogram              |
| vb                 | ve benzeri                          |
| NaCl               | Sodyum klorür                       |
| NaOH               | Sodyum hidroksit                    |
| HCl                | Hidroklorik asit                    |
| NH <sub>4</sub> OH | Amonyum hidroksit                   |
| KOH                | Potasyum hidroksit                  |
| MgOH <sub>2</sub>  | Magnezyum hidroksit                 |
| CaOH <sub>2</sub>  | Kalsiyum hidroksit                  |
| Na                 | Sodyum                              |
| K                  | Potasyum                            |
| LSC                | Limbal kök hücre                    |
| KKT                | Korneo-konjunktival Transpozisyon   |
| LKHT               | Limbal Kök Hücre Transplantasyonu   |
| KT                 | Kornea Transplantasyonu             |
| FKN                | Felin Kornea Nekrozu                |
| FHV                | Feline Herpes Virus                 |
| SJS                | Steven Johnson Sendromu             |
| OSP                | Oküler skatrisyel pemfigoid         |
| SS                 | Sjögren's sendromu                  |
| IM                 | İntramusküler                       |
| TEM                | Transmissible electron mikroskopu   |
| SC                 | Limbal epiteliyal stem hücreler;    |
| eTAC               | Early transient amplifying hücreler |
| M                  | Melanositler                        |

|         |                                   |
|---------|-----------------------------------|
| LC      | Langerhans hücreleri              |
| TAC     | Transient amplifying hücreler     |
| PMC     | Postmitotik hücreler              |
| TDC     | Terminal diferansiye hücreler     |
| IVF     | İnvitro fertilizasyon             |
| EC      | Embriyonal karsinoma              |
| PMNL    | Polimorf nüklear lökosit          |
| ENF     | Epiteliyal Neurotrofik Faktör     |
| PTF     | Prekorneal gözyaşı tabakası       |
| mg/ml   | Miligram bölü mililitre           |
| Zn      | Çinko                             |
| Mn      | Mangan                            |
| Ca      | Kalsiyum                          |
| Na-EDTA | Sodyum edta                       |
| ATH     | Antijen tanımlayıcı hücreleri     |
| KİLD    | Konjunktiva ilişkili lenfoid doku |
| KCS     | Keratokonjunktivitis sikka        |
| KPG     | Konjunktival pedicle greft        |

## ŞEKİLLER

- Şekil 1.1.** Normal Kornea Histolojisi
- Şekil 1.2.** Kök hücrelerin başkalaşım basamakları
- Şekil 2.a.** Mikrocerrahi seti (Göz spekülumu, Kolibri, Wannas makası, Portequi, Tying forceps, Beaver blade, Spatula uçlu kornea bistürisi, Eğri uçlu hemostatikler, dikiş materyali).
- Şekil 2.b.** Bipolar koter.
- Şekil 2.c.** Dijital görüntüleme seti.
- Şekil 2.1.a.** Kornea merkezine 4 N NaOH emdirilmiş diskin yerleştirilmesi.
- Şekil 2.1.b.** Disk uzaklaştırıldıktan sonra oluşan alkali yanık lezyonu.
- Şekil 2.1.c.** Fluoresein boyama.
- Şekil 2.3.a.** Lezyonun 1. Nazal, 2. Temporal, 3. Lateral kenarından ensizyon.
- Şekil 2.3.b.** Korneanın limbusa kadar lamellar ensizyonu.
- Şekil 2.3.c.** Korneal cep oluşturulması ve limbusa doğru oluşturulan cebin genişletilerek diseksiyonu.
- Şekil 2.3.d.** Serbestleştirilen kornea-konjunktival dokunun kaydırılması (1,2,3)
- Şekil 2.3 e.** Korneaya dikişlerin uygulanması.
- Şekil 2.4.a.** Sağ gözlerde LKHT yatağının hazırlanması.
- Şekil 2.4.b.** Sol gözlerde beaver blade kullanılarak rehber ensizyonun yapılması.
- Şekil 2.4.c.** Sol gözlerde greftin kaldırılması.
- Şekil 2.4.d.** Sol gözlerde Konjunktiva-korneal birleşme bölgesi (Limbus)'nin serbestleştirilmesi.
- Şekil 2.4.e.** Sağ gözdeki yatağa greftin transplantasyonu.
- Şekil 3.1.** Tavşanın normal superior kornea-konjunktival görünümü (A), ilk gün oluşturulan epiteliyal defekt (B).
- Şekil 3.2.2.a.** KKT 4 no'lu olgunun postoperatif 15. gündeki görünümü.
- Şekil 3.2.2.b.** LKHT 1 no'lu olgunun postoperatif 15. gündeki görünümü.
- Şekil 3.2.2.c.** Kontrol 1 no'lu olgunun postoperatif 15. gündeki görünümü.
- Şekil 3.2.3.a.** KKT 4 no'lu olgunun postoperatif 1. aydaki görünümü.
- Şekil 3.2.3.b.** LKHT 1 no'lu olgunun postoperatif 1. aydaki görünümü.
- Şekil 3.2.3.c.** Kontrol 1 no'lu olgunun postoperatif 1. aydaki görünümü.
- Şekil 3.2.4.a.** KKT 4 no'lu olgunun postoperatif 2. ay görünümü.
- Şekil 3.2.4.b.** LKHT 6 no'lu olgunun postoperatif 2. aydaki görünümü.

- Şekil 3.2.4.c.** Kontrol 1 no'lu olgunun postoperatif 2. aydaki görünümü.
- Şekil 3.2.5.a.** Postoperatif 3. ay sonunda KKT 6 (a), LKHT 3 (b) ve Kontrol 1 (c) no'lu olguların görünümü.
- Şekil 3.2.6.a.** KKT 4 (a), LKHT 3 (b) ve Kontrol 1 (c) no'lu olguların postoperatif 4. ay sonu görüntüleri.
- Şekil 3.2.7.a.** KKT 6 (a), LKHT 6 (b) ve kontrol 1 (c) no'lu olguların postoperatif 5. ay sonu görünümeleri.
- Şekil 3.2.8.a.** KKT 6 (a), LKHT 4 (b) ve Kontrol 1 (c) no'lu olguların postoperatif 6. ay sonundaki korneal saydamlık ve ön kamara detayı açısından görünümü.
- Şekil 3.3.1.a.** KKT 1 nolu olguda orta derecede neovaskülarizasyon (oklar).
- Şekil 3.3.1.b.** KKT 3 nolu olguda ileri derecede yangısal reaksiyon.
- Şekil 3.3.1.c.** KKT 4 nolu olguda eozinofil lökositler.
- Şekil 3.3.1.d.** KKT 4 nolu olguda konjunktivanın korneaya dönüşmemesi.
- Şekil 3.3.2.a.** LKHT 1 no'lu olguda kimyasal yanığa ilişkin nekrotik doku (N) ve epitel hiperplazisi (oklar).
- Şekil 3.3.2.b.** LKHT 1 nolu olguda orta derecede neovaskülarizasyon (oklar) ve bağdoku reaksiyonu.
- Şekil 3.3.2.c.** LKHT 2 nolu olguda yangısal reaksiyon (ok).
- Şekil 3.3.2.d.** LKHT 1 nolu olguda düzgün lamelli stroma.

## ÇİZELGELER

- Çizelge 1.1.** Bulbus okulinin katları
- Çizelge 1.2.** Toplam 12 olgunun yaşı, cinsiyeti, greft üzerine yerleştirilen dikiş sayısı ve operasyon süresi
- Çizelge 1.3.** Kontrol, KKT, LKHT ‘deki muayene bulguları
- Çizelge 1.4.** Histopatolojik Bulgular
- Çizelge 1.5.** Kruskal-Wallis Test verileri,

## 1. GİRİŞ

Bulbus okuli eklenti organları ile birlikte hayvanlarda beş duyu organı arasında dış etkilere karşı en duyarlı olan ve görme işleminin gerçekleştirildiği bir organdır. Kornea, bulbus okulinin en dış katmanı olup saydamlığı var olduğu sürece ışık ışınlarını kırarak görüntüyü retina üzerinde oluşturmaya yarar. Kedi ve köpeklerde korneanın yüzeysel, derin ulkusları, descematosel (desematosel), korneal perforasyon gibi lezyonlarına ve keratitislere sık rastlanır. Korneal hastalıklar; epifora, blepharospasm (blefarospazm), fotofobi, kaşınma, vaskularizasyon ve opasite artışı gibi klinik belirtiler ile kolay tanınmalarına rağmen, hızlı ilerledikleri için acilen medikal veya şirurjikal sağaltım gerektirirler (Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt, 2001; Akın ve Samsar, 2005).

Korneal hastalıklar sonucu görüşün kısmen veya tamamen kaybolduğu durumlarda korneanın saydamlığını sağlamak amacı ile şirurjikal olarak pek çok teknik kullanılır. Tam kat korneal defektlerin sağaltımında penetran kornea transplantasyonları (Gökçe, 2001b) kullanılabildiği gibi, tam kat olmayan defektlerin sağaltımında ise; konjunktival greft teknikleri, kornea-konjunktival transpozisyonlar, kornea-skleral transpozisyonlar, üçüncü göz kapağı grefti, amniotik membran uygulamaları, lamellar keratoplastiler ve korneal doku yapıştırıcıları tercih edilmektedir (Slatter, 1990c; Gilger, 1991; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt 2001; Gökçe, 2001a; Soontornvipart, 2003; Akın ve Samsar, 2005).

Bu sayılan cerrahi girişimlere rağmen; korneal saydamlığı elde etmedeki başarısızlıkların ardından kornea epitelinin yenilenmesini sağlayan kök hücrelerin limbusta yerleşmiş olduğu hipotezi üzerine ilk kez Kenyon ve Tseng (1989), tek taraflı oküler yüzey bozukluğu olan olgularda otolimbale transplantasyon tekniğini uygulamıştır. Oküler yüzey bozukluğunun iki taraflı olduğu olgularda ise

immunsupresif tedavinin de dahil olduğu allolimbal transplantasyon gereği doğmuştur (Kenyon, 1995). Son yıllarda ise oküler yüzey bozukluklarında limbal transplantasyonla beraber amniotik membran transplantasyonları da uygulama alanı bulmuştur (Kim, 1995).

Bulbus okuli evcil hayvanlarda görme işlevini yerine getiren görme organı olup; dıştan içe doğru Çizelge 1,1’de gösterilmiş katmanlardan oluşmaktadır.

**Çizelge 1,1.** Bulbus okuli’nin katları (Akın ve Samsar, Göz Hastalıkları, 2005).

- **Tunika fibroza bulbi**

Sklera

Kornea

Epitelyum anterioris kornea (Kornea epiteli)

Lamina limitans anterior (Bazal lamina)

Substantia propria kornea (Stroma)

Lamina limitans posterior (Desement membranı)

Endotelium kamara anterioris (Endotel)

- **Tunika vaskuloza bulbi**

Traktus uvealis

İris

Koroidea

Korpus siliare

- **Tunika interna bulbi**

Retina, papilla nervi optici

Bulbus okuli eklenti organları ile birlikte göz çukurluğu (orbita) içine oturmuştur. Bulbus okuli içten korpus adiposum, dıştan da göz kapakları (palpebra inferior, posterior ve tertia) tarafından oldukça iyi şekilde korunmuştur (Adams, 1988; Akın ve Samsar, 2005).

Genelde hayvanın yaşam tarzı, aktivitesi ve gıda alımına göre bulbus okulinin pozisyonu değişkenlik gösterir ve tavşanlarda gözler lateralde yer alır. Nonpredatorik (yırtıcı olmayan) hayvanlarda bulbus okuli görme eksenini birbirinden farklı yerleri görecektir şekilde yerleşmiştir. Bazı hayvan türlerinde ise, baş ve boyun hareketine göre daha az hareket eder. Bu durum tavşanlarda ve daha çok da baykuşlarda (baş 180 dereceden fazla dönebilir) gözlenir. Sonuç olarak tavşanların görme alanı yaklaşık 360 derecedir, binoküler alanları ise yaklaşık 10–35 derecedir (Adams, 1988; Slatyer, 1990a).

Hayvan türüne göre çeşitli büyüklüklerde olan göz küresinin tavşanlarda antero-posterior çapının 16–19 mm, vertikal çapının 17–18 mm, horizontal çapının 18–20 mm, hacminin yaklaşık 3 cc, corpus vitreus hacminin ise 1 cc olduğu bildirilmiştir. Tavşanlarda göz hareketini sağlayan 9 adet ekstraoküler kas olduğu bilinmektedir. Bunlar; lateral, medial, superior, inferior rektus kasları, süperior ve inferior oblik kas, otçul hayvanlarda iyi gelişmiş olan retraktör bulbi kası, levatör palpebra süperior kası ile alt göz kapağını açan depresor palpebra inferior kasıdır. Bu kaslar, göz küresini hareket ettirir veya olduğu yerde tutar. Kasların çoğu çok ince ve uzun lifli çizgili kastan oluşmuş ve iyi innerve edilmişlerdir (Adams, 1988).

Konjunktiva, alt ve üst göz kapaklarının iç yüzünü, palpebra tersiyanın iç ve dış yüzünü kaplayan ve bulbus okuliye korneal limbusa kadar örten hareketli müköz membrandır. Bulbar ve palpebral konjunktiva arasındaki bölge forniks olarak isimlendirilir (Slatyer, 1990d; Samuelson, 1991; Maggs, 2002; Akın ve Samsar, 2005). Bulbar konjunktiva göz küresi üzerindeki episkleraya gevşek olarak yapışır ve limbusa yakın çok sıkı bağlanır. Konjunktiva; prekorneal gözyaşı tabakası (PGT),

epitelyum ve substantia propria (süperfisial adenoid kat, fibröz kat) 'dan kuruludur. Asıl koruyucu kat olan PGT; Lâkrimal bez, üçüncü göz kapağı bezi, tarsal bez ve konjunktivanın goblet hücreleri tarafından yapılır, konjunktiva ile kornea üzerini film şeklinde kapatır (Slatter, 1990d; Samuelson, 1991; Slatter ve Dietrich, 2002). PTF'nin ilk katı, göz kapaklarının sebasöz bezleri (Tarsal: Meibomian bezler) tarafından oluşturulan çok ince ve yağlı bir katman olup aköz katmanında buharlaşmayı engelleyerek gözyaşını göz kapaklarına bağlamakla görevlidir. İkinci kat ise lâkrimal bez, üçüncü göz kapağının yüzeysel bezi ve konjunktivaya bağlı aksesör bezler tarafından üretilen su yapısında olan katmandır. Üçüncü kat; konjunktival goblet hücreleri tarafından üretilir ve üçüncü göz kapağının derin bezi (tavşanlarda bulunan harder bez) bunun oluşmasına katkı sağlar. Glikoprotein yapısıyla kornea yüzeyini yağlar ve aköz katı korneaya gözyaşını da kornea epiteline bağlar (Gum, 1991; Maggs, 2002; Slatter ve Dietrich, 2002; Akın ve Samsar, 2005). PTF göz kapakları kenarında birikir ve göz kırpma hareketiyle medialdeki punkta lakrimalis içine girer. Punkta lakrimalisden sonra kanalikuli lakrimalis, kanalis nazolakrimalis ve ostium nazolakrimalis yolu ile dışarı atılır. Konjunktiva epiteli kolumnar yapıda ve nonkeratinizedir. Goblet hücrelerinin ürettiği mukusun bir kısmını içerir. Substantia proprianın glandular katı, lenf follikülleri ve bezleri içerir (Gum, 1991; Akın ve Samsar, 2005; Slatter, 1990d; Maggs, 2002; Samuelson, 1991). Bu folliküller; konjunktivanın her yerinde bulunurlar ancak üçüncü göz kapağının bulbar yüzeyi üzerindeki antijenler tarafından uyarıldığı zaman aktif follikül şeklini alırlar. Fibröz kat glandular katın altında uzanır, müller kas fiberlerinin yakınında olup sinir ve damar ağına sahiptirler (Slatter, 1990d; Akın ve Samsar, 2005; Samuelson, 1991). Konjunktivanın arteriyel beslenmesi, eksternal oftalmik arterden köken alan anterior siliar arter (a. siliaris anterior) ile sağlanır (Slatter, 1990d; Samuelson, 1991; Maggs, 2002; Akın ve Samsar, 2005). Venöz dolaşım ise oftalmik venler aracılığı ile oftalmik venöz pleksusa açılarak gözü terk eder. Lenfatik drenaj yüzlek ve derin iki pleksustan oluşur, yüzlek olanı süperfisial konjunktival damarlara bitişik derin olanı ise fibröz kattadır (Samuelson, 1991; Slatter, 1990d; Akın ve Samsar, 2005). Bunlar çeşitli büyüklüklerde olup alt ve üst göz kapağı arasında gözlenen lenf nodüllerine dağılırlar. Lenfatik drenaj göz kapaklarının kommissuralarından parotid ve mandibular lenf yumrularına doğru gerçekleşir

(Samuelson, 1991; Maggs, 2002). Konjunktivanın innervasyonu zigomatikofasiyal, zigomatikotemporal, infrotrohlear ve frontal sinirlerden sağlanır (Hendrix, 1991).

Konjunktivaların en önemli fonksiyonları; Korneayı kurumaya karşı korumak, göz kapaklarının hareketini arttırmak, yabancı cisim ve mikroorganizmalara karşı engel oluşturmak ve çoğu patojen mikroorganizmalardan oluşan florayı barındırmaktır (Samuelson, 1991). Konjunktivanın komplikasyonsuz olan basit yaraları, konjunktivanın episkleraya yapışması ile epiteliyal kayma, mitozis ve yangı olayları ile hızlı bir şekilde 24–48 saat içinde iyileşir. Açığa çıkan skleranın soyulan bölgesi aynı zamanda hızla reepitelize olur. Konjunktivanın derin yaraları ise fibrositlerin aktivasyonu ve neovaskularizasyonla iyileşir (Slatter, 1990d; Maggs, 2002).

Sklera; gözün en dış katı olan tunika fibroza bulbinin en büyük kısmını kaplayan, şeffaf olmayan tabakasıdır. Sklera; episklera, sklera proper ve lamina fusca olmak üzere üç kattan oluşur. Episklera, sklerayı tenon kapsülüne yapıştıran vaskülaritesi yoğun kattır. Episklera içerisindeki kollajen lifler süperfisiyel skleral stroma içine karışır. Ön tarafta kalınlaşarak limbus yakınında subkonjunktival konnektif doku ve tenon kapsülü ile bir bütün haline gelir. Sklera, kollajen fiber ve fibroblastlardan meydana gelir. Kollajen fiberler farklı büyüklük ve şekillerde gözün farklı bölümlerinde farklı doğrultularda seyrederek. Skleral kollajen fiberler, aralarında sabit aralıkların olmaması, çaplarının farklı olması, düzensiz sıralanmaları, su ve mukopolisakkarit miktarının fazlalığı nedeni ile korneal dokunun tersine daha opaktır (Slatter,1990c; Gum, 1991; Barnett ve Crispin 1998; Slatter ve Dietrich 2002). Lamina fusca, uveanın dış katı ve sklera arasındaki geçiş katıdır. Skleral kollajen bantlar içerir ve bu bantlar arasında melanosit ve pigmente makrofajlar bulunur (Slatter, 1990c). Tavşanlarda, kornea-skleral sulkus oluşmadığı için kornea skleral açısı zor görülür. Sklera, limbusta ortalama 0,5 mm, posterior kutupta ise 0,2 mm'den daha az kalınlıkta olup, sirküler kas fiberleri içermez (Adams 1988).

## 1. Kornea

Saydam ve avasküler yapısıyla kornea, göze gelen ışık ışınlarının görme merkezine iletilmesini sağlamaktadır. Kornea, sklera ile birlikte göz küresinin dış fibröz katını (Tunika fibroza bulbi) oluşturur. Kornea anteriora, sklera ise posteriora yerleşmiştir. Tunika fibroza bulbi intraoküler organları korur ve bulbus okulinin küresel yapısının devamlılığını sağlar. Kornea serbest sinir uçlarından zengin olduğu için son derece duyarlı bir yapıdadır. Anterior stroma ve kornea epitelyumunun sinirsel innervasyonu, trigeminal sinirin oftalmik dallarından uzanan, uzun silier sinirler ile sağlanır. Kornea sinirleri, kornea kenarında ve limbusta miyelinli, merkezde miyelinsizdir (Şaroğlu, 1999; Adams, 1988; Slatter, 1990b; Slatter, 1990c; Samuelson, 1991; Wilkie ve Whittaker, 1997; Barnett ve Crispin, 1998; Slatter ve Dietrich 2002).

Gece avlanan hayvanlarda retinaya daha fazla oranda ışığı geçirebilmek için kornea göz küresine oranla daha büyüktür. Kedi ve tavşan gibi gece ve gündüz beslenen hayvanlarda kornea, göz küresinin %30'unu oluşturur Kornea genellikle eliptik şekilde olup horizontal çapı vertikal çapından daha büyüktür (Adams, 1988; Şaroğlu, 1999; Slatter, 1990c; Samuelson, 1991; Gelatt, 2001).

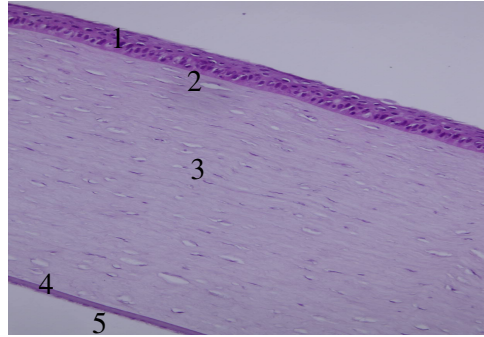
Korneanın kalınlığı türlere göre değişim göstermekle birlikte genel olarak hepsinde kalınlık 1 mm'den ince olup, perifer merkezden daha kalındır. İnsan korneasında bu durumun tam tersi olduğu bildirilmiştir. Yaşlı hayvanlarda kornea; endotelial hücre fonksiyonlarının yetmezliğinden dolayı, 0,9 mm'ye kadar kalınlaşabilir (Şaroğlu, 1999; Adams, 1988; Samuelson, 1991; Slatter, 1990c; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt ve Gelatt, 2001). Tavşanlarda kornea kalınlığı uniform olup ortalama 0.37 mm, kornea merkezinde ise kalınlık  $407. \pm \mu\text{m}$ 'dir (Adams, 1988).

Kornea; histolojik olarak sırasıyla epitelyum, stroma, desement membran ve endotelyum olmak üzere 4 katlı bir yapıya sahiptir. Epitelyumun bazal laminasını ayrı bir kat olarak değerlendiren görüşler de mevcuttur ve bu görüşe göre kornea;

epitelyum anterioris kornea (Epitelyum), lamina limitans anterior (Epitelyumun bazal laminası), substansiya propria kornea (Stroma), lamina limitans posterior (Desement membran) ve endotelyum kamara anterioris (Endotelyum) olarak 5 tabakadan oluşmaktadır.

### 1.1. Epitelyum Anterioris Kornea ve Lamina limitans Anterior (Kornea Epiteli ve Bazal Lamina)

Kornea yüzeyi en özelleşmiş vücut yüzeyi olup; kornea epitelindeki hücreler keratinize olmamalarına karşın, keratositler olarak da adlandırılır ve bulbar konjunktivanın devamı biçiminde değerlendirilirler. Keratositler, çok katlı olup, epitelyumun kalınlığı yaklaşık 0.08 mm kadardır. Kornea epiteli 3 değişik hücre tipinden oluşan 5-6 tabakadan kurulu olup, bunlar 2-3 sıra yüzeysel hücreler, 2-3 sıra kanat hücreleri ve 1 sıra da kolumnar bazal hücre tabakası olarak bilinir. Sadece bazal hücrelerin çoğalma aktivitesi vardır (Şekil 1,1).



**Şekil 1,1.** Normal Kornea Histolojisi (1.Epitelyum, 2.Bazal Membran, 3. Stroma, 4.Desement Membran, 5. Endotel).

Kornea epiteli, limbus bölgesindeki bazal hücre tabakasından yukarı doğru, limbus bölgesinden merkeze doğru (sentripedal) ve dairesel (sirkumferensiyal) şekilde hücre göçüyle; sabit ve devamlı bir şekilde dökülür ve yenilenir. Bu değişim

7-14 gün kadar sürer. Kornea epitelinin yenilenmesinden sorumlu bu limbal hücrelerin yaşam süreleri uzun olup, asimetric bölünme ile biri kız hücre ‘stem cell’ olarak kalırken, diğeri çoğalan kornea epitelyum hücresine dönüşür. Bu hücreler “limbal kök hücre” (LKH) adını alırlar. Bu hücreler önce kanat hücreler, sonra yüzeysel hücrelere farklılaşırlar (Brunelli, 2006; Dua, 1994; Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a; Fernandes, 2004).

Epiteldeki hücresel elemanlar korneal immunité için önemli rol oynarlar. Dendritik Langerhans hücreleri korneanın limbus bölgesinde fazla sayıda bulunurken sentralde bulunmazlar (Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a). Langerhans hücreleri kemik iliğinden çıkan makrofajların özelleşmiş şekilleridir. Bu dendritik hücrelerin çevre kornea epitelinde sayıları fazla olup, gözün immun cevabının afferent kolunda antijen sunucu olarak görev yaptıkları düşünülür. Oküler yangıda bu hücrelerin sayısı artarken, kortikosteroid kullanımında azalır. Kornea santrali yaralandığında periferik langerhans hücreleri hızla santrale doğru göç ederler (Brunelli, 2006; Dua, 1994, Munger, 2001).

Kornea epitelinin yüzeyinde 2-4 kat farklı yüzeysel hücre tabakası bulunur. Bunlar oldukça düz, poligonal şekillidirler. Çapları 40-60 µm ve kalınlıkları 2-6 µm dir. Bu hücrelerin yüzeyi mikropililer ve mikrovilluslar ile kaplıdır. Bunlar hücre yüzeyini genişleterek oksijen ve besin alışverişine izin verirler. TEM (transmissible elektron mikroskobu) ile bakıldığında iki farklı hücre tipi vardır ki bunlardan biri koyu renkli, yoğun mikrovillusludur ve gözyaşıyla atılırlar, diğeri ise daha az mikrovillus içerip küçük ve açık renkli genç hücrelerdir. Yüzeysel hücreler dezmozomlar ve sıkı bağlantılar ile birbirlerine bağlanmış olup, interselüler boşluğa maddelerin geçişine karşı anatomik bir bariyer olarak davranırlar. Kornea epitelyum devamlılığının bozulması halinde aköz maddeler korneal stromaya sızarlar. Bazal hücreler küboid, kolumnar ve tek sıra halinde olup bazal membranın üzerinde bulunurlar. Bazal hücreler kanat hücrelerin ve yüzeysel hücrelerin kaynağı olup sadece bazal hücreler mitotik aktivite gösterirler. Bazal hücreler komşu hücreler ile dezmozom, **gap junction** ve zonula adherens ile bağlanırken; alttaki bazal membrana ise hemidezmozomlarla tutunmuştur. Bazal hücrelerin arka yüzeyi bazal tabakaya

dayalı ve düz olup, hemidezmozomlar bu arka yüzeyde bulunurlar. Tekrarlayan korneal erozyonlarda hemidezmozom kaybından dolayı epitelyum tabakası sıkı ve sürekli yapı oluşturamaz. Bazal lamina, epitelyumun, bazal hücreleri tarafından salgılanan ince ve uniform bir yapıdadır. Laminin ve heparin sülfat proteoglikanlarını da içeren bazal membranın çoğunluğu, tip 4 kollajenden oluşmuş karmaşık bir yapıdır. Bu yapı ultrastrüktürel olarak, lamina densa ve lamina rara olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Biyokimyasal bakımdan bu iki farklı yapı; laminin, heparin sülfat proteoglikan ve tip 4 kollajen miktarlarının değişik oranlarda bulunmasıyla farklılaşır. Bazal tabaka epitelyum tabakalarının iyileşmesinde önemli rol oynar. Epitelyum hücreleri döküldüğünde bazal membranın oluşması bir haftadan fazla zaman alır. Fibronektin bazal membranın kalıcı formu oluşana kadar geçici matriksi oluşturur. Tip 4 kollajen ve laminin yüzey üniformitesinin devamında, fibronektin ise akut yaralanmalarda rol oynar (Dua, 1994; Gelatt ve Gelatt, 2001).

## **1.2. Substantia propria kornea (Stroma)**

Stroma, korneal kalınlığın yaklaşık %90'ını oluşturur. Stromadaki organize olmuş kollajen fibriller bir araya gelerek lamellaları oluşturur. Lamellaların korneal yüzeye paralel seyretmesi ve düzenli yapısı korneal saydamlığın devamı için önemlidir. Stroma, iç yapısında fibroblast, keratosit ve temel madde de içerir. (Şaroğlu, 1999; Samuelson, 1991; Slatter, 1990c; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt ve Gelatt, 2001). Stroma yapısındaki keratositlerin derin korneal yaralanmalarda fibroblastlara dönüşerek saydam olmayan skar (nedbe, granülasyon dokusu) dokusunu oluşturdukları bilinmektedir (Samuelson, 1991).

## **1.3. Lamina Limitans Posterior (Desement membran)**

Lamina limitans posterior'un içeriğindeki kollajen yapı, enzimatik yıkımlanmaya karşı stroma kollajeninden daha dayanıklıdır. Membran elastik yapısı ve göz içi

basıncının etkisi ile derin ülser olgularında öne doğru çıkıntı yapar ki bu olgu klinik olarak desmatosel olarak adlandırılır. Floresein boyası ile boyanmadığı için de bu tabaka ülser ya da yaranın merkezinde saydam, koyu renkli ve dışa bükülmüş olarak görüntü vermektedir. Perforasyon durumunda ise elastik fibriller içermesi nedeni ile yırtılan uçları kamara okuli anteriora doğru kıvrılarak bukle oluşturur (Şaroğlu, 1999; Slatter, 1990 c; Samuelson 1991).

#### **1.4. Endotelium Kamara Anterioris (Kornea Endoteli)**

Desement membranın posteriorunda yer alan, az sayıda mikrovili içeren heksagonal hücrelerin oluşturduğu tek katlı bir yapıdır. Yaklaşık kalınlığı 4 mikrometre olup yüksek metabolik aktivitesinden dolayı fazla miktarda mitokondri içerir. (Şaroğlu, 1999; Slatter, 1990c; Samuelson, 1991; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt ve Gelatt, 2001).

Korneanın, saydamlığı ve dış büküye yüzey oluşturması, anatomik ve hücresel özelliği ile ilişkilidir. Kornea saydamlığı;

- Kan, lenf damarları ve bu sistemlere ait hücrelerin bulunmaması,
- Pigmentten yoksun olması,
- Mineral ya da lipid depolarının olmaması,
- Kısmen dehidre olması,
- Kollajen fibrillerinin düzenli bir şekilde çok iyi organize olmasıyla, ışığın kırılarak bulanık görüntü oluşturmasını engellemesi ve

• Prekorneal gözyaşı tabakası tarafından düzgün bir optik yüzeye sahip olması gibi faktörlere bağlıdır (Şaroğlu, 1999; Slatter, 1990c; Slatter ve Dietrich, 2002; Samuelson, 1991; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt, 2001).

Korneal saydamlığı bozan nedenler arasında; ödem, skar (granulasyon dokusu) oluşumu, pigmentasyon, korneal stroma içindeki infiltrat ve hücrelerin varlığı ile kan

damarlarının oluşması (neovaskularizasyon) sayılmaktadır (Slatter, 1990b; Gelatt ve Gelatt, 2001; Slatter ve Dietrich, 2002).

Kornea dokusunun biyokimyasal enerji ihtiyacı, glikoz metabolizması sayesinde sağlanmaktadır (Slatter, 1990c; Barnett ve Crispin, 1998; Slatter ve Dietrich, 2002). Korneanın avasküler olması nedeniyle oksijen; humor akus, prekorneal gözyaşı tabakası ve atmosfer, limbusun kapillar pleksusu, palpebral konjunktivanın kapillar damarları aracılığı ile sağlanır. Kornea, beslenmesinin büyük bir kısmını perilimbal damarlardan diyaliz yolu ile daha az bir kısmını da humor akus ve gözyaşı tabakasından sağlar. Kornea atıklarının çoğu, dışarıya epitelyum aracılığı ile taşınır. Korneanın epitelyumu ve özellikle de endotelyumundaki bir mekanizma giren suyu aktif olarak dışarıya atar. Bu mekanizma korneanın saydamlığının devamı için önemlidir. Endotelyum hücreleri korneanın su gücünü oluşturan stromadaki suyu intraoküler basıncın aleyhine, humor akusa pompalar. Endotelyum ve epitelyum, Na ve K aktivasyonlu adenozin trifosfataz içerir. Epitelyum da stromanın su içeriğinin kontrolünde önemli bir yere sahiptir. Korneanın dehidrasyonu için işleyen bu mekanizma 'deturgens' olarak adlandırılır. Epitelyuma oksijen girişinin engellenmesi, anaerobik glikolizise yol açar. Bu da kornea dokusunda laktik asit ve su birikimiyle, kornea ödemi oluşumuna neden olur. Korneanın su miktarı, kollajen fibrillerinin ayrılması ve düzensiz dizilişi, optik yüzeydeki farklılaşmalar, prekorneal gözyaşı tabakasının olmaması ve korneal epitelyumun kaldırılması gibi nedenler korneal saydamlığı etkiler. Göz küresi üzerine basınç uygulandığında kollajen fibrilleri arasında ödem şekillendiği gözlenebilir. Bu durum intraoküler basıncı artırır, fibrillerin kafes yapısını bozar ve korneal opasiteye neden olur. İntraoküler basınç artışı nedeniyle endotelyumda oluşan hasar ve buna bağlı stromal su artışı farklı bir durumdur. Bu mekanizma intraoküler basınç artışından dolayı, endotelial hasar ve stromal su artışını, korneal ödemdeki opasiteden ayırmaya yardımcı olur. Kollajen ağı ve kollajen tipindeki farklılaşmalara yol açan korneal ödem, prekorneal gözyaşı tabakası veya epitelyumun kalkması, artan intraoküler basınç, endotel hasarı, sikatriks şekillenmesi, korneanın saydamlığını azaltır (Şaroğlu, 1999; Gelatt ve Gelatt 2001).

Kornea; basınç, soğuk ve sıcaklığın somatosensorik duyarlılığının kornea içinde bulunup bulunmadığı tam olarak bilinmemektedir ancak; dokunma ve ağrı reseptörlerine sahiptir. Bu sinirlerin yüzeysel yoğunluğundan dolayı derin olmayan ülserlerde ağrı reaksiyonu, derin ülserlerden daha fazladır. Buna ek olarak aksonal bir refleks de söz konusu olduğundan, anterior uveitisde olduğu gibi bu sinirlerin stimülasyonu, myozis refleksi, oküler hiperemi ve akus parlaması klinik olarak gözlenir (Şaroğlu, 1999; Gum, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001).

## 2. Limbus

Limbus, kornea-sklera birleşiminde yer alan gri-kahverengi, yarı saydam 1-2 mm genişliğinde bir geçiş zonu olup, hem kornea hem de skleranın anatomisine katkıda bulunur. Kornea konjunktival geçiş hattı olarak adlandırılan limbus; korneal epitelyumu şekillendirirken konjunktival epitelyumun kök hücrelerini de barındırır ve bu sayede her iki epitelyumun hücrelerinin yapımını sağlar. Limbusta lokalize olan melanin pigmentinin kök hücrelerini güneşin zararlı ışınlarından koruduğu görüşü hâkimdir. Limbus, 10-12 katlı epitelyum, melanosit, langerhans hücreleri ve damar ağzından kuruludur. Limbal epitelyum, konjunktival epitel hücrelerinin kornea üzerine büyümesini ve migrasyonunu engeller (Gan, 2004; Dua ve Azuara-Blanco, 2000a; Brunelli, 2006; Dua, 1994; Dua, 1998; Kocamış, 2005; Li, 2007). Limbus; korneadan farklı morfolojiye sahip olarak Langerhans hücreleri ile melanositlere sahip olup, konjunktivadan farklı olarak da goblet hücre tabakası içermez. Merkezi kornea ile karşılaştırıldığı zaman limbal epitelyumun daha yüksek proliferasyona sahip olduğu bildirilmiştir (Chen ve Tseng, 1990; Dua, 1994; Li, 2007; Pellegrini, 1999; Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a).

Limbal bazal epitelyum sadece kök hücrelerden değil transient amplifying hücre (TAC)'lerden de oluşmuş olup, kornea epiteli içinde TAC'lerin hiyerarşisi vardır. Periferdeki hücrelerin çoklu bölünme kapasitesinde olduğu, merkezdeki TAC'ların ise sadece bir bölünmeye sahip olduğu bilinmektedir. Yara iyileşmesine

karşı verilen cevapta TAC' ların çoğalma hızı artar. Korneal epiteliyal yara iyileşmesinde kök hücrelerin ve TAC' ların rolü ayrıdır. İyileşme süresince hücrel göç ve mitozis olayları öncelikli olarak TAC' ların denetiminde olup, kök hücreler ise korneal hücrel rejenerasyon ve diferensiyasyondan sorumludurlar (Chen ve Tseng, 1990 Dua, 1994; Dua ve Azuara-Blanco, 2000a; Lavker ve Sun, 2000; Lavker ve Sun, 2003) (Şekil 1,2).

Sklerokorneal limbal kök hücrelerinin parsiyel veya total yıkımlanması korneada farklılaşmalara yol açar (Dua ve Azuara-Blanco, 2000a) ve konjunktival epitelyumun korneal yüzey üzerine büyümesi (konjunktivalizasyon); kronik yangı, yüzlek vaskularizasyon, kalsifikasyon, ülserasyon, erime (melting) ve korneada perforasyon gözlenir (Brunelli, 2006; Chen ve Tseng, 1990; Dua ve Azuara-Blanco, 1999; Dua ve Azuara-Blanco, 2000a; Fernandes, 2004; Li, 2007). Korneal yüzey konjunktival epitelyum ile kaplandığı zaman goblet hücreleri de tunika fibrozanın özelleşmiş bölümünde görülebilir (Dua, 1998).

Kornea, limbus ve konjunktivayı etkileyen geniş defektlerin iyileşmesinde, öncelikle iyileşmenin limbal bölgeden başladığı bildirilmiştir Limbal iyileşme tamamlandıktan sonra da merkezi korneal iyileşmenin tamamlandığı gözlenmiştir (Dua ve Azuara-Blanco, 2000a; Dua, 1994).

Thoft ve ark. (1984), korneal epitelyum yüzeyinin devamlılığını açıklayan X, Y, Z hipotezi geliştirmişlerdir. Bu hipotezde; bazal hücrelerin (X komponent) proliferasyonu ve limbal hücrelerin (kök hücreler- Y komponent) sentripedal migrasyonu ve proliferasyonunun korneadan dökülen hücreler (Z komponent) 'e eşit olması gerekliliği bildirilmiştir. Bu eşitliğin bozulduğu durumlarda kök hücre yetmezliği gözlenmektedir ki klinik olarak kök hücrelerde gözlenen yetmezlik konjunktivalizasyon olarak kendini gösterir.

Kök hücreler, doku replasmanı ve rejenerasyonundan sorumludurlar (Brunelli, 2006; Fernandes, 2004; Kruse, 1990; Li, 2007). Limbal yetmezlik veya kök hücre kaybı anormal korneal yüzeyle sonuçlanan proliferatif kapasitede azalma ile karakterizedir (Brunelli, 2006; Li, 2007).

Limbus yüzeyine doğru limbal kök hücreleri içeren, vogt palisatları denilen kahverengi radial uzantılar bulunmaktadır. Vogt palisatlarının; 1,5-2 mm aralıklarla dizili olduğu, kan damarları, lenfatikler ve sinirlerden zengin olduğu bildirilmekte olup, 0,5 mm genişliğinde, 4 mm uzunluğunda, her kadranda 32-36 adet bulunduğu ve alt limbusta daha belirgin olarak gözleendiği bildirilmektedir (Fernandes, 2004; Townsend, 1991; Şanlı, 2002).

Tavşanlarda basit travma ya da kimyasal yanıkla oluşturulan korneal epitelyum hasarında limbal bölgeden epiteliyal hasar bölgesine doğru göç eden pigmentin varlığının gözlenmesi ile limbal kök hücrelerinin lokalizasyonuna ilişkin ilk kanıt elde edilmiştir (Mann, 1944). Daha sonra yapılan bir çalışmada; korneal epiteliyal kök hücrelerinin limbal bölgede lokalize olduğu, pigmente epiteliyal göç çizgisinin limbustan santral korneaya doğru hareket ettiğininin gösterilmesi ile kanıtlanmışlardır (Chee, 2006).

Kinoshida ve ark. (1981), lamellar keratoplastisi için tavşan modelini kullanmışlar ve alıcı korneal epitelyumun verici epitelyumu ile sentripedal göç ile yer değiştirdiğini göstermişlerdir.

Schermer ve ark. (1986), kök hücrelerin limbusun bazal bölümünde lokalize olduğunu monoklonal antikorlar kullanılarak, 64 KD (cytokeratin 3) ve 55 KD (cytokeratin 12) keratinlerinin gösterilmesi ile kanıtlanmışlardır. Böylece korneal epiteliyal kök hücrelerinin limbal bazal epitelyumda lokalize olduğu hipotezi ilk kez ortaya atılmıştır.

Cotsarelis ve ark. (1989), yaptıkları bir çalışmada kök hücrelerin limbus bölgesinde olduğunu, limbal epitelyumun merkezi korneaya oranla daha yüksek proliferatif kapasiteye sahip bulunduğunu göstermişlerdir.

### **3. Korneal Hastalıklarda Yara İyileşmesi**

Korneal hastalıklarda sıklıkla dört aşamada değerlendirilen lezyonlar ortaya çıkar. Bunlar derinliğine göre; epiteliyal defekt, epiteliyal ve ön stromal defekt, derin stromal defekt ve endotelle birlikte tüm katların defekti olarak tanımlanır (Slatter, 1990c).

#### **3.1. Epiteliyal Defektlerde İyileşme**

Kornea epiteli yüksek oranda iyileşme kapasitesine sahip olup, travma sonrası kornea üzerindeki hasarlı bölgenin kenarında bulunan sağlam hücreler lezyonu kapatma eğilimindedir. Dört ile 7 gün içerisinde korneal lezyon kapatılır. Yaranın büyüklüğüne göre ilk önce wing (kanat) hücreler daha sonra da bazal tabakadaki hücreler bazal lamina üzerinden 15. saatte yaralanan alana göç ederler (Peiffer, 1991; Gilger, 1991; Dağlıoğlu, 2001; Barnett ve Crispin, 1988; Slatter, 1990c). Hücrelerin lezyonu kapatmasını takiben mitozis şekillenir ve çok katlı epitelyum doku tamamlanmış olur (Barnett ve Crispin, 1988). Gözyaşı tabakası ile yaralanmadan üç saat sonra bölgeye ulaşan polimorf nükleer lökosit (PMNL)'ler bölgede 36 saat kalır ve yaranın proteolitik debridementi de yapılmış olur ve bu PMNL' ler zamanla kaybolurlar. Kornea epitelyum iyileşmesinde sinir lifi rejenerasyonu da gerçekleşir. Tavşan korneasında bu yapıyı destekleyen ENF (Epiteliyal Neurotrofik Faktör) adı verilen bir mediatörün varlığı bildirilmiştir. Hücrelerin kayması sırasında limbal bölgeden melanositler de saydam bölgeye yerleşebilir. Eğer bazal membran hasar gördüyse, rejenerasyon haftalar ya da aylar sürebilir. Rejenerasyon tamamlanıncaya kadar epitelyum yerinden kolayca kalkabilir (Slatter 1990c; Gelatt ve Gelatt, 2001).

### 3.2. Epiteliyal ve Yüzeysel Stromal Yara İyileşmesi

Bu epiteliyal iyileşme en az altı hafta alır. Stroma yara iyileşmesi için uygun bir doku değildir ve stroma rejenere olmadığı için defektin yerini kollajenöz skar dokusu alabilir veya hiperplastik bir epitel bu alan doldurulabilir. Derin hasarlarda ise epitelyum kısa sürede yüzeyi sarar ancak stromada hücrel infiltrasyon ve rejenerasyon şekillenir (Slatter, 1990c; Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001).

### 3.3. Avasküler İyileşme

Stromanın derin ve komplike olmayan yaralanmalarında avasküler iyileşme gözlenir. Yaranın kenarındaki keratositlerin kaybı ile bölge fibrin ile kapatılır. Yıkımlanmadan 1,5 saat sonra stromal yarada, limbal konjunktival damarlardan ve PTF'den infiltre olan PMNL' ler gözlenir. PMNL' ler proteolitik debridementten sorumludur ve 12. saatte pik yaparlar ve 72. saatte giderek sayıları azalır. Yaralanmadan 1,5 saat sonra çevredeki ketarositler fibrositlere dönüşür. Bu fibrositler yıkımlanma bölgesine göç ederek mukopolisakkarit ve kollajen sentezine başlarlar. Yaralanmadan yaklaşık 48 saat sonra makrofajlar bölgeye göç ederek hücre artıklarını ortadan kaldırır. Daha sonraki dönemde de keratositlere dönüşürler. Rejeneratif stromanın altında uzanan kollajen fibriller düzensizleşir ve korneal saydamlığı azaltır. Korneadaki defektlerin, derinliği ve genişliğine bağlı olmak üzere, hayvan türlerine göre farklı sürelerde ödemin kalkması ve kollajen fibrillerin düzenlenmesi sonrasında kornea saydamlığına kavuşur, bazen bir miktar skar dokusu da kalabilir. (Slatter, 1990c; Wilkie ve Whittaker, 1997; Akın ve Samsar, 2005; Barnett ve Crispin, 1988).

### 3.4. Vasküler İyileşme

Yıkımlayıcı ya da komplike olmuş stromal yaralanmalarda kornea, bulbar konjunktiva ve limbus kökenli damarlar yoluyla iyileşir. Vasküler iyileşmede aşırı

selüler infiltrasyon şekillenir. Böylece oluşan granülasyon dokusu avasküler iyileşmedeki skar dokusundan daha şiddetlidir. Sonradan oluşan bu kan damarları zamanla kollabe olur ancak tamamen ortadan kalkmaz. Korneadaki düzensizlikler epitelial hücreler tarafından kapatılır ve sinirsel rejenerasyon çok yavaş bir şekilde gelişerek korneal duyarlılık sağlanmaya çalışılır (Slatter, 1990b; Slatter, 1990c; Slatter, 1990d; Gelatt ve Gelatt, 2001).

### **3.5. Endotelle Birlikte Tüm Katların Defektinde İyileşme**

Desement membranını da içine alan tüm katların yıkımlanmasının olduğu perfore kornea yaralanmalarını tanımlar. Yaralanmayı takiben humor akustaki fibrinojen, fibrine dönüşür ve yaranın üzerini kapatır Yaralanmayı takip eden 30 dakika ile 5 saat içinde PMNL göçü ile lökosit fazı başlar. Yaklaşık 1 saat sonra epitelial yara iyileşmesi fazı oluşur. Fibroblastik evre yaralanmayı takiben 12 saat sonra başlar. Endotelial faz 24. saatte başlar ve endotel hücre göçünü içerir. Geç faz, yaralanmadan 1 hafta sonra başlar. Skar dokusu kontrakte olur ve gelişigüzel dağılmış olan kolajen lifler tip 1 kollajen yönünden daha iyi organize olurlar (Slatter, 1990c; Akın ve Samsar, 2005; Gelatt ve Gelatt, 2001).

## **4. Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler**

Korneal yaralanmaların iyileşme sürecinde rol oynayan faktörler arasında; organizmanın yaşı, beslenme durumu, tekrarlayan travmalar, enfeksiyon, yangı ve vaskülarizasyonun derecesi sayılabilir.

Bunların dışında bir plazma glikoproteini olan fibronektinin hücre yapışmasını hücre göçünü ve sentezini uyardığı, büyüme faktörlerinin epitelyum rejenerasyonunu ve göçünü arttırdığı bildirilmiştir (Gilger, 1991). Duyusal innervasyonun mekanizması bilinmemekte olup yokluğunda hücre göçü ve

adezyonunun büyük ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Gözyaşının niceliğinin epitelin sağlıklı oluşu ve bütünlüğü için kritik önemi bulunmaktadır. Akus tabaka eksikliğinde yüzeysel kuruluk, punktat epiteliyal floresein boyanma, mukus plak, iyileşmeyen epitelyum defektleri gözlenir. Lipid tabaka eksikliğinde ise, oküler yüzey keratinizasyonu, yüzey mikropika kaybı, epitelyum defekti, korneal ülserasyon ve keratomalazi gözlenir (Wagoner, 1997).

Tedavi amacıyla kullanılan ilaçların korneal yara iyileşmesine etkileri olduğu bilinmektedir. Antibiyoterapi ilaçlarından düşük dozda kullanılan basitrasin (500µ/ml), gentamisin sülfat (3mg/ml), neomisin (3,5 mg/ml) ve kloramfenikol (4mg/ml)'ün korneal epitelizasyona etkileri yok iken, kloramfenikol dışında basitrasin (10.000 µ/ml), gentamisin sülfat 10mg/ml) ve neomisin (8 mg/ml)'in yüksek konsantrasyonlarda epitelizasyonu belirgin bir biçimde inhibe ettikleri bilinmektedir (Gelatt ve Gelatt, 2001). Tavşan kornealarında yapılan bir çalışmada; %5'lik safazolin-Na ve neosporin (neomisin sülfat, polimiksin-B ve gramisidin karışımı)'in epitelyum iyileşme hızına ve kalitesine en az etkide bulunduğu; %10'luk sülfasetemid-Na ve suni gözyaşı preperatlarının orta etkide bulunduğu; tobramisin, gentamisin sülfat ve kloramfenikol'ün ise toksik olduğu saptanmıştır (Fece, 2004).

Epitelyum kapandıktan sonra korneal stromal yaralarda opasite oluşumunu önlemek, pigment üretimi ve vaskülarizasyonu azaltmak, fibroplazya inhibisyonu sağlamak ve epitelizasyonu kontrol etmek için kullanılan kortikosteroidler korneal epitelyum, stroma ve endoteldeki yara iyileşmesini inhibe ederek PMNL'lerin kollajenaz etkisini güçlendirip ülserasyon riskini artırır ve enfeksiyon riskini de 15 kez arttırarak sonuçta iyileşen yaranın gücünü azaltırlar (Slatter, 1990c; Gelatt ve Gelatt, 2001).

Sağlıklı korneada kollajen ve kollajenaz sentezi yoktur. Korneada stromal yıkımlanmayı takiben kollajen fibrillerin fagositozuna neden olan fibroblastik aktivite başlar. Bu fibroblastik aktivite; kollajen sekresyonunu, kollajenaz üretimini

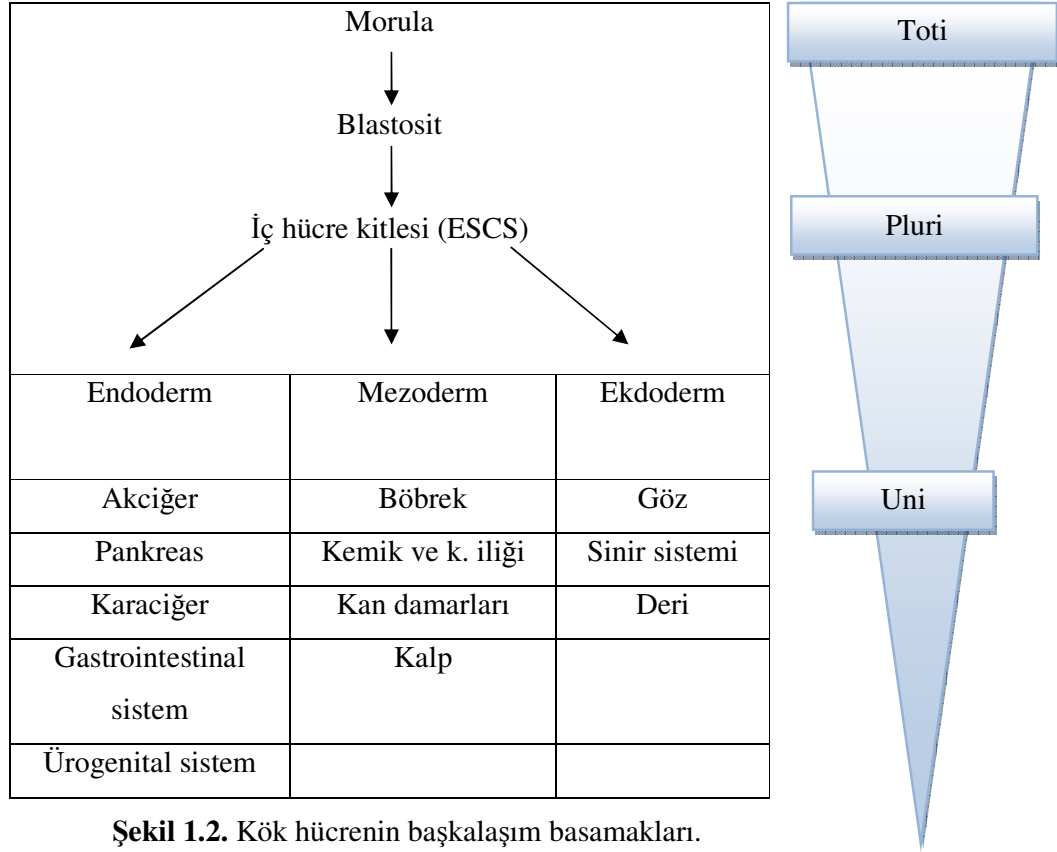
yapabilme özelliği gösterir. Matriks metalloproteinaz enzim ailesinden olan kollajenaz, kollajen moleküllerini parçalayıp miktarını sınırlandırır. Mekanik yıkımlanmalardan sonra iyileşen, keratokonuslu ve aktif ülserli kornealarda bulunur. Matriks, kollajen ve glikozaminoglikan yapılarda yıkımlayıcı etki gösterebilmek için Zn, Mn ve Ca gibi +2 yüklü minerallere ihtiyaç gösterir. Bunların etkisi askorbat, sitrat, tetrasiklin, sentetik peptid, Na-EDTA, asetil sistein gibi pek çok ilaç tarafından inhibe edilir. Alkali yanık ve kollajenaz aktivitesinin geliştiği progresif korneal ülserlerde EDTA'nın sağaltımı destekleyen antikollajenazik bir madde olduğu belirlenmiştir (Şaroğlu, 1999).

## **5. Kök Hücre ve Kornea**

Kök hücreler; dokuları ve organları oluşturan ana, farklılaşmamış hücreler olup, bu hücreler, sınırsız bölünebilme ile kendini yenileme (self renew), organ ve dokuları oluşturan hücrelere dönüşebilme (diferansiyasyon) yeteneğine de sahiptirler (Kansu, 2006; Kocamış, 2005; Kirschstein, 2001; Nelson, 1991; Alberts, 1989). Kas, karaciğer, deri gibi doku hücrelerinin hedefleri belli olup, bu hücreler bölündükleri zaman yine kendileri gibi bir hücre oluştururlar. Bu hücrelerden farklı olarak kök hücrelerin belirlenmiş bir fonksiyonları yoktur. Bu nedenle aldıkları sinyallere göre farklı hücre tiplerine dönüşürler. Bunu belirleyen en önemli etkenler de genler ve dış uyarılardır (Kirschstein, 2001).

Vücutta bulunan kök hücrelerini; bazı kaynaklar totipotent kök hücre, pluripotent kök hücre, multipotent kök hücre ve unipotent kök hücre olarak sınıflandırırken (Can, 2008), bazı kaynaklar da totipotent, pluripotent ve unipotent kök hücre olarak üç alt başlıkta incelemektedirler (Kansu, 2006). Totipotent hücreler embriyonun en erken evresindeki kök hücrelerdir. Pluripotent hücreler embriyonun blastokist evresinden itibaren ve fötusta bulunabilen hücrelerdir. Multipotent hücreler ise kordon kanı ve yetişkin kök hücreleridir. Unipotent kök hücreler ise multipotansiyel kök hücresi ve bu hücrelerin bölünmeleri sonucu oluşan ve tek bir

yönde farklılaşmak üzere programlanmış bulunan hücrelerdir (Bongso, 1994; Can, 2008; Kirschstein, 2001; Darnell, 1986; Alberts, 1989; Kansu, 2006) (Şekil 1.2).



**Şekil 1.2.** Kök hücrenin başkalaşım basamakları.

Kök hücrelerin klasik kaynağı'nın kemik iliği hücreleri (kemik iliği hemotopoetik kök hücreleri ile kemik iliği stromal kök hücreleri) olduğu ve uzun vadede bu hücrelerin farklı hücre tiplerine diferensiye olduğu bilinmektedir. Mezenkimal kök hücreleri farklı hücre tiplerine diferensiye olabilen multipotent stem hücreleri olarak bilinir. Mezenkimal hücrelerin üç germ yaprağı (endoderm, ekdoderm ve mezoderm)'na diferensiye oldukları açık olarak gözlenmiştir. Hemotopoetik kök hücreler vücuttaki tüm kan hücrelerini oluşturmakla görevli olup stromal hücreler ise kemik, kıkırdak, yağ, fibröz doku meydana getirmektedirler (Kirschstein, 2001; Darnell, 1986; Alberts, 1989).

Erişkin kök hücrelerinin, diğer tüm kök hücreler gibi uzun süre kendilerini kopyalayabilme ve özel bir fonksiyonu ve morfolojisi olan spesifik bir hücreye dönüşebilme kabiliyeti vardır. Kök hücreler ayrışmadan (diferansiye olmadan) önce ara bir safha geçirdikleri dönemde öncü veya progenitör hücre adını alırlar. Fötal ve erişkin dokudaki progenitör hücreler yarı farklılaşmışlardır ve bölünerek matür hücrelere diferansiye olabilirler. Erişkin tip kök hücreler dokularda nadir bulunurlar. Birincil görevleri bulundukları dokuda hücre ölümü veya doku hasarı meydana geldiğinde kısmen dokuyu tamir etmektir. Hemotopoetik sistemde kök hücreler olgunlaşmış kan hücrelerine dönüşmek üzere kemik iliği tarafından sürekli üretilmesi gibi bulundukları ortama göre farklı davranış gösterirler. Bu hücrelerin en önemli görevleri kan hücrelerini yenilemektir. Bunun tersine ince bağırsaktaki kök hücreler sabit üretilir ve fiziksel olarak oluşturdukları matür hücrelerinden kolaylıkla ayırt edilebilirler. Bir hücrenin erişkin tip kök hücre olarak tanımlanabilmesi için, o hücrenin organizmanın yaşamı boyunca kendini yenileyebilmesi gerekir. Buna ilave olarak, bu tip kök hücrelerin klonlanabilmesi gerekir. Diğer bir deyişle ihtiyaç olduğunda olgunlaşmış hücrelere dönüşebilecek kendisiyle aynı genetik özelliklere sahip hücreler üretebilmelidir. Dönüştüğü hücrelerin tamamıyla matür bir hücre fenotipinde olması, bulunduğu dokuya uyum sağlaması ve o dokuya ait fonksiyonu yerine getirebilmesi gerekir (Kirschstein, 2001).

Limbal kök hücrelerin korneal yüzey üzerinde tanımlanabilmesi birçok hastalığın tedavisinin planlanabilmesi açısından önem taşımaktadır. Limbal kök hücreler; kendi kendilerini rejenere edebilen uzun ömürlü hücrelerdir. Doku yenilenmesi ve rejenerasyonunu üstlenip vücut hücrelerinin %5-10'unu oluştururlar. Kök hücreler ile ilgili pek çok bilgiye kemik iliği ve epidermis çalışmalarıyla varılmıştır. Kök hücreler, hücre gelişiminde ve bölünme serisinde serinin en primitif hücrelerini oluştururlar. Kök hücrelerin uzun ömürlü oldukları ve ömürlerinin organizmanın yaşam süresi ile eşit olduğu bilinmektedir. Kök hücrelerin düşük mitotik aktivite özelliğine sahip olmaları gerekir. Büyüme düzenli bir faza girdikten sonra hücre sayısını artırma ve diferansiyasyon işini terminal amplifiye hücrelere bırakarak daha fazla replike olmazlar. Kök hücreler mitozda orijinal genetik mesajı kendilerine saklarken kopyasını terminal amplifiye hücrelere verirler. Kök hücrelerin

sitoplazmaları primitiftir, diferansiye olmuş organellere ise pek rastlanmaz (Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a; Şanlı, 2002; Kocamış, 2005).

Kök hücresi içerdği bildirilen erişkin organ ve doku listesine her gün bir yenisi eklenmektedir, bunlar arasında kornea, kemik iliği, periferik kan, beyin, spinal kord, diş kökü, kan damarları, çizgili kas, derinin epitel tabakası, sindirim sistemi, retina, karaciğer ve pankreas bulunmaktadır (Kirschstein, 2001).

Kendi kendini yenileyebilen bir doku olan korneal epitelyumun bu özelliğini proliferatif rezervuar olarak kullandığı limbal kök hücre havuzundan sağladığı bilinmektedir. Limbal kök hücreler (Limbal stem cells: LSCs)'in sınırsız çoğalabilme kapasiteleri bulunduğu ve sınırlı çoğalabilme yeteneğine sahip transient amplifiye hücreler (TACs)' e dönüştükleri görüşü hakimdir. TACs' lerin postmitotik hücrelere (PMCs) ve daha sonra da korneal yüzeyden dökülen terminal diferansiye hücrelere (TDCs) dönüştükleri bilinmektedir (Chee, 2006).

Alkali yanığa bağlı kornea doku hasarının onarımında damarlaştırmanın önemli bir rolü vardır. Şiddetli alkali yanık sonrası iyileşmenin geç döneminde epitelizasyonun tamamlanmasına rağmen oluşan kan damarları, patolojik sonuçlara neden olabilir. Bu durum tekrarlayan yangı ve ülserasyon nedeniyle kornea saydamlığını bozabilir. Kornea damarlaştırması, normalde bulunmayan lenfositlerin kornea dokusuna geçmesine yol açar. Kornea damarlaştırması korneanın immun korunmuşluğunu bozar. Şiddetli kimyasal kornea yanığına bağlı olarak limbal kök hücrelerinin hasarlaştırılması sonucu oluşan konjunktivalizasyonun tedavisinde yeni damarların oluşumunun engellenmesi önemli bir tedavi seçeneği olarak görülmektedir.

Ciddi oküler yüzey bozukluğuyla seyreden hastalıklar oftalmologların tedavide en çok zorlandıkları konulardan biridir. Geleneksel tedavi yöntemleri genellikle

başarısızlıkla sonuçlanır. Bunlar arasında başvurulan yöntemlerden yüzeysel keratektomi sonrası korneada kısa sürede konjunktivalizasyonun meydana geldiği bilinmektedir. Penetran ve lamellar keratoplastide de donör epiteli var olduğu sürece stabil bir yüzey sağlanır, donör epiteli dökülünce yüzey bozukluğu bulguları yeniden gelişir. Tedavide karşılaşılan güçlükler ve yüz güldürücü sonuçların elde edilememesi, yeni tedavi yöntemlerinin arayışını zorunlu kılmıştır. Kornea epitelinin yenilenmesini sağlayan kök hücrelerin limbusta yerleştiğinin anlaşılması üzerine oftalmoloji gündemine giren epiteliyal transplantasyonla, bu olguların tedavisinde yeni umut ışığı doğmuştur.

Oküler yüzey için epitelyum kaynağı transfer etmek anlamına gelen epiteliyal transplantasyon ilk defa Thoft tarafından tanımlanmıştır. Araştırmacı, kimyasal yanıklı olgularda sağlam gözden alınan bulbar konjunktivayı konjunktival otogreft olarak kullanarak konjunktival otogreft transplantasyonu yapmış ve bu çalışmasında konjunktiva epitelinin kornea epiteline değişimini öngörmüştür (Thoft, 1977).

Konjunktiva epitelinin kornea epiteline değişiminin olmayacağını ve kornea epitelinin yenilenmesini sağlayan kök hücrelerin limbusta yerleşmiş olduğunun anlaşılması üzerine, Kenyon ve Tseng (1989), tek taraflı oküler yüzey bozukluğu olan olgularda limbal otogreft transplantasyonu uygulamışlardır.

Oküler yüzey bozukluğunun iki taraflı olduğu olgularda otogreft transplantasyon mümkün olmadığından, allogreft transplantasyon gereği doğmuştur. İlk epiteliyal allogreft transplantasyon yine Thoft tarafından tanımlanmış olup, keratoepiteliyoplasti adını verdiği işlemde, epitelyum kaynağı olarak kadavradan elde ettiği periferik kornea lentiküllerini kullanmıştır (Thoft, 1984).

Daha sonra yapılan bir çalışmada, keratoepiteliyoplastide periferik korneayla beraber korneal epitelyum kök hücrelerinin de temini için, limbusu da içeren lentiküller kullanılmıştır (Holland ve Schwartz, 1996).

İki taraflı olgularda epiteliyal transplantasyon sonrası oluşabilecek greft reddi olasılığını azaltmak amacıyla, verici olarak kadavra yerine yaşayan akrabadan elde edilen greftlerin kullanılması gündeme gelmiştir. İlk defa Kwitko ve ark. (1995), allogreft konjunktival transplantasyon, Kenyon ve Rapoza (1995) ise allogreft limbal transplantasyon uygulamışlardır.

Son yıllarda ise oküler yüzey bozukluklarında epiteliyal transplantasyona ek olarak amniyotik membran transplantasyonları da uygulamaya girmiş bulunmaktadır (Kim ve Tseng, 1995).

Veteriner hekimlikte kök hücre tedavisine ilişkin çalışmalar genellikle daha çok atlarda tendo yaralanmaları ve iyileşmesi üzerine odaklanmaktadır. Günümüzde yağ dokusundan alınan kök hücrelerinin lezyonlu yarış atlarında kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde giderek yaygınlaşmakta olup, at ve köpeklerin Veteriner Kliniklerinde Vet-Stem, Inc olarak bilinen lisanslı kök hücre sağlayıcılarından alınan kök hücreler ile tedavi edildikleri bilinmektedir. Yağ hücrelerinin kolaylıkla ve yüksek konsantrasyonda elde edilebilir olması bu dokunun kullanımı kök hücre kaynağı olarak ilk sırada yer almaktadır. Veteriner hekimlikte bu bağlamda tedavi edilen hastalıklar arasında, atların ve köpeklerin tendo, ligament, eklem ve kemik hastalıkları bulunmaktadır (Richardson, 2007; Smith, 2008).

## **6. Korneal Patolojik Reaksiyonlar**

Limbal damarların, humor akusun ve PTF'nin kalitatif ve kantitatif yıkımlanmaları sık sık korneanın adaptasyonel ve dejeneratif değişikliklerine yol açar. Korneal

epitelyumun yıkımlanması, oluşan yıkımın süresi ve şiddetine bağlı olarak metaplazi veya ülserle sonuçlanır. Genelde, artan şiddette ve uzun süreli yıkımlanmalar (keratokonjunktivitis sika (KCS), trikiyazis v.b.); skuamos metaplazi, keratinizasyon ve pigmentasyonla sonuçlanmaktadır. Metaplazi, irritasyon kaldırıldığında biraz gerileyebilir, irritasyon daha süratli ya da daha büyük şiddetle olur ise dekompenzasyon sonucu ülserasyon gelişebilir (Peiffer, 1991).

Korneanın patolojik reaksiyonları; Korneal ödem, korneal vaskularizasyon, granulasyon dokusu oluşumu, korneal pigmentasyon, hücrel infiltrasyon, yangıya bağlı korneal dejenerasyon olarak bilinmektedir.

### **6.1. Korneal Ödem**

Travma sonrasında korneal stromaya fazla oranda su girmesi sonucu oluşan patolojik tablo korneal ödem olarak bilinir. Epitel ya da endotel katında kısmi yıkımlanma ya da bunların fonksiyonlarında gelişen değişimler sonucunda şekillenir. Ödem korneanın muayenesi sırasında mavimsi beyaz renkte gözlenmesi ile karakterize olup, korneal opasite korneal kollajen lamellerinin birbirinden ayrılması sonucu şekillenir ve sıvı dengesi normale döndüğü zamanda spontan olarak iyileşir (Slatter, 1990c; Slatter ve Dietrich, 2002; Akın ve Samsar, 2005; Wilkie ve Whittaker, 1997).

### **6.2. Korneal Vaskularizasyon (Neovaskularizasyon)**

Avasküler olan korneanın stromal iyileşme sırasında veya çeşitli patolojilere cevap olarak damarlanmasına korneal vaskularizasyon (neovaskularizasyon) denir. Korneal vaskularizasyon yüzlek ya da derin olabilir. Yüzlek damarlar; limbusta sonlanan konjunktival sirkülasyondan köken alıp stromanın anterior 1/3'ünde gözlenirler. Bu damarlar; parlak kırmızı, ağaç benzeri dallı budaklıdır. Derin damarlar ise; limbusta yakın, koyu renkli, kısa ve düzensiz olup, limbusta uzantıları olmayıp siliar

sirkülasyondan köken alırlar. Vaskülarizasyonun tipi korneal patolojinin derinliğinin göstergesidir. Komplike olmuş stromal lezyonlarda, özellikle korneadaki uyarının devam ettiği olgularda, damarlar kollapsa uğramadığı gibi korneada damarlaşma artar ve granülasyon dokusu şekillenir (Akın ve Samsar, 2005; Slatter, 1990c; Slatter, 1990d; Slatter ve Dietrich, 2002).

### **6.3. Korneal Skar (Granülasyon Dokusu) Oluşumu**

Kornea stromasında oluşan hasarlarda iyileşme, bölgede bulunan keratositler ve çevre dokulardan gelen fibrosit ve makrofajlar aracılığı ile sağlanır. Bu hücrelerin oluşturduğu fibrin, kollajen ve hücre düzensizlikleri ve kollajen fibrillerinin ışığı geçirememesi sonucu korneal saydamlık sağlanamaz. Korneal skar, fibröz proliferasyonla ilişkili olup kornea ödeminden ayrılmalıdır.

### **6.4. Korneal Pigmentasyon**

Limbal ya da perilimbal dokuda bulunan melanositlerin migrasyonundan meydana gelen pigmentasyon, orta ya da şiddetli kornea yangılarına nonspesifik bir yanıtır. Korneal pigmentasyon; kronik korneal hastalıklar (distikiasis, trikiasis, nazal fold trikiasis, KCS ve entropion), keratitis ülseroza ve kornea perfore yaralarından sonra gözlenir. Bu gibi olaylarda genellikle uyarının ortadan kaldırılması ile pigmentasyon durdurulur.

### **6.5. Hücresel İnfiltrasyon**

Lökositler yangı boyunca korneaya, gözyaşı tabakası aracılığı ile limbal ya da yeni şekillenen damarlar aracılığı ile ve humor akustan gelebilirler (Slatter, 1990c; Slatter ve Dietrich, 2002; Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001).

## **7. Veteriner Hekimlikte Sağaltımlarında Cerrahi İşlem Gerektiren Korneal Hastalıklar**

### **7.1. Ülseratif Keratitiser**

Korneal epitelyum ile stromaya ilişkin doku kayıpları ile karakterize kendiliğinden iyileşmeye yanaşmayan yangısal olgulara korneal ülser denir. Korneal ülserler derinliklerine göre; süperfisial, derin stromal ülserler ve desamatosel olarak sınıflandırılırlar. Süperfisial korneal ülserler veya erozyonlar ise komplike olmamış, progresif veya refraktörik ülserler olarak sınıflandırılırlar. Çoğu yüzeysel korneal ülserler komplikasyonsuz 48-72 saatte hızla iyileşirken, enfeksiyonla komplike olmuş veya iyileşmenin olumsuz etkilendiği derin ülserler; desamatosel, korneal perforasyon, iris prolapsusu ve anterior sineşiye neden olabilirler. Daha komplike ülserlerin ise endoftalmitis, glakom, fitizis bulbi sonunda gözün kaybına neden olduğu bilinmektedir (Slatter, 1990c; Gilger, 1991; Slatter ve Dietrich, 2002; Akın ve Samsar, 2005; Whilkie ve Whittaker, 1997).

Genellikle klinik olarak akut ağrı, blepahorospazm, lakrimasyon ve fokal korneal ödem önemli belirtilerdendir (Wilkie, 1994; Barnett ve Crispin, 1998). Floresein muayene ile ülserin derinliği ve büyüklüğü belirlenebilir (Barnett ve Crispin, 1998). Korneal ülserlerin başarılı sağaltımı için öncelikle neden belirlenmeli, ortadan kaldırılmalı, ülserin derinliğine göre uygun sağaltım yapılmalıdır. Komplikasyonsuz süperfisial ülserlerde bakteriyel enfeksiyonu önlemek için günde 3-4 kez topikal antibiyotik kullanılabilir. Neomisin, basitrasin ve polimiksin-B kombinasyonları genelde iyi bir antimikrobiyal seçimdir. Oküler rahatsızlığı ve siliar kas spazmını engellemek için %1'lik atropin günde 2-4 kez uygulanabilir. Ülserin 2-6 gün içinde iyileşmesi beklenir (Gilger, 1991; Wilkie, 1994, Magrane, 1971; Gelatt ve Gelatt, 2001).

## 7.2. Refraktorik Korneal Ülserler

Bu tip ulkuslar, stromayı içine almayan korneanın yüzeyel epiteliyal defektleri olup, iyileşmeleri yavaştır ve tekrarlama özellikleri vardır. Bazal epitelyum ya da yüzeyel stromadaki bir defekt nedeniyle korneal epitelin, korneal stroma ya da bazal membran ile zayıf bağlantısı söz konusudur. Boxer ırkı köpeklerde tanımlanmış olsa da diğer ırklarda da gözlenebilir. Bu ülserler genellikle orta yaştaki köpeklerde nadir de olsa gözlenirken ırk, yaş, cinsiyet ve predispozisyon gözetmeden kedilerde de gözlenebilir. Patogenezi bilinmemekle birlikte stromaya korneal epitelyumun bağlanmasını sağlayan hemidezmomlardaki yetersizlikle ilgili olduğu düşünülmektedir. Boxer ülserinin tanısı anamnez ve tipik oftalmik bulgularla konur. Ağrının derecesi ülser kronikleştikçe azalır. Kornea üzerinde şekillenen vaskülarizasyon tanıyı kolaylaştırır. Ülser etrafında epitelyum kendi üzerine kıvrıldığı için hiperplazik görünümündedir. Topikal floresein uygulaması ülserin dış hatlarını, yapışmayan çıkıntılı epitelyumun derecesini tarif eder ve epitelyum olmayan yerlerdeki stromayı boyar. İyileşme haftalar hatta aylar alabilir. Deepitelize kornea, bakteriyel enfeksiyona predispoze olduğundan topikal geniş spektrumlu antibiyotik, akut oküler ağrı için topikal sikloplejik bir ajan uygulanmalıdır. Cerrahi yaklaşımda yapışmayan epitelin debridementi yapılır. Yakın epitelyumun çoğalması ve normal bazal membran ve hemidezmom üretimi için normal epitelyumun 2-2,5 mm'sini içine alacak şekilde ulkus kenarından süperfisial keratektomi ile anormal epitelyum kaldırılır. Debridement 3-14 gün ara ile tekrarlanır ve her seferinde bozuk olan epitelyum miktarı azalarak iyileşme sağlanır. Bunun yanında üçüncü göz kapağı grefti, tarsorafi, kojunktival greft, korneal epiteliyal transplantasyon (keratoepitelioplasti), multiple punktat keratektomi teknikleri de uygulama alanı bulmuştur. Son zamanlarda hiperozmotik solüsyon ya da yağlar, yumuşak kontakt lensler, korneal doku yapıştırıcıları, 'growth faktör' uygulamaları denenmektedir (Slatter, 1990c; Gilgerve Whithley, 1991; Magrane, 1971).

### 7.3. Stromal Ülserler

Genellikle brahiosefalik köpeklerde gözün aşırı çıkık olması, normalden daha az göz kırpması, distikiazis ve nazal fold trikiiazis'in bulunması ile derin, progresif ve nonprogresif yapıda stromal ülserler ile karşılaşmaktadır. Nonprogresif derin ülserler süperfisial ülserlerde olduğu gibi medikal sağaltım, konjunktival greft uygulamaları ve growth faktör deriveleri ile sağaltılabilirler. Derin korneal ülserler ve desement membranı görülen kornealarda şirurjikal sağaltım gerekir. Şirurjikal sağaltım konjunktival greft, korneal transplantasyon ve kornea-konjunktival transpozisyonları kapsar. Derin stromal ülserler hızla sağaltılmalı, kültür ve duyarlılık testine göre antibiyotik seçimi yapılmalı, sineşi oluşumunu önlemek ve siliar kas spazmı nedeniyle oluşan rahatsızlığı azaltmak amacı ile sikloplejik uygulanmalıdır. Stromal erimenin de şekillendiği durumlarda, *Pseudomonas spp.* gibi gram negatif rodla etkiyen geniş spektrumlu antibiyotikler uygulanmalıdır. Bunun yanında, asetil sistein, hayvanın kendi serumu, ethylenediamintetra-acetic asid (EDTA) ve heparin gibi topikal antikollajenazlar da kullanılmalıdır (Gilger ve Whithley, 1991; Wilkie, 1994; Şaroğlu, 1999, Gelatt ve Gelatt, 2001).

### 7.4. Bakteriyel Korneal Ülserler

Ülserler genellikle travma kaynaklı olmalarına rağmen sıklıkla bakterilerle kontamine olabilirler. Korneal örneklerden yapılan sitolojik muayene sonunda genellikle *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium sp.*, ve *Basillus cereus* gibi etkenler izole edilmiştir (Gilger, 1991).

### 7.5. Melting (erimeli) Ülserler

Erimeli ülser terimi, ilerleyen stromal erimeli ülserler için kullanılır ki, korneal ülserlerin bir komplikasyonu olarak kabul edilir. Normal korneal iyileşme süresince

kornea, korneal debris ve ölü hücreleri kaldırmak için proteaz ve kollajenaz üretir. Korneal epitelial hücreler yanında, fibroblast, PMNL, bazı bakteri ve mantarların da proteaz ve kollajenaz ürettikleri bilinmektedir. Akut erimeli ülser güçlü topikal sağaltım gerektirir. Geniş spektrumlu antibiyotik ve sikloplejik uygulamaları, povidone-iodine solüsyonu ile temizlik endikedir. Erimeli ülserde başarılı bir sağaltım için enfeksiyon kontrol altına alınmalı, korneanın kollajenaz ve diğer proteazlarının üretimi engellenmeli ve kollajenaz inhibitörleri uygulanmalıdır. Buna rağmen iyileşme görülmez ise, konjunktival greft ve korneal transplantasyon gibi cerrahi işlemler denenmelidir (Magrane, 1971; Gilger, 1991; Slatter ve Dietrich, 2002).

## 7.6. Desematosel

Desematosel, korneal epitelyum ve stromal defekt sonrası açığa çıkan desement membranının göz içi basıncı ile dışarıya doğru fıtıklaşmasıdır. Desement membranı sağlam ve elastik yapıda olmasına rağmen; 3-12 µm kalınlıkta olması, derin kornea ülserlerinin ilerlemesi ve travma gibi nedenler kolay yırtılmasına yol açar. Desement membranının yırtılması sonucu oluşan perforasyon, humor akusunun dışarı akması sonucu iris prolapsusu, ön kamaranın kontaminasyonu, endoftalmitis ve görüş kaybı gibi komplikasyonlara neden olacağından acil cerrahi uygulama gerektirir. Geniş lezyonlarda direkt dikiş uygulamaları operasyon sonrası önemli korneal astigmatizm ve zayıf görüşe neden olsa da 1 mm den küçük ve sağlıklı kenarı bulunan lezyonlara direkt dikiş uygulamaları önerilmektedir. Desematosel sağaltımında korneal ülser sağaltımında kullanılan tüm cerrahi işlemler uygulanabilir. Erken tanısı konulan birçok desematosel olgusu; konjunktival flep, kornea-konjunktival transpozisyon, konjunktival pedikül greft ve korneal allogreft uygulamaları ile başarıyla sağaltılabilmektedir. İyileşme sırasında yaranın olduğu yerde granülasyon dokusu oluşumu, derin ve süperfisyal vaskularizasyon gözlenir. Bu skar oluşumu epitelyum kapandıktan sonra kortikosteroid uygulamaları ile azaltılabilir (Slatter, 1990c; Gilger, 1991; Slatter ve Dietrich, 2002; Gelatt ve Gelatt, 2001; Magrane, 1971).

### 7.7. Mikotik Keratitis

Mikotik keratitis köpeklerde seyrek gözlenmesine rağmen olgularda genellikle *Candida albicans* ve *Aspergillus spp.* izole edilir. *Candida albicans* keratitislerinde sarı-beyaz veya gri-beyaz plak ya da ülseratif lezyonlar oluşurken *Aspergillus spp* keratitislerinde ise genelde stromaya kadar uzanan yangı ve stromal erime ile karakterize ülseratif lezyonlar oluşur. Anamnezde uzun süren antibiyotik-kortikosteroid sağaltımının olması ve oküler muayene bulguları, mikotik enfeksiyonların tanısını kolaylaştırır. Sonuçta döküntülerden alınan sitolojik muayene, kültür ve keratektomi sonrası yapılan histopatolojik muayeneler tanıyı doğrular. Natamisin, mikonazol, nistatin, amfoterisin B, ketokonazol, flukonazol ve flusitosin uygulamaları ile sağaltılabilirler. Lezyonun ilerlediği olgularda penetrasyon riski olduğundan süperfisyal keratektomi ile konjunktival greft uygulamaları endikedir (Slatter, 1990c; Gelatt ve Gelatt, 2001, Magrane, 1971; Gilger, 1991).

### 7.8. Korneal Apse

Korneal apse, yüzeysel ya da derin stromada yangısal hücre kalıntılarının birikmesine denir. Enfekte ya da steril karakterde olabilir. Genellikle atlarda daha seyrek olarak da köpeklerde gözlenir. Geniş bir ülser ya da epitelyum kaybıyla birlikte görülmesi seyrek olmasına rağmen böyle durumlarda keratektomiyi takiben konjunktival greft uygulamaları endikedir (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Slatter, 1990c).

### 7.9. Bulloz Keratopati

Bulloz keratopati kronik korneal hastalıklara nonspesifik bir yanıt olarak epitelyumda küçük veziküllerin birleşerek büyük bullaları oluşturması ile

karakterizedir. Sağaltımda asıl neden biliniyorsa ortadan kaldırılmalıdır. Keratektomi ile kaldırılan bullalardan sonra oluşan yarayı kapatmak için; üçüncü göz kapağı flebi, geçici tarsorafi, konjunktival greft ya da koruyucu kontakt lens uygulamaları endike olabilir (Slatter, 1990c; Barnett ve Crispin, 1988).

#### **7.10. Kalsiyum Birikimli Senil Keratopati**

Bu tip keratopati, yaşlı kedi ve köpeklerde, süperfisiyal seyrek olarak da derin ülserasyonla birlikte epitel içinde mineral benzeri yapılar ve kalsiyum birikmesi ile karakterizedir. Sağaltımda EDTA ve antibiyotik uygulamaları, ciddi durumlarda keratektomiyi takiben konjunktival greft uygulamaları endikedir (Slatter, 1990c).

#### **7.11. Korneal Travmalar**

Travma sonucu korneal epitelyumun sıyrılması ile şekillenen süperfisiyal abrazyonlar süperfisiyal korneal ülserler gibi, derin abrazyonlar da derin korneal ülserler gibi sağaltılırlar. Korneal laserasyonların sağaltımı laserasyonun derinliğine bağlıdır. Süperfisiyal laserasyonlar süperfisiyal ülserler gibi hızlı iyileşir. Kalınlığı korneal kalınlığın yarısından daha derin olan laserasyonlarda yarıık, 7/0-10/0 absorbabl ya da non absorbabl iplikle dikilir. Tam kalınlıkta kornea laserasyonları ise cerrahi işlemlerle iyileştirilir. Korneal laserasyonların prognozu yaranın şiddetine ve derinliğine bağlıdır. Küt travma sonrası oluşan rupturun prognozu keskin aletlerle olan laserasyondan daha kötüdür (Gilger, 1991; Magrane, 1971).

Korneal yabancı cisimler bitki, metal parçaları göz kapakları tarafından dışarı atılamadığı zaman korneal epitelyuma yapışır. Korneal epitelyuma gömülen ya da yapışan yabancı cisimler nemli pamuk taşıyıcısıyla, yıkayarak ya da oftalmik forsepslerle kenarından tutularak kolayca uzaklaştırılır. Yabancı cisim, anterior stromal kornea' ya gömüldüyse objenin üzerinden ensizyon yapılarak stroma dışına

alınır. Yabancı cismin sitolojik muayene, kültür ve duyarlılık testi yapılır. Korneal yıkımın büyüklüğünü belirlemek için kornea floresein ile boyanır. Geniş spektrumlu antibiyotik ve sikloplejik uygulamasına başlanır. Korneal yabancı cisimler, sekonder fungal ve bakteriyel enfeksiyon, ciddi korneal skar ve cismin kaldırılma işlemi uygun yapılmazsa korneal perforasyon ile sonuçlanır (Gilger, 1991).

Alkali yanık olayları köpeklerde seyrek olup ödem, opasite, korneal epitelyum kaybı, ağrı ve tekrarlayan korneal stromal erime ile karakterizedir. Bunu şiddetli korneal ülserasyon ve anterior uveitis takip eder. Alkali yanıklar hızla dokuya penetre olup korneal kollajenleri denatüre ettiği için asitlerden daha şiddetli korneal ve konjunktival yıkımlanma yaparlar. Korneal kollajenlerin denatüre olması sonucu stromal kollajenlerin azalması, aşırı enzim aktivitesi, fibroblastların bölgeye göçünün olmaması ya da azalması nedeniyle iyileşme gecikir. Sağaltımda, steril solusyonlarla yıkandıktan sonra antibiyotik, sikloplejik ve topikal kollajenaz inhibitörleri uygulanır. Bunun yanında askorbik asit, kontakt lens, konjunktival greft, EGF, fibronektin ve korneal transplantasyon denemeleri endikedir (Gilger, 1991; Şaroğlu, 1999).

Deneysel olarak kimyasal maddelerle alkali yanık oluşturma modelleri;

- N-heptanol emdirilmiş 3-4 mm'lik filtre kağıdı diski korneanın merkezine yerleştirilip 10 sn bekletilmesi ile,
- Cam pamuğu ile tıkalı bir tüp içine iodin kristali konularak iodin buharı oluşturulup, tüpün 3-5 dakikalığına korneanın merkezine yerleştirilmesi ile,
- %2'lik iodin eriyiğinin 60 sn, bunu takiben de %4'lük kokain klorid solüsyonunun 0.25 ml topikal uygulanması ile,
- 4N sodyum hidroksit emdirilmiş filtre kâğıdının 2 dakika kornea üzerine konulması ile (Dağlıoğlu, 2001),
- 18 N sülfirik asitin 10 sn süre ile korneada bekletilmesi (Adams, 1988) ile

- Kornea üzerine yerleştirilen 12 mm çapında metal çember içine 0.5 ml, 2 N NaOH damlatılıp 2 dakika kornea üzerinde bekletilmesi ile (Marinho, 2003),
- 2 N NaOH’u kornea üzerine üçer damla damlatıp 2 dakika bekleme ile (Şaroğlu, 1999),
- 1 N NaOH emdirilmiş 1 mm çapındaki filtre kağıdının kornea merkezine 1 dakikalığına yerleştirilmesi ile (Feng ve ark., 2004),
- 0.3 N NaOH ile ıslatılmış filtre kağıdının 15 dakika tutulması (Jun ve ark., 2004) ile ve
- 1 M NaOH emdirilmiş 5 mm çapındaki filtre kağıdının 60 sn kornea merkezine yerleştirilmesi ile (Gan ve ark., 2004) oluşturulduğu bildirilmiştir.

### **7.12. Limbal Melanom**

Limbal ve epibulbar melanomlar sekonder olarak korneaya yerleşebilirler. Bu tümörler genelde pigmentli olup yaklaşık iki yaşındaki köpeklerde gözlenir. Genç köpeklerde invaziv olup hızla büyüdüğü bildirilir. Yaşlı köpeklerde ise durağan olduğu ve fiziksel muayenede tesadüfen bulunduğu bildirilmektedir. Genellikle limbal melanomların dorsolateral çeyrekte meydana geldikleri, Alman oban Köpekleri ile Labrador Retriever ırkının predispoze oldukları bildirilmiştir. Gonioskop ile intraoküler neoplazi ihtimali elimine edildikten sonra progresif limbal melanomalı genç köpeklerde göz fonksiyonlarını devam ettirmek amaçlı kornea skleral greftler kullanılabilmektedir (Gilger, 1991).

### **7.13. Nörotrofik Keratitis**

Nörotrofik ülser korneanın sensorik (trigeminal) innervasyonunun yıkımlanması sonucu şekillenen kronik keratopati olayıdır. Sıklıkla kedi ve köpeklerde orbital travma sonrası gözlenir. Genellikle sağaltıma cevap veren formu ile şiddetli keratitis

ve ülserasyona sebep olan formu olmak üzere iki formu vardır. Ülserasyonlar perforasyona doğru ilerler, sağaltımda kuruma ve travmaları engellemek için tarsorafi uygulanabilir, 2-3 haftada cevap alınmazsa 6 ay kadar uygulama sürdürülür ancak genellikle sağaltım başarısızdır (Slatter, 1990c).

#### **7.14. Felin Kornea Nekrozu (FKN, korneal sekester, korneal mumifikasyon)**

Kedilerde stromal kollajen dejenerasyonu sonucu, korneal epitelyum ve stroma nekrozu ile karakterize bir hastalıktır. Nedeni bilinmese de Persiyan, Himalayan ve Siyam kedilerinde genetik bir predispozisyon olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında brahiyosefalik kafa yapısı, önceden oluşmuş korneal travmalar, entropion, gözyaşı anormallikleri, FHV (Feline Herpes Virus)-1 ve *Chlamydia psittaci* enfeksiyonlarının da önemli role sahip olduğu düşünülmektedir. Bazı klinik olgulardan yapılan kültürlerde *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Moraxella spp* ve *Aerobacter spp*'e rastlanmış ancak, bunların fırsatçı bakteri olduğu bildirilmiş olup ayrıca FKN'nun; neonatal dönem dışında tüm yaşam evrelerinde gözleendiği ve bir cinsiyet predispozisyonunun olmadığı da belirtilmiştir. Lezyon korneada, epitelyum ve stromayı etkisine alacak şekilde sentral ya da parasentral yerleşir ve giderek şiddetlenerek nekroze alanlarda siyah-koyu kahverengi görüntü dikkati çeker. Bu koyu kahverengi görüntü dejeneratif stromada yerleşmiş olan gözyaşı içindeki tirozin, dopa, epinefrin ve kateşolaminlerin oksidatif ürünlerinin polimerizasyonundan kaynaklanır. Bu lezyonlar genellikle stromanın anterior yarımıyla sınırlıdır; bazı durumlarda ilerleyerek descement membranını da içine alır. Hastalık genelde unilateraldir, sağaltılmaz ise; kronik oküler ağrı, görüş alanında daralma, endoftalmitis ve kornea perforasyonu riski söz konusudur. Topikal yapay gözyaşı, erken keratektomi ile yüzeysel lezyonun uzaklaştırılması iyileşme sürecini kısaltır. Eğer lezyon derin ise keratektomiyle uzaklaştırılmalı ve tekrar oluşmasını önlemek için konjunktival pedikül greft, konjunktival ada greft, lamellar keratoplasti, kornea-konjunktival transpozisyon ya da yumuşak lens uygulamaları önerilmektedir (Andrew, 2001; Blogg, 1989; Gelatt ve Gelatt, 2001; Şaroğlu ve Kaval, 2004; Wilkie ve Whittaker, 1997).

### **7.15. Dermoid**

Genellikle gözün temporal limbal bölgesinde görülen, sklera ve kornea üzerine uzanan konjenital doku kitleleridir. Bu dokular keratinize epitelyum, kıl, kan damarı, fibröz doku, sinir, yağ, kas ve hatta kıkırdak dokuyu kapsayan bir yapıdadır. Dermoidler superfisial keratektomi ile uzaklaştırılarak uygun kapama teknikleri ile sağaltılabilirler (Gilger, 1991).

## **8. İnsan Hekimliğinde Limbal Kök Hücre Yetmezliğine Neden Olan Korneal Hastalıklar**

Limbal epitelyum bölgesindeki kök hücelere veya korneal stromaya hasar veren hastalıklar limbal kök hücre yetmezliğine neden olabilir. Limbal kök hücre yetmezliğinde epifora, fotofobi ve görmede azalma gibi belirtiler gözlenmektedir. Dikkatli biyomikroskopik muayene ile konjunktival fornikslerin durumu, vogt palisadlarındaki silinme, korneal neovaskularizasyon ve konjunktivalizasyon gözden geçirilmelidir (Dua ve Azuara-Blanco, 2000a; Fernandes, 2004; Koizumi, 2003; Şanlı, 2002). İmpresyon sitolojisi ile konjunktival epitelyum ve goblet hücrelerine ait değişimler değerlendirilmelidir (Donisi, 2003; Söker, 2007). Histopatolojik olarak limbal kök hücre yetmezliğinde korneanın konjunktiva epitelyum hücreleri tarafından ilerleyici tarzda invazyonu, yüzeyel vaskülarizasyonu, kornea epiteli bazal membran hasarı ve kronik yangısal hücre infiltrasyonu görülür (Şanlı, 2002; Dua ve Azuara-Blanco, 2000a). Veteriner hekimlikte limbal kök hücre yetmezliğine ilişkin hastalıkların tanımlanması henüz yapılmamıştır. Bunun yanında insan hekimliğinde değişik sınıflandırmalar altında kök hücre yetmezliğine neden olan korneal hastalıkların sınıflandırılması yapılmış olup bunlar doğal ve sonradan kazanılanlar olmak üzere 2 grup altında irdelenmektedir.

**Doğal Olarak Meydana Gelenler:** Bunlara '*Birincil kök hücre yetmezliği*' de denilmekte olup, bu gruba Steven Johnson Sendromu (SJS), oküler skatrisyel pemfigoid (OSP) ve intraepiteliyal neoplaziler girmektedir.

**İatrojenik olarak meydana gelenler:** Bunlara '*İkincil kök hücre yetmezliği*' de denilmekte olup bu gruba Kontakt lens bağımlı idiopatik epitelyopati, iyonize radyasyon keratopatisi, limbusu ilgilendiren çoklu cerrahiler, kriyoterapiler, kimyasal ve termal yanıklar, iritanlar, ağır mikrobiyal enfeksiyonlar ve limbal hücrelerin yangısal hasarı sonucu gelişen Sjögren sendromu girmektedir.

### **8.1. Stevens-Johnson Sendromu (SJS)**

İnsanlarda akut başlayan, genelde kendini sınırlayan ciddi mukokutanöz, vezikülobullöz bir hastalıktır. Dermis ve konjunktival stromada immun kompleks birikimi Stevens-johnson sendromu patogenezinde rol oynayan muhtemel nedendir. En sık tetikleyen faktörler sulfonamidler, antikonvülzanlar, salisilatlar, penisilin ve ampisilin gibi ilaçlar ya da herpes simpleks virüs, streptokok, adenovirus ve nadiren mikoplazma gibi enfeksiyöz mikroorganizmalardır. Hastalıkta, primer oküler bulgular mukopurulent konjunktivitis ve episkleritistir. Konjunktiva; olguların %90'ında etkilenir. Konjunktivitis, konjunktival bulla oluşumu, keratopati ve sekonder enfeksiyon tipik akut dönem göz bulgularıdır. Konjunktivanın subepiteliyal fibrozisi sonucu simblefaron, entropion, trikiyazis, distikiyazis gibi geç dönem göz bulguları gelişmektedir. Suni gözyaşları ve pomadlar ile oküler lubrikasyon yapılmalı ve gelişebilecek oküler enfeksiyon için dikkatli olunmalıdır. Son yıllarda ise çeşitli oküler yüzey hastalıklarında korneal ve konjunktival yüzeyin sağaltımında amniyotik membran transplantasyonu ve limbal kök hücre oto ve allogreftleri kullanımından başarılı sonuçlar alınmaktadır (Pelit, 2004).

### 8.2. *Oküler Skatrisyel Pemfigoid (OSP)*

Tip 2 hipersensitivite reaksiyonuna bağı olarak gelişen yaşlı kadınlarda görülen bir hastalıktır. Kuru göz, simblefaron, ankiloblefaron, sikatrisyel entropion, trikiasis, lagoftalmus ile seyreder. Sağıaltımda, topikal steroidler, suni gözyaşı damlaları ve profilaktik antibiyotikler kullanılabilir. Sistemik olarak ise immunsupresif ajanlar (steroidler, dapson, azothioprine, cyclophosphamide) tercih edilebilir.

### 8.3. *Sjögren's Sendromu (SS)*

Gözyaşı bezinin ve tükruk bezlerinin lenfositik infiltrasyonu sonucu tükruk ve gözyaşının azalmasına bağı gelişen, kuru ağız, kuru göz semptomları ile karakterize bir hastalıktır. Temel yakınmalar ağızda ve gözlerde kuruluk, parotis ve diğerk tükruk bezlerinde şişmedir. Bu nedenle "sikka sendromu" yani kuruluk sendromu olarak da adlandırılır. Sjögren sendromu, limbal kök hücrelerin yangısal hasarı sonucu gelişen limbal kök hücre yetmezliğine örnek teşkil eder. Kuruluğun nedeni ekzokrin bezlerin otoimmun disfonksiyonuna yol açan periepitelyal lenfosit infiltrasyonudur. Buna primer SS ismi verilir. Eğer bu tanımlanan tablo romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, tiroiditis gibi başka bir otoimmun hastalık ile birlikte olursa o zaman sekonder SS adı verilmektedir. Özellikle alt kadranı etkileyen belirgin keratitis mevcut olup, şiddetli olgularda müköz psodofilamentlerin kuruyan korneaya yapıştığı ve göz kapaklarının fonksiyonunu engellediğı bildirilmektedir. Sjörgren's sendromunda gözlenen keratitisin trahom ve pemfigoid gibi konjunktival goblet hücrelerinin de yıkımlandığı sikatrizan keratitis sikka türlerinden ayırt edilmesi gereklidir. Keratokonjunktivitis sikka tedavisinde sıklıkla gözyaşı preperatlarının kullanımı endikedir. Sikatrisyel konjunktivitislerdeki gibi goblet hücrelerinde hasar oluştuğunda ise yapay gözyaşı preperatlarına ek olarak mukus preperatları da kullanılmalıdır (Vaughan, 1989).

#### **8.4. Kimyasal yanıklar;**

İnsan hekimliğinde sık karşılaşılan kimyasal yanıklar, oküler yüzey epitelyumu ve gözün ön segmentinde görüş kaybıyla sonuçlanan unilateral ya da bilateral kalıcı hasar oluşturmaktadır. Kimyasal yanıklar limbal kök hücre yetmezliğine neden olur. Bunlar asit ve alkali yanıkları olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

**8.4.1. Asit Yanıkları;** Asit kazalarına neden olan kimyasal maddeler arasında sülfürik asit, sülfüroz asit, hidroflorik asit, asetik asit, kromik ve hidroklorik asitler bulunmaktadır. Asitler, doku proteinlerini çöktürerek, bunların koagüle olmalarına ve derin penetrasyonu engelleyen bir bariyer oluşturmalarına neden olurlar. Böylece asitler derine penetre olamadığından etkileri daha hafiftir ve etki alanları konjunktiva, kapaklar ve kornea ile sınırlıdır. Sülfürik asit kazalarına daha çok rastlanılır. Sülfürik asit, prekorneal gözyaşı tabakasındaki su ile tepkimeye girerek ısı oluşturur ve epitelyum ile stromanın kömürleşmesine neden olur (Wagoner, 1997).

**8.4.2. Alkali Yanıkları;** Alkali yanığa en çok neden olan kimyasal maddeler, amonyum hidroksit ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), sodyum hidroksit ( $\text{NaOH}$ ), potasyum hidroksit ( $\text{KOH}$ ), magnezyum hidroksit ( $\text{MgOH}_2$ ) ve kalsiyum hidroksittir ( $\text{CaOH}_2$ ). Amonyum hidroksit en çok temizlik maddelerinde ve gübrelerde bulunur. Soğutucularda bulunan amonyak gözyaşı ile karışıp oldukça yakıcı olan amonyum hidroksite dönüşebilir. Sodyum hidroksit en çok temizlik malzemelerinde ve kostik sodada bulunur. Kalsiyum hidroksit kireç, flaster, çimento, kireçli harç ve beyaz temizlik malzemelerinde bulunur. Potasyum hidroksit temizlik maddelerinin içinde en yaygın olarak bulunanıdır. Magnezyum hidroksit en çok işaret fişeği ve benzeri malzemelerin yapımında kullanılır ve çoğu kez termal kazalarla beraber gözlenir. Alkali yanıklar oftalmolojik acillerden biridir. Alkali madde hızla kornea katmanlarına, ön kamaraya, açı bölgesine, irise, lense ve silier korpuse kadar penetre olarak, konjunktiva ve kornea hasarının yanında katarakt, üveitis, sekonder glokom,

fitizis bulbi gibi çok ciddi problemlere yol açar. Limbusta iskemik nekroz görülebilir. Akut tablo yatıştıktan sonra cerrahi uygulanabilir (Dağlıoğlu, 2001; Wagoner, 1997).

Yanıkların tedavisinde ilk aşamada kimyasal ajanı uzaklaştırmak amacı ile irrigasyon yapılmalıdır. İkinci aşamasında ise reepitelizasyonun ve oküler yüzeyin transdifferensiyasyonun sağlanması amacı ile keratosit kollajen üretiminin desteklenmesi, kollajenaz aktivitesine bağlı olarak gelişen ülserasyonun minimize edilmesi ve yangının kontrol edilmesi gereklidir. Erken dönemde cerrahi müdahale, nekrotik korneal epitelyumun ve konjunktivanın uzaklaştırılması yeterli limbal kanlanmanın sağlanması ve yeterli limbal kök hücre popülasyonunun sağlanması üzerine odaklanmalıdır. Limbal kök hücre popülasyonunun sağlanması için limbal otograft ya da allograft transplantasyonu uygulanabilmektedir. Limbal kök hücre transplantasyonu fibrovasküler pannusun ya da steril korneal ülserin oluşumunu önlemekte, görsel rehabilitasyonu sağlamakta, görüşün prognozunu iyileştirmektedir. Oküler yüzeyin skarlı ve vaskülarize olduğu geç dönem olgularda ise limbal kök hücre transplantasyonu ve konjunktival ve\veya mukozal membran transplantasyonları denenmektedir. Geç dönem cerrahi müdahalelerinde penetran keratoplastide de iyi sonuçlar alınmakta olup, kök hücre yetmezliğinin kimyasal yanıklı gözlerde bulunduğu akıldan çıkarılmamalı bu yüzden bu teknik mutlaka kök hücre transplantasyonu ile birlikte uygulanmalıdır (Wagoner,1997).

#### **8.4.3. Kimyasal Yanıklarda Derecelendirme**

McCulley'in oluşturduğu derecelendirme sistemine göre kimyasal yanık olayları perakut dönem, akut dönem (0-7 gün), erken onarım dönemi (7-21 gün) ve geç onarım dönemi (21 gün sonrası) olmak üzere klinik ve patofizyolojik olarak dört ayrı dönem geçirmektedir (Wagoner, 1997).

**Perakut dönemde,** kimyasal yanığı takiben oluşan klinik bulgular etkilenme alanı, penetrasyon derinliği ve maddenin toksisitesine bağlı olarak değişmektedir. Etkilenme alanı yapılacak floresein boyama ile kolaylıkla tespit edilebilmektedir. Korneal penetrasyon derinliği ise; stromal saydamlığın kaybı, intraoküler yangı, intraoküler basınç değişimleri ve lensin bulanıklığının belirlenmesi ile tespit edilmektedir. Konjunktival penetrasyonun derinliği limbal ve bulbar konjunktival vasküler iskeminin ve/veya nekrozun direkt gözlenmesi ile belirlenmektedir.

İnsanlarda *Ballen ve Roper-Hall* tarafından modifiye edilen modifiye Hughes sınıflandırılmasına göre; korneal saydamlığın kaybı ve limbal iskeminin derecesine göre göz 4 ana sınıfta incelemektedir. Bu sınıflandırmaya göre;

1. derece hasarda; korneal opasite veya limbal iskemi yok ve prognoz mükemmel,
2. derece hasarda; puslu korneadan iris detayları seçilebilir, limbusda 1\3'den daha az iskemi mevcut olup prognozu iyi,
3. derece hasarda; korneal stromal bulanık görüntü iris detaylarını örtecek derecede mevcut olup, limbusun 1\3'ünden yarısına kadar değişen derecede iskemi mevcut olup, prognoz şüpheli,
4. derece hasarda; iris ve pupil detayları seçilemeyecek kadar korneal opasite, mevcut olup, limbusun yarısından daha fazla iskemi mevcut olup, proksimal konjunktiva ve skleranın iskemik nekrozu söz konusudur ve prognozun olumsuz olduğu belirtilmektedir.

Modifiye Hughes tekniği ile yapılan sınıflandırmada o dönemde limbal kök hücrelerin hasarı tespit edilmediği için daha sonra bu yöntem baz alınarak geliştirilen modelde limbal kök hücrelerin kaybı değerlendirilmiştir. Buna göre, yine insanlarda;

1. derece hasarda, çok az ya da hiç limbal kök hücre kaybının olmadığı,
2. derece hasarda, subtotal limbal kök hücre kaybının olduğu,
3. derece hasarda tam limbal kök hücre hasarı ile kısmi proksimal konjunktival epitelyum kaybının olduğu ve

4. derece hasarda ise, tam limbal kök hücre ile proksimal konjunktival epitelyumun kaybının olduğu bildirilmiştir (Wagoner, 1997).

**Akut dönem,** kazadan sonra 1 hafta kadar süren dönem olarak değerlendirilir. Korneal ve konjunktival epitelyum, goblet hücreleri, korneal keratositler, korneal ekstraselüler matriks, trabeküler ağ, vasküler endotelyum, korpus siliare ve lens epitelyumu ölebilir ya da şiddetli hasara uğrayabilir. Hafif dereceli yanıklarda, kornea ve konjunktiva epitelyumunda defektler şekillenir ve kan damarları zayıflar. Şiddetli hasarlarda epitelyum yıkımlanır ve kan damarlarının yıkımlanması sonucu hemen iskemi şekillenir. Limbal damarlarda görülebilir hasarı olan ve limbal avaskülaritesi bulunan olgularda, prognozun olumsuzluğunu gösteren iris ve korpus siliare nekrozu söz konusudur. Kornea ödematöz ve bulanıktır. Kamara okuli anterior fibrin pıhtısı ile doludur ve lens opaklaşır. Humor akus pH düzeyindeki yükselme dakikalar içinde artar ve korpus siliare nekrozunun sonucu olarak, glikoz ve askorbat düzeyleri düşer. Konjunktiva ve episkleral dokuda genellikle hiperemi, epiteliyal kayıp, ödem ve şemosis vardır. Kornea ve skleranın derin katlarının hasarı, anterior segment iskemisinin bir göstergesidir. Şiddetli olaylarda kamara okuli anteriorda hifema ya da hipopiyon gelişebilir. Lakrimal bezler ve kanallarındaki hasardan dolayı kalıcı ya da geçici keratokonjunktivitis sikka şekillenebilir (Wagoner, 1997).

**Erken onarım döneminde,** gözlenen değişimler, kornea ve konjunktiva epitelyumu ile karatositlerin fonksiyonel ve yapısal olarak normal oküler yüzey ve stromayı şekillendirme çabalarından ibarettir. Kazadan sonra birkaç gün içinde genellikle epitelyum, defektin periferinden merkezine doğru gelişmeye başlar. Hasarın şiddetine göre (1 ve 2. Derece) 1-2 hafta içinde tamamlanır. Üçüncü derece hasarlarda epiteliyal iyileşme çok azdır ya da yoktur. Dördüncü derece hasarlarda ise, limbal iskemik nekrozla ilişkili olarak konjunktival epitelyumun şiddetli hasarı ve nekrozundan dolayı bu dönem boyunca klinik görünümde genellikle çok az bir değişim vardır. Stroma nispeten saydam görüldüğü zaman kamara okuli anterior yangısı azdır. Bununla beraber fibrotik membranlar endotelyumun içinde ya da lenste şekillenebilir ve lens şişmiş bulanık halde olabilir. İritis, iris nekrozunun bir sonucu

olarak şekillenebilir. Ancak eğer hipopyon varsa, korpus siliare nekrozu söz konusu olabilir. İritis 2-3 haftadan sonra düzelmeye başlar ve iris ile korpus siliaredeki damarlar iyileşebilir. Bu dönemde aynı zamanda korneanın neovaskularizasyonu başlar, yangı hücreleri infiltrasyonu bu olguya eşlik eder. Stromanın saydam hale gelmesi kollajen ve glikozaminoglikanların sentezindeki artışla beraber, fibroblastların invazyonu ile de ilişkilidir. Stroma ülserasyonu ilk 7-10 günden sonra herhangi bir dönemde şekillenebilir. Ancak daha tipik olarak 2.-3. haftalarda gelişmeye başlar. Büyük epiteliyal defektlerin olduğu durumlarda daha büyük ülserasyon alanı şekillenme ihtimali vardır. Şiddetli olaylarda epiteliyal iyileşme aylar alabilir ve progresif stromal ülserasyon epitelyum korneanın merkezine ulaşmadan şekillenebilir. Stroma ülserasyonu stromanın neovaskularizasyonu ya da reepitelizasyonu ile durur. Eğer perforasyon şekillenirse iyileşme şiddetli vaskularizasyon ve sikatriks şekillenmesi ile olur. Stroma ülserasyonu ve reepitelizasyonunun olmaması, limbus dokusunun çoğunun hasara uğraması ile epiteliyal iyileşme için kaynak hücre kalmaması sonucu şekillenebilir. Stroma ülserasyonunun gelişiminde rejenere olan epitelyum ya da PMNL'den salgılanan metalloproteinazlar ve diğer proteinazlar gibi dejeneratif enzimlerin de rolü vardır.

***Geç onarım dönemi,*** kazadan sonraki 3. hafta ve daha sonrasını tanımlar. Birinci ve ikinci derece hasarı bulunan hastalarda iyileşme tamamlanır. Üçüncü ve dördüncü derece hasar bulunan hastalarda komplikasyonlar şekillenir. Erken onarım fazının başlangıcında korneal yangı, kollajen sentezi, kollajenaz sentezi ve kollajenaz aktivasyonu en yüksek değerine ulaşmıştır (Wagoner, 1997).

Marinho ve ark. (2003), tavşan gözlerinde deneysel olarak oluşturulan korneal alkali yanığını takiben 45. gündeki kronik dönem bulgularını yayınlamışlardır. Tüm deneklerde kornea'da benzer derecelerde vaskularizasyon, konjunktivalizasyon ve korneal opasitenin bulunduğu fakat kontrol gruplarında tüm bu bulguların 3 ay olan takip süresi sonunda da gerilemediği operatif girişimin gerçekleştirildiği gruplarda tüm bu bulguların gerilediği bildirilmiştir.

Kim ve Tseng (1995), yayınladıkları çalışmalarında şiddetli hasara uğramış korneanın kronik dönemde tüm olguların (n=23) limbal kök hücre yetmezliği bulguları gösterdiğini bildirmiştir.

## 9. Kornea Cerrahisi Ekipman ve Prensipleri

Kornea cerrahisinde temel amaç; hastalıklı (ulkuslu, doku kayıplı, nekrotik veya neoplazmalı vb) korneada lezyonlu kısmın uzaklaştırılmasından sonra kalan korneada korneal dokuya yakın bir iyileşme amaçlayarak göze giren ışığın miktarını arttırmaktır. Cerrahi sırasında normal korneal doku yıkımlanmamalı ve mümkün olduğu kadar az skar dokusu oluşumu sağlanmalıdır. Bu amaçla: mikrocerrahi teknik, alet dikiş materyali ve büyütme kaynağı kullanılmalıdır.

Özellikle ön kamaraya girileceği zaman ya da enfeksiyöz keratitisin düzeltilmesi planlandığı zaman, cerrahiden 6-24 saat önce geniş spektrumlu antibiyotik uygulanmalıdır. Her ne kadar küçük cerrahi girişimlerde gerekme de konjunktival ya da korneal greft yapılmadan önce flunixin meglümin, postoperatif yangı, uveitis, ödem ve ağrıyı kontrol amaçlı 0.5 mg/kg tek dozda enjeksiyon şeklinde uygulanmalıdır. Kornea cerrahisi hayvanın genel anesteziye alınmasını gerektirir. Hayvan masaya vakumlu yastık üzerine lateral ya da dorsal pozisyonda yatırılmalıdır. Baş, kornea masaya paralel ve göz tavana bakacak şekilde pozisyon verilmeli, korneayı daha rahat görmeyi sağlamak için lateral göz açısına kantatomi yapılarak, göz kapağı spekulumu yerleştirilmelidir. Operasyonlar sırasında 2,5-10 büyütmeli lup veya mikroskop kullanmak yararlıdır. Mikrocerrahi sırasında kullanılacak belli başlı spesifik enstrumanlar arasında; göz kapağı spekulumu, korneal trefin, oftalmik dikiş materyali ve spatula şeklindeki iğneler, kolibri şeklinde forseps, tying forseps (bağlama), sağ ve sol kornea makası, Martinez korneal disektör, spatula, mikroportequi sayılabilir. Korneal cerrahi için 6/0-10/0 nonabsorbabl (nylon) veya absorbabl (PDS, poliglaktin 910, poliglikonat) dikiş

ipliği kullanılabilir (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Slatter, 1990b; Wilkie ve Whittaker, 1997).

Korneal hastalıkların cerrahi girişimlerinde; penetran keratoplasti, lamellar keratoplasti, konjunktival greft uygulamaları, KKT, kornea skleral transpozisyon, amniyotik membran uygulaması, limbal oto ve allo greft uygulamaları gibi teknikler kullanılmaktadır (Gellat ve Gelatt, 2001).

### **9.1. Konjunktival Greft Uygulamaları**

Genellikle kronik, derin, enfekte, progresif, nörotrofik korneal ülserlerde, desamatoselde, şiddetli kuru göz sendromunda sekonder oluşan ülserlerde, yanık sonrası gelişen sağaltıma dirençli ülserlerde, bulloz keratopatide, FKN’de, korneal apse, limbal melanomada, kalsiyum depozisyonlu senil keratopatilerde, korneal dermoidde, iris prolapsusu olan ya da olmayan korneal perforasyonlarda ve katarakt cerrahisi sonrası ensizyon yerinden sızıntının önlenmesinde bulbar ya da palpebral konjunktival greftler korneal defekti onarmak için yaygın olarak uzun zamandır kullanım alanı bulmuşlardır. Konjunktiva greft olarak kullanıldığında greftin nekroze olmasını önlemek için pedikül (kökü konjunktivaya bağlı greft dokusu) şeklinde kullanılmalı, bölgenin greft uygulandıktan birkaç gün sonra konjunktival damarlar tarafından beslenmesi sağlanmalıdır. Bu teknik üçüncü göz kapağı grefti gibi modası geçmiş ve korneal iyileşmeye yardımcı olmadığı bildirilen şirurjikal işlemlere karşı belirli avantajlara sahiptir (Wilkie ve Whittaker, 1997, Rıj, 1987; Hendrix, 1991; Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Slatter ve Dietrich, 2002; Soontornvipart, 2003).

Konjunktival greft uygulamalarının en önemli komplikasyonu; greft üzerinde aşırı gerilme olduğunda ya da fibröz tenon kapsülünün grefte yapışık kalması durumlarında korneal lezyondan greftin atılmasıdır. Sağlıklı korneaya uygun dikiş

yerleştirmekle, ince–saydam konjunktival greft kullanmakla ve medikal sağaltım ile konjunktival greft cerrahisi sonrası oluşacak komplikasyonlar büyük miktarda azaltılabilir (Rij, 1987; Gelatt ve Gelatt, 2001).

Konjunktival greft uygulamalarının dezavantajları; görme kalitesinde azalma, çeşitli büyüklük ve derinlikte korneal skar oluşturma ve kozmetik kusur olarak sıralanabilir. Skar doku oluşumu topikal kortikosteroid ve siklosporin A uygulamaları ile azaltılsa da konjunktival greftlerden sonra kalıcı korneal skar oluşumu her zaman beklenmelidir. Konjunktival greftler; 360<sup>0</sup> (total) konjunktival greft, bipedikl (köprü) konjunktival greft, 180<sup>0</sup> (hood) konjunktival greft ve pedikül greft şeklinde uygulanırlar (Rij, 1987; Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Hendrix, 1991).

## 9.2. Keratoplasti

Kusurlu kornea dokusunun sağlam kornea ile değiştirilmesi işlemine keratoplasti adı verilmektedir. Tam kat korneal defektlerin sağaltımında penetran kornea transplantasyonları (Gökçe, 2001b) kullanılabildiği gibi, tam kat olmayan korneal defektlerin (korneal ülser, korneal distrofi, korneal apse, bulloz keratopati, korneal neoplazma, korneal dermoid, Feline Kornea Nekrozu (FKN), desemosel, enfeksiyöz ve pigmenter keratitis gibi) sağaltımında ise; kısmi kalınlıkta uygulanan lamellar keratoplasti tekniği tercih edilmektedir (Slatter, 1990c; Gilger, 1991; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt ve Gelatt, 2001; Gökçe, 2001a; Soontornvipart, 2003). Keratoplasti teknikleri günümüzde amnion membran transplantasyonu ve limbal kök hücre transplantasyonları ile kombine edilmektedir (Coşar, 2005).

### 9.3. Kornea- Konjunktival Transpozisyon (KKT)

Kornea-konjunktival transpozisyon tekniği lamellar keratoplastinin bir tipi olup kornea ve konjunktivanın skleraya dokunulmadan kaydırıldığı bir greft tekniğidir. Bir diğer korneal transpozisyon tekniği olan kornea-skleral transpozisyon ise konjunktivanın altındaki sklera ile birlikte kaydırılmasıdır. Kornea-konjunktival transpozisyon, sklerayı bozmadan sadece konjunktivanın altını diseke ederek yapıldığı için önemli derecede kanamayı azaltan ve konjunktival greftlerle elde edilen avantajları da içinde barındıran bir teknik olarak üstünlüğünü korumaktadır. Periferik sağlıklı korneal greft, korneanın kendi dokusu kullanıldığı için korneanın merkezinde olan derin veya perfore lezyonlarda en uygun seçenektir (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Andrew, 2001).

Greft uygulamalarında, korneal ya da diğer başka dokuların (periostal temporal fasia greftleri, kıkırdak ve split deri greftleri gibi) kullanımını konjunktival dokuların sağlayacağından daha fazla yapısal bütünlük sağlar. Esas zorluk da bu dokuların bulunmasıdır. Bu nedenle ya komşu olan normal korneadan (otojen korneal greft ve kornea-skleral transpozisyon gibi) ya da donör hayvanlardan elde edilen, dondurulmuş veya taze kornealardan bu ihtiyaç karşılanır. Kornea-konjunktival transpozisyon tekniği, korneal donör ihtiyacını ortadan kaldırır, immun cevap oluşturmaz ve korneada daha az skar şekillendirir. Dezavantajı ise, kornea-konjunktival transpozisyonun normal ve sağlıklı kornea dokusuna zarar vermesidir (Gilger, 1991; Gökçe, 2001a; Gökçe, 2001b; Gelatt ve Gelatt, 2001).

Hayvan genel anestezi altında yatırıldıktan sonra, nekrotik kornea kaldırılır. Bunu takiben mikrocerrahi bıçak kullanılarak korneal katmanların 1/3, 2/3 ya da ½ 'lik kısmı lezyonun periferinden limbusa doğru iki ensizyona ayrılır. Genellikle lezyonun periferik kenarının korneal limbusa uzaklığı, korneal lezyonun kendi çapından 1 mm daha uzun olmalıdır. Perfore olmuş gözlerde ise ön kamara viskoelastik bir materyal ile doldurularak korneal ensizyona ve dikiş uygulamasına

uygun hale getirilir ve ensizyonlar daha sonra limbustan bulbar konjunktivaya doğru uzatılır ki bu bölge greftin alınacağı yerdir. Greftin genişliği korneal defekttten daha büyük olabilir. Lezyonun önde olan kenarından bir forseps ya da elevatör ile tutturulup kornea hafifçe katmanlarından ayrılarak limbusa doğru uzatılır. Limbusa sklera yapışık olduğu için bu bölge makasla kesilir ve diseksiyon işlemi limbustan konjunktivaya doğru olmalıdır. Bulbar konjunktiva ve ona yapışık olan kornea serbest hale getirilir. Greft, lezyonu basınca uğratmadan kapatacak şekilde, bulbar konjunktiva üzerinde yeterli diseksiyon sağlanarak elde edilmelidir. Bu teknikte korneal greft dokusu, lezyonu örtmeli ve korneal defekti düzgün bir biçimde doldurmalıdır. Korneal greftin ön kenarı özellikle forsepsle diseksiyon sırasında travmatize edilmiş ise düzeltilmelidir. Greft korneaya ya basit ayrı dikişlerle 8/0-10/0 poliglaktin 910 ya da naylon iplik kullanılarak dikilmelidir. Sklera, konjunktiva ya da her ikisi birden birbirinden uzak iki ensizyon yapılan hat boyunca sürekli dikişlerle aynı dikiş materyali kullanılarak dikilir. Bununla birlikte korneal operasyonlarda dikişler korneanın tüm katmanlarından hiçbir zaman geçmemelidir. Korneal perforasyon durumunda operasyonu takiben ön kamara laktatlı ringer solüsyonu ile yeniden oluşturulmalıdır. Bu işlem, korneal greftin zıt tarafından kazılan bölgeden birkaç milimetre uzaklıkta limbusa bitişik yerden geçerek anterior kamara içine doğru gerçekleştirilmelidir. Genellikle 0.5 ile 0.8 ml sıvı, doldurma işleminde yeterli olmaktadır. Korneal greft sızıntı durumu incelenerek değerlendirilmeli, sızıntı var ise bu bölgelere dikiş uygulanmalıdır (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Hamor, 2002; Andrew, 2001).

Kültür duyarlılık reaksiyonları ve sitoloji baz alınarak seçilen topikal antibiyotikler ile postoperatif uveitis ve ağrıyı kontrol eden ilaçlar kullanılabilir. Genellikle konjunktival ve skleral kaydırma greftler korneaya iyi yapışırlar ve konjunktival greftlerde yapıldığı gibi tıraşlanarak düzeltilmezler. Kornea 4-6 hafta sonra tamamen iyileştikten sonra konjunktiva kesilebilir, altı diseke edilebilir ve eksize edilebilir ancak konjunktiva görüşü engellemeyecek şekilde periferik kornea üzerinde olduğu için, çoğu olguda buna gerek duyulmadığı bildirilmiştir (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001).

Kornea-konjunktival transpozisyonun önemli avantajının sentral ve aksiyal korneal skarın çok az ya da hiç olmaması olarak bildirilir. İyileşme postoperatif 2. ile 6. haftada başlar ve kornea üzerindeki ince ve periferik ve paraaksiyal çizgi şeklindeki opasite taşınan limbustan kaynaklanabilir, ancak sıklıkla korneanın pupilla önüne gelen kısmı saydam şekilde iyileşir ve bu durum hayvanın görüşünü engellemez. Konjunktival kısım kan damarlarını kaybederse konjunktival epitelyum kornea epiteli içine geçip değişebilir ve sonuçta daha iyi korneal saydamlık sağlanır (Gelatt ve Gelatt, 2001; Andrew, 2001).

Andrew ve ark. (2001)'nin yaptıkları çalışmada nekrotik korneal dokunun ana hatları kare ya da dikdörtgen şeklinde kornea bıçağı ile belirlendikten sonra stromal kalınlığın 2/3'ü ya da 1/2'sini alacak şekilde derinleştirilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada FKN'lu 15 kedinin 17 gözünde sektesterli bölgelerin, tüm kornealarda korneanın merkezinde olduğunu; lezyonların 8 korneada yüzeysel stromada; 3 kornea da stromanın anterior 1/3'ünde; 6 kornea da ise stromanın orta 1/3'ünde yerleştiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada korneal iyileşme sürelerinin 25 ile 86 gün (ortalama 34 gün) olduğu bildirilmiş ve belirtilen sürelerin sonunda kornea merkezinde skar dokusuna rastlamadıklarını ancak, taşınan limbusun olduğu yerde ince çizgi şeklinde bir opasitenin gözlemlendiğini; bir korneada ise keratektomi sırasında kaldırılmamış olan sektester pigmentinin gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Çalışma sonunda kornea-konjunktival transpozisyon tekniğinin FKN sağaltımında başarılı bir teknik olduğu bildirilmiştir.

#### **9.4. Limbal Kök Hücre Transplantasyonu (LKHT)**

Limbal kök hücre transplantasyonu kornea dokusuna parsiyel kalınlıkta uygulanan bir lameller keratoplasti tekniğidir. LKHT; oküler yüzeyin tekrar oluşmasını sağlamakta, kornea epitelinin stabilizasyonunu ve takiben damarlanmayı azaltmakta, görme prognozunu iyileştirmekte (Wagoner, 1997) ve penetran keratoplastide başarı şansını yükseltmektedir (Yaycıoğlu, 2004).

LKHT tekniği, kimyasal ve termal yanıklar, aniridi, konjunktivanın squamoz hücreli karsinomaları, tekrarlayan ve ilerlemiş pterjium, kontakt lens kaynaklı keratopatilerde kullanılmaktadır. Tekniğin bir bariyer yaratma ve sağlıklı kök hücreleri taşıma gibi bir fonksiyonu vardır (Shimazaki, 1998). LKHT öncesinde sonucu etkileyebileceği için tüm oküler yüzeyin durumu belirlenmelidir. Teknik olarak limbal kök hücreleri tek başına nakletmek mümkün olmadığından taşıyıcı kullanmak zorunludur. Limbal kök hücre taşıyıcısı olarak; konjunktiva (konjunktivalimbal greft), kornea (keratolimbal greft) veya herikisi birden kullanılabilir (Dua, 1994; Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a; Dua ve Azuara-Blanco, 2000b; Fernandes, 2004). Preoperatif dönemde, eğer devam eden yangı varsa bastırılmalı veya immün düzenleyici tedavi verilmelidir. Herhangi bir enfeksiyon tedavi edilmeli ve toksik olabilecek ilaçlar kesilmelidir. Sekonder göz hastalıkları (kuru göz, kapak anomalileri, kronik yangı ve mikrobiyal enfeksiyonlar vb.) cerrahinin başarısını etkileyen faktörlerdir. Daha sonra yıkımlanma oluşturan kaynağın varlığı araştırılmalıdır. Kuru göz, meibomian bez fonksiyon bozukluğu, ters kirpikler, arka kapak kenar keratinizasyonu, kapak malpozisyonu gerektiği şekilde tedavi edilmelidir (Fernandes, 2004).

Thoft (1977), ilk olarak oküler yanıklarda otolog konjunktiva kullanımını önermiş ve bu yöntemle konjunktiva hücrelerinde değişim ile kornea epiteline dönüşüm olduğunu bildirmiştir. Daha sonra, bu değişimin sadece kornea epiteline benzer olduğu gözlenmiştir.

Thoft (1984), tarafından keratoepiteliyoplasti tekniği periferik kornea stroması ile birlikte yüzeyel stroma nakli şeklinde tarif edilmiştir.

Kenyon ve Tseng (1989), tek taraflı yaralanmalarda total limbal kök hücre yetmezliğinin bulunduğu hastalarda kişinin sağlam gözünden keratokonjunktival doku alımı ile otolog LKHT kullanımını önermiştir.

Tsai, Tseng ve Sun (1990)'in yaptıkları bir çalışmada, limbal epiteli içeren konjunktival transplantasyonun yani limbal transplantasyonun, tek başına konjunktival transplantasyon tekniğine göre korneal epiteliyal fenotipi oluşturmada daha etkili olduğu bildirilmiştir. Limbal transplantasyon sonrasında, korneal vaskülarizasyonda azalma ve daha iyi bir korneal epitel yüzey oluşumu elde edildiğini bildirmiştir.

Sadece tek taraflı yaralanmalarda kullanılan bu yöntemde verici olarak kullanılacak gözün tamamen normal olduğunun belirlenmesinin önemi belirtilmektedir. Verici gözün daha önceden geçirmiş olduğu yıkımlanmaya bağlı olarak LKH yetmezliğinin olup olmadığının değerlendirilmesi yapılmalı bunun için de o gözün alt limbusundaki vogt palisadlarının yapısına ve pigmentasyonuna dikkat edilmeli, gerekli durumlarda preoperatif impresyon sitolojisi ile inceleme yapılmalıdır (Donisi, 2003; Söker, 2007; Yayıoğlu, 2004).

#### **9.4.1. Limbal Kök hücre Transplantasyon Teknikleri**

##### **9.4.1.1. Otogreft**

Konjunktival limbal otogreft tekniği unilateral parsiyel ya da total limbal kök hücre yetmezliği gözlenen kimyasal (Cardoen ve Foet, 1999) ya da termal yanığa maruz kalmış ya da çoklu cerrahi uygulama geçirmiş, pterjium cerrahisi uygulanmış ya da kontakt lens kaynaklı keratopati gözlenen hastalarda uygulanmaktadır (Fernandes, 2004; Tsubota, 1999). Hastanın sağlam olduğu bilinen diğer gözü transplantasyon için kullanılmaktadır. Diğer gözün durumu da limbal kök hücre yetmezliği yönünden incelenmelidir. Sağlam olduğu bilinen gözde bile transplantasyon için 6 saat kadranı genişliğinden daha fazla doku limbal kök hücre yetmezliğine yol açmamak için alınmamalıdır (Fernandes, 2004; Tseng, 2000).

Otogreft yönteminde cerrahide öncelikle yaralı gözde kornea yüzeyindeki anormal doku forseps ve selülöz sponj kullanılarak kaba olarak kaldırılmalı, seyrek olarak ek kazıma yöntemleri kullanılarak yüzey düzgün hale getirilmelidir. Donör doku 90 derecelik açıyı içerecek şekilde (saat 3 pozisyonunda) çıkarılır. Limbustan 0,5 ile 1 mm uzaklıktan uygun genişlikteki kornea parçasına lamellar ensizyon yapılır. İkinci ensizyon limbustan 2 mm geride konjunktivaya yapılır. Konjunktiva limbusta birleşme yerine kadar diseke edilir. Daha sonra her iki ensizyon radyal kesilerle birleştirilir. Korneanın lamellar diseksiyonu yüzeyel tutulmalıdır. Donör yerleri açık bırakılabileceği gibi 10-0 naylon sütür ile tutturulabilir. LKH greftleri konjunktiva ve korneaya 10-0 naylon dikiş ipliği kullanılarak yerleştirilir (Fernandes, 2004; Yayıoğlu, 2004). Kimyasal yanık sonrasında erken ve geç dönemde uygulanan LKHT girişimlerinde postoperatif dönemde 7-12 günde epitelizeasyonun olduğu gözlenmiştir. Transplantasyonu takiben üçüncü ayda sağlam bir epitelyum beraberinde mevcut damarlarda incelme ve küçülme izlenmiştir (Shimazaki, 1998).

#### **9.4.1.2. Allogreft**

**9.4.1.2.1. Keratolimbal Allogreft;** Kadavra dokusunun kullanılacağı hastalarda kök hücre taşıyıcısı olarak konjunktiva ya da kornea dokusu kullanılabilir. Fernandes (2004), kadavradan konjunktival limbal allogreft kullanımına ilişkin iki olgu bildirmiş olup bu teknik uygulama alanı bulmamıştır.

**9.4.1.2.2. Konjunktival-limbal Allogreft;** Tek taraflı etkilenmenin gözlendiği total limbal kök hücre yetmezliği gözlenen ya da bilateral limbal kök hücre yetmezliği bulunan hastalara yaşayan akrabadan konjunktival limbal allogreft transplantasyonu uygulanmaktadır (Cardoen, 1999; Tseng, 2000; Fernandes, 2004). Konjunktival limbal otogreft tekniğinde olduğu gibi sağlıklı gözden alınan limbal kök hücrelerde de yetmezliğin bulunabileceği akıldan çıkarılmamalıdır. Bu yöntemde mutlaka immunsupresan kullanımı gibi bir dezavantaj bulunmaktadır. Siklosporinin uzun dönemli kullanımının bu hücrelerin canlılığına katkısının olabileceği de bildirilmiştir.

LKH reddinin klinik tanısı zor olmakla beraber teorik olarak korneanın konjunktivalizasyonu ve iyileşmeyen epitelyum defektleri ile belirlenebilir. Beraberinde penetran keratoplasti uygulanmış olan hastalarda korneanın epitelyum veya endoteldeki red bulguları ile stroma ödemi LKH reddini de düşündürebilir. Limbal greft bölgesindeki limbal damarlarda genişleme ve artmış doku ödeminin greft reddinin göstergesi olduğu düşünülmektedir. Doku reddi düşünüldüğünde immunosupressif tedaviyi arttırmak gerekmektedir (Dua, 1999; Fernandes, 2004; Yayıoğlu, 2004).

### **9.5. Amniotik Membran Uygulamaları**

Korneal epitelyum yüzeyinin korunmasında amnion membranı kullanımının güvenli ve etkili bir yöntem olduğu bildirilmiştir (Anderson, 2001). Amniotik membran fetal membranların en içte yer alan tabakasıdır (Azuaro-Blanco, 1999; Shimazaki, 1998). Stromal matriks, kalın bir kollajen tabaka ve bunun üstünde bazal membran ve tek kat epitelyum içerir. Amniotik membran, 1940' lardan beri cerrahi materyal olarak kullanılmakta ve güçlü antiadeziv etkisi olduğu bilinmektedir (Shimazaki, 1998). Bunun yanında bakteriyostatik, yara koruyucu, ağrı azaltıcı ve epitelizasyonu artırıcı etkileri de mevcuttur. Diğer bir özelliği de immun red reaksiyonunun bulunmayışıdır. Oküler yüzey rekonstrüksiyonlarında başarı ile kullanılmaktadır. Amniotik membran transplantasyonunun bir substrat transplantasyonu olduğu akıldan çıkarılmamalıdır. Total limbal kök hücre kayıplarında ya da konjunktival epiteliyal kök hücre kayıplarının sağaltımında kullanılmamaktadır. Amniyotik membran oküler yüzeyde epitelyum ve mezenşimal hücre kaynağı sağlamaktadır. Kök hücre kaynağı olmadan tek başına amniyotik membran transplantasyonu tercih edilmemektedir (Azuaro-Blanco, 1999; Alkan, 1987 ).

### **9.6. Amniotik membranda çoğaltılmış LKH kullanımı**

Son yıllarda araştırmalar az sayıda LKH' nin alınarak amniyotik membran ortamında çoğaltılarak nakledilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Pellegrini ve ark. (1999), ilk olarak 3T3 fibroblast besleyici içeren ortamda kültür sistemi kurmuşlardır.

### **9.7. LKH ile Beraber Kornea Transplantasyonu (KT)**

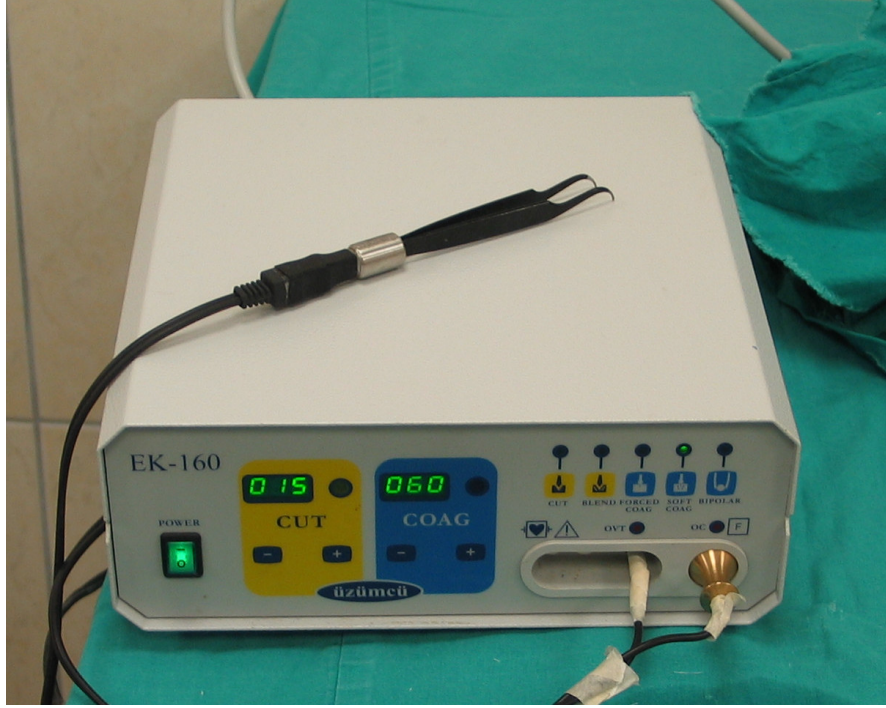
Korneada skar dokusu mevcut ise kişinin görsel rehabilitasyonu için LKHT beraberinde penetran keratoplasti uygulamak gerekmektedir. Öncelikle LKH transplantasyonu yapıldıktan sonra, kornea transplantasyonu uygulanır. Bunun yanında iki girişimin aynı zamanda mı yoksa farklı zamanlarda mı yapmak gerektiği sorusu kesin olarak cevaplandırılamamıştır. Bu amaçla, penetran keratoplasti için, alıcı yatağın hazırlanması, santral korneanın 7.75 mm'lik trepan ile çıkarılması ile yapılır. Verici korneası ise, 8,0 mm'lik korneal greft ile alınarak, alıcı yatağa 8 ayrı dikiş yerleştirilerek dikilir (Fernandes, 2004; Yayıoğlu, 2004).

Kök hücreler organizmada; sınırsız bölünebilme, kendilerini yenileyebilme, organ oluşturabilme özelliklerinden dolayı insan hekimliğinde sinir sistemi, metabolizma, kalp, kemik hastalıkları ile organ yetmezlikleri ve lezyonları başta olmak üzere her geçen gün artarak değişik hastalıkların tedavisinde kullanım alanı bulmaktadır. İnsan hekimliğinde limbal kök hücre yetmezliği tanımlanmış olup korneanın değişik lezyonlarında limbal allo ve oto transplantasyon cerrahi teknikleri uygulanmaktadır. Veteriner hekimlikte kedi, köpek ve atlarda gözlenen korneal hastalıklarda henüz limbal kök hücre yetmezliğine ait bir tanımlanmanın yapılmadığı bilinmektedir. Cerrahi işlem gerektiren bu korneal hastalıkların tedavisinde; konvansiyonel olarak KPG, KKT, lamellar-penetran keratoplasti teknikleri kullanılmakta, postoperatif dönemde görsel rehabilitasyonun sağlanmasında önemli

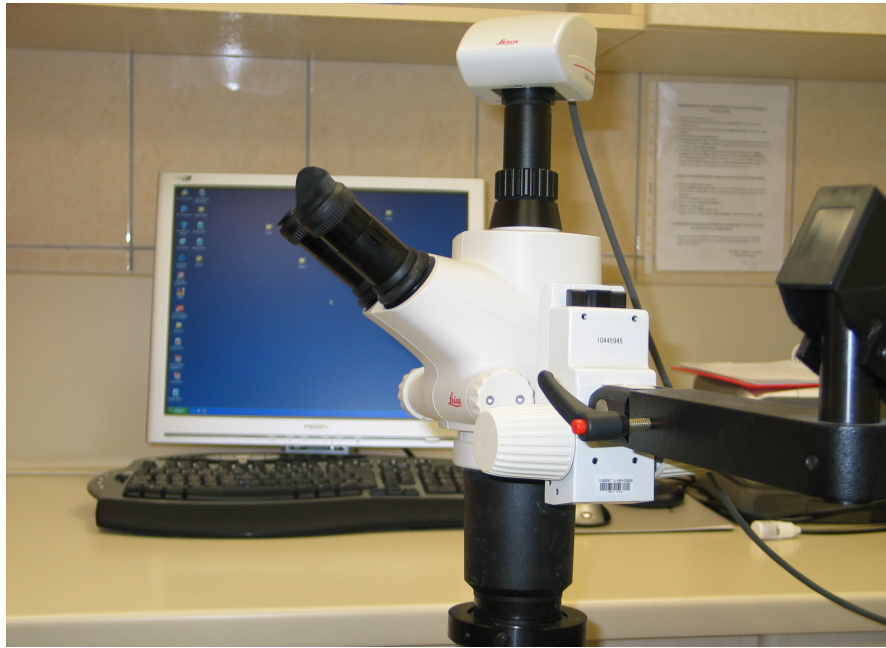
bir kriter olan korneal saydamlık istenilen düzeyde sağlanamamakta olup bu hastalıkların kaynağında da limbal kök hücre yetmezliğinin yattığı düşünülmektedir.

Bu çalışmada, korneanın derin stromal yaralanmalarının iyileşme evresinde korneal saydamlığa etki eden hücresel infiltrasyon, vaskülarizasyon ve granulasyon dokusu oluşumunun otolimal kök hücre transplantasyon tekniği kullanılarak engellenmesi veya azaltılması ve postoperatif dönemde korneal saydamlığın mümkün olan en kısa zamanda sağlanması amaçlanmaktadır. Aynı zamanda çalışmada, rutin uygulamalarda kullanılan KKT tekniği ile keratokonjunktival greft alınarak yapılan otolog limbal kök hücre transplantasyonlarının korneal iyileşmeye olan etkileri; korneal saydamlık ve vaskularizasyon yönünden irdelenecektir. Bu amaçla, tavşanlarda alkali yanıkla oluşturulmuş korneaların tedavisinde rutin olarak kliniklerde kullanılan KKT tekniği ile LKHT tekniklerinin birbirlerine olan üstünlükleri, postoperatif 6 ay gibi uzun bir dönem sonunda, oftalmoskopik ve 6 ayın sonunda da histopatolojik parametreler altında değerlendirilecektir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM



Şekil 2.b. Bipolar koter.

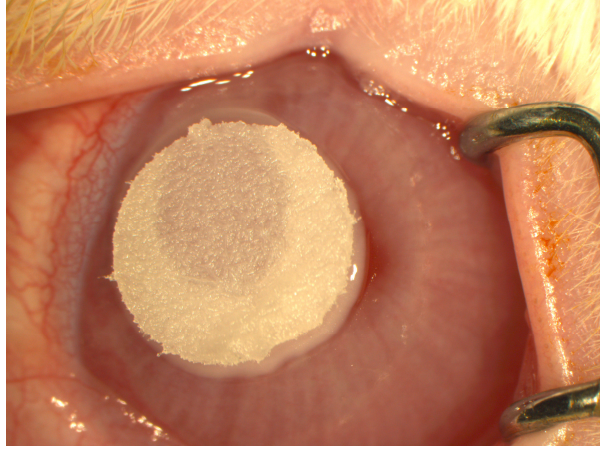


Şekil 2.c. Dijital görüntüleme seti.

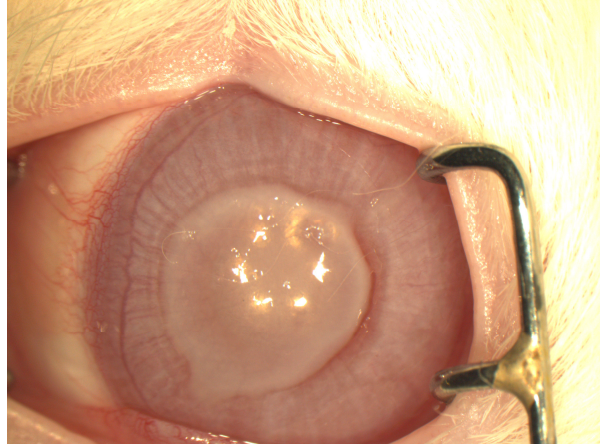
Çalışma yöntemi; anestezi, denek kornealarında alkali yanık oluşturma, ve operasyon protokolü, kornea-konjunktival transpozisyon (KKT) uygulamaları, limbal kök hücre transplantasyon (LKHT) uygulamaları, tüm olguların postoperatif ilk gün ile 15. gün, 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylarda yapılan klinik muayeneleri, altıncı ay sonunda korneaların histopatolojik muayeneleri ile KKT, LKHT ve kontrol grubunun istatistiksel olarak değerlendirmesi altında irdelenmiştir.

### **2.1. Alkali Yanık Oluşturma Modeli**

Çalışmada genel anestezi altındaki 18 tavşanın alkali yanık oluşturulacak sağ gözü üste gelecek şekilde yan yatırıldı. Göz kapaklarının daha fazla açılmasını sağlamak için göz spekulumu yerleştirildi. Alkali yanık oluşturulacak gözlerine “proparacaine HCl” (Alcaine® %0,5; Alcon) damlatıldı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda hazırlatılan 4 normal (N) sodyum hidroksit (NaOH) emdirilmiş 4 mm çapındaki filtre kağıdı korneanın merkezine yerleştirildi (Şekil 2.1 a). Korneanın merkezindeki filtre kâğıdı iki dakika sonunda yerinden uzaklaştırıldı. Kornea 20 ml % 0,9 sodyum klorür (NaCl) solusyonu ile yıkandı ve ortalama 5-5,5 mm çapında korneal lezyon oluşumu sağlandı (Şekil 2.1 b). Oluşan lezyonu saptamak için “floresein” boyama yapıldı (Şekil 2.1 c). Korneadaki lezyonların derinliğinin değerlendirilmesi ve gruplar arası karşılaştırmanın yapılabilmesi için derecelendirme sistemi uygulandı. Buna göre; sadece epiteliyal hasarı olanlar 1, yüzlek ülserasyonu olanlar 2, derin ülseri olanlar 3, desementoseli olanlar 4 ve korneaları perfore olanlar 5 rakamıyla derecelendirildi.



**Şekil 2.1.a.** Kornea merkezine 4 N NaOH emdirilmiş diskin yerleştirilmesi.



**Şekil 2.1.b.** Disk uzaklaştırıldıktan sonra oluşan alkali yanık lezyonu.



**Şekil 2.1.c.** Floresein boyama.

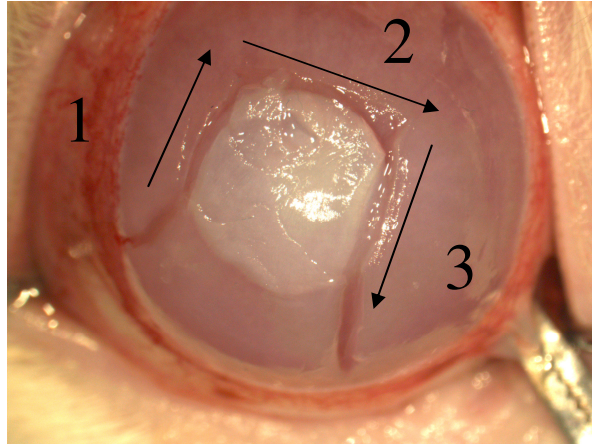
## 2. 2. Anestezi ve Operasyon Protokolü

Tüm olgularda; alkali yanığı oluşumundan üç gün sonra genel anestezi altında KKT ve LKHT uygulamaları yapıldı. Bu amaçla operasyon öncesi tavşanlarda premedikasyonun sağlanabilmesi için “Xylazine HCl” (Alfazyne® %2; Alfasan) kas içi (IM), 5 mg/kg dozunda uygulandı. Anestezi ketamin hidroklorür’ün (Ketasol® %10; Richter pharma ag) IM yolla 25-35 mg/kg dozda uygulaması ile sağlandı. Genel anesteziyi izleyerek, operasyon mikroskobu ile korneanın rahat gözlenebilmesi için tavşanlar yan yatırıldı. Operasyona başlamadan 1 dakika önce göz spekulumu ile göz kapakları açıldı. Operasyon sırasında gerekli görülen durumlarda “proparacaine HCl” (Alcaine® %0. 5; Alcon) damla damlatıldı. Bu aşamadan sonra 18 tavşanın (n:18) 6 gözünde (G1n:6) KKT, 6 gözünde (G2n:6) LKHT operasyonları gerçekleştirildi ve 6 göz (G3n:6) de kontrol grubu olarak bırakıldı.

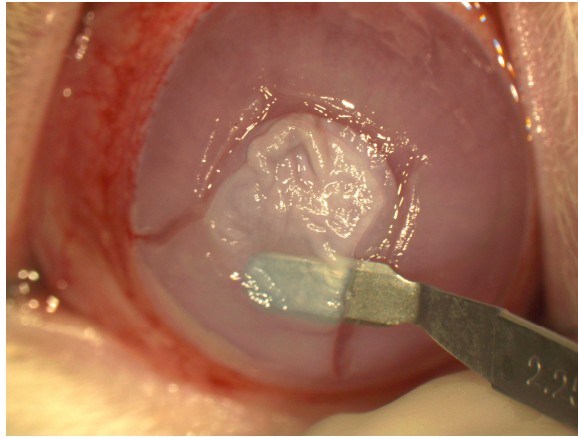
## 2.3. Kornea-konjunktival Transpozisyon (KKT) Uygulamaları

Alkali yanık oluşturulmuş 6 göze (G1n:6) Kornea-konjunktival Transpozisyon (KKT) tekniği uygulandı. Bu tekniğe göre kornea merkezinde oluşturulan lezyonun nazal, temporal ve lateral kenarlarından (sırası ile 1, 2 ve 3) spatula uçlu kornea bistürisi ile düz ensizyonlar gerçekleştirildi (Şekil 2.3 a). Kornea merkezinde oluşturulan alkali yanık lezyonundan 1 mm daha geniş olacak şekilde kornea spatula uçlu kornea bistürisi yardımı ile limbusa kadar ayrıldı (Şekil 2.3 b). Spatula uçlu kornea bistürisi kullanılarak lezyonun 1 mm kadar altına girildi ve merkezde oluşturulan lezyonlu kornea parçası kaldırıldı (Şekil 2.3 b). Kornea stromanın yaklaşık 2/3’ü oranında lamellar olarak kaldırıldığında Kornea üzerinden limbusa kadar bir cep oluşturuldu. Buradan bulbar konjunktivaya kadar giderek cep genişletildi. Korneanın devamındaki konjunktiv doku, alttaki skleraya dokunmadan diseke edilip serbest hale getirildi (Şekil 2.3 c). Skleranın zarar görmesini engellemek ve konjunktiv dokunun diseksiyonunu kolaylaştırmak amacı ile konjunktiv doku ile sklera arasına insülin iğnesi ile 0.5 ml %0.9’luk izotonik NaCl enjekte edildi.

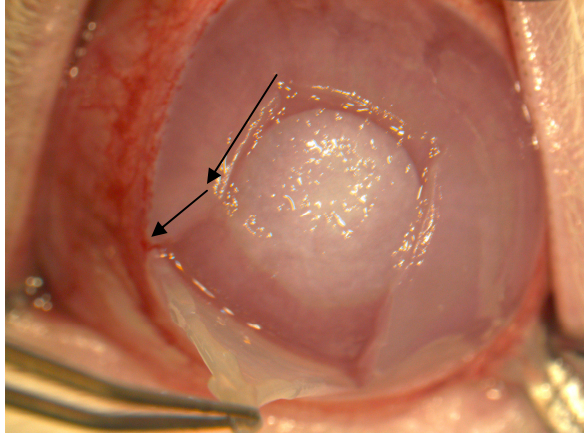
Serbestleştirilen kornea ve konjunktiva dokusu kornea merkezinde lezyon üzerini kapatacak şekilde kaydırıldı (Şekil 2.3 d -1,2,3). Greftin uç kısmındaki lezyonlu bölge de bu işlemde sonra kesilip uzaklaştırıldı. Korneanın merkezi transpoze edilen kornea ile kapatılırken, periferde transpoze edilen korneanın alındığı kısım kaydırılan konjunktiva dokusu ile kapatıldı. Graft, korneaya spatula iğneli 10/0 monofilament polyamid (Ethilon®; Ethicon) dikiş materyali ile basit ayrı dikişlerle dikildi (Şekil 2.3 e).



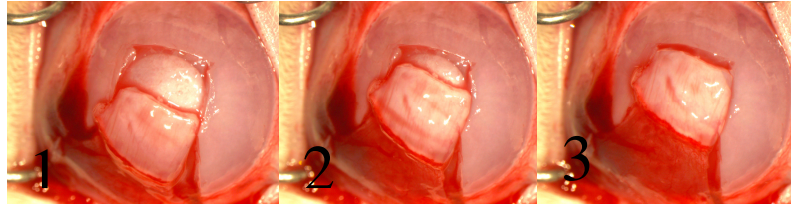
**Şekil 2.3. a.** Lezyonun 1. Nazal, 2. Temporal, 3. Lateral kenarından ensizyon.



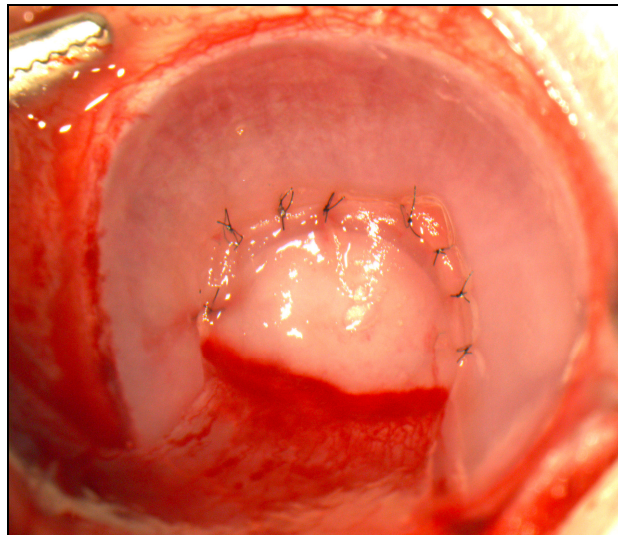
**Şekil 2.3. b.** Korneanın limbusa kadar lamellar ensizyonu.



**Şekil 2.3.c.** Korneal cep oluşturulması ve limbusa doğru oluşturulan cebin genişletilerek diseksiyonu.



**Şekil 2.3.d.** Serbestleştirilen kornea-konjunktival dokunun kaydırılması (1,2,3).



**Şekil 2.3 e.** Korneaya dikişlerin uygulanması.

## 2.4. Limbal Kök Hücre Transplantasyonu (LKHT)

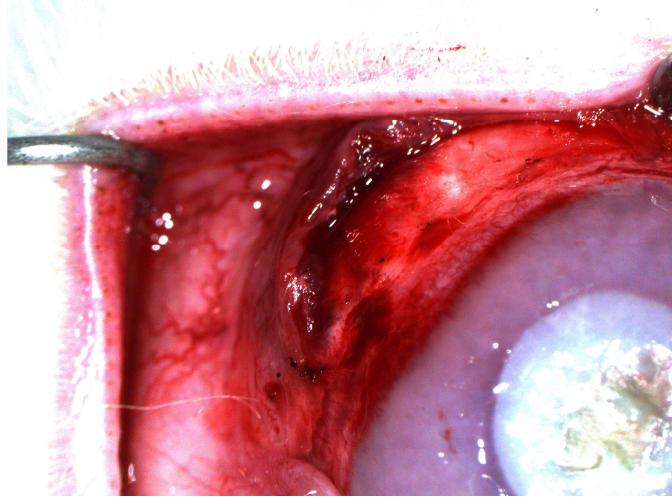
Alkali yanık oluşturulan 6 adet sağ göze (G2 n:6), otolog limbal kök hücre nakli amacıyla aynı hayvanın sol gözünden temin edilen keratokonjunktival limbal greft ve dolayısıyla LKHT (Yaycıoğlu ve Akova, 2004) aşağıdaki değişikliklerle uygulandı.

İlk olarak alkali yanık oluşturulan lezyonlu sağ gözün kornea yüzeyindeki anormal doku alkol emdirilen selüloz sponj ile kaldırıldı ve bu gözde limbal dokunun transplante edileceği yatak superior bölgede 3 saat kadranı genişliğinde hazırlandı. Hazırlanan yatağın transplante edilecek dokunun genişliğinde olmasına dikkat edildi. Konjunktiv doku, Wannas makası kullanılarak tenon kapsülü dahil olmayacak şekilde kornea-skleral yönde açıldı (Şekil 2.4 a). Bu arada oluşan kanamalar bipolar koter yardımı ile durduruldu. Sol gözden limbal greft alınana kadar hazırlanan yatağın kurummasını engellemek amacıyla konjunktiv doku, %0.9 luk NaCl emdirilmiş sponj ile kapatıldı.

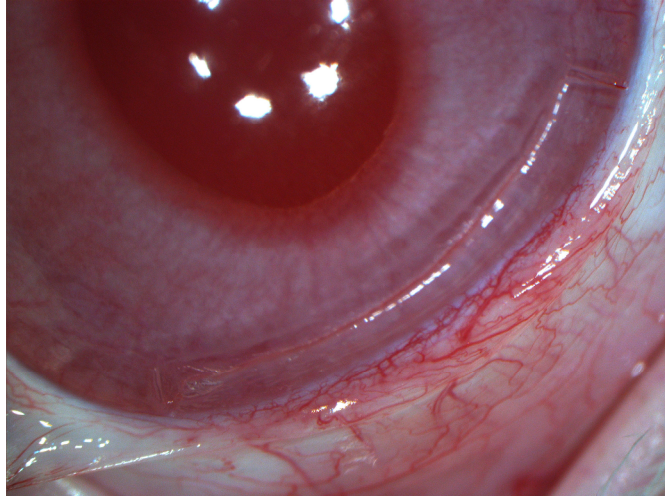
Greft alınacak olan sol göz, limbal kök hücre içeren otolimbale greft almak amacıyla hazırlandı. Bu amaçla yine sol gözde superior kadran hazırlandı. 3 saat kadranı genişliğindeki sklerokorneal birleşme bölgesinde korneaya, Beaver blade kullanılarak limbustan 0.5 ile 1 mm içeriden rehber ensizyon yapıldı (Şekil 2.4 b) (Eisner, G., 1978). Kornea parçası beaver blade yardımı ile önceden yapılan rehber ensizyonu kullanarak lamellar olarak kaldırıldı (Şekil 2.4 c). İkinci ensizyon limbusun konjunktival kenarına limbustan 2 mm geride ilk ensizyona paralel olarak konjunktivaya yapıldı. Korneal ve konjunktival kenarların kaldırılmasını takiben limbustaki birleşme çizgisi ‘wannas’ makası ile ayrıldı. Dikdörtgen şeklinde üst kısmında 0.5-1 mm genişliğinde korneal dokuyu, alt kısmında 2 mm genişliğinde konjunktival dokuyu ve her ikisinin birleşme noktasında çizgi şeklinde limbal kök hücrelerin var olduğunun düşünüldüğü limbusu içeren doku serbestleştirildi (Şekil 2.4 d).

Hazırlanan yatağa LKH greftleri her kadranda bir adet olmak üzere 10/0 monofilament poliamid (Ethilon®; Ethicon) kullanılarak basit ayrı dikişlerle

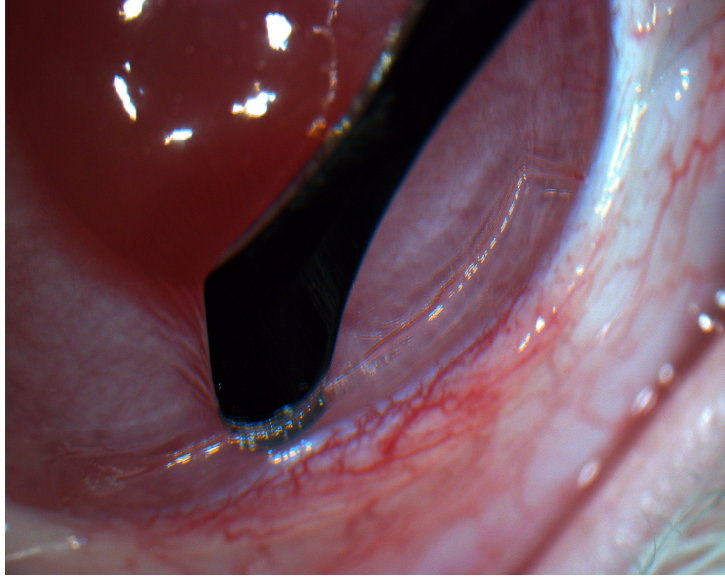
yerleştirildi (Şekil 2.4 e). Sol gözlerdeki greft alınan yatak 8/0 naylon kullanılarak kapatıldı.



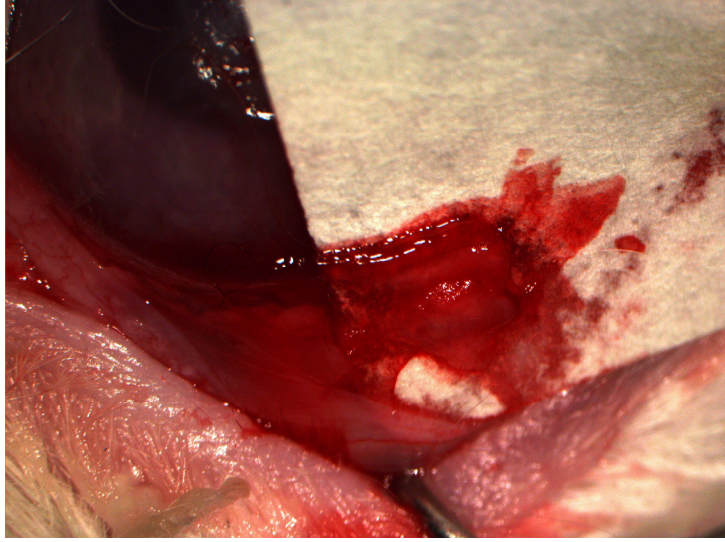
**Şekil 2.4. a:** Sağ gözlerde LKHT yatağının hazırlanması.



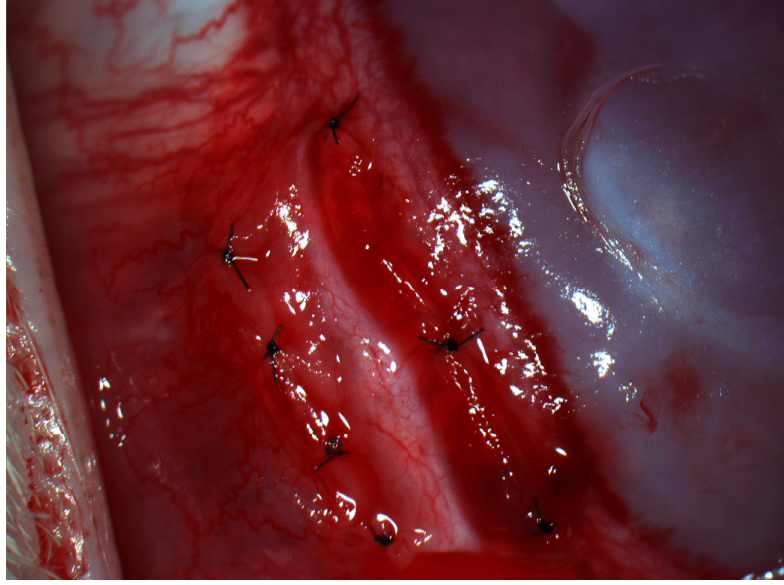
**Şekil 2.4. b.** Sol gözlerde beaver blade kullanılarak rehber ensizyonun yapılması.



**Şekil 2.4.c.** Sol gözlerde greftin kaldırılması.



**Şekil 2.4.d.** Sol gözlerde Konjunktiva-korneal birleşme bölgesi (Limbus)'nin serbestleştirilmesi.



**Şekil 2.4.e.** Sağ gözdeki yatağa greftin transplantasyonu.

Her iki teknik uygulaması sırasında kornealar %0,9 NaCl solusyonu ile irrigate edildi. Postoperatif dönemde kontrol grubu dahil tüm olgulara 15 gün boyunca ofloksasin % 0.3 (Exocin®; Allergan) günde dört kez iki damla ve operasyondan 3 gün sonra dexametazone (Onadron®; İE Ulagay) günde 3 kez iki damla topikal olarak kullanıldı. Her iki ilacın kullanımına postoperatif 15 gün devam edildi.

## **2.5. Postoperatif Muayene**

Tüm denekler alkali yanığının oluşturulduğu gün, postoperatif onbeşinci gün ile 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylarda sedasyon sağlanarak operasyon mikroskobu ile; periferik 360° yüzeysel veya derin korneal vaskularizasyon, merkezi saydamlık yönünden muayene edilerek kontrol olgularıyla karşılaştırıldı.

## 2.6. Histopatolojik Muayene

KKT, LKHT ve kontrol gruplarında çalışılan tüm gözler 6. ayın sonunda ekstirpe edildi. Ekstirpe edilen bulbus okuliler; %37'lik formaldehid 100 ml, Distile su 900 ml, Sodyum dihidrojen fosfat 4 gr, Disodyum hidrojen fosfat 6.5 gr karıştırılarak hazırlanmış olan %10'luk tamponlu formol solusyonunda organ veya doku parçaları doku/solusyon oranı 1/10-20 olacak şekilde konuldu ve tespit edildi. Tamponlu formol içerisinde alınan dokular tespit olduktan sonra 2-3 mm kalınlığında küçültüldü. Bu dokular kasetlere yerleştirildikten sonra akan musluk suyu altında yıkandı. Ardından kasetler vakumlu doku takip cihazına (Leica TP 1020) konuldu. Burada dokular dehidre edilerek sertlik kazanması sağlandı. Vakumlu doku takip cihazı sırasıyla %50 alkol, %70 alkol, %80 alkol, %96 alkol, %100 alkol, %100 alkol, ksilol, ksilol, parafin, parafin serilerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Doku bloklarından rotary mikrotom (Leica RM 21225RT) ile 5-6 µ kalınlığında alınan kesitler su banyosuna alındı. Burada doku açıldı ve düzleşti. Sonra kesit lam üzerine alındı. Ardından ksilol ve alkol serilerinde deparafinize ve rehidre edildi ve Harris Hematoksilen ve Eozin boyama yöntemine göre tüm solusyonlarda 5'er dakika kalacak şekilde boyandı ve uygun yapıştırıcı (mounting medium Entellan) ile lamel kullanarak lamlar kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye hazır hale getirildi.

Tüm olguların histopatolojik değerlendirilmesinde bağdoku reaksiyonu, neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekroz, korneal kalınlaşma, konjunktival doku kalıntısı ve epitel hiperplazisinin derecesi kriter alınarak aşağıdaki skorlama sistemi kullanıldı;

( - ) yok

(+) minimum düzeyde görüldü

(++) orta derecede görüldü

(+++ ) yoğun olarak görüldü

## 2.7. İstatistiksel Değerlendirme

KKT ve LKHT yöntemlerinde klinik muayenede kullanılan kriterlerin görülme oranları belirlendi. Her iki yöntemin histopatolojik muayene sonuçlarına göre elde edilen korneal iyileşme kriteri olan bulguların (neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekroz, korneal kalınlaşma) yanında LKHT gruplarının kontrol grupları ile olan istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Kruskal Wallis teste göre değerlendirildi (Altman, 1996, Campbell, 1993). Grupların karşılaştırılması sonucu gruplar arası istatistiksel olarak fark var ( $P < 0.05$ ) veya istatistiksel olarak fark yoktur ( $P > 0.05$ ) olarak değerlendirildi.

### 3. BULGULAR

Çalışmada elde edilen bulgular; perioperatif bulgular, KKT uygulanan olgular (G1 n:6), LKHT uygulanan olgular (G2 n:6) ve kontrol olguları (G3 n:6)'nın alkali yanık oluşturulan gün, postoperatif onbeşinci gün ve postoperatif 6. aya kadar aylık muayene bulguları ile tüm olguların 6. ay sonunda elde edilen histopatolojik muayene bulguları ve istatistiksel analiz sonuçları olarak irdelenmiştir.

#### 3.1. Perioperatif Bulgular

LKHT uygulanacak olan olgularda jelatinöz kıvamda olan yanık dokunun alkole daldırılan selüloz sponj ile uzaklaştırılması kolay bir şekilde gerçekleştirildi. Greftin alınacağı diğer gözde rehber ensizyon 'BD Scleratome' kullanılarak uygun bir şekilde yapıldı. Bu işlem genellikle medial kısımdan 'Skleratom' yardımıyla greftin ayrılmasıyla sağlandı. Greftin, konjunktival taraftan kaldırılması konjunktivanın altına insülin enjektörü yardımı ile 0.5 ml steril % 0.9'luk NaCl enjekte edilerek gerçekleştirildi. Greftin ucu kaldırıldıktan sonra limbus bölgesinin düzgün bir şekilde ayrılabilmesi için Wannas makası kullanıldı. Ayrılan kornea konjunktival dokunun alt ve üst yüzlerini karıştırmamak için, dikiş ipliğinin steril prüzüz ambalaj kağıdı üzerine doku yatırıldı. Dokunun kurummasını engellemek amacı ile % 0.9 'luk NaCl' damlatıldı. Öncelikle greft, daha sonra greft yatağı dikildi. Greft dikişinde dikişler ilk önce greftin yerleştiği kadranın her iki köşesine yerleştirildi, bunu takiben korneal tarafta 3, konjunktival tarafta 3 olmak üzere toplam 6 dikiş uygulandı ve LKHT uygulamaları ortalama 65.8 dakikada tamamlandı (Çizelge 1.2).

KKT olgularında kornea üzerindeki lezyonu içine alacak şekilde rehber ensizyon yapıldı. Ensizyondan spatula uçlu kornea bistürisi kullanılarak lezyon kalınlığında (stromanın yaklaşık 2/3 ) ve lezyondan 1 mm daha geniş olacak şekilde kornea parçası, limbusa kadar alttaki kornea katından küt diseksiyonla ayrılarak cep

oluşturuldu. Elde edilen korneal cep, dorsal ve ventralden dikdörtgen parça oluşacak şekilde kesilerek serbestleştirildi. Dikdörtgen korneal parçanın kökünün isabet ettiği limbustan bulbar konjunktiva üzerine doğru, iki ensizyon arası uzaklık giderek artacak şekilde ensizyon yapıldı ve böylece korneanın devamındaki konjunktival doku, alttaki skleraya dokunmadan diseke edilerek serbestleştirildi. Tüm bu işlemler sırasında greftin zarar görmemesi için lezyonlu bölge, dikiş uygulamasından hemen önce kesilerek uzaklaştırıldı. İlk önce dikişler greftin her iki köşesine uygulandı daha sonra tüm greftler kornea üzerine (12-14 dikiş) ortalama 12.3 dikiş ile yerleştirildi ve operasyonlar ortalama 79.1 dakikada tamamlandı (Çizelge 1.2).

**Çizelge 1.2.** Toplam 12 olgunun yaşı, cinsiyeti, greft üzerine yerleştirilen dikiş sayısı ve operasyon süresi

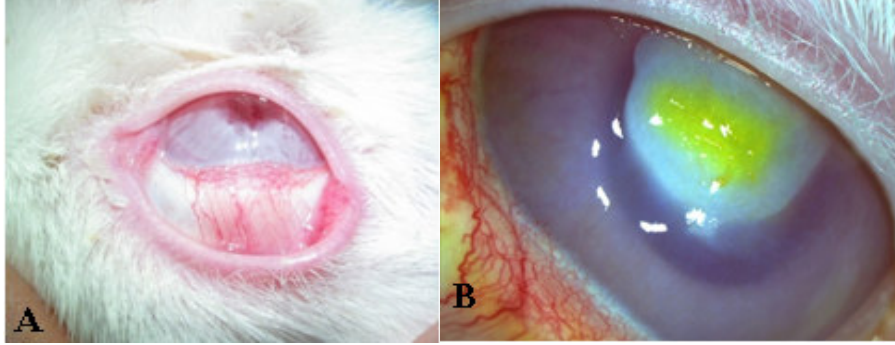
| Olgu No | Yaş (ay) | Cinsiyet | Greft üzerine yerleştirilen dikiş sayısı | Süre (dakika) |
|---------|----------|----------|------------------------------------------|---------------|
| LKHT1   | 6        | Dişi     | 6                                        | 90            |
| LKHT2   | 6        | Dişi     | 6                                        | 75            |
| LKHT3   | 12       | Dişi     | 6                                        | 65            |
| LKHT4   | 12       | Dişi     | 6                                        | 60            |
| LKHT5   | 6        | Dişi     | 6                                        | 60            |
| LKHT6   | 6        | Dişi     | 6                                        | 45            |
| KKT1    | 6        | Erkek    | 10                                       | 80            |
| KKT2    | 12       | Dişi     | 14                                       | 75            |
| KKT3    | 12       | Dişi     | 12                                       | 80            |
| KKT4    | 12       | Erkek    | 16                                       | 80            |
| KKT5    | 12       | Dişi     | 14                                       | 80            |
| KKT6    | 12       | Dişi     | 8                                        | 80            |

### 3.2. KKT, LKHT ve Kontrol Grubuna Ait Bulgular

#### 3.2.1. Postoperatif İlk Gün Muayene Bulguları

Tüm olgularda alkali yanık uygulamasını takiben korneanın merkezinde 5 mm çapında epiteliyal kayıp gözlemlendi (Şekil 3.2.1). Deneklerin hiçbirinin limbal ve konjunktival bölgelerinin, alt ve üst göz kapaklarının, 3. göz kapağının alkali ajandan

etkilenmediği belirlendi. Konsantrasyonu (4N Na OH), uygulama miktarı ve süre sabit olduğundan her üç grupta da oluşan korneal yanığın eşit olduğu gözlemlendi.



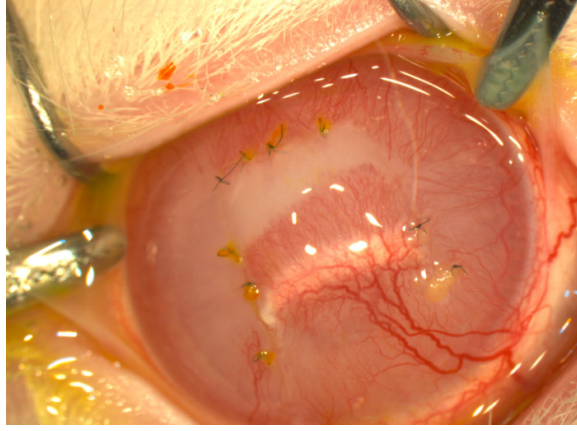
**Şekil 3.1.** Tavşanın normal superior kornea-konjunktival görünümü (A), ilk gün oluşturulan epiteliyal defekt (B).

### 3.2.2. Postoperatif Onbeşinci Gün Muayene Bulguları

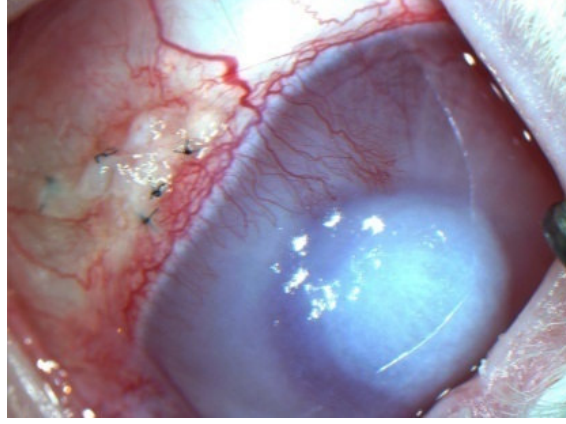
KKT uygulanan olguların % 50'sinde yüzlek, %50'sinde derin (siliar) kökenli damarlaşma izlendi (Şekil 3.2.2 a). KKT olgularında yüzlek damarların merkeze kaydırılan kornea üzerine yayıldığı izlendi.

LKHT olgularının % 66,6'sında kornea üzerinde lezyona doğru ilerleyen yüzlek damarların, %50'sinde ise derin (siliar) kökenli damarların olduğu izlendi (Şekil 3.2.2 b).

Kontrol grubunda tüm olgularda % 100 oranında korneanın merkezinde bulunan lezyona doğru 360° yoğun bir şekilde ilerleyen yüzlek ve derin damarlaşmanın olduğu gözlemlendi (Şekil 3.2.2 c). LKHT ve KKT uygulanan olgularda ve kontrol grubunda korneadan ön kamara detayının bu dönemde seçilebildiği izlendi.



**Şekil 3.2.2 a.** KKT 4 no'lu olgunun postoperatif 15. gündeki görünümü.



**Şekil 3.2.2 b.** LKHT 1 no'lu olgunun postoperatif 15. gündeki görünümü.



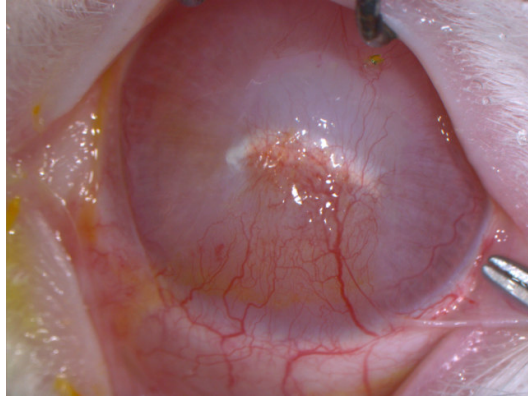
**Şekil 3.2.2 c.** Kontrol 1 no'lu olgunun postoperatif 15. gündeki görünümü.

### 3.2.3. Postoperatif Birinci Ay Sonu Muayene Bulguları

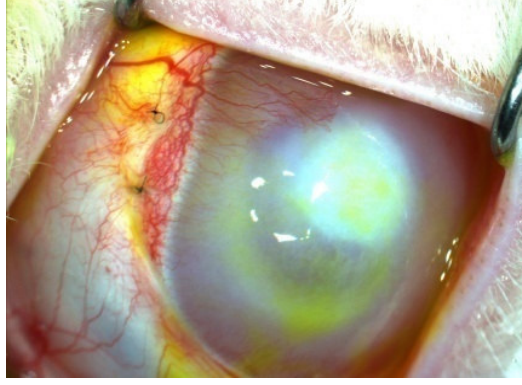
KKT olgularında %83.3 oranında kaydırılan konjunktiv dokudan köken alan yüzeyel vaskularizasyonun devam ettiği gözlemlendi (Şekil 3.2.3 a). Korneal merkezi saydamlık kriter alındığında; KKT olgularının % 100 oranında yarı saydam olduğu, diğer gruplardaki tüm olguların ise % 100 oranında opak olduğu belirlendi.

LKHT olgularında yüzeyel vaskularizasyonun % 100 oranında gözlemlendiği izlendi. (Şekil 3.2.3 b). Merkezi skar çapında tüm LKHT olgularında % 100 oranında azalmanın olduğu kontrol grubunda ise azalmanın olmadığı belirlendi.

Kontrol grubunda tüm olgularda hem derin hem de yüzeyel damarlaşmanın %100 oranında olduğu gözlemlendi. Kontrol grubunda, LKHT ve KKT olgularına göre floresein boyanın daha fazla tutulduğu ve kornea skleral birleşme bölgesinde doku reaksiyonunun şiddetlendiği izlendi (Şekil 3.2.3 c).



**Şekil 3.2.3. a.** KKT 4 no'lu olgunun postoperatif 1. aydaki görünümü.



**Şekil 3.2.3. b.** LKHT 1 no'lu olgunun postoperatif 1. aydaki görünümü.

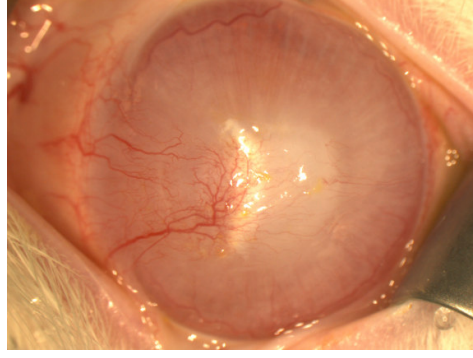


**Şekil 3.2.3. c.** Kontrol 1 no'lu olgunun postoperatif 1. aydaki görünümü.

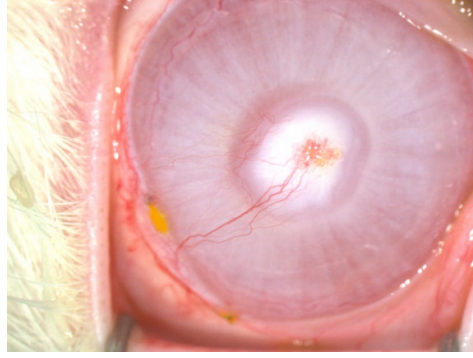
### 3.2.4. Postoperatif İkinci Ay Sonu Muayene Bulguları

KKT olgularında, yüzeysel vaskularizasyonun %83,3 oranında olduğu diğer tüm gruplarda ise %100 oranında gözlendiği tespit edildi. Derin vaskularizasyonun kontrol grubunda % 50'ye düştüğü gözlendi.

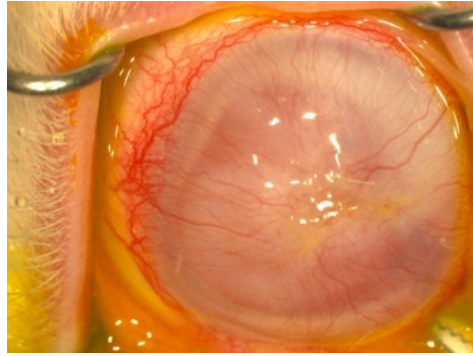
Merkezi korneal saydamlık göz önüne alındığında; KKT olgularının % 100 oranında yarı saydam (Şekil 3.2.4 a), LKHT olgularının %50 oranında yarı saydam (Şekil 3.2.4 b), kontrol olgularının ise % 100 oranında opak (Şekil 3.2.4 c) olduğu izlendi.



**Şekil 3.2.4. a.** KKT 4 no'lu olgunun postoperatif 2. ay görünümü.



**Şekil 3.2.4. b.** LKHT 6 no'lu olgunun postoperatif 2. aydaki görünümü.



**Şekil 3.2.4. c.** Kontrol 1 no'lu olgunun postoperatif 2. aydaki görünümü.

### 3.2.5. Postoperatif Üçüncü Ay Sonu Muayene Bulguları

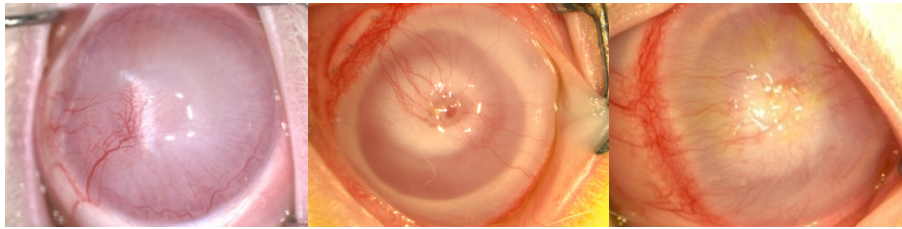
KKT olgularında yüzlek damarlaşmanın % 50, LKHT olgularında ise % 66.6 oranına düştüğü, tüm kontrol olgularında ise % 100 oranında devam ettiği gözlemlendi. Kontrol olgularında derin vaskularizasyonun % 33.3 oranına gerilediği gözlemlendi (Şekil 3.2.5 a).



**Şekil 3.2.5. a.** Postoperatif 3. ay sonunda KKT 6 (a), LKHT 3 (b) ve Kontrol 1 (c) no'lu olguların görünümü.

### 3.2.6. Postoperatif Dördüncü Ay Sonu Muayene Bulguları

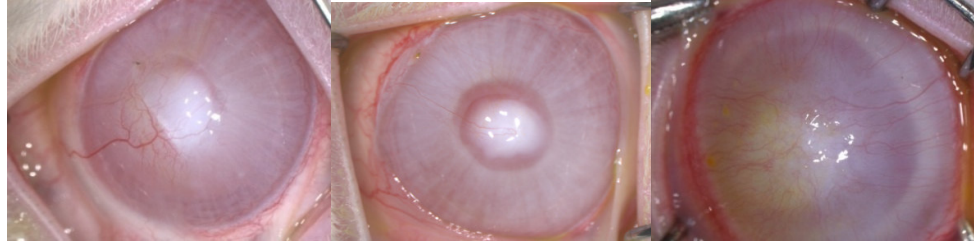
Yüzeyel damarlaşmanın varlığı KKT grubunda % 33.3, LKHT grubunda % 50 ve kontrol grubunda ise % 100 oranında izlendi (Şekil 3.2.6 a). Derin vaskularizasyonun ise kontrol grubunda % 16.6 oranında gözlemlendiği belirlendi.



**Şekil 3.2.6. a.** KKT 4 (a), LKHT 3 (b) ve Kontrol 1 (c) no'lu olguların postoperatif 4. ay sonu görüntüleri.

### 3.2.7. Postoperatif Beşinci Ay Sonu Muayene Bulguları

KKT olgularının tümünde 360° vaskularizasyonun kaybolduğu yalnız transpoze edilen greftin üzerinde yer alan damarların korunduğu tespit edildi. LKHT olgularında %50 oranında damarlaşmanın izlendiği, kontrol grubunda ise 360° damarlaşmanın devam ettiği gözlemlendi. Derin vaskularizasyonun KKT ve LKHT grubunda hiç olmadığı, kontrol olgularında ise %16.6 oranında olduğu gözlemlendi (Şekil 3.2.7 a).



**Şekil 3.2.7 a.** KKT 6 (a), LKHT 6 (b) ve kontrol 1 (c) no'lu olguların postoperatif 5. ay sonu görünümeleri.

### 3.2.8. Postoperatif Altıncı Ay Sonu Muayene Bulguları

KKT olgularının tümünde sadece transpoze edilen konjunktivaya ait, LKHT olgularında da greft konulan kadran tarafındaki konjunktivaya ait olan yüzeysel damarların görülemeyecek kadar azaldığı ve bu azalmanın LKHT grubunda % 50 oranında devam ettiği gözlemlendi. Bunun yanında %100 oranında yüzeysel, %16,6 oranında derin damarlaşmanın olduğu gözlemlendi. LKHT olgularının % 50'sinde, KKT olgularının ise %100'ünde yarı saydam korneanın varlığı tespit edilirken, her iki grupta da ön kamara detaylarının %100 oranında seçildiği gözlemlendi. Kontrol grubunda ise korneal saydamlığın sağlanamadığı, korneal opasitenin % 100 oranında gözlemlendiği ve ön kamara detaylarının hiçbir olguda seçilemediği tespit edildi (Şekil 3.2.8 a).



**Şekil 3.2.8 a.** KKT 6 (a), LKHT 4 (b) ve Kontrol 1 (c) no'lu olguların postoperatif 6. ay sonundaki korneal saydamlık ve ön kamara detayı açısından görünümü.

Postoperatif belirli aralıklarla yapılan muayene sonuçlarına göre bulguların gruplarda görülme oranları aşağıdaki gibi tespit edildi;

***Periferal 360° yüzeysel vaskularizasyon;***

KKT olgularında 15. gün yapılan muayenelerinde %50 (1, 3 ve 5 no'lu olgular), 1. ve 2. ay % 83,3 (1, 2, 3, 4 ve 5 no'lu olgular), 3. ay % 50 (2, 4 ve 5 no'lu olgular), 4. ay % 33,3 (4 ve 5 no'lu olgular) oranında gözlenirken, 5. ve 6. ay muayenelerinde ise hiç gözlenmemiştir. LKHT olgularında 15. gün yapılan muayenelerinde % 66,6 (2, 3, 5 ve 6 no'lu olgular), 1. ay ve 2. ayda %100 (1, 2, 3, 4, 5 ve 6 no'lu olgular), 3. ayda % 66,6 (2, 3, 5 ve 6 no'lu olgular), 4., 5. ve 6. ay muayenelerinde % 50 (3, 5 ve 6 no'lu olgular) oranına gerilediği izlendi. Kontrol grubunda tüm olgularda (1-6 no'lu olgular) 6 ay boyunca % 100 oranında yüzeysel vaskularizasyon gözlemlendi.

***Periferal 360° derin vaskularizasyon;***

KKT olgularının 15. gün yapılan muayenelerinde %50 (2, 3 ve 4 no'lu olgular) oranında gözlenirken 1.,2.,3.,4.,5. ve 6. ay muayenelerinde hiçbir olguda gözlenmedi. LKHT olgularında ise 1. ayda %50 (1, 3 ve 4 no'lu olgular) ve 3. ayda %16,6 (2 no'lu olgu) oranında gözlemlendi. Kontrol grubunda ise 15. gün ile 1. ay muayenelerinde tüm olgularda % 100 (1-6 no'lu olgular), 2. ayda % 50 (4, 5 ve 6 no'lu olgular), 3.

ayda %33,3 (5 ve 6 no'lu olgular), 4., 5. ve 6. ayda % 16.6 (6 no'lu olgu) oranında olduğu gözlemlendi.

***Merkezi korneal saydamlık kriterleri göz önüne alındığında;***

***Merkezi opasite;*** KKT olgularında %100 (1-6 no'lu olgular) oranında sadece 15. günün sonuna kadar, LKHT olgularında ise 1. ayın sonuna kadar %100 oranında (1-6 no'lu olgular), 2.,3.,4.,5. ve 6. aylarda ise %50 oranında (2, 3 ve 4 no'lu olgular) gözlemlendi. Kontrol olgularında ise 6 aylık gözlem süresi boyunca merkezi opasitenin %100 (1-6 nolu olgular) oranında gözlemlendiği belirlendi.

***Yarı saydam kornea;*** KKT olgularında 1.,2.,3.,4.,5. ve 6. ay yapılan muayenelerde % 100 (1- 6 nolu olgular) oranında, LKHT olgularında ise 2. aydan itibaren %50 (1, 5 ve 6 nolu olgular) oranında gözlenmiş olup, kontrol grubunda ise 6 ay boyunca hiç gözlenmedi.

***Merkezi skar çapında azalma;*** LKHT olgularında 15. gün yapılan muayenelerinde gözlenmezken, 1.,2.,3.,4.,5. ve 6. ay muayenelerinde % 100 (1-6 nolu olgular) oranında gözlemlendi. Kontrol grubunda ise hiçbir olguda merkezi skar çapında azalma gözlenmedi.

**Çizelge 1.3.** Kontrol, KKT, LKHT ‘deki muayene bulguları (S: Saydam, YS: Yarı saydam, O: Opak, - : Bulgu yok).

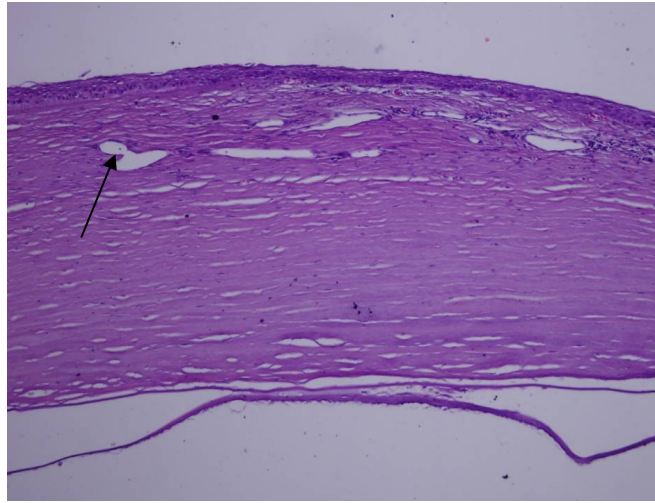
| Bulgular                                           | Olgular | 15. gün               | 1. ay                 | 2. ay                                | 3. ay                                | 4. ay                                | 5. ay                                | 6. ay                                |
|----------------------------------------------------|---------|-----------------------|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Periferal korneal 360° yüzeyel neo-vaskülarizasyon | KKT     | 1,3,5<br>%50          | 1,2,3,4,5<br>%83.3    | 1,2,3,4,5<br>%83.3                   | 2,4,5<br>%50                         | 4,5<br>%33.3                         | -                                    | -                                    |
|                                                    | LKHT    | 2,3,5,6<br>%66.6      | 1,2,3,4,5,6<br>%100   | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 2,3,5,6<br>%66,6                     | 3,5,6<br>%50                         | 3,5,6<br>%50                         | 3,5,6,<br>%50                        |
|                                                    | Kontrol | 1,2,3,4,5,6,<br>%100  | 1,2,3,4,5,6<br>%100   | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  |
| Periferal korneal 360° derin neo-vaskülarizasyon   | KKT     | 2,3,4<br>%50          | -                     | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    |
|                                                    | LKHT    | 1,3,4<br>%50          | -                     | -                                    | 2<br>%16,6                           | -                                    | -                                    | -                                    |
|                                                    | Kontrol | 1,2,3,4,5,6<br>%100   | 1,2,3,4,5,6<br>%100   | 4,5,6 %50                            | 5,6<br>%33,3                         | 6<br>%16,6                           | 6<br>%16,6                           | 6<br>%16,6                           |
| Merkezi saydamlık                                  | KKT     | O<br>(1-6) %100       | YS<br>(1-6) %100      | YS<br>(1-6) %100                     | YS<br>(1-6) %100                     | YS<br>(1-6) %100                     | YS<br>(1-6) %100                     | YS<br>(1-6) %100                     |
|                                                    | LKHT    | O (1-6)<br>%100       | O (1-6)<br>%100       | O<br>2,3,4<br>%50<br>YS 1,5,6<br>%50 | O<br>2,3,4<br>%50<br>YS 1,5,6<br>%50 | O<br>2,3,4<br>%50<br>YS 1,5,6<br>%50 | O<br>2,3,4<br>%50<br>YS 1,5,6<br>%50 | O<br>2,3,4<br>%50<br>YS 1,5,6<br>%50 |
|                                                    | Kontrol | O 1,2,3,4,5,6<br>%100 | O 1,2,3,4,5,6<br>%100 | O 1,2,3,4,5,6<br>%100                | O 1,2,3,4,5,6<br>%100                | O 1,2,3,4,5,6<br>%100                | O 1,2,3,4,5,6<br>%100                | O 1,2,3,4,5,6<br>%100                |
| Merkezi skar çapında azalma                        | LKHT    | -                     | 1,2,3,4,5,6<br>%100   | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  | 1,2,3,4,5,6<br>%100                  |
|                                                    | Kontrol | -                     | -                     | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    |

### 3.3. Histopatolojik Bulgular

#### 3.3.1. KKT Olgularının Histopatolojik Muayene Bulguları

KKT 1, 5 ve 6 no'lu olgularda orta derecede 2, 3 ve 4 no'lu olgularda ileri derecede *neovaskularizasyon* görüldü (Şekil 3.3.1. a). Neovaskularizasyonun LKHT grubunda KKT ve kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ( $P<0.01$ ).

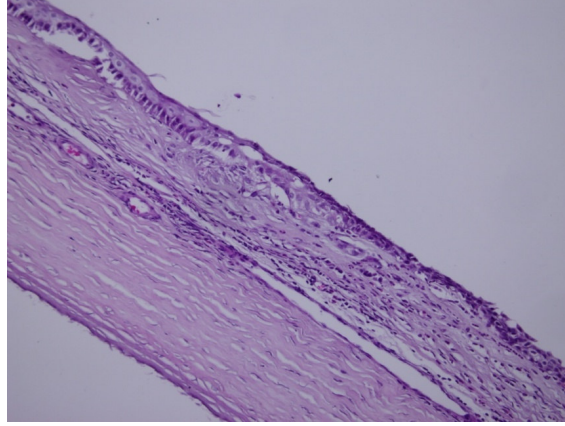
KKT uygulanan tüm olgularda bağdoku reaksiyonunun minimal derecede olduğu, bağdoku reaksiyonu şekillenme yoğunluğunun LKHT grubu ile KKT grubunda aynı olduğu ancak kontrol grubunda bu iki gruba oranla daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.01$ ).



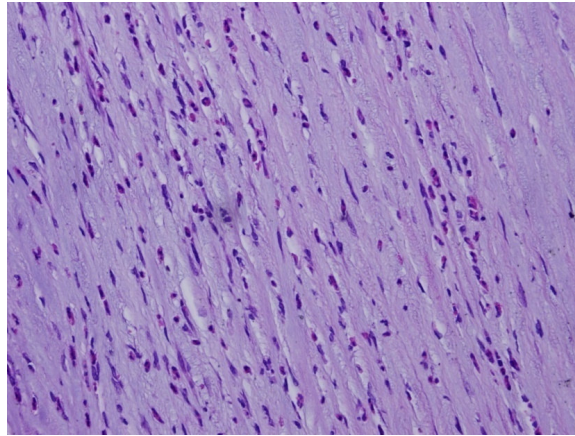
**Şekil 3.3.1 a:** KKT 1 nolu olguda orta derecede neovaskularizasyon (oklar).

KKT uygulanan olgularda transplantasyon alanında mononükleer hücrelerden oluşmuş *yangısal reaksiyon* 1, 5, 6 no'lu olgularda minimal düzeyde; 2 no'lu olguda

orta; 3 ve 4 no'lu olgularda ileri derecede gözlendi (Şekil 3.3.1 b). Bu hücreler arasında eozinofil lökositlere de rastlandı (Şekil 3.3.1 c). Yangısal reaksiyon açısından yöntemler arasında ve kontrol grubunda anlamlı bir fark bulunamadı ( $P>0.05$ ).



**Şekil 3.3.1.b.** KKT 3 nolu olguda ileri derecede yangısal reaksiyon.



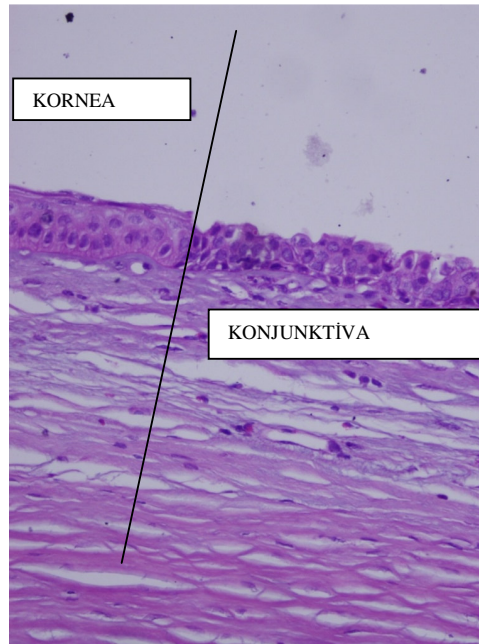
**Şekil 3.3.1.c.** KKT 4 nolu olguda eozinofil lökositler.

KKT uygulanan olguların hiçbirinde *korneal kalınlaşma* ve *epitel hiperplazisine* rastlanılmadı. Korneal kalınlaşma açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ). Epitel hiperplazisi

açısından ise KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

KKT uygulanan 2 ve 5 no'lu olgularda minimal düzeyde, 1 no'lu olguda transplantasyon alanında orta derecede nekrotik dokuya rastlanıldı. 3, 4, ve 6 no'lu olgularda ise transplantasyon alanında hiç nekrotik doku izlenmedi. Nekroze alanlar açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

KKT uygulanan olguların tümünde kaydırılan konjunktival dokunun bulunduğu korneanın periferal bölgesinde konjunktival doku bulunduğu kornea dokusuna tamamen dönüşemediği izlendi (Şekil 3.3.1.d). Konjunktival doku kalıntısı açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.001$ ).

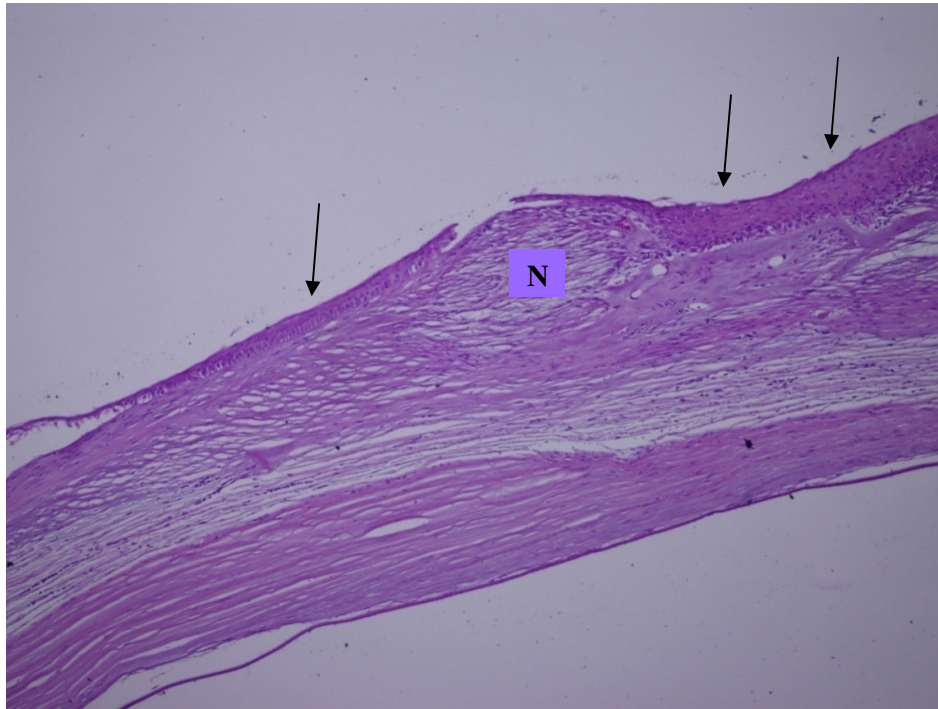


**Şekil 3.3.1.d.** KKT 4 nolu olguda konjunktivanın korneaya dönüşememesi.

KKT uygulanan tüm olgularda kornea epiteli merkezden periferde doğru transplantasyon alanında incelendiğinde unilateral olarak konjunktiva epitelinin ve stromasının kornea epiteline ve stromasına dönüşemediği izlendi (Şekil 3.3.1.d).

### 3.3.2. LKHT Olgularının Histopatolojik Muayene Bulguları

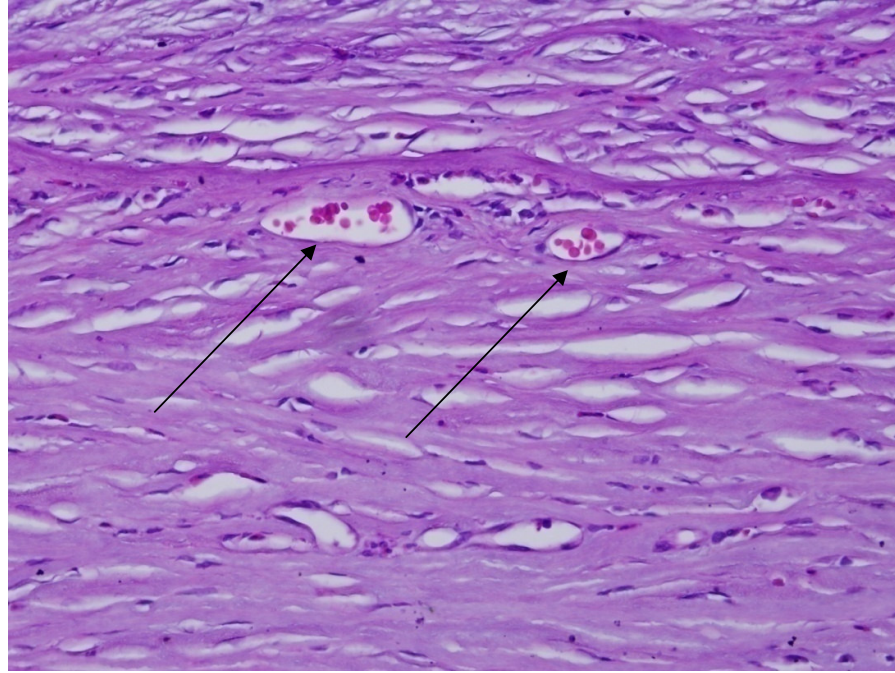
Olgularda, korneanın merkezinde, epitel altında kimyasal yanığa ilişkin nekrotik doku ilk göze çarpan bulguydu. Bu doku LKHT 1 no'lu olguda kornea epiteli altında geniş ve derin bir alanı kaplayacak büyüklükte (Şekil 3.3.2.a) iken 2 ve 5 no'lu olgularda epitel altında dar ve sıkışık şekilde yer aldığı gözlemlendi. 3, 4 ve 6 no'lu olgularda ise bu dokuya rastlanmadı.



**Şekil 3.3.2.a.** LKHT 1 no'lu olguda kimyasal yanığa ilişkin nekrotik doku (N) ve epitel hiperplazisi (oklar).

Alkali yanık oluşturulan bölgede bağ doku reaksiyonu tüm olgularda minimal düzeyde gözlemlendi (Şekil 3.3.2.b). Bağdoku reaksiyonu şekillenme yoğunluğu' nun LKHT grubu ile KKT grubunda aynı olduğu ancak kontrol grubunda bu iki gruba oranla daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.01$ ).

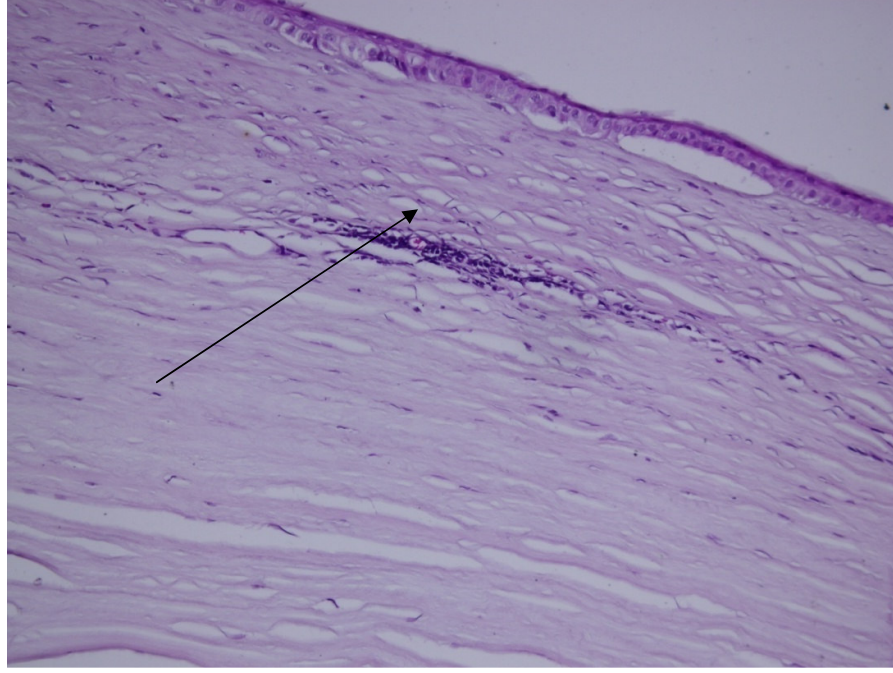
LKHT uygulanan 3 no'lu olguda minimal düzeyde, 1 no'lu olguda orta derecede neovaskularizasyon gözlemlendi (Şekil 3.3.2.b). 4, 5 ve 6 no'lu olgularda ise neovaskularizasyona rastlanmadı. Neovaskularizasyonun LKHT grubunda KKT ve kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ( $P<0.01$ ).



**Şekil 3.3.2.b.** LKHT 1 nolu olguda orta derecede neovaskularizasyon (oklar) ve bağdoku reaksiyonu.

LKHT uygulanan olgularda gözlenen yangısal reaksiyon mononükleer hücre infiltrasyonu karakterindeydi (Şekil 3.3.2.c). 2 no'lu olguda orta, 3 no'lu olguda ileri düzeyde yangısal reaksiyon saptandı. 1, 4, 5 ve 6 no'lu olgularda ise yangısal reaksiyon mevcut değildi. Yangı hücreleri arasında eozinofil lökositlere de

rastlanıldı. Yangısal reaksiyon açısından yöntemler arasında ve kontrol grubunda anlamlı bir fark bulunamadı ( $P>0.05$ ).



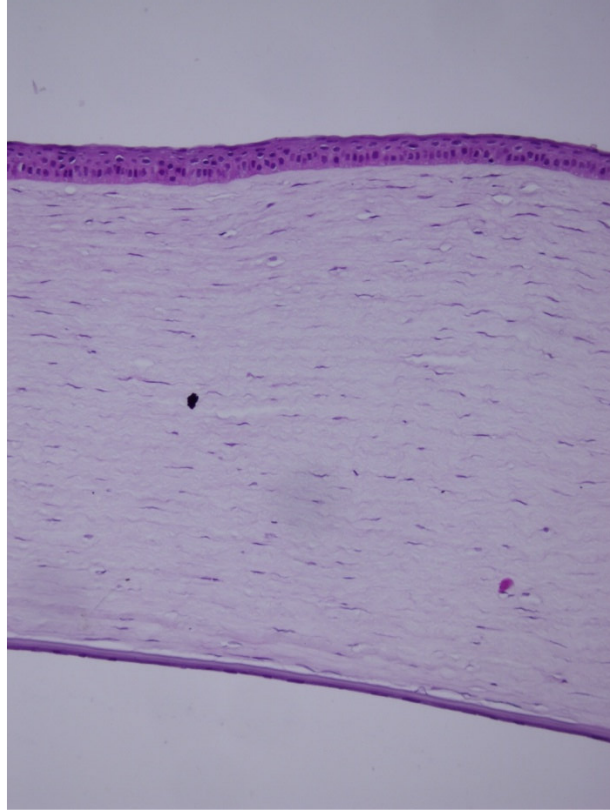
**Şekil 3.3.2.c.** LKHT 2 nolu olguda yangısal reaksiyon (ok).

LKHT uygulanan olgularda korneal kalınlaşma ve epitel hiperplazisi 1 no'lu olguda belirgin olup diğer olgularda minimal düzeyde veya yok olarak tespit edildi. Korneal kalınlaşma açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

Epitel hiperplazisi açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

LKHT uygulanan olguların hiçbirinde konjunktivalizasyona rastlanılmaz iken goblet hücre varlığı da tespit edilemedi. Konjunktival doku kalıntısı açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ( $P< 0.001$ ).

Bu bulgular haricinde nekrotik dokunun geniş olduğu 1 no'lu olguda yer yer kornea epitelinde ayrılmaların saptandığı gözlemlendi. Pek belirgin olmayan ayrılmalar 2 ve 3 no'lu olgularda da mevcut olup; 4, 5 ve 6 no'lu olgularda ise stroma düzgün lamelli yapısına kavuşmuş ve korneanın iyileşmiş olduğu gözlemlendi (Şekil 3.3.2.d). Nekroze alanlar açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).



**Şekil 3.3.2.d.** LKHT 1 nolu olguda düzgün lamelli stroma.

### **3.3.3.Kontrol Grubunun Histopatolojik Muayene Bulguları**

Kontrol grubunda 2 no'lu olguda minimal derecede 1, 3, 4, 5 ve 6 no'lu olgularda ileri derecede neovaskularizasyon gözlemlendi. Neovaskularizasyon'un LKHT grubunda KKT ve kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ( $P<0.01$ ).

Bağdoku reaksiyonu; 2 no'lu olguda minimal derecede, 1 ve 3 no'lu olguda orta derecede 4, 5 ve 6 no'lu olgularda ise ileri derecede gözlemlendi. Bağdoku reaksiyonu şekillenme yoğunluğu'nun LKHT grubu ile KKT grubunda aynı olduğu ancak kontrol grubunda bu iki gruba oranla daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.01$ ).

Kontrol grubunda transplantasyon alanında mononükleer hücrelerden oluşmuş yangısal reaksiyonun 1 no'lu olguda minimal düzeyde; 5 ve 6 no'lu olgularda orta düzeyde; 1, 3 ve 4 no'lu olgularda ise ileri derecede olduğu gözlemlendi. Yangısal reaksiyon açısından yöntemler arasında ve kontrol grubunda anlamlı bir fark bulunamadı ( $P>0.05$ ).

Korneal kalınlaşmanın kontrol grubunda 1, 3 ve 6 no'lu olgularda minimum derecede, 4 ve 5 no'lu olgularda ileri derecede olduğu gözlenirken, 2 no'lu olguda olmadığı gözlemlendi. Korneal kalınlaşma açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

Kontrol grubunda 3 no'lu olguda minimal derecede 4 no'lu olguda orta derecede, 5 no'lu olguda ileri derecede epitel hiperplazisine rastlanırken; 1, 2 ve 6 no'lu olgularda ise epitelium hiperplazisi izlenmedi. Epitel hiperplazisi açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ) (Çizelge 1.4).

Kontrol grubunda 2 ve 6 no'lu olgularda minimal düzeyde, 1 no'lu olguda orta derecede, 3, 4, ve 5 no'lu olgularda ise ileri derecede nekrotik doku izlendi. Nekroze alanlar açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

Kontrol grubunda 1 no'lu olguda konjunktival dokunun varlığı izlenirken; 2, 3, 4, 5 ve 6 no'lu olgularda ise izlenmedi. Konjunktival doku kalıntısı açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ( $P<0.001$ ).

Histopatolojik muayene sonuçları; bağdoku reaksiyonu, neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekrotik doku, korneal kalınlaşma, konjunktiv doku ve epitel hiperplazisinin

(-) olmaması

(+) Minimum düzeyde görülmesi,

(++) Orta derecede görülmesi ve

(+++) Yoğun olarak görülmesi kriterlerine göre değerlendirildi ( Çizelge 3.3.1).

**Çizelge 1.4.** Histopatolojik Bulgular

| Hasta No | Bağdoku reaksiyonu | Neo-vaskularizasyon | Yangısal reaksiyon | Nekrotik doku | Korneal kalınlaşma | Konjunktiv doku | Epitel hiperplazisi |
|----------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------|--------------------|-----------------|---------------------|
| LKHT     | +                  | +                   | -                  | +             | -                  | -               | +                   |
| KKT      | +                  | ++                  | ++                 | -             | -                  | +               | -                   |
| Kontrol  | +++                | +++                 | +++                | +++           | ++                 | -               | ++                  |

Bu değerlendirmeye göre;

Bağdoku reaksiyonu, LKHT ve KKT olgularında minimum düzeyde iken kontrol grubunda yoğun olarak görüldü. Neovaskularizasyon, LKHT grubunda minimum, KKT grubunda orta derecede, kontrol grubunda ise yoğun olarak gözlemlendi. Yangısal reaksiyon, LKHT grubunda izlenmezken, KKT grubunda orta

derecede, kontrol grubunda ise yoğun olarak görüldü. Nekrotik doku, KKT grubunda izlenmezken, LKHT grubunda minimum ve kontrol grubunda yoğun olarak gözlemlendi. Korneal kalınlaşma, LKHT ve KKT olgularında gözlenmezken kontrol grubunda orta düzeyde gözlemlendi. Konjunktiv dokuya, LKHT ve kontrol grubunda rastlanmazken KKT grubunda minimum düzeyde izlendi. Epitel hiperplazisine, KKT grubunda rastlanmazken, LKHT grubunda minimum düzeyde, kontrol grubunda ise orta derecede rastlanıldı

### 3.4. İstatistiksel Analiz Bulguları

İki yöntemin ve kontrol grubunun histopatolojik muayene sonuçlarına göre elde edilen korneal iyileşme kriterleri olan bulguların (bağdoku reaksiyonu, neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekroz, korneal kalınlaşma, konjunktival doku, epitel hiperplazisi) istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis test sonuçları;

**Çizelge 1.5.** Kruskal-Wallis Test verileri, -:  $P>0.05$ ; X:  $P<0.01$ ; XXX:  $P<0.001$

| Bulgular                    | KKT<br>n x±Sx            | LKHT<br>n x±Sx           | Kontrol<br>n x±Sx        | P   |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|
| Bağdoku reaksiyonu          | 6 1±0.01 <sup>a</sup>    | 6 1±0.01 <sup>a</sup>    | 6 2.33±0.33 <sup>b</sup> | XX  |
| Neovaskularizasyon          | 6 2.3±0.21 <sup>a</sup>  | 6 0.5±0.34 <sup>b</sup>  | 6 2.6±0.33 <sup>a</sup>  | XX  |
| Yangısal reaksiyon          | 6 1.8±0.40               | 6 0.8±0.54               | 6 2.3±0.33               | -   |
| Nekroz                      | 6 0.83±0.30 <sup>a</sup> | 6 0.83±0.47 <sup>a</sup> | 6 2.1±0.40 <sup>b</sup>  | X   |
| Korneal kalınlaşma          | 6 0.01±0.01 <sup>a</sup> | 6 0.33±0.21 <sup>a</sup> | 6 1.5±0.50 <sup>b</sup>  | X   |
| Konjunktival doku kalıntısı | 6 1±0.01 <sup>b</sup>    | 6 0.01±0.01 <sup>a</sup> | 6 0.16±0.16 <sup>a</sup> | XXX |
| Epitel hiperplazisi         | 6 0.01±0.01 <sup>b</sup> | 6 1.33±0.42 <sup>a</sup> | 6 1±0.51 <sup>a</sup>    | X   |

a,b: Aynı satırda farklı harfleri gösteren gruplar anlamlıdır.

Postoperatif aylık olarak yapılan klinik muayene sonuçlarına göre bulguların gruplarda görülme oranları kriter alındığında;

**Periferal 360<sup>0</sup> yüzeysel neovaskularizasyonun;** 4. aydan itibaren kontrol grubunda yüksek olduğu belirlendi.

**Periferal korneal 360<sup>0</sup> derin vaskülarizasyonun;** istatistiksel olarak 1. ve 2. ayda önemli olduğu ve 3. grup olan kontrol grubunda bu aylarda yüksek olduğu belirlendi.

**Merkezi opasitenin;** tüm KKT olgularında 15. günün sonuna kadar devam ettiği, tüm LKHT olgularında ise merkezi opasitenin 2. aya kadar devam ettiği 2. aydan itibaren de olguların %50'sinin yarı saydam olduğu, kontrol grubunda ise 1. aydan itibaren tüm olguların merkezi kornealarının opak olduğu izlendi.

**Korneanın yarı saydam** duruma gelmesi; tüm KKT olgularında 1. aydan itibaren merkezi korneanın yarı saydam olduğu gözlenirken LKHT olgularında % 50'sinde 2. Aydan itibaren merkezi korneasının yarı saydam olduğu belirlendi. Kontrol grubunda ise yarı saydam korneanın hiçbir olguda izlenmediği belirlendi.

**Merkezi skar çapında azalmanın;** tüm LKHT grubunda 1. aydan itibaren gözlendiği kontrol grubunda ise anlamlı bir değişikliğin izlenmediği merkezi skar çapının aynı kaldığı gözlendi.

#### 4. TARTIŞMA

Korneal yüzey bozukluğuna neden olan hastalıklar, korneanın saydam, pigmentsiz, damarsız ve hücreden yoksun olma özelliklerinin kaybolmasına ve dolayısı ile oftalmologların tedavide zorlanmalarına neden olmaktadır. Korneal erozyon, ulkus kornea, korneal yanıklar, Überreiter's sendromu, keratokonjunktivitis sikka, Feline korneal nekroz gibi korneal yüzeyin bozulmasına neden olan göz hastalıklarına veteriner hekimlikte sıklıkla rastlanılmaktadır (Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt ve Gelatt, 2001). Korneal saydamlığın sağlanması amacı ile çeşitli cerrahi teknikler kullanılmakta olup, korneal yüzeyin tekrar yapılanması amacı ile veteriner hekimlikte geleneksel olarak konjunktival pedicle greft (KPG), kornea-konjunktival transpozisyon (KKT) ile penetran veya lamellar keratoplasti teknikleri klinik pratikte uygulama alanı bulmuştur. Bu uygulamalara rağmen korneal saydamlığı elde etmedeki başarısızlıkların ardından kornea epitelinin yenilenmesini sağlayan kök hücrelerin limbusta yerleşmiş olduğu hipotezi üzerine Kenyon ve Tseng (1989), tek taraflı oküler yüzey bozukluğu olan olgularda otolimbale transplantasyon tekniğini uygulamıştır. Oküler yüzey bozukluğunun iki taraflı olduğu olgularda ise immunsupresif tedavinin de dahil olduğu allolimbale transplantasyon gereği doğmuştur (Kenyon ve Rapoza, 1995). Son yıllarda ise oküler yüzey bozukluklarında limbale transplantasyonla beraber amniyotik membran transplantasyonları da uygulama alanı bulmuştur (Kim, 1995).

Çalışmada, veteriner hekimlik alanında korneal saydamlığın ve görüş kalitesinin artırılması amacı ile kullanılan KKT ile elde edilen bulgular ve insan hekimliğinde kullanılan limbale kök hücre transplantasyon (LKHT) tekniğinden elde edilen bulgular kontrol grubu ile birlikte karşılaştırılmış ve her iki yöntemin avantaj ve dezavantajları tartışılmıştır. Değerlendirmede korneal iyileşmenin ne oranda sağlandığı, skar dokunun ne oranda oluştuğu ve vaskularizasyonun yoğunluğu gibi kriterler göz önünde tutulmuş, elde edilen veriler histopatolojik parametrelerle desteklenmiştir.

Kök hücrelerin dokuları ve organları oluşturan ana, farklılaşmamış hücreler olduğu, bu hücrelerin sınırsız bölünebilme ile kendini yenileme, organ ve dokuları oluşturan hücrelere dönüşebilme yeteneğine de sahip olduğu bilinmektedir (Alberts ve ark., 1989; Kansu, 2006; Kocamış, 2005; Kirschstein, 2001; Nelson, 1991). Kök hücrelerin klasik kaynağı'nın kemik iliği hücreleri olduğu ve uzun vadede bu hücrelerin farklı hücre tiplerine diferensiyasyon olduğu bilinmektedir. Mezenkimal kök hücreleri farklı hücre tiplerine diferensiyasyon olabilen multipotent stem hücreleri olarak bilinir. Mezenkimal hücrelerin üç germ yaprağına (endoderm, ektoderm ve mezoderm) diferensiyasyon oldukları açık olarak gözlenmiştir (Kirschstein, 2001; Darnell, 1986; Alberts, 1989). Erişkin kök hücrelerinin, diğer tüm kök hücreler gibi uzun süre kendilerini kopyalayabilme ve özel bir fonksiyonu ve morfolojisi olan spesifik bir hücreye dönüşebilme kabiliyetinin var olduğu gibi, bu hücrelerin korneanın da içinde olduğu nadir dokularda bulunduğu bilinmektedir (Kirschstein, 2001). Korneal epiteliyal kök hücrelerinin limbusta yer aldığı bildirilmesinin ardından limbal otogreftler, konjunktival invazyona karşı bariyer gibi davranarak limbal disfonksiyonu düzeltmede başarılı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kök hücrelerinin, korneanın konjunktiva epiteline invazyonunu baskılamakla beraber yeni korneal epiteliyal hücreleri rejenere ederek çalıştığı bildirilmiştir (Kocamış, 2005).

İnsan hekimliğinde limbal otogreft transplantasyonu, kimyasal, termal yanık, konjunktival skuamöz hücreli karsinomlar, rekürren veya ilerlemiş pterjiumlar veya kontakt lense bağlı oküler yüzey anomalilerinin yarattığı limbal yetmezliklerin sağaltımında kullanılmakta olup bu konuda henüz veteriner hekimliğe yönelik bir çalışma olmadığı bilinmektedir (Kocamış, 2005).

Kimyasal yanıkların korneal iyileşmeyi engellediği limbal kök hücre yetmezliğine neden olduğu bildirilmektedir (Christmas, 1991; Wagoner, 1997). İnsan hekimliğinde sık olmasının yanında, veteriner hekimlikte ise daha az sıklıkla karşılaşılan korneanın kimyasal yanıklarının sağaltımında korneal transparanlığı sağlamadaki başarısızlık oftalmologların zorlanmalarına neden olmaktadır. Kimyasal yanık sonrasında kornea ülserasyonu, perforasyonu, PGT kaybı, göz kapakları

anormallikleri, konjunktival sikatriks dokusu gelişimi sonucu görüşte tam ya da kısmi kayıplar söz konusu olmaktadır. Alkali yanıkların, daha hızlı intraoküler yapılara penetre olması, kendi yıkılmayıcı etkisi ve sonrasında açığa çıkan kollajenaz enziminin stromanın kollajen dokusunu eritmesine bağlı olmasından dolayı, asit yanıklarına oranla daha fazla korneal hasar ve limbal kök hücre yetmezliğine neden olduğu bildirilmektedir (Trudo, 2003).

Deneyssel olarak oluşturulan korneal alkali yanık çalışmaları; limbal yetmezliğin derecelendirilmesi, yanığın akut ve kronik dönemine göre korneal lezyonların iyileşme süreleri, korneal saydamlığın sağlanması, vaskularizasyonun önlenmesi veya geriletilmesi üzerine odaklanmaktadır (Dua, 2000a). İnsan hekimliğinde korneal transparantlığı sağlamak üzerine yapılan göz çalışmalarına tavşanın iyi bir model oluşturduğu bilinmektedir. Deneyssel olarak korneal alkali yanıklarında; tercih edilen kimyasal ajanların (Adams, 1988; Kozma, 1974) 4N sodyum hidroksit (Dağlıoğlu, 2001), 2 N NaOH (Marinho, 2003; Şaroğlu, 1999), 1 N NaOH (Feng, 2004), 0.3 N NaOH (Jun, 2004) ve 1 M NaOH (Gan, 2004) olduğu bildirilmektedir.

Çalışmada etik kurallar çerçevesinde, alkali yanık oluşturmak amacı ile, deneklerin (n=18) tek gözüne 4 normal (N) sodyum hidroksit (NaOH) emdirilmiş 4 mm çapındaki filtre kağıdı korneanın merkezinde 2 dakika tutulmuş (Dağlıoğlu, 2001), süre sonunda kornea steril %0.9 NaCl solüsyonu ile yıkanarak kornea merkezinde ortalama 5.5 mm çapında, floresein (+) olan derin stromal lezyon elde edilmiştir. Teknik, süre ve korneada hasar oluşturma açısından uygun olarak değerlendirilmiştir.

Alkali yanıklar sonucu oluşan limbal yetmezliğin değerlendirilmesinde floresein boyamanın kullanımı önerilmektedir. Konjunktivalizasyon fenomeninin biyomikroskopik inceleme ve floresein boyama ile belirlenebildiği de belirtilmiştir (Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a; Morgan, 1987; Wagoner, 1997).

Çalışmada deneklerin her birinde literatür verileri destekleyecek şekilde alkali ajana maruz bırakılan kornealarda merkezde floresein boyama pozitif olan korneal lezyon ile periferde korneal bulanıklık gözlenmiş ve uygulanan modelin başarılı olduğu kanısına varılmıştır. Çalışmada alkali ajana batırılarak kornea merkezine yerleştirilen disk ile oluşturulan alkali yanık modelinin; konjunktivaya sızması sayesinde konjunktival yapılarda yapışmaya neden olmadığı da gözlenmiştir.

Alkali yanık oluşturmada deneklerde genel anestezinin gerekliliği, deneklerin vakumlu yastık üzerine lateral ya da dorsal pozisyonda yatırılarak korneanın masaya paralel olmasının ve kantatomi yapılarak spekulum yerleştirilmesinin zorunluluğu bildirilmiştir. Operasyonlar sırasında mikroskop kullanmanın operatöre fayda sağladığı, mikrocerrahi sırasında, bağlama, kolibri, mikroporteui, oftalmik dikiş materyalleri ile korneal bıçakların gerekli olduğu belirtilmektedir (Slatter, 1990b; Wilkie ve Whittaker, 1997; Gelatt ve Gelatt, 2001).

Literatür verilerde bildirildiği gibi tüm çalışma olguları Xylazine HCl premedikasyonu ve ketamin hidroklorür genel anestezisine alındı ve gerek görülen durumlarda ketamin hidroklorürün ilave dozları uygulandı. Olgular masaya lateral pozisyonda yatırılarak, göz kapaklarının açılmasını sağlamak amacı ile göz spekülumu yerleştirildi ve kornea rahat gözlenebildiği için kantatomiye gerek duyulmadı. Tüm operasyonlar sırasında; operasyon mikroskobu, spatula iğneli 10\0 prolen dikiş materyali, konjunktiva ve korneayı tutmada gerekli olan kolibri forsepsi, dikişlerin düğümlenmesi sırasında bağlama forsepsi ile porteui, KKT’de greftlerin kaldırılması için spatula şeklinde kornea bıçağı, limbal greftin hazırlanması için Beaver bıçağı, greftin sklerolimal bölgeden ayrılması sırasında Wannas makası ve greft yatağında oluşan kanamaların durdurulması amacı ile koter kullanımının gerekli olduğu gözlemlendi.

Alkali yanıklarda yanığın derecesine ve etkilenen dokuların derinliğine bağlı olarak korneal ödem, korneal kısmi veya total opasite, değişik derecelerde korneal

epitelyum kaybı, ağrı, belfarospazm, fotofobi, korneal ve stromal erime ve daha ileri yanıklarda korneal ülserasyonu takiben perforasyon gibi klinik bulgular gözlenmektedir. Yanık olgularını takiben kimyasal ajanın acil olarak bölgeden uzaklaştırılması ve bunu takiben sekonder kontaminasyonun önüne geçilmesi amacıyla antibakteriyel ajanların, ağrıyı azaltmak amacıyla sikloplejiklerin, kollajen üretimini düzene sokmak amacıyla antikollajenazların ve neovaskularizasyonu engellemek amacıyla kortikosteroidlerin kullanımı önerilmektedir (Gilger, 1991; Şaroğlu, 1999).

Çalışma modellerinde, yanık oluşumunu takip eden üç gün içinde hiçbir medikal sağıltıma başvurulmamış olup, tüm gruplarda 3. günden sonra 15 gün süre ile ofloksasin % 0.3 (Exocin®; Allergan) günde dört kez iki damla ve operatif girişimi takiben 3. günde deksametazon (Onadron®; İE Ulagay) günde 3 kez iki damla dozunda uygulandı. Böylelikle tüm gruplarda üniformite sağlanarak antibiyotik ve kortikosteroid destek tedavisinden yararlanıldı.

Limbal kök hücre transplantasyonu kornea dokusuna kısmi kalınlıkta uygulanan bir lameller keratoplasti tekniğidir. LKHT'nin oküler yüzeyin tekrar oluşmasını sağlamakta olduğu, kornea epitelinin stabilizasyonunu ve takiben damarlanmayı azaltmakta olduğu, görme prognozunu iyileştirerek, penetran keratoplastide başarı şansını yükselttiği bilinmektedir (Wagoner, 1997; Yaycıoğlu ve Akova, 2004). Teknik olarak limbal kök hücreleri tek başına nakletmek mümkün olmadığından taşıyıcı kullanmanın zorunluluğu ve LKHT'nin bir bariyer yaratma ve sağlıklı kök hücreleri taşıma fonksiyonunun olduğu bildirilmektedir (Shimazaki, 1998). Limbal otogreft yöntemi; öncelikle yaralı gözde kornea yüzeyindeki anormal dokunun forseps kullanılarak kaba olarak kaldırılmasını, donör dokunun 90 derecelik açığı içerecek şekilde (saat 3 pozisyonunda) çıkarılmasını, limbustan 0,5 ile 1 mm uzaklıktan uygun genişlikteki kornea parçasına lamellar ensizyon yapılmasını içermektedir. İkinci ensizyonun limbustan 2 mm geride konjunktivaya yapılması ve konjunktivanın limbusla birleşme yerine kadar diseke edilmesi ve daha sonra her iki ensizyonun radyal kesilerle birleştirilmesini tarif etmektedir. Korneanın lamellar

diseksiyonunun yüzeyel tutulmasının gerekliliği vurgulanmıştır. LKH greftlerinin konjunktiva ve korneaya 10/0 naylon dikiş ile yerleştirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Fernandes, 2004; Yayıoğlu, 2004). Taşıyıcı doku olarak konjunktiva (konjunktivalimbal greft), kornea (keratolimbal greft) veya her ikisi birden kullanılabilir (Dua, 1994; Dua ve Azuara-Blanco, 2000a; Dua ve Azuara-Blanco, 2000 b; Fernandes, 2004).

Kozak ve ark. (2002); kimyasal yanık ile oluşan korneal hasarın tedavisinde otolog limbal kök hücre transplantasyonunun etkilerini araştırmışlardır. Otolog limbal transplantasyon için gerekli olan dokuyu ise sağlam olan diğer gözden 11-2'lik saat pozisyonunda tek kadranda aldıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmada LKHT tekniğinde kök hücrelerinin nakledilmesi amacıyla taşıyıcı olarak kullanılan limbusu da içeren konjunktiva ve kornea, sadece bir kadranda alınarak kullanılmıştır. Bu sayede donör gözde limbal bölgede yer aldığı düşünülen kök hücrelerin büyük kısmına zarar gelmeden nakil edilmeleri sağlanmış ve uygun dikiş teknikleri kullanılarak transplante edilen doku daha önceden hazırlanan yatak içine nakledilmiş ve bu tekniğin kullanılmasının çalışma sonunda faydalı olduğu kanısına varılmıştır. Çalışmada limbal kök hücre transplantasyonu yapılacak olan deneklerde transplantasyon bölgesi olarak yoğun damar ağı barındıran superior (11-2 saat kadranda) kadranda kullanılmış ve araştırmacılar ile bir örneklik sağlanmıştır.

Kenyon ve Tseng (1989), tek taraflı yaralanmalarda total limbal kök hücre yetmezliğinin bulunduğu hastalarda kişinin sağlam gözünden keratokonjunktival doku alımı ile otolog LKHT kullanımını önermiş ve olumlu sonuçlarını yayınlamıştır.

Tsai ve Tseng (1990)'in yaptıkları bir çalışmada, limbal epiteli içeren konjunktival transplantasyonun yani limbal transplantasyonun, tek başına

konjunktival transplantasyon tekniğine göre korneal epiteliyal fenotipi oluşturmada daha etkili olduğu bildirilmiştir. Limbal transplantasyon sonrasında, korneal vaskularizasyonda azalma ve daha iyi bir korneal epitel yüzey oluşumu elde edildiğini bildirmiştir.

LKH yetmezliğine yönelik yapılan çalışmalarda, limbal epitelyumun tüm katlarının parsiyel ya da total olarak alımını takiben korneal epiteliyal yara iyileşmesinde düzensizliklerin oluşacağı bildirilmiştir. Epitelyum iyileşmesinde gecikme, tekrarlayan korneal erozyonlar, korneal vaskularizasyon ve konjunktivalizasyonun LKH yetmezliğinin göstergesi olduğu belirtilmiştir. Korneanın konjunktiva ile kaplandığını, floresein ile boyandığını bu durumlarda konjunktivalizasyonun limbusun yıkımlanmasını takip eden 7 gün içinde başladığı ve tüm hayvanlarda 30 günde gözlendiği bildirilmiştir (Brunelli, 2006; Chen ve Tseng, 1990; Dua ve Azuara-Blanco, 2000 a).

Thoft (1984), limbal kök hücre yetmezliğinin konjunktivalizasyon olarak kendini gösterdiğini, diğer nonspesifik bulguların ise vaskularizasyon ve yangı olduğunu bildirmiş, bu fenomenin biyomikroskopik inceleme ve floresein boyama ile belirlenebileceğini belirtmiştir.

Limbal kök hücrelerin kaybı durumunda korneanın granülasyon doku ile kaplanmasında, bu hücrelerin önem ve fonksiyonuna değinilmiştir (Brunelli ve ark, 2006).

Kimyasal yanık sonrasında erken ve geç dönemde uygulanan LKHT girişimlerinde postoperatif dönemde 7-12 günde epitelizasyonun olduğu gözlenmiş, transplantasyonu takiben üçüncü ayda sağlam bir epitelyum beraberinde mevcut damarlarda incelme ve küçülme izlenmiştir (Shimazaki, 1998).

Korneal yaralanmaları takiben korneal stromal iyileşme sırasında, avasküler olan kornea dokusunda gözlenen vaskularizasyon; yüzlek ya da derin olabilir. Derin vaskularizasyonun, korneal patolojinin derinliğinin göstergesi olduğu bilinmektedir (Slatter 1990c; Slatter 1990d; Slatter ve Dietrich 2002).

Korneal alkali yanığını takiben 3. gün kontrol grubunda korneal limbus bölgesinden kornea merkezine doğru ilerleyen damarların siliar kökenli küt ve kısa yapıda olduğu izlenmiştir. Kontrol grubu olgularında; bu damarların kollapsa uğramadığı, arttığı ve granülasyon dokusu oluşumuna neden teşkil ettiği izlenmiştir. LKHT grubunda ise LKHT'nu takiben mevcut damarların gerilediği yeni damarlaşmanın oluşmadığı ve özellikle greft konulan kadranlarda hayalet damarlara dönüştüğü ve greft konulan kadranlarda korneal opasitenin daha çabuk gerilediği izlenmiş ve LKHT grubunun daha avantajlı olduğu kanısına varılmıştır.

Korneal stromal hasarlarda vasküler iyileşmeye önemli katkının, bölgede bulunan keratositler ile çevre dokulardan gelen fibrosit ve makrofajlar aracılığı ile sağlandığı bilinir. Bu hücrelerin oluşturduğu fibrin, kollajen ve hücre düzensizlikleri ile kollajen fibrillerinin ışığı geçirememesi sonucu korneal saydamlığın sağlanamadığı ve opasitenin söz konusu olduğu bilinmektedir (Slatter 1990c; Slatter 1990d) .

Korneal alkali yanığını takiben 6. ayda dahi kontrol grubu olgularda granülasyon dokusuna bağlı opasite oluşumu izlenmiştir. Hücresel infiltrasyonun kontrol grubu olgularında diğer iki gruba göre daha fazla geliştiği histopatolojik verilerde de kanıtlanmış olup, korneal saydamlık açısından LKHT nin daha avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Korneal laserasyonların sağaltımında, cerrahi ekipmanın ve tekniğin prognozu etkilediği bilinmektedir (Gilger, 1991; Magrane, 1971).

Çalışmada, stromanın yarısından çok kısmının etkilendiğini düşündüğümüz korneal alkali yanık sonrasında greftin bölgeye dikilmesi, spatula iğneli 10/0 monofilament polyamid (Ethilon®; Ethicon) dikiş materyali ile, basit ayrı dikişlerle gerçekleştirilmiştir. Greftlere uygulanan dikişler, sağlıklı stromanın %75 ile %90'ından geçecek şekilde basit ayrı dikiş tekniği ile uygulanmış ve 10/0 prolene dikiş materyaline ilişkin herhangi bir komplikasyonla karşılaşılmamıştır. Ayrıca, LKHT olgularında dikiş uygulama sayısının ve operasyon süresinin daha az olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada; LKHT olgularının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında korneal iyileşmenin kriteri olan; periferik 360° yüzeysel vaskularizasyon, periferik 360° derin vaskularizasyon ile korneal opasitenin azalması göz önüne alındığında; tüm LKHT olgularında yüzeysel vaskularizasyonun giderek azaldığı ve 6. ayın sonunda %50 oranına gerilediği, tüm kontrol olgularında ise %100 oranında devam ettiği izlenmiştir. Tüm LKHT olgularında derin vaskularizasyonun 1. aydan itibaren ortadan kalktığı, kontrol grubunda ise azaldığı fakat ortadan kalkmadığı izlenmiştir. Kontrol grubunda hiç gerilemeyen vaskularizasyonun varlığının yanında, LKHT uygulanan olgularda vaskularizasyonun gerilemesinin LKHT 'nin iyileşmeye olumlu katkı sağladığı kanısına varılmıştır.

Merkezi korneal opasitenin kontrol grubunda % 100 oranında gözleendiği, LKHT grubunda ise 2. aydan itibaren % 50 oranında opak, % 50 oranında yarısaydam olduğu izlenmiştir. Bu bulgunun korneal iyileşmenin önemli kriterlerinden olan merkezi korneal opasitenin LKHT grubunda belirgin bir şekilde azalması, LKHT'nin iyileşmeye olumlu katkı sağladığını göstermekte olduğu kanısına varılmıştır.

Merkezi skar çapındaki azalmanın LKHT grubunda % 100 oranında izlendiği, kontrol grubunda ise skar çapında azalmanın hiçbir olguda izlenmediği gözlenmiştir. LKHT uygulamalarında merkezi skarın tam olarak ortadan kalkmaması bir

dezavantaj gibi görülse de periferdeki vaskularizasyonun bu grupta tekniğe bağlı olarak engellenmiş olması bu olguları uygun bir keratoplasti adayı yaptığı düşünülmekte; kontrol grubunda ise 6. ayın sonunda gözlenen merkezi skar ve vaskularizasyonun varlığı bu grubu başarısız bir keratoplasti adayı yaptığı düşünülmektedir. LKHT ‘nın bu anlamda da kontrol grubuna göre üstünlüğü olduğu kanısına varılmıştır.

Kornea-konjunktival transpozisyon; lamellar keratoplastinin bir tipi olup kornea ve konjunktivanın skleraya dokunulmadan kaydırıldığı bir greft tekniği olduğu, korneanın kendi dokusu kullanıldığı için korneanın merkezinde olan derin veya perfore lezyonlarda en uygun seçenek olduğu bilinmektedir (Gilger, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Hamor, 2002). Kornea kullanımı, konjunktival dokuların kullanımına oranla daha fazla yapısal bütünlük sağladığı için; korneanın ya komşu olan normal korneadan ya da donör hayvanlardan elde edilen dondurulmuş veya taze kornealardan karşılandığı bildirilmiştir (Gilger, 1991; Gökçe, 2001a; Gökçe 2001b). Kornea konjunktival transpozisyon; kornea donör ihtiyacını ortadan kaldırması, immun cevap oluşturmaması, daha az korneal skar ve postoperatif daha saydam bir kornea oluşturması gibi avantajlara sahiptir. Tekniğin dezavantajının ise normal ve sağlıklı kornea dokusuna zarar vermesi olduğu bilinmektedir (Gilger, 1991; Hendrix, 1991; Gelatt ve Gelatt, 2001; Hamor, 2002).

Çalışmada literatür verilerde bildirildiği gibi kornea merkezinde oluşturulan lezyonun keratektomi ile uzaklaştırılmasını takiben periferdeki kornea ve konjunktiva kaydırılarak KKT operasyonları gerçekleştirildi. Korneanın kendi dokusunun kullanıldığı bu teknikte kanamanın önemli oranda az olması ve donör ihtiyacının olmaması tekniğin avantajı, kornea periferinde kaydırılan konjunktiv dokunun kornea dokusuna dönüşümünün olmaması ise dezavantajı olarak değerlendirildi. Konjunktiv dokunun kornea dokusuna dönüşmemesi histopatolojik verilerle de desteklenerek kaydırılan konjunktiv dokunun periferik kornea dokusu üzerinde olmasından dolayı hastanın görüşünde kısıtlanmanın olmadığı da tespit edildi.

Andrew ve ark (2001)'nın yaptıkları çalışmada; KKT tekniğinde, nekrotik korneal dokunun ana hatları kare ya da dikdörtgen şeklinde kornea bıçağı ile belirlendikten sonra stromal kalınlığın 2/3'ü ya da 1/2'sini alacak şekilde derinleştirildiği, çalışma sonunda ise taşınan limbusun olduğu yerde ince çizgi şeklinde bir opasitenin gözlemlendiği bildirilmiştir.

Çalışmada nekrotik korneal dokunun ana hatları kare ya da dikdörtgen şeklinde kornea bıçağı ile belirlenmesinin ve stromal kalınlığın 2/3'ü oranında derinleştirilmesi yönteminin başarılı olduğu kanısına varıldı. Altı aylık gözlem süresi boyunca KKT olgularında merkezi saydamlığın 1. aydan itibaren tüm olgularda yarı saydam görünüme dönüştüğü kontrol grubunda ise tüm olgularda merkezi korneanın opak olarak kaldığı, kaydırılan kornea konjunktival greft bölgesindeki limbusun ince çizgi şeklinde bir opasite ile tüm olgularda bulunduğu izlendi.

KPG tekniği ile KKT tekniğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, KKT tekniğinin KPG'ye oranla görüşü etkilemeyen daha saydam bir korneal iyileşme sağladığı bildirilmiş, sonuçlar histopatolojik muayene bulguları ile desteklenmiştir. Bu çalışmada KKT uygulanan olguların tümünün 3. ay sonunda % 100 oranında yarı saydam görüntü ile iyileştiği, periferal korneal 360° yüzeysel vaskularizasyonun 3. ay sonunda % 30 oranında var olduğu bildirilmiştir. Çalışmada histopatolojik muayene sonuçlarına göre skar doku oluşumunun göstergesi olan bağdoku reaksiyonunun, korneal kalınlaşmanın ve nekrotik alanların KPG yöntemine göre KKT yönteminde daha az olduğu; neovaskularizasyon ve yangısal reaksiyon açısından teknikler arasında anlamlı bir fark olmadığı; klinik olarak ise KKT yönteminin daha az periferal korneal 360° neovaskularizasyon oluşturduğu ve bu yöntemin lezyonun iyileşmesine daha çok katkı sağladığı ve tekniğin daha az skar doku oluşumu, daha hızlı ve saydam bir iyileşme ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Bilgihan, 2006).

Çalışma; bağdoku reaksiyonu, neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekrotik doku, korneal kalınlaşma, konjunktiv doku ve epitelyum hiperplazisi gibi

korneal iyileşmeyi olumsuz yönde etkileyen bu kriterler göz önüne alınarak KKT, LKHT ve kontrol gruplarının 6. ay sonunda yapılan histopatolojik incelemeleri ile değerlendirilmiştir. Bağdoku reaksiyonu şekillenme yoğunluğu' nun LKHT grubu ile KKT grubunda aynı olduğu ancak kontrol grubunda bu iki gruba oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir ( $p<0.01$ ). Neovaskularizasyon' un LKHT grubunda KKT ve kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir ( $p<0.01$ ). Korneal kalınlaşma açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Epitel hiperplazisi açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Nekroze alanlar açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Konjunktival doku kalıntısı açısından KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0.001$ ). Yangısal reaksiyon açısından yöntemler arasında ve kontrol grubunda anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Bu kriterler göz önüne alındığında histopatolojik inceleme sonuçlarına göre LKHT grubunun korneal iyileşme açısından daha avantajlı olduğu kanısına varılmıştır.

Çalışmada; tüm grupların 6 aylık gözlem boyunca yapılan klinik muayene bulgularının değerlendirilmesinde; periferel 360° yüzeyel vaskularizasyon, periferel 360° derin vaskularizasyon ile korneal opasitenin azalması göz önüne alınmıştır.

Bu anlamda; periferel 360° yüzeyel vaskularizasyonun, LKHT grubunda 2. aydan itibaren azaldığı, 4. aydan itibaren ise % 50 oranına gerilediği izlenmiştir. KKT grubunda ise greft kaydırılan kadrındaki vaskularizasyonun 6. ayın sonunda % 100 oranında var olduğu ancak diğer kadrnlardaki vaskularizasyonun kalktığı gözlenmiştir. Greft kaydırılan kadrındaki vaskularizasyonun diğer kadrnları engellediği düşünülmüştür. Kontrol grubu verilerinde ise tüm olgularda damarlaşmanın gerilemediği ve %100 oranında devam ettiği izlenmiştir. Her üç grup keratoplasti adayı olma açısından karşılaştırıldığında, korneal vaskularizasyonun yarattığı dezavantaj düşünülerek LKHT grubunun en uygun grup olduğu kanısına varılmıştır.

Periferal 360<sup>0</sup> derin vaskularizasyon yönünden bakıldığında ise, KKT ve LKHT olgularında 15. günden itibaren vaskularizasyonun kaybolduğu, kontrol grubunda ise 2. aydan itibaren azalma olmakla beraber 6. ayda bile tam olarak ortadan kalkmadığı gözlenmiştir.

Merkezi saydamlık kriter alındığında, yarı saydam korneanın 15. günden itibaren tüm KKT olgularında izlendiği; LKHT olgularında ise bu kriterin 1. aydan itibaren olguların yarısının yarı saydam korneaya dönüştüğü, kontrol grubu olgularında ise 6 ay boyunca merkezi korneal opasitenin gerilemediği izlenmiş, bu durumda KKT ve LKHT olgularının kontrol grubuna oranla daha avantajlı olduğu kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak; tüm grupların 6 aylık gözlem süreleri sonunda vaskularizasyonun varlığı açısından karşılaştırılmasında, LKHT grubunun KKT ve kontrol gruplarına göre üstün olduğu gözlenmiştir. Tüm grupların merkezi korneal opasite açısından karşılaştırılmasında KKT'nin LKHT ve kontrol grubuna göre daha üstün olduğu gözlenmiştir. Korneal periferik vaskularizasyonun LKHT grubunda en az düzeyde olması bu grubu iyi bir keratoplasti adayı yaptığı kanısına varılmıştır.

Çalışmada LKHT grubundan elde edilen sonuçların daha ileride yapılacak olan çalışmalara yol göstereceği düşünülmektedir. Gelecekte veteriner hekimlik alanında limbal kök hücre transplantasyonuna ilişkin çalışmaların, transplante edilen kök hücrelerin kornea merkezine ulaşp ulaşmadığının markerlar kullanılarak belirlenmesi üzerinde yoğunlaşması gerektiği kanısına varılmıştır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada tavşan kornealarında oluşturulan alkali yanık ve alkali yanığa bağlı olarak gelişen limbal kök hücre yetmezliğinin sağaltımında; kornea konjunktival transpozisyon, limbal kök hücre transplantasyonu tekniklerinin kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak korneal iyileşme süresi ve iyileşme kalitesine olan etkileri postoperatif 6 aylık süre içinde değerlendirildi. Çalışmada klinik olarak periferik korneal derin ve yüzeysel vaskularizasyon, korneal saydamlık gibi bulgular kriter alındı. Elde edilen bulgular bağ doku reaksiyonu, neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekroze alan ve epitel hiperplazisi gibi histopatolojik verilerle desteklendi.

Çalışmada; LKHT olgularının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında korneal iyileşmenin kriteri olan; periferik 360<sup>0</sup> yüzeysel vaskularizasyon, periferik 360<sup>0</sup> derin vaskularizasyon ile korneal opasitenin azalması göz önüne alındığında; tüm LKHT olgularında yüzeysel vaskularizasyonun giderek azaldığı ve 6. ayın sonunda % 50 oranına gerilediği, tüm kontrol olgularında ise %100 oranında devam ettiği izlendi. Tüm LKHT olgularında derin vaskularizasyonun 1. aydan itibaren ortadan kalktığı, kontrol grubunda ise azaldığı fakat ortadan kalkmadığı izlendi. Kontrol grubunda hiç gerilemeyen vaskularizasyonun varlığının yanında, LKHT uygulanan olgularda vaskularizasyonun gerilemesinin LKHT ‘nin iyileşmeye olumlu katkı sağladığı kanısına varıldı. Merkezi korneal opasite göz önüne alındığında; süre boyunca kontrol grubunda %100 oranında gözlendiği, LKHT grubunda ise 2. aydan itibaren %50 oranında opak, %50 oranında yarısaydam korneanın olduğu izlendi. Korneal iyileşmenin önemli kriterlerinden olan merkezi korneal opasitenin LKHT grubunda belirgin bir şekilde azalması, LKHT’nin iyileşmeye olumlu katkı sağladığını göstermekte olduğu kanısına varıldı. Merkezi skar çapındaki azalmanın LKHT grubunda % 100 oranında izlendiği, kontrol grubunda ise skar çapında azalmanın hiçbir olguda izlenmediği gözlendi. LKHT uygulamalarında merkezi skarın tam olarak ortadan kalkmaması yanında periferdeki vaskülerizasyonun bu grupta diğer gruplara oranla anlamlı bir şekilde azalması, LKHT grubunu diğer gruplara göre uygun bir keratoplasti adayı yaptığı düşünüldü.

Çalışmada vaskularizasyonla korneal iyileşmenin göstergesi olduğu düşünülen bağdoku reaksiyonu şekillenme yoğunluğu, neovaskularizasyon, korneal kalınlaşma, epitel hiperplazisi, nekroze alanlar ve konjunktival doku kalıntısı açısından LKHT grubunun kontrol grubuna oranla daha avantajlı olduğu kanısına varıldı.

Veteriner hekimlik alanında klinik pratikte korneal saydamlığı sağlamaya yönelik yapılan klasik operatif girişimlerin çoğunlukla KKT, KPG ve keratoplasti operasyonları üzerine kurulu olduğu görülmektedir. Korneal saydamlığın sağlanmasına yönelik yapılan kök hücre çalışmalarının bu alanda yetersiz olduğu bilinmektedir. Çalışma otolog limbal kök hücre transplantasyonunun korneal saydamlık ve vaskularizasyon açısından korneal iyileşmeye olumlu katkı sağladığını göstermektedir. Limbal kök hücrelerin kornea hücrelerine dönüşümünü takip edecek ileri çalışmaların yapılmasının gerekliliği düşünülmektedir. Veteriner hekimlikte sıklıkla karşılaşılan ve altında kök hücre yetmezliği olasılığı düşünülen FKN, Uberreiter's sendromu ve keratokonjunktivitis sikka gibi hastalıkların limbal kök hücre yetmezliği yönünden araştırılması ve nihayetinde de veteriner hekimlikte LKHT'nun tanısının konulmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

## ÖZET

### **Tavşanlarda kornea alkali yanıklarının sağaltımında kornea-konjunktival transpozisyon ile limbal kök hücre transplantasyon tekniklerinin karşılaştırılması**

Korneal yüzey bozukluğu ile sonuçlanan hastalıklarda korneal saydamlığın tekrar sağlanması amacıyla konjunktival pedicle greft veya kornea konjunktival transpozisyon (KKT) yöntemlerinden biri sıklıkla uygulanmaktadır. Son zamanlarda insan hekimliğinde amniyotik membran uygulaması veya limbal kök hücre transplantasyonu (LKHT) uygulanmaktadır. Çalışmada, kornea sağaltımında KKT uygulaması ve elde edilen bulguları ile beşeri hekimlikte kullanılan LKHT uygulaması ve elde edilen bulguları karşılaştırarak, kök hücre kullanımının sağladığı yararın ortaya konulması amaçlanmıştır.

Bu amaçla değişik yaş ve cinsiyette toplam 18 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Deneklerin birer korneasında 4 N NaOH emdirilmiş filtre kağıdı ile alkali yanık oluşturuldu ve üç gruba ayrıldılar. Korneal yanık oluşumunu takiben birinci günde ilk gruba kornea konjunktival transpozisyon (KKT), ikinci gruba limbal kök hücre transplantasyonu (LKHT) uygulandı. Üçüncü grup olan kontrol grubu ise kendiliğinden iyileşmeye bırakıldı. Postoperatif 6 aylık gözlem boyunca oftalmoskopik bulgular haftalık periyotlar halinde not edildi. Tüm olguların klinik muayenelerinde; periferik korneal 360° yüzeysel-derin neovaskularizasyon, merkezi saydamlıktaki değişimler gözlendi. Süre sonunda ekstirpe edilen gözler histopatolojik olarak incelendi. Gruplar arasında, bağ doku reaksiyonu, neovaskularizasyon, yangısal reaksiyon, nekroze alan ve epitel hiperplazisinin histopatolojik bulguları değerlendirildi.

Klinik muayene ölçütlerinden neovaskularizasyonun, kontrol grubunda LKHT ve KKT uygulanan gruba göre daha fazla olduğu gözlemlendi. Merkezi opasitenin; tüm KKT olgularında 15. günün sonuna kadar, tüm LKHT olgularında 2. aya kadar devam ettiği 2. aydan itibaren de olguların %50'sinin yarı saydam olduğu izlendi. Kontrol grubunda 1. aydan itibaren tüm olguların merkezi kornealarının opak olduğu izlendi. Korneanın yarı saydam duruma gelmesi; tüm KKT olgularında 1. aydan itibaren LKHT olgularının % 50'sinde ise 2. aydan itibaren gerçekleştiği izlendi. Kontrol grubunda yarı saydam korneanın hiçbir olguda izlenmediği belirlendi. Merkezi skar çapında azalmanın; tüm LKHT grubunda 1. aydan itibaren gözlemlendiği kontrol grubunda ise merkezi skar çapının aynı kaldığı gözlemlendi.

Histopatolojik incelemede kontrol grubu ile karşılaştırıldığında neovaskularizasyonun LKHT ve KKT uygulan grupta istatistiksel yönden belirgin bir fark olduğu tespit edildi ( $p<0.01$ ). Bağdoku reaksiyonunun ise LKHT grubu ile KKT grubunda aynı iken kontrol grubunda her iki gruba oranla yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). Yangısal reaksiyon açısından yöntemler arasında ve kontrol grubunda anlamlı bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ). Korneal kalınlaşma açısından kontrol grubunun LKHT ve KKT gruplarına göre daha yüksek olduğu izlendi ( $p<0.05$ ). Epitel hiperplazisi açısından, KKT grubunun LKHT ve kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ). Nekrotik dokunun, kontrol grubunda KKT ve LKHT gruplarına oranla yüksek olduğu izlendi ( $p<0.05$ ). Konjunktiv dokuya, LKHT ve kontrol grubuna oranla KKT grubunda yüksek olduğu izlendi ( $p<0.001$ ).

Çalışma sonunda klinik ve histopatolojik bulgular sonucunda otolog LKHT uygulamasının korneanın sağaltımında saydamlığın tekrar oluşturulmasında ve vaskularizasyonun engellenmesinde etkili bir yöntem olduğu belirlendi.

**Anahtar Sözcükler:** Kornea alkali yanığı, Kornea konjunktival transpozisyon, Limbal kök hücre transplantasyonu, Tavşan

## SUMMARY

### **Comparison of the healing effects of corneoconjunctival transplantation and limbal stem cell transplantation on alkaline burned corneas of rabbits.**

Conjunctival pedicle graft and cornea conjunctival transposition (CCT) techniques are both commonly used to restore corneal clarity in diseases resulting with corneal surface disorders. Recently application of amniotic membrane or limbal stem cell transplantation (LSCT) is used in human ophthalmology. In the present study the results obtained from CCT used in the restoration of cornea are compared to the results gathered from LSCT used in human medicine to determine the benefits of stem cell usage.

Different age and gender 18 New Zealand rabbits were used. Alkaline burn was formed with 4 N NaOH immersed filter discs placed on the eye of each rabbit. Study was performed in three groups. On first day following the alkaline burn, cornea conjunctival transposition (CCT) was applied into first group and limbal stem cell transplantation (LSCT) was performed on the second group. The third group was left for spontaneous healing as control group. Ophthalmoscopic findings were noted in weekly intervals for 6 months period. Clinical evaluation of the cases was based on the 360° peripheral corneal deep and superficial vascularization and central corneal clarity. At the end of the 6 month the eyes were extirpated for histopathologic evaluation. Obtained clinical findings were supported by histopathologic data such as connective tissue reaction, neovascularization, necrotic tissue and epithelial hyperplasia.

Neovascularization which is a criterion for clinical examination, was observed more in the till the 15th day, in the LSCT group the opacity persisted for 2 months and after that 50% of the cases had semi transparent corneas. Corneal semi

transparency stated during the first month for the CCT group and 50% of the LSCT group from the second month. None of the corneas in the control group were semitransparent. Reduction of the central corneal scar tissue happened from the first month in LSCT group and size of the central corneal scar tissue did not change.

There was a significant difference in histopathological examination between LSCT and CCT applied groups compared to control group ( $p < 0.01$ ). While there was a similarity in fibroid tissue reaction between LSCT group and CCT group, it was higher in control group compared to both groups ( $p < 0.01$ ). There was no significant difference between groups for inflammation reactions ( $p > 0.05$ ). Corneal thickness was significantly higher in control group compared to LSCT and CCT group. However, epithelial hyperplasia was less common finding in CCT compared to LSCT and control group ( $p < 0.05$ ). But, necrosis was observed significantly more in control group compared to CCT and LSCT group ( $p < 0.05$ ). Conjunctival tissue was a common finding in CCT group compared to LSCT and control group ( $p < 0.001$ ).

In the present study as a result of clinical and histopathological findings were showed that application of LSCT on the treatment of cornea was an effective on restoring the corneal clarity and prevention of vascularization.

**Key Words:** Corneal alkaline burn, Cornea conjunctival transposition, Limbal stem cell transplantation, Rabbit

## KAYNAKLAR

- ADAMS, R.J. (1988). Ophthalmic system. In: *Experimental surgery and physiology: induced Animal Models of Human Disease*, Ed.: M.M. Swindle, R.J. Adams, Philadelphia: Williams & Wilkins, p.: 125-153
- AKIN, F., SAMSAR, E. (2005). Kornea Hastalıkları. In: *Göz Hastalıkları*, Ed.: F.Akın, E.Samsar, Malatya: Medipres Matbaacılık, s.: 135-166.
- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K., WATSON, J.D. (1989). Differentiated Cells and the Maintenance of Tissues. In: *Molecular Biology of the Cell*, Ed.: B. Alberts, Garland Publishing, p.: 966-982.
- ALKAN Z. (1987). Yara İyileşmesinin Placenta Kullanılması ile Hızlandırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, **34(3)**: 519-533
- ALTMAN, D.G. (1996). Comparing Groups. In: *Practical Statistics for Medical Research*, Ed.: D.G. Altman, Chapman & Hall, p.: 194-197
- ANDERSON, D.F., ELLIES, P., PIRES, R.T.F., TSENG, S.C.G. (2001). Amniotic Membrane Transplantation for Partial Limbal Stem Cell Deficiency. *Br. J. Ophthalmol.*, **85**: 567-575
- ANDREW, S.E., TOU, S., BROOKS, D.E. (2001). Corneoconjunctival Transposition for the Treatment of Feline Corneal Sequestra: A Retrospective Study of 17 Cases (1990-1998). *Veterinary Ophthalmology.*, **4**: 107-111
- AZUARO-BLANCO, A., PILLAI, C.T., Dua, H.S. (1999), AMT for Ocular Surface Reconstruction. *Br. J. Ophthalmol.*, **83**: 399-402
- BARNETT, K.C., CRISPIN, S.M. (1988). Cornea. In: *Feline Ophthalmology*, Ed.: K.C. Barnett & S.M.Crispin, W.B. Saunders Company Ltd., p.: 83-104
- BİLGİHAN, S.E. (2006). Tavşanlarda Deneysel Ulkus Korneanın Sağaltımında Kornea-Konjunktival Transpozisyon ile Konjunktival Pedikül Greft Tekniklerinin Karşılaştırılması. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- BLOGG, J.R., STAMLEY, R.G., DUTTON, A.G. (1989). Use of Conjunctival Pedicle Grafts in the Management of Feline Keratitis Nigrum. *Journal of Small Animal Practice.*, **30**: 678-684
- BONGSO, A., FONG, C.Y., NG, S.C., RATNAM, S. (1994). Isolation and Culture of Inner Cell Mass from Human Blastocysts. *Hum. Reprod.*, **9(11)**: 2110-2117
- BRUNELLI, A.T.J., VINCENTI, F.A.M., ORIA, A., CAMPOS, C.F., DORIANETO, F.A., LAUS, J.L. (2006). Excision of Sclerocorneal Limbus in Dogs and Resulting Clinical Events. Study of an Clinical Model. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, **58(1)**: 52-58
- CAMPBELL, M.J., MACHIN, D. (1993). Techniques. In: *Medical Statistics* Ed: M.J., Campbell, John Wiley & Sons, p.: 137-159
- CAN, A. (2008). A Concise Review on the Classification and Nomenclature of Stem Cells. *Turk J Hematol.*, **25**: 57-59
- CARDOEN, L., FOETS, B. (1999). Limbal Transplantation After Chemical Injuries of the Eye. *Bull. Soc. Belge Ophthalmol.*, **272**: 105-110
- CHEE, K.Y.H., KICIC, A., WIFFEN, S. (2006). Limbal Stem Cells: The Search for a Marker. *Clinical and Experimental Ophthalmology.*, **34**: 64-73
- CHEN, J.J.Y., TSENG, S.C.G. (1990). Corneal Epithelial Wound Healing in Partial Limbal Deficiency. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.*, **31**: 1301-1313

- CHRISTMAS, R. (1991). Management of Chemical Burns of the Canine Cornea *Can. Vet. J.*, **32**: 608-612
- COŞAR, B.C., ACAR, S. (2005). Penetran Keratoplasti Endikasyonları. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol.*, **14**: 162-166
- COTSARELIS, G., CHENG, S.Z., DONG, G., SUN, T.T., LAVKER, R.M. (1989). Existence of Slow-cycling Limbal Epithelial Basal Cells that can be Preferentially Stimulated to Proliferate: Implications on Epithelial Stem Cells. *Cell.*, **57**: 209-210
- DAĞLIOĞLU, M.C., (2001). Tavşanlarda Alkali Yanığa Bağlı Kornea Damarlanmasında Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörlerinin Etkisi. Uzmanlık Tezi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı.
- DARNELL, J.E., BALTIMORE, D., LODISH, H. (1986). Development of Cell Specificity. In: *Molecular Cell Biology.*, Ed. J.E. Darnell, W.H. Freeman & Company, p.: 1026-1028
- DONISI, P.M., RAMA P., FASDOLO, A., PONZIN, D. (2003). Analysis of Limbal Stem Cell Deficiency by Corneal Impression Cytology. *Cornea.*, **22(6)**: 533-538
- DUA, H.S., GOMES, J.A.P. (1994). Corneal Epithelial Wound Healing. *British Journal of Ophthalmology*, **78**: 401-408
- DUA, H.S. (1998). The Conjunctiva in Corneal Epithelial Wound Healing. *British Journal of Ophthalmology*, **82**: 1407-1411
- DUA, H.S., AZUARO-BLANCO, A. (1999). Allo-limbal Transplantation in Patients with Limbal Stem Cell Deficiency. *Br J Ophthalmol.*, **83**: 414-419
- DUA, H.S., AZUARO-BLANCO, A. (2000 a). Limbal Stem Cells of the Corneal Epithelium. *Survey of Ophthalmology.*, **44**: 415-425
- DUA, H.S., AZUARO-BLANCO, A. (2000 b). Autologous Limbal Transplantation in Patients with Unilateral Corneal Stem Cell Deficiency. *Br. J. Ophthalmol.*, **84**: 273-278
- EISNER, G. (1978). Operations on the Cornea and Sclera. In: *Eye Surgery*. Ed: G. Eisner, Springer-Verlag, p.: 145-150
- FECE, M. (2004). Kornea Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler. [<http://med.ege.edu.tr/ophtal/todnet/korneayara.htm>] Erişim Tarihi: 21.05.2007
- FENG, Y., ZHU, X., DANG, Y., MA, Q. (2004). Alkaline Burn Causes Aldehyde Dehydrogenase 3 Al (ALDH3AL) Decrease in Mouse Cornea. *Mol Vis.*, **8(10)**: 845-850
- FERNANDES, M., SANGWAN, V.S., RAO, S. K., BASTI, S., SRIDHAR, M.S., BANSAL, A.K., DUA, H.S. (2004). Limbal Stem Cell Transplantation. *Indian J. Ophthalmol.*, **52(1)**: 5-22
- GAN, L., FAGERHOLM, P., PALMBLAD, J. (2004). Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and its Receptor VEGFR-2 in the Regulation of Corneal Vascularization and Healing. *Acta Ophthalmol. Scand.*, **82**: 557-563
- GELATT, K.N., GELATT, J.P. (2001). Surgery of the Cornea and Sclera. In: *Small Animal Ophthalmic Surgery: Practical Techniques for the Veterinarian*, Ed: K.N. Gelatt, Butterworth- Heinemann, p.: 180-196.
- GILGER, B.C., WHITLEY, R.D. (1991). Surgery of the Cornea and Sclera. In: *Veterinary Ophthalmology*, Ed. K.N. Gelatt, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.: 675-700.

- GÖKÇE, P., SARITAŞ, Z., TONG, S., (2001a). Köpeklerde Deneysel Lamellar Korneal Oto-allograft Uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, **48(1)**: 59-65
- GÖKÇE, P., SARITAŞ, Z., TONG, S., (2001b). Köpeklerde Deneysel Penetran Keratoplasti Uygulamaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, **48 (1)** : 67-73
- GUM, G.G., GELATT, K.N., OFRI, R. (1991). Physiology of The Eye. *Veterinary Ophthalmology*. Ed.: K.N. Gelatt, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.: 151-216.
- HAMOR, R.E. (2002) Ocular Surgeries in Cats. *Vet Clin Small Animal Prac.*, **32**: 765-790
- HENDRIX, D.V.H. (1991). Diseases and Surgery of the Canine Conjunctiva. In: *Veterinary Ophthalmology.*, Ed.: K.N.Gelatt, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.: 619-634.
- HOLLAND, E., SCHWARTZ, G.S. (1996). The Evolution of Epithelial Transplantation for Severe Ocular Surface Disease and a Proposed Classification System. *Cornea.*, **15**: 549-56
- JUN, Y., TIAN, Y., GOUPING, L., YI, Z., YIJUN, Z., JIN, Y. (2004). Changes of uPA and uPA-R Expression in the Cornea After Alkaline Burn. *Colloids Surf B Biointerfaces.*, **15: 37 (1-2)**: 49-52
- KANSU, E. (2006). Kök Hücre Biyolojisi ve Plastisitesinde Güncel Kavramlar. *ANKEM Derg.*, **20 (Ek 2)**: 1-8
- KENYON, K., RAPOZA, P. (1995). Limbal Allograft Transplantation for Ocular Surface Disorders. *Ophthalmology.*, **102**: 101-102
- KENYON, K., TSENG, S.C.G. (1989). Limbal Autograft Transplantation For Ocular Surface Disorders. *Ophthalmology.*, **96**: 709-723
- KIM, J., TSENG, S.C.G. (1995). Transplantation of Preserved Human Amniotic Membrane for Surface Reconstruction in Severely Damaged Rabbit Corneas. *Cornea.*, **14**: 473-484
- KINOSHIDA, S., FRIEND, J., THOFT, R.A. (1981). Sex Chromatin of Donor Corneal Epithelium in Rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **21**: 434-441
- KIRSCHSTEIN R., (2001). Stem Cells: Scientific Progress and Future Research Directions, *Report Prepared By The National Institutes of Health*, June ES-2/ES-6.
- KOCAMIŞ, Ö. (2005). Primer Pterijum Cerrahi Tedavisinde Serbest Konjunktival Ototograft. Uzmanlık Tezi. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Kliniği.
- KOIZOMI, N., KINOSHITA, S. (2003). Ocular Surface Reconstruction, Amniotic Membrane and Cultivated epithelial Cells from the Limbus. *Br. J. Ophthalmol.*, **87**: 1437-1439
- KOZAK, I., TRBOLOVA, A., SEVCIKOVA, Z., JUHAS, T., LEDECKY, V. (2002). Superficial Keratectomy, Limbal Autotransplantation and Amniotic Membrane Transplantation in the Treatment of Severe Chemical Burns of the Eye. *Acta. Vet. Brno.*, **71**: 85-91
- KOZMA, C., MACKLIN, W. CUMMINS, L.M., MAUER, R. (1974). Anatomy, Physiology and Biochemistry of the Rabbit. In: *The Biology of the Laboratory Rabbit*, Ed.: S.H. Weisbroth, London: Academic Press Limited, p.: 50-56.

- KRUSE, F.E., CHEN J.J.Y., TSAI, R.J.F., TSENG, S.C.G. (1990). Conjunctival Transdifferentiation is Due to the Incomplete Removal of Limbal Basal Epithelium. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.*, **31**(9): 1903-1913.
- KWITKO, S., MARINHO, D., BARCARO, S. et al. (1995). Allograft Conjunctival Transplantation for Bilateral Ocular Surface Disorders. *Ophthalmology.*, **102**: 1020-1025
- LAVKER, R.M., SUN, T.T. (2003). Epithelial Stem Cells: The Eye Provides a Vision. *Eye.*, **17**: 937-942
- LAVKER, R.M., SUN, T.T. (2000). Epidermal Stem Cells: Properties, Markers and Location. *PNAS.*, **97** (25): 13473-13475
- LI, W., HAYASHIDA, Y., CHEN, Y.T., TSENG, S.C.G. (2007). Niche Regulation of Corneal Epithelial Stem Cells at the Limbus. *Cell Research.*, **17**: 26-36
- MAGRANE, W.G. (1971). Diseases and Surgery of the Cornea and Sclera. In: *Canine Ophthalmology*. Ed.: William G. Magrane, Lea & Febiger, p.: 96-148.
- MAGGS, D.J. (2002). Conjunctiva. In: *Textbook of Small Animal Surgery*. Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p.: 1341-1348.
- MANN, I. (1944). A Study of Epithelial Regeneration in the Living Eye. *Br. J. Ophthalmol.*, **28**: 26-40
- MARINHO, D., HÖFLING-LIMA, A.L., KWITKO, S., TSENG, S.C.G. (2003). Does Amniotic Membrane Transplantation Improve the Outcome of Analogous Limbal Transplantation?. *Cornea.*, **22**(4): 338-342
- MORGAN, S.J. (1987). Chemical burns of the eye: Causes and management. *British Journal of Ophthalmology.*, **71**: 854-857
- MUNGER, R. (2001). Diseases and Immunity of the Ocular Surface. *World small Animal Veterinary Congress Proceedings*, p.: 568-570.
- NELSON, D.A., DAVEY, R.F. (1991). In: *Clinical Diagnosis & Management by Laboratory Methods.*, Ed.: J.B. Henry, p.: 604-626.
- PEIFFER, R.L., WILCOCK, B.P., DUBIELZING, R.R., RENDER, J.A., WHITELEY, H.E. (1991). Fundamentals of Veterinary Ophthalmic Pathology. In: *Veterinary Ophthalmology*; Ed.; K.N. Gelatt; Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.: 355-425.
- PELLEGRINI, G., GOLISANO, O., PATRIZIA, P., ALESSANDRO, L., STEFANO, B., RAMA, P., MICHELE, D.L. (1999). Location and Clonal Analysis of Stem Cells and Their Differentiated Progeny in the Human Ocular Surface. *The Journal of Cell Biology.*, **145** (4): 769-782
- PELİT, A., AKOVA, Y., (2004). Stevens Johnson Sendromunda Göz Bulguları ve Tedavisi. *T. Klin. J. Med. Sci.*, **24**: 284-288
- RICHARDSON, L.E., DUDHIA, J., CLEGG, P.D., SMITH, R. (2007). Stem cells in veterinary medicine--attempts at regenerating equine tendon after injury. *Trends Biotechnol.*, **25**: 409-416
- RIJ, G.V., DRIEL, R.B., BEEKHUIS, W.H., LAVALETTEJ, G.C.R. (1987). Conjunctival Transplantation. *Documental Ophthalmologica.*, **67**: 145-150
- SAMUELSON, D. A. (1991). Ophthalmic Anatomy. In: *Veterinary Ophthalmology*. Ed: K.N. Gelatt, Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., p.: 45-150.
- SCHERMER, A., GALVIN, S., SUN, T.T. (1986). Differentiation-related Expression of a Major 64 K Corneal Keratin In Vivo and In Culture Suggests Limbal Location of Corneal Epithelial Stem Cells. *The Journal of Cell Biology.*, **103**: 49-62

- SHIMAZAKI, J., SHINOZAKI, N., TSUBOTA, K. (1998). Transplantation of Amniotic Membrane and Limbal Autograft for Patients with Recurrent Pterygium Associated with Symblepharon. *Br. J. Ophthalmol.*, **82**: 235-240
- SLATTER, D. (1990a). Structure and Function of The Eye. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p.: 1-17.
- SLATTER, D. (1990b). Basic Diagnostic Techniques. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p.:84-146.
- SLATTER, D. (1990c). Cornea and Sclera. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p.: 257-303.
- SLATTER, D. (1990d). Conjunctiva. In: *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p.: 205-225.
- SLATTER, D., DIETRICH, U. (2002). Cornea and Sclera. In: *Textbook of Small Animal Surgery*, Ed.: D. Slatter, W.B. Saunders Company, p.: 1368-1396.
- SMITH, R.K. (2008). Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy. *Disabil Rehabil.*, **9**: 1-7
- SOONTORNVIPART K., TUNTIVANICH, N., KECOVA, H., RAUSER, P. (2003). Conjunctival pedicle graft in dogs and cats: Retrospective study of 88 cases *Acta Vet Brno.* 72: 63-69. Erişim : [<http://vfu.cz/acta-vet/actavet.htm>] Erişim tarihi:19.9.2007.
- SÖKER, S. (2007). İmpresyon sitolojisi *Dicle Tıp Dergisi.*, **34 (3)**: 220-225
- ŞANLI, Ö., DOĞRU, M., ERTÜRK, H. (2002). Limbal Kök Hücreler ve Klinik Önemleri. *T Klin J Ophthalmol.*, 227-232
- ŞAROĞLU, M. (1999). Tavşanlarda Deneysel Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Bazı Antikollajenazik İlaçların Karşılaştırılması Üzerine Araştırmalar. Doktora tezi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ŞAROĞLU, M., KAVAL, A.S. (2004). Felin Kornea Nekrozu ve Konjunktival Pedikül Greft ile Operatif Sağaltımı. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, **30 (1)**: 21-28
- THOFT, R.A. (1984). Keretoepithelioplasty. *Am J Ophthalmol.*, **97**: 1-6
- THOFT, R.A. (1977). Conjunctival Transplantation. *Arch Ophthalmol.*, **95**:1425-1427
- TOWNSEND, W.M. (1991). The Limbal Palisades of Vogt. *Tr. Am. Ophth. Soc.*, **79**:721-756
- TRUDO, E.W., RIMM, W. (2003). Ophthalmic Care of the Combat Casualty. In: *Textbook of Millitary Medicine*, Ed: D.E. Launsbury, R.F. Bellamy, Washington D.C.: U.S. Government Printing Office (GPO), p.: 115-135.
- TSAL, R.J., SUN, T.T., TSENG, S.C. (1990). Comparison of Limbal and Conjunctival Autograft Transplantation in Corneal Surface Reconstruction in Rabbits. *Ophthalmology.*, **97**: 446-455
- TSENG, S.C. (2000). Significant Impact of Limbal Epithelial Stem Cells. *Indian. J. Ophthalmol.*, **48 (2)**: 1-4
- TSENG, S.C. (1989). Concept and Application of Limbal Stem Cells. *Eye.*, **3**: 141-157
- TSUBOTA, K., SATAKE, Y., KAIDO, M., SHINOZAKI, N., SHIMMURA, S., Bissen-Miyajima, H., Shimazaki, J. (1999). Treatment of Severe Ocular

- Surface Disorders with Corneal Epithelial Stem Cell Transplantation. *The New England Journal of Medicine.*, **340** (22): 1697-1701
- VAUGHAN, D., ASBURY, T., TABBARA, K.F. (1989). Cornea. In: *General Ophthalmology*, Ed.: M. Loeb, K.J. Davis, San Mateo, CA: Appleton & Lange, p.: 104-125.
- WAGONER, M.D. (1997). Chemical Injuries of the Eye: Current Concepts in Pathophysiology and Theraphy. *Survey of Ophthalmology.*, **41** (4): 275-313
- WILKIE, D.A., WHITTAKER, C. (1997). Surgery of the Cornea. *The Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice: Surgical Management of Ocular Disease*. Ed: M.P. Nasisse; **27**( 5): p.: 1067-1107.
- WILKIE, D.A. (1994). Diseases and Surgery of the Eye. In: *The Cat Diseases and Clinical Management*, Ed.: R.G. Sherding, Philadelphia: W.B. Saunders Company, p.: 2012-2046.
- YAYCIOĞLU, R.A., AKOVA, Y.A. (2004). Limbal Kök Hücre Transplantasyonu. *T Klin J Med Sci.*, **13**:104-108

**EKLER**

## EK-1

## Etik Kurul Kararı



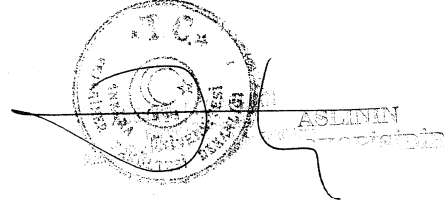
T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
REKTÖRLÜĞÜ  
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

27.12/2006

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/133-18764  
KONU:

Sayın

Prof.Dr.Eser ÖZGENCİL  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Cerrahi Anabilim Dalı  
Öğretim Üyesi



G.Ü.ET-06.092 kod numaralı ve “*Tavşanlarda korneal yanıklarda kornea konjonktival transpozisyon ile limbal kök hücre transplantasyonunun iyileşmeye etkisinin oftalmoskopik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-06.092 and entitled “*Evaluation of ophthalmologic and histopatologic effects on healing of corneal alkaline burns of rabbits by corneaconjunctival transposition and limbal stem cell transplantation*” is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof.Dr.Gökhan ALPAŞLAN  
Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı  
Chairman  
Gazi University Experimental Animals Ethical Council

Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER

Prof.Dr.Nedret KILIÇ

Prof.Dr.Sevil PEHLİVAN

Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN

Prof.Dr.Deniz ERBAŞ

Prof.Dr.Fatma AKAR

Prof.Dr.Altan DOĞAN

Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU

Uz.Vet.Hek.Şeyda DİKER



**T.C.**  
**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**REKTÖRLÜĞÜ**  
**Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı**

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/ 26 - 5536  
KONU :

05.04/2007

Sayın

**Prof.Dr.Eser ÖZGENCİL**  
**Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi**  
**Cerrahi Anabilim Dalı**  
**Öğretim Üyesi**

19.02.2007 tarihli dilekçeniz incelenmiş olup, daha önce onay alan G.Ü.ET-06.092 kod numaralı "Tavşanlarda korneal yanıklarda kornea konjonktival transpozisyon ile limbal kök hücre transplantasyonunun iyileşmeye etkisinin oftalmoskopik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi" adlı çalışmanızın başlığının "Tavşanlarda deneysel kornea alkali yanıklarının sağaltımında korneakonjonktival transpozisyon ile limbal kök hücre transplantasyon tekniklerinin karşılaştırılması" olarak değiştirilmesinin uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

**Prof.Dr.Engin ÇALGÜNER**  
**Gazi Üniversitesi**  
**Deney Hayvanları Etik Kurul Başkan V.**

YK  
11.4.07  
C

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tarih :  
Sayı :  
Tarih :  
Tarih :

## ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

**Adı :** İrem

**Soyadı:**Gül- Sancak

**Doğum Yeri ve Tarihi:** 15.03.1975

**Uyruğu:** Türkiye Cumhuriyeti

**Medeni Durumu:** Evli ( 1 çocuk)

**İletişim Adresi ve Telefonu:** Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Cerrahi Anabilim Dalı Dışkapı\ Ankara 0(312) 3170315-331

### II. Eğitimi

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Doktora  
(2004-)

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Yüksek  
Lisans (2000-2003)

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi (1994-1999)

Ankara Yükseliş Koleji (1987-1992)

Kavaklıdere İlkokulu (1982-1987)

### III. Ünvanları

Veteriner Hekim (1999)

Uzman Veteriner Hekim (2003)

Araştırma Görevlisi (2004)

### IV. Mesleki Deneyimi

#### V. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Cerrahi Derneği

Small Animal Ophthalmology

#### VI. Bilimsel İlgi Alanları

Ulusal ya da Uluslar arası Makaleler

1. Sancak İ.G., Bozkurt M.F., Yeni Zelanda Tavşanında (*Oryctolagus cuniculus*) kornea konjunktival transpozisyon (KKT) tekniğinin korneal iyileşmeye etkisi *Ankara Univ Vet Fak Derg*, Basımda.
2. Gül Sancak İ., Özgencil F.E., Sancak A.A (2009) “Kedi ve Köpeklerde Ürolitiasizlerinin değerlendirilmesi” *Ankara Univ Vet Fak Derg*, **56**:1.
3. Gül Sancak İ., Sancak A.A (2009) ‘Submucosal uroliths in vesica urinaria in a male Dalmatian dog’ *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **33**:1.
4. Gül-Sancak İ., Oftalmoloji (Kitap Bölüm Çevirisi) (2007) “Klinik Pratikte At Hekimliği”, Medipres yayıncılık, ISBN: 978-975-6676-27-1.

#### **Sözlü Bildiriler**

1. Sancak İ.G., Özgencil F.E. Tavşanlarda Kornea Alakli Yanıklarda Otolog Limbal Kök Hücre Transplantasyonunun İyileşmeye olan Etkisi: Ön çalışma Raporu XI. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi *Sözlü Bildiri*
2. Özgencil, E., Gül-Sancak, İ., Aykut, G., Şen, Y., Buzağda Dentijeröz Kist. XI. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi *Sözlü Bildiri*
3. Gül-Sancak, İ., Özgencil, E., Kedi ve köpek ürolithiazislerinin değerlendirilmesi. Veteriner Cerrahi Kongresi, Manavgat Türkiye *Sözlü Bildiri*
4. Özgencil F.E., Sancak İ.G., Eminağa S., Şenel O.O., Köpeklerde kataraktın sağaltımında fakofragmentasyon ve aspirasyon cerrahisi sonuçları Veteriner Cerrahi Kongresi, Manavgat Türkiye *Sözlü Bildiri*
5. Sancak A.A., Gökçe A.P., Sancak İ.G., Alman Çoban Köpeğinde metatarsal fistül 3. Ulusal Küçük Hayvan Hekimliği Kongresi *Sözlü Bildiri*

### Poster Bildiriler

1. Sancak İ.G., Özgencil E., Sancak A.A., Tekiner N. Kedide Eozinofilik Keratitis XI. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi *Poster Bildiri*
2. Özgencil, E. , Gül-Sancak, İ., Aykut, G., Kendir, B., Eminağa B. Alman Çoban Köpeğinde Trakeal Rekonstrüksiyon. XI. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, *Poster Bildiri*
3. Gül-Sancak, İ., Özgencil, E., Sancak, A.A. Dalmaçyan ırkı bir köpekte vezika üriaryanın histopatolojik görünümü. Veteriner Cerrahi Kongresi, Manavgat Türkiye *Poster Bildiri*
4. İrem Gül SANCAK, Aziz Arda SANCAK, Abuzer ACAR Alman Çoban Köpeğinde kistik hipofiz adenomu 3. Ulusal Küçük Hayvan Hekimliği Kongresi *Poster Bildiri*

### Uluslararası Kongrelerdeki Bildirileri

1. 1. Sancak İ.G., Özgencil F.E. Kornea alkali yanıklarında, mezenkimal kök hücrenin iyileşmeye etkisi: Ön çalışma raporu IV. KHVHD Anadolom Sürekli Eğitim Kongresi *Sözlü Bildiri*
2. Pekcan Z., Sancak İ.G., Özgencil F.E., Application of bulbar conjonctival pedicle graft in a Persian cat with corneal sequestrum WSAVA Congress Mexico City, Mexico (Poster presentation).
3. Sancak İ.G., Özgencil F.E., ŞENEL O.O, Cataract operation by phacofragmentation and aspiration in a dromedary camel. XV. International Congress of Mediterreanean Federation for Health and Production of Ruminants (FAMESPRUM), Kuşadası, Turkey (Oral Presentation).

### VII- Diğer Bilgiler (Katıldığı Kongre ve Seminerler)

- 2008 X1. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Kuşadası, İzmir (Oral tebliğ). **(En iyi sözlü sunum Ödülü)**
- 2008 X1. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Kuşadası, İzmir (Poster sunumu).

- 2008 X1. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Kuşadası, İzmir (Poster sunumu).
- 2008 X1. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Kuşadası, İzmir (Poster sunumu).
- 2008 X1. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Kuşadası, İzmir (Oral tebliğ).
- 2006 XV. International Congress of Mediterreanean Federation for Health and Production of Ruminants, Kuşadası, Turkey (Oral Tebliğ).
- 2006 3. Ulusal Küçük Hayvan Hekimliği Kongresi, Bursa (Poster)
- 2006 3. Ulusal Küçük Hayvan Hekimliği Kongresi, Bursa (Oral tebliğ)
- 2006 Voorjarsdagen Congress, Amsterdam, Holland (Poster sunumu)
- 2005 World Small Animal Veterinary Association Congress, Mexico city, Mexico (Poster sunumu).
- 2004 IX. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi Manavgat, Antalya (Oral tebliğ).
- 2004 IX. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi Manavgat, Antalya (Poster sunumu).
- 2002 World Small Animal Veterinary Association Congress, Granada, Spain.
- 2002 Congress of the Federation of European Companion Animal Veterinary Associations, Granada, Spain.
- 2002 British Small Animal Veterinary Association 45th Congress, Birmingham, UK.
- 2002 World Small Animal Veterinary Association Continuing Education Course in Emergency Medicine and Intensive Care, Istanbul.
- 2002 World Small Animal Veterinary Association Continuing Education Course in Clinical Radiology, Istanbul.
- 2001 World Small Animal Veterinary Association, 26th Congress, Vancouver, British Columbia, Canada.
- 2001 World Small Animal Veterinary Association Continuing Education Course in Dermatology, Istanbul.
- 2001 World Small Animal Veterinary Association Continuing Education Course in Exotic Animal Medicine, Istanbul.

1999 Continuing Education Course (1 month), Department of Small Animal Medicine and Surgery, The Royal Veterinary College, London, UK

1997 Ankara Üniversitesi küçük hayvan kliniklerinde pratik (4 hafta)

### **Proje ve Benzeri Çalışmalar**

1. Tavşanlarda Deneysel Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Korneo-konjonktival Transpozisyon ile Limbal Kök Hücre Transplantasyon Tekniklerinin Karşılaştırılması BAP (Hızlandırılmış Proje Desteği) 01/05/2007.
2. Tavşanlarda kapsüler tansiyon ring (KTR) ve/veya intraoküler lens (IOL)'in posterior kapsüler opasifikasyona olan etkisinin oftalmoskopik ve histopatolojik olarak değerlendirilmesi BAP 01/05/2006.
3. Tavşanlarda korneal alkali yanık sonucu oluşan limbal yetmezliğin tedavisinde, mezenkimal hücre emdirilmiş amniyotik membranın korneal iyileşmeye olan etkisinin değerlendirilmesi TUBİTAK 15/11/08