



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**RATLARDA DENEYSEL OLUŞTURULAN KORNEA ALKALİ
YANIKLARININ SAĞALTIMINDA KUERSETİN' İN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Müslüm EKİN
CERRAHİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Abdullah KARASU

VAN-2025

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RATLARDA DENEYSEL OLUŞTURULAN KORNEA ALKALİ
YANIKLARININ SAĞALTIMINDA KUERSETİN' İN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Müslüm EKİN
CERRAHİ ANABİLİM DALI
(VETERİNER PROGRAMI)
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Abdullah KARASU

VAN-2025

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TDK-2022-10192 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

KABUL ve ONAY



ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Ratlarda Deneysel Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Kuersetin’ in Etkilerinin Araştırılması*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Müslüm EKİN

Tarih:

İmza:

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatımda her şartlarda yanımda olan maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen anneme, babama ve kardeşlerime, sabırla ve inançla bana destek olan eşim Sultan, çocuklarım Demsal ve Hacer' e şükranlarımı ve sevgilerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca ve tezimin her aşamasında mesleki olarak engin bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, en iyi şekilde yetişmem için büyük çaba sarf eden, zamanını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen doktora tez danışman hocam Doç. Dr. Abdullah KARASU başta olmak üzere, Cerrahi Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Musa GENÇCELEP' e, Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. İsmail ALKAN' a, hakkın rahmetine kavuşan hocam Prof. Dr. Nazmi ATASOY' a, Prof. Dr. Loğman ASLAN' a ayrıca bütün çalışmalarımda sürekli desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Yağmur KUŞÇU ve Dr. Öğr. Üyesi Caner KAYIKÇI ' ya, Biyokimya çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Uğur ÖZDEK' e, histopatolojik çalışmalarına katkıda bulunan Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Fikret ALTINDAĞ ve Dr. Oğuzhan KUŞÇU' ya, çalışmamın yürütülmesindeki desteklerinden dolayı Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Prof. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN ve personeli Orhan ASLAN' a, çalışmaya sağladığı katkılardan dolayı Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı' na teşekkür ederim.

ÖZET

Ekin M. Ratlarda Deneysel Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Kuersetin' in Etkilerinin Araştırılması. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, 2025. Çalışmada ratlarda sodyum hidroksitle deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında damla formundaki kuersetin' in farklı uygulama dozlarının korneal iyileşme üzerine olan etkinliğinin klinik, biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak araştırılması amaçlandı. Bu amaçla çalışmada toplam 64 adet Wister albino ırkı erkek rat kullanıldı. Genel anesteziye alınan ratların alkali yanık oluşturulacak sağ gözlerine lokal anestezi uygulandıktan sonra korneanın merkezinde 25 µl 1 N NaOH emdirilmiş 3 mm çaplı Whatman filtre kağıdı ile alkali yanık modeli oluşturuldu. Sağ kornealarında alkali yanık oluşturulan ratlar rastgele her bir grupta 16 rat olacak şekilde 4 ana gruba ayrıldı. Bu ana gruplardaki hayvanlar 7. ve 14. günlerde sakrifiye edilmek üzere kendi arasında her bir grupta 8 hayvan olacak şekilde rast gele 2 alt gruba ayrıldı. K (kontrol) grubuna kuersetin' in çözdürüldüğü taşıt madde olarak kullanılan %5' lik DMSO, D grubuna %0,1' lik kuersetin, O grubuna %0,5' lik kuersetin ve Y grubuna ise %1' lik kuersetin içeren damlalar, çalışma süresince günde 3 defa birer damla olarak ratların gözlerine damlatıldı. Klinik değerlendirme amacıyla, korneada alkali yanık oluşturulduktan sonraki 0, 3, 7, ve 14. günlerde fotoğrafları çekilerek, korneal neovaskülarizasyon ve epitel defekt alanının ölçümü yapıldı. 7. ve 14. günün sonunda sakrifiye edilen ratların kornealarından biyokimyasal olarak VEGF ve TGF-β düzeyleri, histopatolojik olarak neovaskülarizasyon, epitel ve kollajen kaybı, immunohistokimyasal olarak ise kaspaz-3, TNF-α ve IL-6 ekspresyonları değerlendirildi. Klinik olarak neovaskülarizasyon skoru kontrol grubuna göre 7. gün de D grubunda anlamlı düzeyde düşük olduğu saptandı ($p<0.05$). Epitel rejenerasyon ölçümlerinde ise 7. ve 14. günlerde korneal reepitelizasyon D ve O gruplarında kontrol grubuna göre kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). VEGF düzeyi sadece 7. ve 14. günlerde D grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenirken TGF-β düzeyi ise sadece 14. günde Y ve O grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Histopatolojik ve immunohistokimyasal bulgulara ise D ve O grubunun kontrol grubuna göre kornea iyileşmesinde daha iyi sonuç gösterdiği ortaya konuldu. Sonuç olarak, düşük dozlarda kuersetin neovaskülarizasyonu, kollajen lif kaybını, TNF-α ve IL-6 ekspresyonunu baskılayarak inflamasyonu, kaspaz-3 ekspresyonunu baskılayarak apoptozisi azaltarak, kornea epitelizasyonunu arttırarak kornea alkali yanıklarının tedavisinde kornea iyileşmesine katkı sağladığı ancak etkinliğini ve güvenilirliğini daha net ortaya koyabilmek için, farklı çözücülerde, farklı dozajlarda özellikle %0,5-0,1 aralığı dozlar olmak üzere ve daha düşük dozlarda ileri düzeyde kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Göz, Kornea Alkali Yanığı, Kuersetin, Rat

ABSTRACT

Ekin M, Investigation of the Effects of Quercetin in the Treatment of Experimental Corneal Alkali Burns in Rats, Van Yüzüncü Yıl University, Institute of Health Sciences, Department of Veterinary Surgery, Ph.D. Thesis, Van, 2025. The aim of the study was to investigate the clinical, biochemical, histopathological and immunohistochemical efficacy of different doses of quercetin in the form of drops on corneal healing in the treatment of experimentally induced corneal alkaline burns with sodium hydroxide in rats. For this purpose, a total of 64 Wister albino male rats were used in the study. After local anesthesia was applied to the right eyes of the rats under general anesthesia, where alkaline burns would be induced, an alkaline burn model was created in the center of the cornea with 3 mm diameter Whatman filter paper impregnated with 25 μ l 1 N NaOH. The rats with alkaline burns in their right corneas were randomly divided into 4 main groups, each with 16 rats. The animals in these main groups were randomly divided into 2 subgroups, each with 8 animals, to be sacrificed on the 7th and 14th days. Drops containing 5% DMSO, which was used as the vehicle in which quercetin was dissolved, 0.1% quercetin in group D, 0.5% quercetin in group O, and 1% quercetin in group Y were instilled into the eyes of rats, one drop at a time, three times a day throughout the study. For clinical evaluation, photographs were taken on the 0th, 3rd, 7th, and 14th days after alkaline burn was created in the cornea, and corneal neovascularization and epithelial defect area were measured. At the end of the 7th and 14th days, VEGF and TGF- β levels were biochemically evaluated in the corneas of the rabbits that were sacrificed, histopathologically evaluated in terms of neovascularization, epithelial, and collagen loss, and immunohistochemically evaluated in terms of caspase-3, TNF- α , and IL-6 expressions. Clinically, neovascularization score was found to be significantly lower in group D compared to the control group on the 7th day ($p < 0.05$). In epithelial regeneration measurements, corneal reepithelialization was found to be statistically significantly higher in groups D and O compared to the control group on the 7th and 14th days ($p < 0.05$). VEGF level was found to be significantly lower in group D compared to the control group only on the 7th and 14th days, while TGF- β level was observed to be significantly lower in groups Y and O compared to the control group only on the 14th day ($p < 0.05$). Histopathological and immunohistochemical findings revealed that groups D and O showed better results in corneal healing compared to the control group. As a result, it was concluded that quercetin at low doses contributes to corneal healing in the treatment of corneal alkali burns by suppressing neovascularization, collagen fiber loss, inflammation by suppressing TNF- α and IL-6 expression, reducing apoptosis by suppressing caspase-3 expression, and increasing corneal epithelialization; however, in order to more clearly demonstrate its efficacy and reliability, advanced comprehensive studies are needed in different solvents, at different dosages, especially at doses between 0.5-0.1% and at lower doses.

Keywords: Eye, Corneal Alkali Burn, Quercetin, Rat.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	II
ETİK BEYAN.....	III
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XII
TABLolar LİSTESİ.....	XV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gözün Anatomisi.....	3
2.1.1. Orbita.....	4
2.1.2. Konjunktiva.....	5
2.1.3. Göz kapakları	5
2.1.4. Gözyaşı bezi ve kanalları	5
2.1.5. Göz kasları.....	6
2.1.6. Kornea.....	6
2.1.7. Ön kamara, koroid ve iris.....	7
2.1.8. Arka kamara ve lens.....	8
2.1.9. Corpus vitreum.....	8
2.1.10. Retina.....	9
2.2. Görme Olayının Fizyolojisi.....	9
2.3. Kornea Anatomisi ve Fizyolojisi.....	10
2.4. Kornea Histolojisi.....	11
2.4.1 Kornea epiteli.....	12
2.4.2 Stroma.....	13
2.4.3. Descemet zarı.....	13
2.4.4. Kornea endoteli.....	14
2.5. Korneanın Kimyasal Yaralanmaları.....	16

2.6. Kornea Yarasının İyileşme Mekanizması.....	16
2.6.1. Avasküler iyileşme.....	17
2.6.2. Vasküler iyileşme.....	17
2.6.3. Epiteliyumun iyileşmesi.....	18
2.6.4. Stroma iyileşmesi.....	18
2.6.5. Descemet membran ve endotelyum iyileşmesi.....	19
2.7. Korneada Gözlenen Reaksiyonlar	20
2.7.1. Kornea ödemi.....	20
2.7.2. Korneal vaskülarizasyon.....	21
2.7.3. Skar oluşumu.....	22
2.7.4. Kornea pigmentasyonu.....	22
2.8. Kornea İyileşmesi Sürecinde Büyüme Faktörleri ve Sitokinler.....	22
2.8.1. Dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β).....	24
2.8.2. İnterlökin-6 (IL-6).....	25
2.8.3. Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α).....	25
2.8.4. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF).....	26
2.9. Organizmada Hücre Ölümü.....	26
2.9.1. Apoptozis.....	26
2.9.2. Kaspaz 3.....	28
2.10. Dimetil Sülfoksit (DMSO).....	29
2.11. Kuersetin.....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3.1. Hayvan Materyali.....	35
3.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeleri, Test Kitleri ve Kimyasallar.....	36
3.3. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	37
3.4. Çalışmada Kullanılan Damlalar.....	37
3.5. Anestezi Protokolü.....	38
3.6. Korneada Deneysel Alkali Yanık Oluşturma.....	38
3.7. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve Tedavi Protokolü.....	39
3.8. Klinik Değerlendirme.....	40
3.8.1. Floresein boya uygulaması.....	40
3.8.2. Fotoğrafların çekilmesi.....	41

3.8.3. Korneal neovaskülarizasyonun değerlendirilmesi.....	42
3.8.4. Korneal epitel defekt alanının ölçümü.....	42
3.9. Biyokimyasal Değerlendirme.....	43
3.9.1. Kornea dokusunun VEGF düzeyinin ölçülmesi.....	43
3.9.2. Kornea dokusunun TGF- β düzeyinin ölçülmesi.....	43
3.10. Histopatolojik Değerlendirme.....	44
3.11. İmmunohistokimyasal Değerlendirme.....	44
3.12. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR.....	48
4.1. Klinik Bulgular.....	48
4.1.1. Korneal neovaskülarizasyon bulguları.....	48
4.1.2. Korneal epitel defekt bulguları.....	53
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	55
4.2.1. Kornea dokusunun VEGF düzeyi.....	55
4.2.2. Kornea dokusunun TGF- β düzeyi.....	56
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	58
4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	64
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	78
KAYNAKLAR.....	91
ÖZGEÇMİŞ.....	107
EKLER.....	108
EK1. Etik Kurul Raporu.....	108
Ek 2. Tez Orijinallik Raporu.....	109

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
µm	: Mikrometre
Apaf-1	: Apoptoz proteaz aktive edici faktör-1
ATP	: Adenozin Trifosfat
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz
Bcl-2	: B-cell lymphoma gene-2
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EGF	: Endothelial Growth Factor
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FGF	: Fibroblast Growth Factor
gr	: Gram
H&E	: Hematoksilen-Eozin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
Ig E	: İmmunoglobulin E
IGF-1	: Insulin like-Growth Factor-1
IHK	: İmmunohistokimya
IL-1	: İnterlökin 1
IL-10	: İnterlökin 10
IL-6	: İnterlökin 6
Kaspaz-3	: Cysteine Aspartate Specific Proteases-3
kg	: Kilogram
KGH	: Kuru Göz Hastalığı
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mm²	: Milimetre kare
N	: Normal
n.	: nervus

NaOH	: Sodyum Hidroksit
nm	: Nanometre
OH	: Hidroksil
Ortalama $\pm$ SH	: Ortalama $\pm$ standart hata
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
pg	: Pikogram
pH	: power of Hydrogen
PTF	: Prekorneal Tear Film
TGF-β1	: Transforming Growth Factor- beta1
TNF- α	: Tümör Nekroz factor- alfa
VEGF	: Vasculer Endothelial Growt Factor
γ	: Gama

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Gözün anotomisi	4
Şekil 2.	Korneanın histolojik yapısı	15
Şekil 3.	Korneada iyileşme.....	19
Şekil 4.	Kuersetinin kimyasal yapısı.....	34
Şekil 5.	Hayvanların barındırıldığı ortam.....	35
Şekil 6.	Çalışmada kullanılan kuersetin.....	38
Şekil 7.	Rat korneasında alkali yanık oluşturulması.....	39
Şekil 8.	Floresein boya uygulaması.....	40
Şekil 9.	Kobalt mavisi ışık kaynağı.....	41
Şekil 10.	Fotoğrafların çekilmesi.....	41
Şekil 11.	Korneal epitel defekt alanının image J programı ile ölçümü.....	43
Şekil 12.	Biyokimya laboratuvarında biyokimyasal analiz çalışması.....	44
Şekil 13.	3. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.....	49
Şekil 14.	7. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.....	50
Şekil 15.	14. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.....	51
Şekil 16.	K grubunda 3., 7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.....	51
Şekil 17.	D grubunda 3., 7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.....	52
Şekil 18.	O grubunda 3., 7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.....	52
Şekil 19.	Y grubunda 3., 7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.....	52
Şekil 20.	Korneal reepitelizasyon oranları (%).....	54
Şekil 21.	K grubunda 0., 3., 7. ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.....	54
Şekil 22.	D grubunda 0., 3., 7. ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.....	54

Şekil 23.	O grubunda 0., 3., 7. ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.....	55
Şekil 24.	Y grubunda 0., 3., 7. ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.....	55
Şekil 25.	Kornea dokusunun VEGF düzeyleri.....	56
Şekil 26.	Kornea dokusunun TGF- β düzeyleri.....	57
Şekil 27.	Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, histopatolojik bulgular.....	59
Şekil 28.	Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, histopatolojik bulgular.....	59
Şekil 29.	Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, histopatolojik bulgular.....	60
Şekil 30.	Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, histopatolojik bulgular.....	60
Şekil 31.	Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, histopatolojik bulgular.....	62
Şekil 32.	Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, histopatolojik bulgular.....	62
Şekil 33.	Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, histopatolojik bulgular.....	63
Şekil 34.	Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, histopatolojik bulgular.....	63
Şekil 35.	Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu.....	65
Şekil 36.	Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu.....	65
Şekil 37.	Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, orta şiddette kaspaz-3 ekspresyonu.	66
Şekil 38.	Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu.....	66
Şekil 39.	Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, güçlü TNF- α ekspresyonu.....	67
Şekil 40.	Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, güçlü TNF- α ekspresyonu.....	67
Şekil 41.	Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu.....	68
Şekil 42.	Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu.....	68
Şekil 43.	Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, güçlü IL-6 ekspresyonu.....	69
Şekil 44.	Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu.....	69
Şekil 45.	Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu.....	70
Şekil 46.	Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu.....	70

Şekil 47.	Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu.....	72
Şekil 48.	Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu.....	72
Şekil 49.	Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, zayıf kaspaz-3 ekspresyonu.....	73
Şekil 50.	Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, orta şiddette kaspaz-3 ekspresyonu.....	73
Şekil 51.	Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu.....	74
Şekil 52.	Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, güçlü TNF- α ekspresyonu.....	74
Şekil 53.	Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyon.....	75
Şekil 54.	Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, zayıf TNF- α ekspresyonu.....	75
Şekil 55.	Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu.....	76
Şekil 56.	Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, zayıf IL-6 ekspresyonu.....	76
Şekil 57.	Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, zayıf IL-6 ekspresyonu.....	77
Şekil 58.	Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, zayıf IL-6 ekspresyonu.....	77

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri, test kitleri ve kimyasallar.....	36
Tablo 2.	Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	37
Tablo 3.	Neovaskülarizasyon skorlaması.....	42
Tablo 4.	IHK boyama aşamaları.....	45
Tablo 5.	3. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.....	48
Tablo 6.	7. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.....	49
Tablo 7.	14. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.....	50
Tablo 8.	Korneal reepitelizasyon oranları(%).....	53
Tablo 9.	Kornea dokusunun VEGF düzeyleri (pg/ml).....	56
Tablo 10.	Kornea dokusunun TGF- β düzeyleri (pg/ml).....	57
Tablo 11.	7. günde gözlenen histopatolojik bulguların skorlanması.....	58
Tablo 12.	14. günde gözlenen histopatolojik bulguların skorlanması.....	61
Tablo 13.	7. günde gözlenen Kaspaz-3, TNF- α ve IL-6'nın korneal ekspresyonları.....	64
Tablo 14.	14. günde gözlenen Kaspaz-3, TNF- α ve IL-6'nın korneal ekspresyonları.....	71

1. GİRİŞ

Göz, görme görevini mükemmel bir mercek gibi çalışarak yapan çok hassas bir dokudur. Kas, sinir ve gözyaşı bezleri gibi farklı dokulardan meydana gelmektedir. Göze gelen ışığın ilk kırılma yeri olan korneanın şeffaf ve pürüzsüz olması sayesinde tam ve net bir görüntü oluşur. Kornea dış dünya ile temas ettiğinden dıştan gelen etkenlere çok maruz kalır. Bundan dolayı kornea bütünlüğü ve şeffaflığının korunması görme olayı için oldukça önem arz etmektedir.

Dünya genelinde kayıt altına alınan 70 milyondan fazla organik veya inorganik kimyasal madde bulunmaktadır. Bunların 600 binden fazlası endüstri ve diğer alanlarda farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Kullanıldığında sağlığı ciddi anlamda etkileyen 25 bin kadar kimyasal madde bulunmaktadır. Bu maddelerin çoğu temizlik sanayisinde kullanılmaktadır. Bu nedenle insan ve hayvanlar bu maddelerden etkilenmektedir. Bunlar arasında; asitler, alkaliler, okside ve redükte edici maddeler, şelatörler ve solventler bulunmaktadır.

Kimyasal yanıklar; herhangi bir kimyasal madde ile göz dokusunun bileşenleri arasında meydana gelen reaksiyonlar sonucu oluşur. Bu yanıklar; kornea, konjunktiva ve ön kamarada ciddi hasarlara ve doku kaybına neden olarak görme kaybına neden olur.

Kimyasal madde kaynaklı travmalarda alkali maddeler asit maddelere göre dokuya hızlıca penetre olduğundan dolayı alkali yanıklarda doku kaybı ve hasar daha fazladır. Asidik karakterde olan madde göze temas ettikten sonra proteinlerde koagülasyona neden olur. Bu durum asidik ajanın daha derin dokulara inmesine engel olur. Kimyasal ajanın göze temasından sonra, gözün epitel katında bir lezyon şekillenir. Gözdeki hasarın büyüklüğü, kimyasal ajanın çeşidine, etki gücüne, yoğunluğuna, temas yüzey alanına, etki ettiği süresine ve penetrasyonun derecesine bağlıdır.

Amonyum hidroksit, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, magnezyum hidroksit ve kalsiyum hidroksit (kireç) en sık alkali yanığa sebep olan kimyasal ajanlardır. Bu ajanlardan magnezyum hidroksit, havai fişeklerin yapısında, diğerleri ise temizlik malzemelerinde bulunmaktadır. Lipofilik özellikte olan alkali ajanlar, oküler yapılara hızlı bir şekilde penetre olurlar. Alkali ajanlar, artı yüklü bir kation ve

hidroksil gruplarının birleşiminden oluşur. Katyon, alkali ajanın dokulara penetrasyonundan sorumludur. Hidroksil molekülü de hücre zarındaki yağ asitlerini sabunlaştırarak hücre hasarına ve ölümüne neden olur.

Kimyasal bir temas sonrası yapılması gereken en önemli şey bu kimyasal ajanın uygun bir sıvıyla dokudan uzaklaştırılarak doku hasarını azaltmaktır. Ancak çoğu zaman bu mümkün olmamakta ve doku hasarı meydana gelmektedir. Doku hasarı ile beraber yangı hücreleri ve serbest oksijen radikalleri korneada yangının devam etmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Bundan dolayı meydana gelen serbest oksijen radikallerinin ve yangı hücrelerinin ortamdan uzaklaştırılması tedavi açısından çok önemlidir.

Kuersetin ilk olarak 1936 yılında Nobel Fizyoloji / Tıp Ödülü sahibi olan fizyolog Albert Szent-Györgyi de Nagyrápolt tarafından izole edilmiş doğal bir flavonoiddir. Kuersetin sahip olduğu yapısı ile antioksidan, antiinflamatuvar, antihipertansif, antiobezite, antihiperkolesterolemik, antiaterosklerotik, antiapoptotik, antihistaminik, antiagregant, vazodilatatör, antikanser ve nöroprotektif gibi özelliklere sahiptir. Kuersetin, kuvvetli bir antioksidan, serbest radikalleri temizleyici ve diğer biyolojik aktiviteleri nedeniyle oftalmoloji alanında yaygın olarak araştırılıp çalışılmaktadır. Oftalmik hastalıklar için potansiyel etkili bir terapötik ilaç olarak hareket etmesi beklenmektedir.

Son yıllarda oftalmolojide yapılan çalışmalarda, kuersetin' in kuru göz, IgE bağlantılı alerjik konjonktivit ve mavi ışığa bağlı retina dejenerasyonu üzerindeki etkileri ortaya çıkmıştır. Kuersetin' in topikal uygulamaları, kornea yüzeyinin düzensizliğini azaltıp, gözyaşı miktarını ve goblet hücre yoğunluğunu artırarak kuru göz hastalığına bağlı oküler yüzey bozukluklarının iyileşmesine katkı sağladığı tespit edilmiştir.

Çalışmada ratlarda sodyum hidroksitle deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanıklarının sağaltımında damla formundaki kuersetin' in farklı uygulama dozlarının korneal iyileşme üzerine olan etkinliğinin klinik, biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gözün Anatomisi

Göz, dış dünyadaki nesnelerden gelen ışık uyarılarını algılayıp sinirler yoluyla beyne ileten en önemli duyu organlarından biridir. Yapı ve şekil bakımından türler arasında farklılık olmasına rağmen temel olarak benzer görevleri bulunmaktadır (Altunyuva, 2024). Orbita denilen kemik yapının içine yerleşmiş olan göz küresi, bu kemikler tarafından korunmaktadır. Sadece anterior yüzü dış ortam ile temas halindedir. Göz, çevreden gelen ışık uyarılarının almasını ve bu uyarıların elektrik sinyali şeklinde beyne iletilmesini sağlayan çeşitli bileşenlerden oluşur (Fernald, 1997; Hassaan, 2022). Bu yönüyle göz, görme işlevini gerçekleştiren yuvarlak yapıda bir organdır (Franz-Odendaal, 2020; Brodrick ve ark., 2021). Evcil hayvanlar arasında kediler, insanlardan yedi kat daha düşük ışık algılama eşiğine sahip, gece görüşüne en uygun hayvanlardır (Fernald, 2000; Hassaan, 2022).

Bulbus oculi olarak bilinen göz küresi üç katmandan meydana gelmektedir.

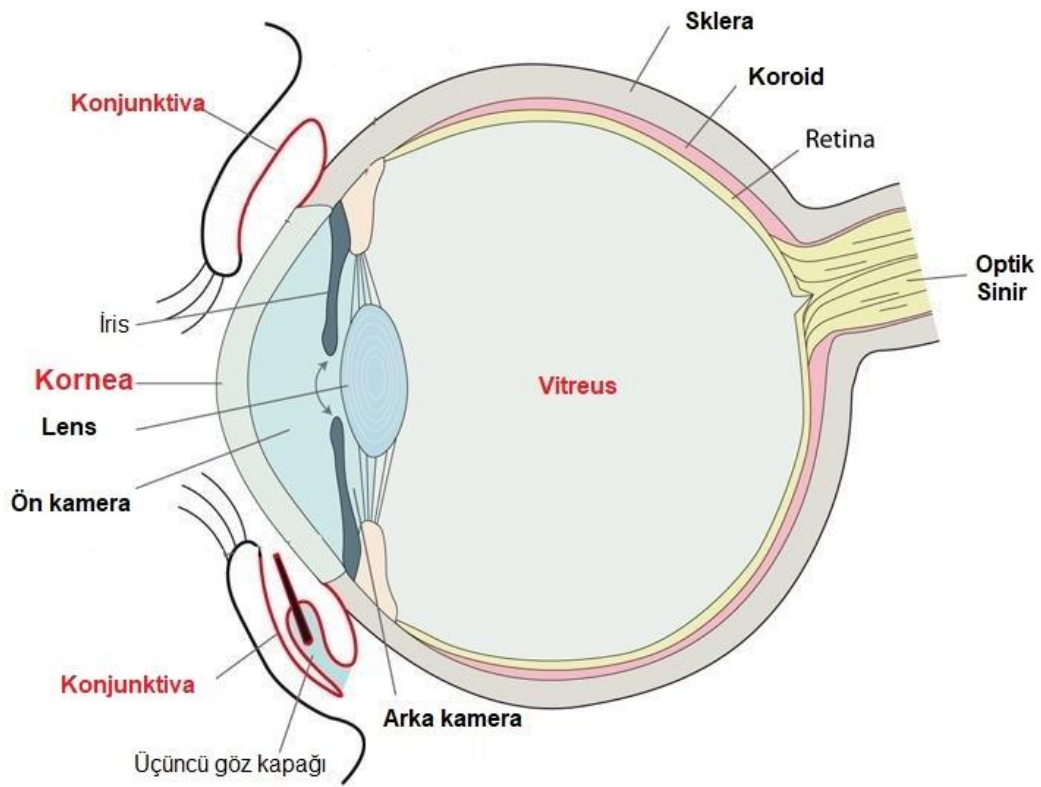
- 1- Tunica fibroza bulbi: Gözün şeklini destekleyen sert ve fibröz yapıda olan bu katman sklera ve kornea' dan oluşur.
- 2- Tunica vasculosa bulbi: Damarlardan zengin olan bu katman koroid, silier cisim ve iris' ten oluşur.
- 3- Tunica interna bulbi: En içte bulunan bu katman ise ışığa duyarlı olan retina' dan oluşmaktadır.

Bu üç katman tarafından şekillenen gözde; corpus vitreus, lens ve humor aquozum bulunur. Gözde camera anterior bulbi, camera posterior bulbi ve camera vitrea bulbi olarak adlandırılan odacıklar bulunmaktadır. Ön ve arka odacıklarda humor aquozum, camera vitrea bulbi' de ise vitreum bulunur. Lens ise söz konusu odalar arasında bulunur (Malkoç, 2006; Altunyuva, 2024).

Ön kamara, iris ile kornea arasında iken arka kamara lens ile iris arasında bulunur. Silier cisimden çıkan uzantılardan üretilen humor aqueous arka kamaraya ve oradan da serbest bir şekilde ön kamaraya geçerek damarsız yapılar olan lens ve korneanın difüzyonla beslenmesini sağlar. Biriken metabolizma atıkları da yine bu sıvı ile uzaklaştırılmaktadır. Jel kıvamında ve saydam olan corpus vitreumda lensin arka

kısımında bulunur ve göz küresinin çoğunluğunu oluşturur (Malkoç, 2006; Altunyuva, 2024).

Göz, anatomik ve fizyolojik açıdan benzersiz bir organdır. Çünkü belirli fizyolojik fonksiyonlara sahip birkaç farklı yapı içerir. Gözün ön kısmı kornea, konjunktiva, iris, siliyer cisim, ön ve arka kamaralar ve lensten oluşur (Stjernschantz, 2019). Orbita denen kemik çukurluğu içerisinde, göz küresi (bulbus oculi) ve gözün yardımcı organlarından oluşmuştur (Yücel, 1998; Eurell ve Frappier, 2013) (Şekil 1).



Şekil 1. Gözün anotomisi (Khanal, 2024).

2.1.1. Orbita

Bulbus oculi ve göz kapaklarının iç yüzünü saran konjunktiva (tunica conjunctiva), göz kapakları (palpebrae), gözyaşı bezi ve kanalları (apparatus lacrimalis) ve göz kaslarından (mm. bulbi) oluşur (Malkoç, 2006; Altunyuva, 2024).

Orbita; kasları, sinirleri ve gözyaşı üreten/boşaltan yapıyı içeren kemikli bir boşluk veya oyuk şeklinde gözü çevreleyen, birkaç kemiğin oluşturduğu göz çukurudur

(Wyman, 2020). Kafatasının içindeki konumu türlere göre değişir. Sığırlarda, keçilerde ve atlarda göz yörüngeleri yanal olarak yer alır ve panoramik görüş sağlarken, köpekler ve kedilerde gözler daha öndedir. Evcil hayvanlarda dış yanı küçük, medial yanı (nazoventral kısmı) kemik ile desteklenmektedir. Bu yapı tek tırnaklı ve ruminantlarda arcus zygomaticus ile carnivor ve suslarda ise ligamentum orbitale ile kaplıdır (Hassaan, 2022).

2.1.2. Konjunktiva

Alt ve üst göz kapaklarının iç kısmını örten kısma palpebral konjunktiva, sklerayı örten kısma ise bulbar konjunktiva adını alır. Mukoz bir membran olan konjunktiva sağlıklı hayvanlarda açık kırmızı veya pembe renge sahiptir. Konjunktiva temel olarak korneayı ve kapakların iç tarafını nemli ve yağlı tutar. Böylece kapaklar sürtünme olmaksızın kolayca açılıp kapanır. Bu durum gözü zararlı maddelerden, kalıntı ve hastalığa neden olan mikroorganizmalardan korur. Konjunktiva, göz ve kapakları besleyen birçok küçük kan damarı bulundurur. Bunun yanı sıra kuru göz sendromunu önlemek için gözyaşı filminin bir bileşenini üreten özel hücreleri içerir (Spiess, 2018; Richardson ve Deykin, 2021).

2.1.3. Göz kapakları

Gözü dıştan gelen fazla ışıktan ve her türlü dış etkenden koruyan iç kısmı konjunktiva, dış kısmı deri ile kaplı olan ve bu iki kat arasında bulunan bağdoku ve kas tabakasından oluşan yapılardır. Palpebra inferior (üst), palpebra superior (alt) ve evcil hayvanlarda bunlara ek olarak medial açıda bulunan üçüncü göz kapağı (palpebra tertia) yer almaktadır (Spiess, 2018).

2.1.4. Gözyaşı bezi ve kanalları (apparatus lacrimalis)

Bu bez tarafından salgılanan lacrima adı verilen sıvı ile bu sıvıyı nasofarengeal boşluğa ileten kanallardan oluşur. Orbitanın oluşumuna katılan ve bulbus oculinin dorsolateralinde os frontalenin iç kısmında bulunan çukur içine yerleşmiştir. Üretilen gözyaşı tunica konjunktiva tarafından oluşturulan keseye akar ve caruncula lacrimalis denilen gözyaşı etçığının etrafında birikir. Göz kapaklarının hareketleri ile gözyaşı kornea, sklera ve göz kapaklarının iç yüzüne dağılır ve gözü sürtünmeye karşı korur.

Medail açıda bulunan iki kanal yoluyla da fossa sacci lacrimaliste bulunan saccus lacrimalise geçer. Son olarak ductus nasolacrimalis kanalıyla nasofarengeal boşluğa akar (McCracken ve Kainer, 2008; Hazıroğlu ve ark., 2019).

2.1.5. Göz kasları

Gözün dışına farklı konumlarda (çoğunlukla gözün ön tarafına) bağlı altı ince kastır ve orbitaya geriye doğru bağlanır (Kul Keser ve ark., 2021). Gözün farklı yönlerde hareket etmesine izin vermek için işlev görürler. Göz kasları iki kısma ayrılır: göz kapaklarının derin yüzeyine giren palpebral kısım ve göz küresine giren daha küçük bir skleral kısım (Meshida ve ark., 2022). Kasların hareketini etkileyen bozukluklar arasında sinir veya kan damarlarına lokalize olmuş hasarlar, felç, tiroid rahatsızlıkları, nörolojik bozukluklar ve travma yer almaktadır. Gözde yapılan cerrahi girişimlerde bir anestezi maddenin periorbital enjeksiyonu göz kaslarının geçici olarak hareketsiz kalmasına (parezi) neden olabilir (Koplin ve ark., 2013).

2.1.6. Kornea

Kornea, ışığı kıran, ileten ve oküler bütünlüğü koruyarak bir bariyer görevi gören şeffaf, avasküler, birkaç yönden benzersiz olan oldukça esnek ve sinir liflerinden zengin bir dokudur. Bu sinirler 5. kranial sinir olan n. trigeminusun dalı olan n. ophthalmicusun dallarıdır ve esas olarak korneanın ön üçte birinde bulunur (Hassaan, 2022).

Kornea yoğun bir şekilde sinir sistemine bağlı olduğundan, sinirleri sadece yapısının değil, aynı zamanda patofizyolojisinin de ayrılmaz bir parçasıdır (Vereertbrugghen ve Galletti, 2022). Kornea, göze açılan penceredir. Gözün en ön kısmını kaplayan ve lens ile beraber bir mercekle görevi görür. Işığın ilk refraksiyon yeri olan korneaya gelen ışınlar; humor aqueous, lens ve corpus vitreumdan geçerek retinaya düşer (Koplin ve ark., 2013).

Kornea, gözün şeffaf ön kısmını oluşturur ve hafifçe dışarı doğru çıkıntı yapar. Korneanın ön kısmı dışbükey ve merkezinde tepe noktası bulunurken arka kısmı iç bükeydir (Greene ve ark., 2018). Zayıf bir kan beslemesine sahiptir, ancak duyu sinir lifleri ile iyi beslenir. Dış yüzey, konjonktiva olan bir skuamöz epitel tabakası ile

kaplıdır. Kornea, gözün ışık ışınlarının çarptığı ilk kısımdır ve bunları retinaya odaklamakla görevlidir (Brady ve Madden, 2020). Gözün en güçlü kırılma tabakasıdır. Şeffaflığı ve eğriliği, ışığın retinaya odaklanması için kritik unsurlardır (Martínez-Chacón ve ark., 2020; Hamid ve Taha, 2021).

Genellikle türler arasında kornea oldukça benzerdir. Yalnızca kalınlık, eğrilik ve şekil bakımından farklılık gösterir. Endotel hücreleri pompa mekanizmaları ile donatılmıştır. Descemet zarı adı verilen şeffaf bir zarın üzerine otururlar (Greene ve ark., 2018).

Korneanın şeffaflığı; avasküler yapısı, pigment ve hücrelerin eksikliği, kollajen dokusunun nispi dehidrasyonu, gözyaşı filmi ile sağlanan pürüzsüz bir optik yüzey, ışık saçılımını azaltan oldukça düzenli ve laminer bir kolajen lif modeli ile sağlanır (Wilson, 2020).

2.1.7. Ön kamara, koroid ve iris

Ön kamara (camera anterior bulbi), kornea ile irise kadar olan kısımdır. Göz içinden sürekli olarak venöz sisteme akan sıvı akışını sağlayan anatomik yapılar aracılığıyla ön kamara olarak adlandırılan bölümü oluşturur (Rahmoun ve ark., 2020). Ön kamara protein, tuz ve oksijenden zengin humor aqueous ile doludur. Normal kornea “avasküler” olduğundan humor aqueous ve gözyaşı, kornea için ana besin ve oksijen kaynağıdır (Koplin ve ark., 2013; Hassaan, 2022).

Koroid koyu, yüksek pigmentli bir dış tabaka ve vasküler bir iç tabakadan oluşur (Rahmoun ve ark., 2020). Retinanın daha derin kısmını besleyen, geniş süngerimsi bir dokudur. Kan, zarlar ve erektile doku içeren bir boşluk labirenti olarak bilinmektedir. Koroid retinanın altında yer alır ve retinanın derin kısımlarını besleyen bir damar ağıdır (Koplin ve ark., 2013).

İris, merkezinde göz bebeği de denilen pupillayı içeren, pigmentli, hassas bir dokudur. Göz içi cerrahisi gerektiren durumlarda pupillanın daralmasını (myozis) veya genişlemesini (mydriasis) sağlayan ilaçlardan faydalanılır. Bazı ilaçlar cerrahi girişimlerden önce genişleme sürecini kolaylaştırmak için kullanılır (Koplin ve ark., 2013; Hassaan, 2022). İris, rengini esas olarak irisin arka yüzeyindeki pigmentli epitel

hücrelerinden alır. Tipik renk dağılımı türlere göre değişir. Otçullarda, irisin arka yüzeyinin pigmentli epiteli, göz bebeğinin kenarı boyunca ön kamarada görülebilen nodüler kitleler oluşturur (Hassaan, 2022; Meekins, 2022).

2.1.8. Arka kamara ve lens

İrisin arkasında bulunan ve esas olarak lens ile dolu olan bölme arka kamara (Camera posterior bulbi) denir (Cho, 2021). Lens, arka kamara ile corpus vitreum arasında asılı duran şeffaf, proteinli, bikonveks bir disk. Lensin ekvatorundaki asıcı bağlar için bir bağlantı yeri görevi gören elastik bir kapsül vardır (Sivak ve Sivak, 2019). Normal şartlarda, lens cam gibi berrak ve kapsül ile çevrilidir. Kapsül, ameliyat sırasında yırtılabilen ince, cam benzeri bir zar. Lens bulanıklaştığında veya rengi değiştiğinde katarakt denilen bir lens bozukluğu ortaya çıkmaktadır (Koplin ve ark., 2013; Hassaan, 2022).

Lens, asıcı bağlar olarak bilinen binlerce ince lifler (zonüller) tarafından göz içinde yerinde tutulur. Zonüller yalnızca lensi güvenli bir şekilde desteklemekle kalmaz, onu merkezde tutar ve aynı zamanda yakın görüş için görüntüyü retinaya yeniden odaklamak için lensin şeklini değiştirmeye yardımcı olur. Bu akomodasyon olarak bilinmektedir (Koplin ve ark., 2013; Hassaan, 2022).

2.1.9. Corpus vitreum

Corpus Vitreum; lens ile retina arasında yer alır ve jel kıvamında olan vitreus denilen bir madde içerir (Hassaan, 2022). Göz küresi, sıvı veya jelatinli bir madde ile dolu birkaç odayı çevreler. Kürenin %75'i aselüler bir jel olan vitreus ile doldurulur ve sonuç olarak bu kısma vitreus odası da denir (Elmalı ve ark., 2021). Bir göz tam bir vitreus olmadan da işlevini yerine getirebilir (Koplin ve ark., 2013).

Hem sulu hem de jelatinimsi sıvıların işlevi, göz içindeki yapılara besin sağlamak ve gözün şeklini korumaktır. Vitreus hareketlidir ve retinaya oldukça sıkı bir şekilde bağlıdır (Abarca, 2018). Vitreusun sarsılmasına neden mekanik etkiler, görme mekanizmasında kritik öneme sahip retinada baskı veya çekmelere neden olabilir (Koplin ve ark., 2013).

2.1.10. Retina

Retina, görsel fonksiyonların temelini oluşturan ışığa duyarlı, ince zar benzeri bir doku tabakasıdır. Vücutta kan damarlarının in vivo olarak gözlemlenebildiği tek dokudur. Göz hastalıklarının ve bazı sistemik hastalıkların durumunu anlamak için bu önemli bir penceredir (Zhao ve ark., 2021).

Retina, gözün en iç tabakasıdır ve birkaç katmandan oluşur. Yapısı ve oküler fonksiyonları açısından bir kameraya benzetilebilir. Kornea ve lensten geçen ışınlar retinaya odaklanır. Retina üzerindeki görüntü, ışık ışınlarının lens ve korneada kırılması sonucu oluşur (Rahmoun ve ark., 2020). Işık, lens tarafından retinanın fotoreseptörlerine ve ışığa duyarlı hücrelerine odaklanır ve ışık n. opticus yoluyla beyne iletilir (Baden ve ark., 2020). Retinanın görüntü merkezi makula adı verilen bir bölgedir. Makula içinde ayrı bir bölge olan fovea, yalnızca koniler tarafından doldurulur. Sağlıklı bir fovea en detaylı görüşü sağlar (Aspinall ve ark., 2015). Retina üzerinde çubuklar ve koniler olarak adlandırılan iki tip fotoreseptör bulunmaktadır (Fernald, 1997).

Çubuklar düşük ışık, koniler ise yüksek ışık seviyelerinde görme olayından sorumludur. Çubuklardan ve konilerden gelen lifler, görme sisteminin başlangıcı olan optik sinirde bir araya toplanmaktadır (Koplin ve ark., 2013). Koniler renkli görme yeteneğine sahip ve parlak ışığa duyarlı iken, çubuklar siyah beyaz ve gece görüşü yeteneğine sahip, düşük ışık seviyelerine duyarlıdır (Aspinall ve ark., 2015).

2.2. Görme Olayının Fizyolojisi

Görmenin fizyolojik olayları sırasıyla; Göze giren ışığın ilk olarak kornea ve lenste kırılması, retinaya odaklanması, retinada foto-kimyasal aktivite ve sinirsel impulsa dönüşmesi, beyinde işleme ve görüntüyü algılama aşamalarından oluşmaktadır (Spencer, 2019). Işınlar gözün kornea, humor aqueous, lens ve corpus vitreum katlarından kırılarak geçerler ve retina üzerindeki bir noktada birleşirler. Bu ışınlarla retina üzerinde ters ve küçük bir görüntü oluşur (Yücel, 1998; Baden ve ark., 2020).

Gözkapakları ve iris göze yeterli miktarda ışığın gözün içine girmesini sağlarlar. Işık dalgaları lensle karşılaştığında, bu dalgalar odak noktası olan retina olan tek bir

alana doğru yansıtılır. Bunun başarılabilmesi için, lensin akomodasyon yeteneğine sahip dinamik bir yapı olması gerekir (Holz, 2020).

Retinaya ulaşan ışınlar, retinanın derin tabakası tarafından emilir ve bir fotokimyasal reaksiyonla bu ışınlar sinir impulslarına çevrilir. Bu impulslar, n. opticus aracılığı ile önce optik chiasma'ya, oradan geniculate cisimciğine ve oradan da cerebrum'un occipital lobunda bulunan calcaın bölgesine gelerek, görüntünün burada oluşmasını sağlarlar (Yücel, 1998).

2.3. Kornea Anatomisi ve Fizyolojisi

Kornea türlere göre farklılık gösterir. Yaşlı atlarda yatay uzunluk 32-38 mm, dikey uzunluk 26- 28 mm iken; köpeklerde çap 12,5 x 17 mm ve yuvarlağa yakındır. Atlarda 17 mm' lik bir eğimle ışığı kıran bir dış büküklük vardır. Kalınlığı da 0,56 mm' dir. Köpeklerde korneanın merkez kalınlığı 0,73- 0,95 mm, çevresinde ise 0,6- 0,8 mm kadardır. Sığır ve köpeklerde kornea kalınlığı merkezde fazladır. Atlarda ise bu limbusta gözlenir. Köpeklerde epitel katman 0,08 mm, stroma 0,5- 0,6 mm kalınlığındadır. Stroma korneanın ortalama % 90' nını oluşturur. Endotel kat fibroelastik bir yapıda olduğundan atlarda bu katman son derece dayanıklıdır (Akın ve Samsar, 2005).

Karnivorlarda kornea incelik oranı farklıdır. Kedi kornea inceliği 469 μ m' den 832 μ m' ye, köpek kornea inceliği ise 409 μ m ile 784 μ m arasındadır. Köpek korneasının vertikal ölçüleri 12 mm' den 16 mm' ye, horizontal ölçüleri ise 13 mm' den 17 mm' ye kadar değişir. Kedilerde ise vertikal ölçüleri 15 mm ile 16 mm'ye, horizontal ölçüler ise 16 mm'den 17 mm ' dir (Nasisse, 1997).

Korneanın şeffaf olması bazı faktörlere bağlıdır. Bunlar kan damarı, lenfatik damarlar ve bu sistemlere ait hücrelerin bulunmaması, pigment olmaması, mineral ya da lipid depolama özelliğinin olmaması, su girişinin kontrolü ile relatif dehidrasyonun devam ettirilmesi, kollajen fibrillerin düzenli bir şekilde organize olmasına bağlı olarak ışığın kırılarak bulanık bir görüntü oluşumunun önlenmesi ve prekorneal göz yaşı tabakası ile desteklenen düzgün bir optik yüzey bulunması gibi faktörlere bağlıdır (Slatter, 1990; Murphy ve ark, 1996).

Kornea anatomisinin bilinmesi, hastalıklarının tanısı ve tedavisi açısından büyük önem arz etmektedir. Bununla birlikte, korneanın şekilsel anormalliklerini teşhis etmek için normal kornea şekli ve patolojik değişimleri hakkında iyi bir bilgiye sahip olmak gerekir (Corbett ve ark., 2019).

Kornea, vücuttaki diğer dokulardan oldukça farklı, benzersiz bir yapıya sahiptir. Gözün sert dış tabakasının bir parçası olan kornea, sklera ile birlikte göz içi basıncını, göz içi yapılarını ve gözü travma ve enfeksiyonlara karşı korumaktadır (Kancierz ve ark., 2021). Ancak korneanın mekanik işlevine ek olarak görmede iki önemli rolü daha vardır. İlki bir görüntüyü odak noktasına odaklamaktan sorumlu gözün ana refraksiyon elemanıdır. İkincisi, ışığın retinaya iletilmesini sağlamak için şeffaf olmasıdır (Abass ve ark., 2018; Chae ve ark., 2018; Corbett ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2019; Curatolo ve ark., 2020; Lvinger ve ark., 2020; Espana ve Birk, 2020; Alsaqr ve ark., 2021).

2.4. Kornea Histolojisi

Gözün ilk yapısal bariyeri olarak görev yapan şeffaf avasküler bir dokudur. Gözyaşı tabakası ile birlikte uyumlu bir kırma yüzeyi sağlar (Spencer, 2019).

Normal bir popülasyonda, iyi görme ile uyumlu çeşitli kornea şekilleri vardır. Her bireyin kornealarının morfolojisi benzersizdir (Pradeep ve ark., 2019). Göz tabakalarının histolojik olarak anlaşılması, hastalık patofizyolojisinin anlaşılması ve bazı terapötik yaklaşımların anlaşılması için gereklidir. Genel olarak, anatomik bir bakış açısıyla, göz bir dizi üst üste binen doku katmanı olarak görülebilir. Gözün dış yapıları arasında kirpikler, kapaklar, kaslar, aksesuar bezleri ve konjunktiva bulunur. Gözün içyapıları, düzenlenmiş üç doku katmanından oluşur (Hassaan, 2022).

Sklera ve kornea dış katmanları oluşturur. Uvea, ortadaki vasküler tabakadır ve iris, siliyer gövde ve koroid' den oluşur. Retina, en içteki tabakayı oluşturur ve sinir dokusundan oluşur (Pradeep ve ark., 2019; Bergmanson, 2019).

Kornea; Epithel, Stroma, Descemet Membran ve Endothel olmak üzere dört tabakadan oluşmaktadır. Aşağıdaki bölümlerde bu katmanlar ayrıntılı olarak

açıklanmıştır (Brooks ve Ollivier, 2004; Maggs, 2008; Dubielzig ve ark., 2010; Azari ve ark., 2014).

2.4.1. Kornea epiteli

Kornea epitheli, dış ortamla olan ilk temas ve savunma bariyerini oluşturur. Gözün kırma gücü için kritik olan gözyaşı filmi- kornea ara yüzünün ayrılmaz bir parçasıdır. Tabakalı, keratinize olmayan bir squamöz tabakadır (Masterton ve Ahearne, 2018). Embriyolojik olarak, kornea epiteli, 5 ila 6 hafta arasında yüzey ektoderminden orijin alır. 4 ila 6 hücre katmanı kalınlığında keratinize olmayan, çok katlı yassı epitelden oluşur (Wilson, 2020). Daha önce bahsedildiği gibi, epitel görme için önemli olan bir gözyaşı filmi ile kaplanmıştır. Hava- gözyaşı arayüzü kornea ile birlikte gözün toplam ışığı kırma gücünün üçte ikisini sağlar (Farjo ve ark., 2009).

Kornea epitheli ve gözyaşı tabakası anatomik ve fizyolojik olarak simbiyotik bir ilişkiye sahiptir. Kornea epitheli ile doğrudan temas halinde olan müsinöz tabakası, konjonktiva hücreleri tarafından üretilir ve kornea epithel hücresi glikokaliksiyle yakından etkileşime girerek gözyaşı filminin her göz kırpması ile hidrofilik yayılmasına izin verir (Masterton ve Ahearne, 2018). Yaralanma veya hastalıktan kaynaklanan glikokaliksin kaybı, gözyaşı kaybına ve sonrasında ocüler sistemin bozulmasıyla sonuçlanır. Gözyaşı filmi, kornea yüzeyini mikrobiyal istila, kimyasal, toksik ve yabancı cisim hasarından korur. Gözyaşı ayrıca epithelin korunması, proliferasyonu ve onarımı için elzem olan immün sistem destekleyicilerini ve büyüme faktörlerini de sağlar (Bergmanson, 2019).

Epithel hücrelerinin ortalama yaşam süreleri 7 ila 10 gündür. Bunlar rutin olarak düzenli apoptoza (kontrollü hücre ölümü) ve deskuamasyona uğrar. Bu süreç, düzenli olarak dökülen yüzeysel hücrelerin yerini daha derinde bulunan hücreler aldığından, kornea epitel tabakasının her hafta tam olarak değişmesiyle sonuçlanır. Bu yüzey hücreleri, komşuları arasında gözyaşlarının hücreler arası boşluklara girmesini engelleyen sıkı bağlantı noktaları sağlar. Bu, sağlıklı bir epitel yüzeyinin floresein ve rose bengal gibi boyaları uzaklaştırma yeteneğinin gözlemlenmesiyle klinik olarak tespit edilir. Bu durum toksin ve enfeksiyon etkenlerinin daha derin katmanlara girmesini önler (Bergmanson, 2019).

2.4.2. Stroma

Kornea epitel tabakası ile kornea endoteli arasında bulunur. Kornea kalınlığının yaklaşık %90'ını oluşturur. Stroma kornea epitelyal bazal membranından endotel bazal membranına kadar uzanır. Stromada, fibroblast, keratosit ve temel madde bulunur. Stroma benzersiz özelliklere sahiptir. Şeffaflık, doku kuvveti, avasküler yapı ve hassas eğrilik. Bununla birlikte, kornea stroması hastalık, yaralanma veya skar ile değiştirildiğinde, geri dönüşü olmayan bir şeffaflık kaybı meydana gelebilir. Kornea epiteli ve endotelden farklı olarak, kornea stroması, in vitro olarak üretilmesi zor olan stromal hücreler, proteoglikanlar ve kornea sinirleri içeren iyi bir şekilde organize edilmiş hücre dışı bir matristir (Espana ve Birk, 2020).

Kornea stroması, korneanın yapısal çerçevesinin büyük kısmını sağlar (Espana ve Birk, 2020; Bergmanson, 2019). Kollajen lifler, fibriller adı verilen paralel demetler halinde düzenlenir ve bu fibriller, paralel düzenlenmiş katmanlar veya lameller halinde paketlenir. İnsan gözünün stroması, her biri bitişik lamellerdeki liflere göre dik açılarda düzenlenmiş 200 ila 250 farklı lamel içerir (Lagali, 2020). Periferik stroma, merkezi stromadan daha kalındır. Kollajen fibrilleri, limbusa yaklaştıkça çevresel olarak dönmek için yön değiştirebilirler. Son derece organize olan ağ, ışık saçılımını düşürerek korneanın saydamlığına ve mekanik gücüne katkıda sağlar (Espana ve Birk, 2020).

Stromanın ek bir özelliği, daha derin katmanların, yüzeysel katmanlardan daha sıkı bir şekilde organize olmasıdır. Bu fark, belirli bir düzlemde kornea stromasının arka derinliklerine yaklaştıkça daha fazla cerrahi diseksiyon kolaylığı sağlar. Stromal organizasyondaki bu çeşitlilik, kornea ödeminde oluşan yanıtta farklılıkları da açıklar. Descemet kıvrımları, yapısal olarak daha sert ön kornea tarafından uygulanan arka stromanın asimetric şişmesinin ve limbus tarafından uygulanan yapısal etkinin sonucudur. Stromal şişme bu nedenle arkaya doğru yönlendirilir ve arka yüzeyin görece düzleşmesiyle sonuçlanır, bu da descemet membranını stria olarak görünür hale gelen çoklu kıvrımlara itebilir (Bergmanson, 2019).

2.4.3. Descemet zarı

Endoteliumun bazal tabakasıdır ve yaşam boyu kalınlaşır. Endotel hücreleri sürekli olarak descemet zarı salgılar. Descemet, yaşla birlikte 10 µm kalınlığa kadar kalınlaşabilir (Bergmanson, 2019). Kornea endotelinin bazal membranı olan descemet

membran, endotel ile birlikte kornea saydamlığının korunmasına katkıda bulunur (Singhal ve ark., 2020).

Descemet membranı; kornea yapısı ve homeostazında olduğu kadar kornea şeffaflığının korunmasında da önemli bir rol oynar. Descemet membranı, korneaya kornea endotelini sabitlerken, aynı anda besinlerin ve makro moleküllerin kornea stromasına girmesine izin verir. Descemet membranı, kornea endotel hücrelerinin tek tabakasına yapışma sağlayarak, kornea hidrasyonu ve şeffaflığı için kritik olan kornea bütünlüğüne de katkıda bulunur. Descemet membranının etkisini, posterior stromadan izole etmek zor olsa da korneanın genel kırma gücünde bir faktör olan arka kornea eğriliğinin korunmasında biyomekanik bir role de sahip olabilir. Bununla birlikte, elastik özellikleri muhtemelen tüm korneanın yapısının ve eğriliğinin genel olarak korunmasında önemli bir işleve hizmet eder (Singhal ve ark., 2020).

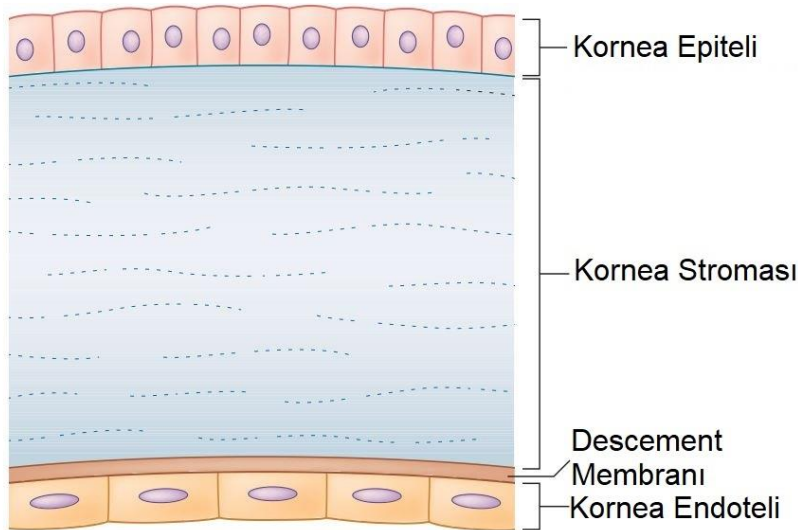
Descemet membranının bariyer işlevi, kornea endoteliyle birlikte besinlerin, büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve diğer makromoleküllerin aköz hümörden kornea stromasına ve stromadan aköz hümöre geçişini iki yönlü olarak regüle eder (Saikia ve ark., 2018). Kornea avasküler bir dokudur ve besinlerin descemet membranı geçişi keratosit, sinir ve epitel metabolizması için hayati önem taşır. Kollajen tip VIII' in altıgen kafes düzeni, besinlerin stromaya geçmesine izin veren açık gözenekli yapıyı koruyan bir matris oluşturur (Medeiros ve ark., 2018).

2.4.4. Kornea endoteli

Korneanın endothel tabakası, arkadan bakıldığında petek gözleri gibi görünen tek tabakalı bir yapıdır. Erken embriyogenezde, arka kornea, düzenli olarak tek tabaka ile kaplanmıştır. Zamanla bu hücreler düzleşir ve birbirine sıkıca yapışır (Bergmanson, 2019). Düzleştirilmiş tabakanın hemen önünde, zamanla Descemet zarı haline gelen süreksiz homojen bir hücresiz tabaka bulunur. Doğumda, endotelyal tek tabaka yaklaşık 10 µm kalınlığındadır ve tüm arka kornea yüzeyini kaplayan ve trabeküler ağ hücreleri ile kaynaşan düzgün kalınlıkta bir hücre tabakasından oluşur. Bireysel hücreler zamanla düzleşmeye devam eder ve yetişkinlerde yaklaşık 4 µm kalınlığında stabilize olur (Farjo ve ark., 2009).

Endothel hücre distansı ve dizilimi ömür boyu farklılaşmaya devam eder. Yaşamın son yıllarında, hücre yoğunluğu (mm^2 de) 3000 ila 4000 hücre' den yaklaşık 2600 hücre' ye kadar düşer. Altıgen olan hücre sayısı ise % 75' ten % 60' a kadar düşer. Normalde endothel hücre distansı senede ortalama % 0,6 oranında düşmektedir (Bergmanson, 2019). Belirtildiği gibi, stroma, endotel hücrelerinin aktivitesi ile nispeten detümesanslı bir durumda (%78 su içeriği) muhafaza edilir. Endothelin permeabilite yeteneği, ozmotik dengeyi sağlamak için gerekli olan iyon giriş çıkışına izin vererek bir dereceye kadar geçirgen olması bakımından benzersizdir (2022; Price ve ark., 2021).

Endothel hücrelerinin in vivo mitozla bölünme aktivitesi yoktur. İnsanlar önemli bir rezervle doğarlar. Hücre yoğunluğu doğumda yaklaşık 3500 hücre/mm^2 dir. Bu sayı yaşam boyunca kademeli olarak yılda yaklaşık %0,6 oranında azalır. Endotel hücre sayısı 500 hücre/mm^2 nin altında olanların kornea ödemi gelişme riski altında olabileceği gözlenmiştir (Price ve ark., 2021). Endotel hücre morfolojisi (boyut ve şekil) de pompa işleviyle ilişkili görünmektedir (Okumura ve Koizumi, 2020). Endothel hücre sayısı yaş, yara, enfeksiyon ve diğer hastalıklar nedeniyle azalır. Kalan hücreler dejenere endotel hücrelerinin yerini devralma kapasitesine sahiptir. Bu süreç gerçekleştikçe, kalan hücreler şekilsel olarak büyür ve sahip olduğu altıgen şeklini kaybeder (Bergmanson, 2019) (Şekil 2).



Şekil 2. Korneanın histolojik yapısı (Turner, 2008).

2.5. Korneanın Kimyasal Yaralanmaları

Kimyasal yanıklar, gözün dış ve içyapılarında ciddi yaralanmalara neden olabilen maddelerdir. Korneada genel olarak asidik ve alkali olmak üzere iki tür kimyasal yanık vardır (Fish ve Davidson, 2010).

Her iki tür yanıkta klinik olarak ödem, opaklık, kornea epitelinin kaybı, ağrı ve kornea stromasının hızla çözünmesi ve değişik derecelerde kornea tabakasında şekillenen yeni damarlaşmalar bulunur (Fish ve Davidson, 2010; Eslani ve ark., 2014). Daha sonra, ciddi kornea ülserasyonu ve ön üveit görülür. Kimyasal maddenin temasından sonra, epitel katta bir lezyon şekillenir. Kimyasal yaralanmanın ciddiyeti, kimyasalın türü, çözeltinin pH' ısı ve maruz kalma süresiyle ilişkilidir (Tuft ve Shortt, 2009; Fish ve Davidson, 2010). Alkali kimyasallar arasında Amonyum Hidroksit, potasyum Hidroksit, Sodyum hidroksit, kalsiyum hidroksit ve Magnezyum hidroksit bulunur. Bu bileşikler içeren maddeler arasında kostik soda, çimento, kireç, amonyak, maytap ve işaret fişekleri bulunur. Genel olarak alkaliler, özellikle kireç, asitlerden daha etkili bir şekilde göze nüfuz etme eğilimindedir. Alkali maddeler lipofiliktir. Hücre zarı yağ asitlerinin sabunlaşıp hücre bozulmasına ve ölümüne neden olurlar (Wagoner, 1997; Kuckelkorn ve ark., 2002; Eslani ve ark., 2014). Yaralı dokular tarafından proteolitik enzimlerin ortama salınmasıyla dokuya daha çok zarar veren bir inflamatuvar yanıtı uyarır. Belirtilen sebeplerden dolayı, korneanın kimyasal yanıklarının tedavisine hemen başlanılmalıdır (Arffa, 1997; Wagoner, 1997; Kaufman ve ark., 1998; Salzman ve O' Malley, 2007).

Asidik maddelerin göze temasından hemen sonra (hidroflorikasit hariç) epitel katında protein kuagülasyonu oluşur. Böylece asidin yıkımlayıcı etkisi daha derin dokulara girmesi engellenir. Bundan ötürü asitler, alkalilere kıyasla oluşturduğu etkinin derinliği ve etkisi daha hafiftir (Singh ve ark., 2013).

2.6. Kornea Yarasının İyileşme Mekanizması

Korneada; kollajen fibriller tarafından meydana getirilen düzensiz yapının sonucunda skar dokusu oluşur. 7-10 gün süren korneal yaralarda veya yangı durumlarında neovaskülarizasyon ortaya çıkar. Bu damarlaşma, başlangıçta daha derin

olan kornea yarasını granülasyon dokusu ile doldurarak katkı sağlamış olur (Cook ve ark., 2009).

Yüzeysel seyir gösteren kornea ulkuları, genellikle derin ülserlerden daha ağırlı olur. Kornea epitel ve ön korneal stroma, n. trigeminus' un oftalmik kolundan oluşan sinirlerin parçalarından oluşan duyu ve basınç reseptörlerine sahiptir. Sinirler uyarıldığında ağrı ortaya çıkar. Sekonder olarak irido siklit (refleks olarak miyozis, konjunktiva ve ön uveal kanlanma) ve kan-humor aquosus bariyerinde bazı değişiklikler ortaya çıkar. Bundan hareketle, kornea ulkusu ile beraber genel itibariyle ikincil irido siklitis oluşabileceğinden kornea ülseri ve sekonder irido siklitis birlikte tedavi edilmelidir (Gelatt ve Brooks, 2011).

2.6.1. Avasküler iyileşme

Nötrofiller, kimyasal etkilerle hasarlı kısma doğru yönelir. Bu şekilde hasarlı bölgeyi çevrelerler. Bunlar, bölgeye gözyaşı ve limbustaki konjunktiva kökenli damarlar vasıtasıyla stromadan ulaşırlar. Bu bölgedeki keratositler ölür ve yaranın etrafından gelen keratositler, fibrositlere dönüşüp lezyonlu bölgeye doğru hareket ederler. Fibrositler, temel maddenin kollajen ve mukopolisakkaritlerini sentezlerler. Bu iyileşme olayına epitel yayılma da katılır. Epitel yayılma olmazsa iyileşme olayı daha yavaş olur. Yaranın ortaya çıkmasından 2 gün sonra, makrofajlar o bölgeye göç ederler. Bununla hücrel atıklar ortadan kaldırılır. Daha sonra bu makrofajlar keratositlere dönüşür. Yeni şekillenmiş olan kollajen fibriller düzenli olmayan bir yapıya sahip olduğundan kornea saydamlığını düşürürler. Daha sonra oluşan skar dokusu azalırken tamamıyla ortadan kalkmaz (Akın ve Samsar, 2001; Slatter, 2001).

2.6.2. Vasküler iyileşme

Hasarlı ve tahribatlı travmalarda hücrel yayılma çok fazla olur. Limbus bölgesinden köken alan kan damarları o bölgeye yayılmaya başlar. Ortaya çıkan skar, damarsız iyileşmede gelişen skar dokusundan daha yoğun olur (Slatter, 2001). Stroma onarımı sonrası korneada oluşan kan damarları geri çekilir. Bu durum birkaç hafta civarında olur. Bu yeni damarlar yıllar sonra biyomikroskop ile tetkik edildiğinde genel

olarak görülebilir (Gelatt ve Brooks, 2011). Zaman geçtikçe etkilenen sinir damrları kendini yeniler ve o bölgede duyarlılık yeniden ortaya çıkmaya başlar (Slatter, 2001).

2.6.3. Epiteliyumun iyileşmesi

Kornea epiteli, sahip olduğu rejenerasyon yeteneği ile çok hızlı iyileşme gücüne sahiptir. Kornea epiteli ortalama 7 günde iyileşir (Crispin, 2002; Ross ve Pawlina, 2010). Küçük epitel, hasarlı alanı, hücrelerin etkilenmiş bölgeye doğru ilerlemesi ve mitozis ile kapatır (Crispin, 2002; Cook ve ark., 2009). Dahası multipotent kök hücreler de bu iyileşme zincirine önemli katkılar sağlar. Fagositoz yapma gücüne sahip olan hücreler, polimorfonükleer lökositler, limbus ve pre oküler gözyaşı filmi ile hasar alanına ulaşır. Meydana gelen yeni kornea epiteli yarı geçirgen olduğundan, floresein boyama yöntemi ile yapılan boyamada açık yeşil renk ile boyanmaktadır (Gelatt ve Brooks, 2011).

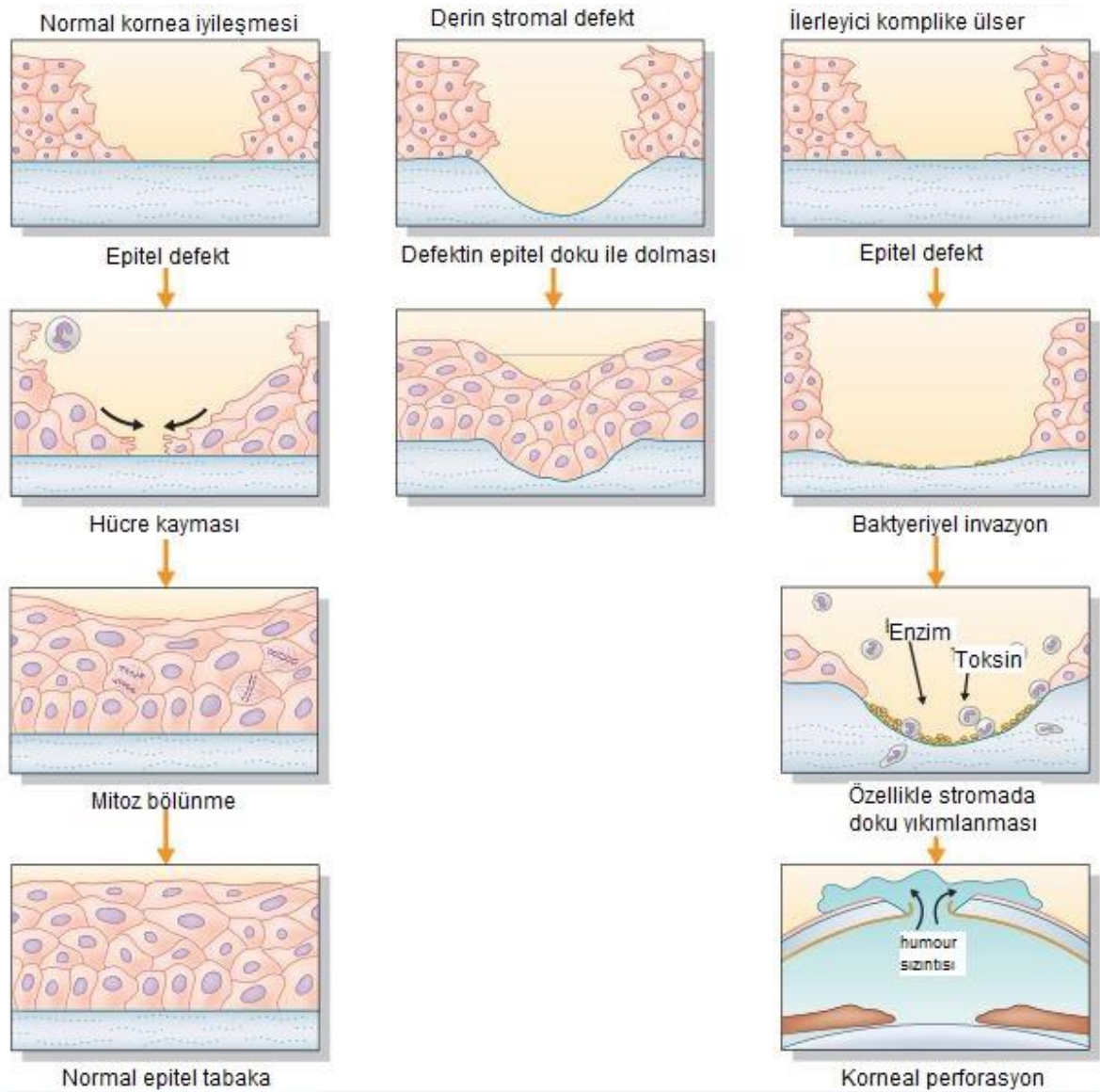
2.6.4. Stroma iyileşmesi

Stromaya kadar ilerleyen lezyonlarda iyileşme yeniden epitelizasyonla sağlanır. Stroma ulkuslarında yeniden onarım yavaş olup, çok uzun bir zaman dilimine gerek duyulur (Cook ve ark., 2009; Gelatt ve Brooks, 2011). Komplikasyon gelişmemiş stromanın defektlerinde yeniden onarım damar gelişmeden iyileşme ile sağlanır. Ancak derin ve enfekte stroma defektlerindeki onarma olayı damarlaşma ile gerçekleşir (Akın ve Samsar, 2001; Maggs, 2008). Stroma tam olarak yıkımlanmışsa, descement zar göz içi basıncın da etkisiyle dışa doğru bombe yapar. Buna desmatosel denir. Desmatosel, daha çok ulkus sonucunda ortaya çıkar. Desmatosel sonucu descement zar floresein boya ile boyanmaz (Slatter, 2001).

Stroma travmalarında, limbus ve bulbar konjuktivadan gelen küçük damarlar, hasarlı alandaki doku kaybını doldurur. Epitel hücreleri, yaralı alana göç eden limbusta bulunan hücreler, kollajen ve temel madde üretimini destekleyen stromal fibroblastlar tarafından bölge onarılır. O bölgedeki kollajen, temel kollajenden farklı olur ve oradaki korneal saydamlık kaybolmaktadır (Crispin, 2002).

2.6.5. Descemet membran ve endotelyum iyileşmesi

Descemet zarındaki onarım, endotel sayesinde yapılan yeni temel tabakanın oluşmasına bağlıdır. Arka endotelin iyileşme yeteneği, hayvan türlerinde farklılık gösterir. Bununla beraber yaşa bağlı olarak da farklılık vardır. Defektli alanlar, erginlerde, başta mitoz bölünme ile oluşan endotel ile yaşlılarda, çevrede bulunan endotel hücreleri genişleyip yayılarak defektli alanı doldurur (Gelatt ve Brooks, 2011). Esnek bir yapı olan descemet zarın rupturlarında, zar kıvrılıp küçülür.



Şekil 3. Korneada iyileşme (Turner, 2008).

Lezyonun etrafında bulunan arka stroma hızlıca bir fibrin pıhtısı ile doldurulur. Kenar endotel hücreleri mitoz ile ya da genişleyip pıhtıyı sararak birkaç hafta içinde yeni descemet zar üretir. Tavşanların kornea endotelinde mitoz süratli bir şekilde gelişir. Birkaç gün içinde descemet zar ile posterior stromadaki defekt alanları kapatılır. Desmatocel ve descemet zarın travmaları, acil müdahale edilmesi gereken patolojik olaylardır (Crispin, 2002; Cook ve ark., 2009; Gelatt ve Brooks, 2011).

Endotelyum rejenerasyon yeteneği az olduğu için, erginlerde defektli alanın rejenerasyon yeteneği çok zayıftır. Yanıt olarak sadece, o bölgeye ince bir tabakada tek katlı hücreler yayılır (Crispin, 2002). Artan yaş, fako emülsifikasyon, ilaç alımı, tıbbi müdahaleler sonucu meydana gelen travma ve üveitis gibi nedenler endotelin hücre kaybı yaşamasına neden olurlar (Slatter, 2001) (Şekil 3).

2.7. Korneada Gözlenen Reaksiyonlar

2.7.1. Kornea ödemi

Stroma içinde fazla sıvı birikmesi sonucunda, stromada bulunan lameller arası boşluk artarak korneal saydamlığın kaybolmasına neden olur. Korneanın lokal veya yaygın mavi görüntüsü kornea ödeminin olduğunu gösterir (Strom ve Maggs, 2015). Korneal ödem, epitelium veya endothelyumun anatomik veya fonksiyonel organizasyonundaki bir bozukluğun sonucunda ortaya çıkar (Cook ve ark., 2009). Bu durum bir hastalık değildir. Ancak korneada var olan anormal bir semptomdur (Crispin, 2002). Bu durum sebep ortadan kaldırılıp sıvı dengesi tekrar sağlandığında genellikle reverzibldir. Ödem, lokal ve yaygın olabilir. Lokal ödemin sebepleri, kornea ülserinden kaynaklanan lokal korneal epithelyal hasar ya da lokal endothelyal hücre kaybıdır. Yaygın kornea ödeminin sebepleri ise, daha çok glokom ve üveitis gibi nüks eden göziçi hastalıkları olmakla beraber, tür bağlantılı endothelyal distrofi veya yaşa bağlı endothelyal hasardır. Diffüz ödemin sebeplerinden bir diğeri de endothelyal defektidir. Epiteliumda travmaya bağlı etki sonucu lokal kornea ödemi gelişir. Kimyasal ya da ısıya bağlı yanıklar gibi daha geniş lezyonlarda diffüz kornea ödemi gelişir (Metzler, 2015; Strom ve Maggs, 2015).

Stromadaki ödem, epithelyum ve endothelyumdaki patolojik duruma eşlik eder. Kornea şişerek kalınlaşır ve görme problemleri ortaya çıkar. Endothelyumki hasar, normal hidrasyon dengesini koruma özelliğini aksatır. Küt ve delici etkiler, cerrahi travma, göziçi inflamasyon (özellikle endoftalmitis gibi şiddetli inflamasyonlar), göziçi neoplasi, endotelyum distrofisi, gluokom ve ön üveitis ödemin diğer sebepleridir (Crispin, 2002; Cook ve ark., 2009). Kornea ödeminin tedavisi sebebe yönelik yapılmalıdır. Sebebe olan durum başarılı bir şekilde sağaltılırsa ödem tamamen ortadan kalkabilir. Özellikle yaşı ilerlemiş olanlarda, şiddetli lezyonlarda ödem latent olabilir (Cook ve ark., 2009).

2.7.2. Korneal vaskülarizasyon

Kornea genel olarak damarsızdır. Kornea hasarlarında korneada yeniden damarlaşma genelde yaygın olarak meydana gelen patolojik bir olaydır (Crispin, 2002). Kornea damarlaşması yüzeyde veya derin olabilir. İkisi arasındaki fark, nedeni belirlemede yardımcı olmaktadır (Cook ve ark., 2009).

Yüzlek damarlar, stromanın ön kısmında oluşur. Konjunktival damarlardan köken alırlar. Karnivorlarda, limbustan çıktıklarında rahatlıkla görünürler. Dallanmış olan yeni damarlar açık kırmızı renkte görünürler (Slatter, 2001; Crispin, 2002).

Derin damarlar siliar ağlardan oluşmaya başlar. Korneaya gelene kadar gözle görünmezler. Genellikle kısa, koyu kırmızı renkli ve düzdürler. Bazen bir çember oluşturacak kadar yaygın olurlar. Yeni damarların derinliği, lezyon derinliğinin bir işareti olabilir. Derin damarlaşmanın sebepleri keratit, anterior üveitis ve endoftalmitis olabilir (Slatter, 2001; Crispin, 2002).

Komplikasyon gelişen stroma bozuluklarında damarlar kollabe olmaz. İleri seviyede damarlaşma ve granülasyon dokusunun kaybı söz konusu olur. Damarlaşma yararlıdır. Ancak oluşan yeni damarlar kornea saydamlığının azalmasına, pigment maddelerinin birikmesine neden olur. Bazı durumlarda kornea şeffaflığını azaltan anti inflamatuvar hücrelerin ve antikorların taşınmasına da neden olur. Sonuç olarak, epitel kayıp onarıldıktan sonra kortikosteroidler veya başka terapötik ajanlarla damarlaşmanın kontrol altına alınması sağlanmalıdır (Slatter, 2001).

Stromadaki iyileşmenin bir aşaması olan yeniden damarlaşmanın kontrolsüz bir şekilde engellenmemesi gerekir (Crispin, 2002; Cook ve ark., 2009). Vaskülarizasyonun iyileşmedeki görevinin ardından, damarlar doğal bir seyirde daralarak soluklaşır ve küçülürler. Bu damarlar uzun yıllar kalarak varlığını sürdürürler. Epitel katın sağlam olması ön koşulu ile, iyileşmenin yan etkileri olan yeni damar ve pigment maddelerin birikimi erken dönem lokal kortikal steroidlerin kullanımı ile kontrol altına alınabilir (Crispin, 2002).

2.7.3. Skar oluşumu

Stromada travma meydana geldiğinde, keratositler, fibroblastlar ve makrofajlar tarafından desteklenir ve iyileşme sağlanır. Üretilen kollajen fibriller düzensiz olduğundan ışığın aktarılmasına engel olurlar. Oluşan skar, görüntü oluşumunu engellemeyecek seviyede ortadan kalkabilir. Bu durum tamamen ortadan kalkmaz. Köpeklerde, skar dokusu ile beraber lipid birikimi de olur (Slatter, 2001).

2.7.4. Kornea pigmentasyonu

Doğmasal kornea pigmentasyonu nadir olarak görülürken, sonradan ortaya çıkan pigmentasyon yaygın olarak gözlenir (Cook ve ark., 2009). Daha çok stromanın etkilendiği kornea yaralarına karşı nonspesifik bir savunmadır. Stroma da biriken pigment, stromaya göç eden limbus kökenli melano blastların çoğalması ile meydana gelir (Slatter, 2001; Crispin, 2002; Cook ve ark., 2009).

Pigmentasyon kronik etkilere bağlı veya göz kuruluğu gibi kronik kornea travmalarında yaygın bir şekilde ortaya çıkar. Sebebin ortadan kaldırılmasıyla pigmentasyonun gelişimi yavaşlar veya durur (Slatter, 2001). Bu durumu genel olarak yüzeysel damar oluşumu eşlik eder. Tipik olarak korneanın devam eden irritasyonu veya inflamatuvar cevap olarak ortaya çıkar. Tedavi sebebe yönelik olmalıdır (Cook ve ark., 2009).

2.8. Kornea iyileşmesi sürecinde büyüme faktörleri ve sitokinler

4000–60000 Dalton ağırlıkları ile çok az oranlarda bile hücrel aktiviteyi uyaran protein yapısında maddelerdir (Steenfos, 1994).

Bu proteinler hücrelerin kopyalama yeteneğini ve farklılaşmalarını regüle eder. Dolaşım sisteminde bulunurlar. Bazı doku ve hücreler tarafından dolaşıma bırakılırlar. Bu şekilde metabolizmanın düzenleyici rolünü üstlenirler. Bu protein yapısındaki maddeler özel reseptörlerine bağlı olabildikleri gibi granüller içinde depolanmış halde de bulunabilirler. Görevlerini endokrin, parakrin veya otokrin mekanizmaları ile yerine getirirler (Canalis, 1992).

- a) Endokrin, bu faktörler etkilediği doku ve hücreye dolaşım yoluyla giderek etkinliğini gösterir.
- b) Parakrin, salgılandıkları alanda etkinliğini hücre üzerinde gösterir.
- c) Otokrin, salgılandıkları hücrelerde etkinliğini gösterir (Steenfos, 1994; Fisher ve Lakshmanan, 1990).

Büyüme faktörleri, kemotaksi veya hücre bölünmesini uyarması, aynı veya farklı grup hücreler arasında bağlantı kurmasının yanı sıra, hücre dışı madde üretimi ve yeniden damarlaşmayı sağlaması, doku bütünlüğü ve iyileşmeye katkıda bulunması gibi etkilere sahiptir (Gope, 2002).

Bunlar sahip oldukları doğal ve fizyopatolojik etkilerine göre de ayrıca farklı sınıflandırılır.

- I- Embriyogenez ve gebelikte etkili büyüme faktörleri
- II- Epitel ve hemopoetik hücrelerde etkili büyüme faktörleri
- III- Yara iyileşmesi ve inflamasyonda etkili büyüme faktörleri
- IV- Tümör hücreleri ile ilgili etkileri olan büyüme faktörleri (Cross ve Dexter, 1991).

Doku onarımının uyarılması ve bunun devam edilmesi sürecinde aktif rol oynarlar. Travma olduğunda kan pıhtılaşması ve plateletler uyarılır. Trombositlerde bulunan PDGF, Transforming Growth Factor- β (TGF- β), EGF ve IGF-1 bulunur. Üretilen bu faktörler, iyileşme mekanizmasında birçok olay zincirini başlatır veya sürdürür. Birinci etki lezyonlu alana inflamatuvar, epitel, endotel hücrelerinin ve fibroblastların yara bölgesine göç etmesidir. Bunlar hızla yara bölgesine gider ve enzim reaksiyonu ile parçalanırlar. Yara iyileşmesi için bu faktörlerin salgılanmasının devam

etmesi şarttır. Bu faktörler etkilerini zardaki kendilerine has reseptörleriyle kontak kurarak gösterirler. Bunların uyarılması, yara iyileşmesinde birtakım olayları başlatır. Bu faktörlerinin post reseptör aşamasında hangi etki ile yara iyileşmesine katkıda bulundukları tam anlamıyla bilinmemektedir (Bennett ve Schultz, 1993).

2.8.1. Dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β)

TGF- β , trombositler başta olmak üzere, makrofaj, lenfosit, kemik ve böbrek gibi birçok doku ve hücre tarafından üretilip depo edilir. Plateletlerin sahip olduğu granüllerde çokça bulunur. Lezyon alanına degranülasyon yoluyla bırakılırlar. Monositlerin uyarımı ile de FGF, PDGF, TNF- α , IGF-I' nin salınımlarını uyarır. Vücuttaki tüm hücrelerin TGF reseptörleri var ve TGF- β ile teorik olarak uyarılabilirler (Lawrence ve Diagelmann, 1994). TGF- β grubu faktör yakın zamanda keşfedilmiştir. Ektodermden köken alan keratinosit ve lökositlerin büyümesini kısa süreli inhibe eder. Mezodermden köken alan fibroblastlar için de zayıf da olsa mitojenik etki gösterir (Olashav ve ark., 1986). İyileşme aşamasında aktif değilken asidik ortam ve plazmin etkisiyle enzimatik aktivite ile aktifleşir. En önemli görevi yeni hücrelerini kemotaktik etki ile uyarmak ve hücre dışı matriks sentezini artırmaktır (Miyazone ve ark., 1991).

Bunlar aynı zamanda makrofajlar için de kemotaktiktir. Fibroblastların bölünmesi ve lezyon alanına göçünü sağlar. Kollajen sentezi için çok güçlü bir uyarıcıdır. Kollajenaz enzimi aktivasyonunu sağlayan etkenlerin etkinliğini azaltır. Fibroblastların fibronektin ve proteoglikan sentezini; keratinositler de ise fibronektin sentezini uyarır. Ayrıca yara dudaklarının kasılmasında da rol oynar. Matriks organizasyonunu düzenleme etkisi ile remodeling olayında rol alır. Tek başına, endotelial bölünmeyi engellerken, başka bir kofaktörle beraber anjiogenezi uyarır. Epitel proliferasyonunu da artırır (Sprugel ve ark., 1987; Lawrence ve Diagelmann, 1994).

Bu haliyle yara iyileşmesi için bilimsel araştırmalarda kullanılır. Tavsan kulağı çalışmasında epitelizasyonu arttırmadığı ancak kollajen sentezini aktive ettiği tespit edilmiştir. Yeni doğan fare modelinde deri altı uygulaması kollajen sentezi ve anjiogenezi uyardığı tespit edilmiştir. Domuzlarda açık yaralar TFG- β ile tedavi edilmiş ve sekiz günün sonunda bu tedaviyi görmeyenlere göre daha çok skar dokusunun

olduğu tespit edilmiştir (Sprugel ve ark., 1987; Lawrence ve Diagelmann, 1994). Son olarak bazı büyüme faktörü veya sitokinlerin, erken yara iyileşmesinde granülasyon dokusu üzerinde etkili olabileceği sonucuna varılabilir (Krummel ve ark., 1988).

2.8.2. İnterlökin-6

İnterlökin-6, yangısal uyaranlara cevap olarak üretilen bir sitokindir (Umare ve ark., 2014). Lenfosit T ve B hücreleri, monositler, fibroblastlar, keratinositler, endotel hücreleri, mezengial hücreler, çeşitli tümör hücreleri gibi lenfoid veya lenfoid olmayan hücreler tarafından üretilir. Farklı hedef hücreler üzerinde çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir (Naka ve ark., 2002). Sıklıkla proinflamatuvar sitokinlerin sistemik aktivasyonu için bir belirteç olarak kullanılan IL-6; akut faz proteininin güçlü bir indükleyicisi olarak proinflamatuvar işlev görürken aynı zamanda antiinflamatuvar özelliklere de sahiptir (Opal ve DePalo, 2000).

2.8.3. Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α)

TNF- α , proinflamatuvar sitokinler arasında, güçlü, çok işlevli bir sitokindir (Fajgenbaum ve June, 2020). TNF- α , monositler ve aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilen bir sitokindir. Hücre proliferasyonu, farklılaşması ve kaspaz-8/kaspaz-3 yolu üzerinden etki ederek otoproteolitik aktivasyonu indüklenmesi sonucu apoptoz gibi çeşitli hücrel aktivitelere yer alır (Bonaventura ve ark., 2018). Sitokinlerin hem proinflamatuvar hem de immün düzenleyici özelliklerini ortaya koyar. Lenfosit B ve T hücrelerinin ve dendritik hücrelerin farklılaşmasında immün düzenleyici bir rol alır ve ayrıca apoptozis sürecini yürütmeye yardımcı olur (Umare ve ark., 2014). Sistemik inflamasyonu arttırmanın ve IL-6 gibi antimikrobiyal tepkiyi aktive etmenin yanında, hücrel apoptozu indükleyebilir ve bağışıklığı düzenleyebilirler (Fajgenbaum ve June, 2020). Yüksek miktarda TNF- α üretimi, bir dizi kronik yangı ve otoimmün hastalıklar ile ilişkilidir (Tisoncik ve ark., 2012). Kronik inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde yer alan TNF- α , majör proinflamatuvar sitokinlerden biridir ve oksidatif stres tarafından modüle edilir, ayrıca diğer sitokinlerin, kemokinlerin veya inflamatuvar mediatörlerin hücrel salınımını tetikler. Tümörler için sitotoksik olup antiviral ve antimikrobiyal etkiler gösterir (Deepika ve Maurya, 2002).

2.8.4. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)

VEGF vasküler sistemin endotel hücreleri için en karakteristik bir mitojendir. Anjiyogenezisde etkili bir maddedir. VEGF gözde retina pigment epiteli, Müller ve ganglion hücreleri tarafından üretilir. VEGF ve reseptörlerin sentezini etkileyen farklı sebepler vardır. Oksijensiz ortam çok etkili bir unsurdur. Bu ortamda Hypoxia Inducible Factor-1 α sentezi artar ve sonuçta VEGF sentezi artar (Michaelson, 1948; Yusufhan, 2007). VEGF ekspresyonu yangıda sekonder olarak artar. Yangının olduğu alanda salınan sitokinler (IL-1, IL-6, EGF) pozitif olarak etki etmektedir. Vücutta bazı fizyokimyasal olaylar zincirinde de görev alır (Senger ve ark., 1983). Bu görevlerin yanında kan basıncını düzenleme, hücre çoğalması, kemotaksi, kalp arter damarlarının stabilitesini sağlamak ve lezyonun iyileşmesini arttırmak gibi başka görevleri de vardır. Belli şartlar altında patolojik damarlaşmaya neden olarak bazı göz hastalıklarının patofizyolojisinde rol alır. Kornea; normalde kan damarı bulundurmeyen bir göz bölümüdür (Ferrara ve Henzel, 1989). VEGF' nin korneal neovaskülarizasyonda rolü olduğu düşünülmektedir. Bazı durumlarda; hastalık, yangı, oksijensiz ortam, yara, kök hücre eksikliği veya kaybı gibi durumlarda korneada yeniden damarlaşma oluşabilmektedir (Folkman, 1995; Ko ve ark., 2013).

2.9. Organizmada Hücre Ölümü

Canlı hücreler gangren veya programlı hücre ölümü (Apoptozis) gibi iki farklı şekilde ölür. Bunlar farklı yollarla birbirinden ayırt edilebilir. Apoptozda hücreler toplu olarak değil tek olarak ölür. Burada protein sentezine ihtiyaç duyulur. Fagositoz ile hücre parçalanırken proteolitik enzimler dağılmaz, hücre zarı ve organeller bütünlüklerini korur ve inflamatuvar bir yanıt meydana gelmez (Dayan ve ark., 2000).

2.9.1. Apoptozis

Apoptoz, Yunanca apo ve ptosis kelimelerinin birleşmesiyle oluşur. Ayrı düşmek anlamındadır. 1972' de Kerr, Wyllie ve Currie isimlerindeki patologlarca kullanılmış bir terimdir (Billig ve ark., 1995).

Apoptozis, ömür boyu devam eden bir olaydır. Örnek olarak kemik iliği kan hücresi üretirken, ortalama günlük 5×10^{11} tane hücre apoptozla ölür. Barsak epitelinin

sürekli olarak kendini yenilemesi apoptoz ile olur (Allan ve Harmon, 1986; Lennon ve ark., 1991).

Apoptozis; gelişim, iç denge ve lezyonların iyileşmesi durumlarında gerçekleşen ve hücrenin yapısında karakteristik bazı farklılıkların da eşlik ettiği bir olaydır. Apoptozis, gangrenin tersine yangı gelişmeden ve çevre dokularda hasar oluşturabilecek organellerini veya atıklarını ortama bırakmadan daha küçük veziküllere ayrılır (Kim ve ark., 2005). Apoptozisi kontrol eden reseptörler bulunur. Tümör nekroz faktörü olarak bilinen bu reseptörlerin 6 ayrı reseptör barındıran 24 alt grubu vardır (FAS, DR3, DR4, DR5, DR6, TNF-R) (Altunkaynak ve Özbek, 2008).

Hücreleri etkileyen bazı uyarımlar proteazları aktive eder. Kaspaz adı verilen bu enzimler (caspase= cysteine-containing aspartate specific proteases) starter veya sonlandırıcı olmak üzere ikiye ayrılır (Erdoğan, 2003). İç uyarımla meydana gelen apoptozda mitokondri önemli rol üstlenir. Uyarılar mitokondride permeabilite artışına sebep olur. Mitokondrinin permeabilitesini bazı proteinler dengelemektedir. En önemlileri bcl-2 proteinlerdir. Bazısı anti apoptotik bazısı pro apoptotiktir (Kaneda ve ark., 1999).

Bcl-2 proteini anti apoptotiktir. Mitokondrinin dış zarına ve apoptoz proteaz aktive edici faktör 1'e (apaf 1) tutunmuştur. İçerden alınan apoptotik uyarılar apaf 1'in mitokondriden ayrılmasına sebebiyet verir. Bu durum mitokondri zarının geçirgenliğini artırır ve mitokondrinin iki zarı arasında varolan sitokrom c' nin sitozole çıkmasına vesile olur. Sitokrom c stoplazmada Apaf 1, Kaspaz 9 ve ATP ile birleşerek apoptozom oluşur. Apoptozom, sonlandırıcı kaspazlardan kaspaz 3' ü aktive ederek apoptoza neden olur (Huppertz ve ark., 1999).

Normalde korneanın stroma ve endothelinde apoptozis görülmezken epitelyumda az bile olsa görüldüğü düşünülmektedir (Ren ve Wilson, 1996; Estil ve ark., 2002). Tavşanlar üzerindeki bir araştırmada, korneaya radyasyon uygulaması sonrası 2. ve 3. günlerde epithel hücrelerinin yarısına yakınında apoptozis olduğu görülmüştür (Estil ve ark., 2002).

Kornea epitelinin hasarı veya enfeksiyonları, stromada bulunan keratositlerde apoptozisi uyarmaktadır. Buna epiteliden salgılanan sitokinlerin sebep olduğu varsayılmaktadır (Kim ve ark., 2005). Ayrıca korneada oluşan hasar sonucunda salınan interleukin-1 (İL-1) ve Fas ligand (zarda bulunan aktif bir protein) keratositlerde apoptozisin indüklenmesinde rol aldığı düşünülmektedir (Mohan ve ark., 1997; Kim ve ark., 2005; Altunkaynak ve Özbek, 2008).

Apoptozis, DNA parçalanmasıyla karakterize olan aktif bir gen' in kendini imha etme olayıdır. Bu durum parçalanmış DNA'ların etkilendiği yerde terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT)-biyotinli dUTP yöntemi TdT-dUTP nick-end-labelling TUNEL olarak bilinen teknik kullanılarak tespit edilebilmektedir (Yew ve ark., 2001).

2.9.2. Kaspaz 3

Kaspazlar, kontrollü hücre ölümünün (apoptozis) önemli araçlarıdır. Kaspaz-3 sıklıkla aktive edilen bir ölüm proteazıdır ve birçok önemli hücre proteininin spesifik olarak parçalanmasını katalize eder. Bununla birlikte, kaspaz-3 veya herhangi bir diğer kaspazın apoptozdaki rolleri şimdiye kadar büyük ölçüde bilinmiyordu. Kaspaz-3 aktivasyonu, mitokondriyal sitokrom c salınımına ve kaspaz- 9 işlevine bağlı veya bağımsız olarak tanımlanmıştır. Kaspaz- 3 ayrıca apoptozun bazı tipik belirtileri için de gereklidir. İncelenen tüm hücre tiplerinde apoptotik kromatin yoğunlaşması ve DNA parçalanması vazgeçilmezdir. Bu nedenle kaspaz- 3, hücre parçalanması ve apoptotik cisimlerin oluşumu ile ilişkili bazı süreçler için gereklidir. Ancak hücre ölümüne karar verildiği aşamada veya öncesinde de işlev görebilir (Porter ve Jänicke, 1999).

Şimdiye kadar tanımlanmış toplam 14 memeli kaspazı vardır. Bu 14 kaspazın 12 tanesi insan kaynaklı olarak bildirilmiştir (kaspazlar 1-10, 12 ve 14) (Wilson ve Kumar 2018). İnsan kaspazları, dizi benzerliklerine ve biyolojik görevlerine göre apoptotik kaspazlar ve inflammatuar kaspazlar olarak iki gruba ayrılır. Başlatıcı (kaspaz- 8, 9, 10) ve efektör (kaspaz- 3, 6 ve 7) olarak da sınıflandırılmaktadır (Asadi ve ark. 2021).

2.10. Dimetil Sülfoksit (DMSO)

Ucuz bir organosülfür bileşiği olan dimetil sülfoksit, ilk olarak 1867 yılında Alexander Zaytsev tarafından sentezlenmiştir. Kokusuz, tatsız, renksiz ve kaynama noktası yüksek (189 °C) olan bir sıvıdır (Tashrifi ve ark., 2020). Suda çözünür olmasına karşın, DMSO molekülü amfifiliktir (Gironi ve ark. 2020). Suyla karışabilirliği ve lipofilik bileşikler çözme yeteneği sayesinde biyomedikal araştırmalarda sıkça kullanılan çözücü bir bileşiktir (Sanmartín-Suárez ve ark., 2011). DMSO antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif etkileri dahil olmak üzere birçok biyolojik etkiye sahiptir. Bununla beraber, yüksek oranda çözündüğünden dolayı beyin dahil tüm vücuda çok hızlı bir şekilde dağılır. Ayrıca birçok ilacın beyine penetrasyonunu da arttırmaktadır (Shimizu ve ark., 1997).

DMSO' nun absorpsiyon, transport, çeşitli enzimlerin inhibisyonu ve enzim aktivasyonunun yanı sıra invitro %5 ve %50 konsantrasyonlarda bakteriyostatik ve bakterisit etkiye sahiptir (Brayton, 1986). DMSO' nun antimikrobiyal etkisinin mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte immun sistemdeki etkinliği ve doku yıkımına neden olan endotoksinin etkinliğinin azaltılması ile ilgili olduğu tahmin edilmektedir (Brayton, 1986). Aynı zamanda DMSO yangıda doku yıkımını azaltarak mikrosirkülasyonun devam ettirilmesi ve özellikle kronik olaylarda fibroblast proliferasyonunu azaltarak antiinflamatuvar bir etkide gösterir (Brayton, 1986). İskemik olaylardan sonra mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon mekanizması olumsuz etkilenmekte ve bozulmaktadır. DMSO, ATPaz aktivitesini azaltır, mitokondriyel mekanizmayı düzenleyerek, iskemi sırasındaki oksijen parçalanmasını ve bunun sonucunda oluşan hasarı azaltır (Brayton, 1986; Jacob ve Hersc-hler, 1986; Mirkovitch ve Winistörfer, 1987; Yavru ve ark., 1987; Ceylan ve ark., 2002).

DMSO hücre seviyesinde steroidlerle sinerjik etkiye sahiptir. Antibiyotiklerle birlikte kullanıldıklarında sağlamış oldukları fokal dilatasyon ve antiinflamatuvar etkileri ile antibiyotik etkinliğini artırır. DMSO' nun genel etkisi ve toksisitesi nisbeten düşüktür. Ancak lokal toksisitesi doza, uygulama yoluna ve bireysel duyarlılığa bağlıdır (Brayton, 1986).

2.11. Kuersetin

Flavonoid kelimesi, latince “flavus” kelimesinden orijin alır ve sarı anlamına gelir. Bitkilerin karakteristik kırmızı, mavi ve mor antosiyanin pigmentleri olarak bilinmektedirler. Bunlar bitkilerin her yerinde bulunan seconder bitki ürünleridir (Procházková ve ark., 2011). Flavonoidlerin yoğunlukları bitkiden bitkiye değişmekle beraber aynı bitkinin farklı organlarında bile farklılık gösterebilir (Sultana ve Anwar, 2008). Bitkilerde bulunan flavonoid içeriği ışık, sıcaklık, mineral beslenme, patojenler, mekanik hasar, bitki büyüme düzenleyicileri gibi farklı nedenlerden etkilenebilmektedir (Dinelli ve ark., 2006). Flavonoidler besin olarak kabul görülmemesine rağmen bitkilerde sahip olduğu fizyolojik rollerinin yanında insan diyetinin de önemli bir bileşeni olmuştur (Procházková ve ark., 2011).

Flavonoidler, fenolik bir bitki bileşeni grubudur. Şimdiye kadar 6000 civarı flavonoid çeşidi tanımlanmış olmakla beraber diyet olarak bakıldığında önemli olanlarının sayısı çok daha azdır. Flavonoidlerin biyoaktif potansiyele sahip olduğu uzun zamandır bilinmesine karşın yakın tarihe kadar biyoyararlanımları, metabolik sonuçları ve sağlığa etkileri hakkında sınırlı bilgiler bulunmaktaydı. 1990’lı yıllarıyla beraber bu bileşiklere olan ilgi artmıştır (Erlund, 2004).

Flavonoidler, meyve, sebze, sert kabuklu yemiş, çay ve şarap gibi bitkisel kökenli içeceklerde bulunmaktadır (Boots ve ark., 2008). Birkaç alt gruba ayrılır ve bu alt gruplara ait flavonoidlerin biyolojik ve kimyasal özellikleri birbirinden oldukça farklıdır (Erlund, 2004). Bazı kaynaklara göre 5, bazı kaynaklara göre de 6 alt sınıfa ayrılmıştır. Yapılan bir çalışmada flavonoidler; flavonoller, flavonlar, flavononlar, flavon-3-oller ve anthosiyanidinler olarak 5 alt guruba ayrılmıştır (Neuhouser, 2004). Ancak diğer bazı araştırmalarda ise flavonoidler, flavonoller, flavononlar, kateşinler, flavonlar, antosiyanidinler ve izoflavonoidler olarak 6 alt guruba ayırmışlardır (Erlund, 2004; Li ve ark., 2016).

Kuersetin ilk olarak 1936 yılında Nobel Fizyoloji / Tıp Ödülü sahibi olan fizyolog Albert Szent-Györgyi de Nagyrápolt tarafından izole edilmiş doğal bir flavonoiddir (Almalki ve ark., 2017; Sha ve ark., 2017). Toplam alınan flavonoidlerin %60-%75’ini oluşturmaktadır (Bouktaib ve ark., 2002; Suganthi ve ark., 2016).

“Kuersetin” adı latince “meşe ormanı” anlamına gelen Kuercetum’dan gelmektedir (Li ve ark., 2016; Suganthi ve ark., 2016; Almalki ve ark., 2017).

Kuersetin için Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) terminolojisi 3, 31, 41, 5, 7-pentahidroksifloron veya eş anlamlı 3, 31, 41, 5, 7-pentahidroksi-2-fenilkromen-4-on’ dur. Bu aynı zamanda, kuersetin’ in 3, 5, 7, 31 ve 41 pozisyonlarına eklenmiş bir OH (hidroksil) grubuna sahip olduğu anlamındadır (Li ve ark., 2016). Kuersetin’ in benzersiz yapısı, güçlü antioksidan etkisinden sorumludur. Bir γ -piron halkası ve 5 hidroksil grubu ile bağlanan iki aromatik halkadan (A ve B) oluşur (Buchweitz ve ark., 2016).

Kuersetin’ in şekerli olan yapısına aglikon denir. Bunun rengi sarıdır. Soğuk suda çözünmez ancak aglikonun sıcak sudaki çözünürlüğü çok zayıftır. Buna karşın alkol ve yağda iyi çözünmektedir (Li ve ark., 2016; Ulusoy ve Sanlier 2020). Kuersetin’ in glikozit yapısı, bir OH grubu yerine bir glikozil grubunun eklenmesiyle oluşturulur. Bir glikozil grubunun varlığı, kuersetin aglikona kıyasla suda çözünürlüğünü arttırmaktadır (Kelly, 2011; Ulusoy ve Sanlier, 2020).

Kuersetin’ in diyet formu, kuersetin’ in suplement formundan farklıdır. Her iki formun aynı biyolojik etkilere sahip olup olmadığı ile ilgili henüz bir netlik bulunmamaktadır. Rastgele, çift kör ve çapraz olarak yapılan çalışmada, 47 mg kuersetin glikozid içeren 100 g kırmızı soğan ve 554 mg kuersetin aglikon içeren bir suplement, 6 sağlıklı olan yetişkin erkek deneğe 3 gün aralıklarla uygulama yapılmıştır. Çalışma sonucunda kuersetin’ in 24 saatlik idrar atılımında her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla beraber, 166 mg kuersetin suplementinin soğandaki 10 mg kuersetin aglikona eşdeğer olduğu tespit edilmiştir (Shi ve Williamson, 2015; Ulusoy ve Sanlier, 2020).

Kuersetin sahip olduğu yapısı ile antioksidan, antiinflamatuvar, antihipertansif, antiobezite, antihiperkolesterolemik, antiaterosklerotik, antiapoptotik, antihistaminik, antiagregant, vazodilatör, antikanser ve nöroprotektif gibi özelliklere sahiptir (Erlund, 2004; Raygude ve ark., 2012; Ulusoy ve Sanlier, 2020). Kuersetin, kuvvetli bir antioksidan, serbest radikalleri temizleyici ve lipid peroksidasyon inhibitörü olduğundan kanser ve kalp damar hastalıklarının önlenmesinde de kullanılmaktadır (Gholami ve

ark., 2017). Bu etkilerinin mekanizması net olarak bilinmemekle beraber birkaç farklı biyokimyasal etkiye dayandığı düşünülmektedir. Örneğin antioksidatif etkisi, metal şelasyonunun, radikallerin temizlenmesinin, enzim inhibisyonunun ve koruyucu enzimlerin ekspresyonunun indüksiyonunun bir neticesi olabilir. Diğer taraftan antikarsinojenik etkisi, enzim inhibisyonundan, antioksidasyondan veya gen ekspresyonu üzerindeki etkilerinden kaynaklanabilir. Antiinflamatuvar etkisinin altındaki neden de değişmiş gen ekspresyonu yatabilir (Erlund, 2004). Yapılan bir çalışmada kuersetin' in dejenere olmuş nöronların immunoreaktivitesini azalttığı (Unsal ve ark., 2015) ve yangısal yanıtları inhibe ederek nöronal iyileşmeye destek sağladığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2015; Wang ve ark., 2018).

Kuersetin, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin yanında kalp arterlerinin dilatasyonu, kan basıncı ve anti platelet agregasyonunu düşürmek gibi farmakolojik etkilerinden dolayı kalp damar hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde de kullanılır. Kuersetin' in ayrıca interlökin IL-1'i önemli ölçüde inhibe ettiği bildirilmiştir (Oh ve ark., 2015).

Kuersetin' in yara iyileşmesinde birçok rolü olan VEGF ve TGF β -1 ekspresyonlarını arttırdığı, TNF- α ekspresyonunu da düşürdüğü görülmüştür. Bununla beraber yangı hücrelerinin sayısını azalttığı, fibroblastların çoğalmasını ve küçük damar yoğunluğunu arttırdığı, yeniden epitelizasyonu ve kollajen birikimini de regüle ettiği belirtilmiştir. Ayrıca, insülin direnci ve duyarlılığını da artırabilir. Kuersetin' in, Tip 2 diyabet semptomlarını düzenlemek için TNF- α ' yı inhibe ettiği, iskelet kası hücrelerinin glikoz alımını ve insülin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir. Kuersetin' in diyabetli sıçanlarda yara iyileşmesi aşamasında skar oluşumunda IL- 10, VEGF ve TGF- β 1 ekspresyonunu artırarak yara kapanma hızını arttırdığı tespit edilmiştir (Chittasupho ve ark., 2021). Hayvan alerjisi modelinde, kuersetin' in alerji tepkisini azalttığı ortaya konulmuştur (Zhao ve ark., 2021).

Kuersetin' in anti viral etkisi giderek daha popüler hale geldi. Bir antioksidan veya anti- inflamatuvar olarak kullanımını geride bıraktı. Kuersetin, COVID-19 hastalığı için çok kullanılan bir antiviral madde olmuştur. COVID- 19' a karşı etki gösteren maddelerden kuersetin, ivermectin ile beraber en etkili maddelerden biri olarak sıralanmıştır. Kuersetin, proinflamatuvar sitokin üretimini ve lökotrien oluşumunu ayrıca

histamin salınımını da inhibe etmesi ile alerji semptomlarını hafifletir. Kuersetin, oksidatif strese karşı vücudu koruyan ve nöro proteksiyon geliştiren tioredoksin adlı protein ekspresyonunu da düzenler (Javadinia ve ark., 2021).

Son yıllarda oftalmolojide yapılan çalışmalarda, kuersetin' in kuru göz, IgE bağlantılı alerjik konjonktivit ve mavi ışık etkisine bağlı retina dejenerasyonu üzerindeki etkileri ortaya çıkmıştır. Kuersetin' in lokal uygulamaları, kornea' nın düzensizliğini azaltıp, gözyaşı miktarını ve goblet hücre sayısını arttırarak kuru göz hastalığına bağlı oküler yüzey travmalarının iyileşmesine katkı sağlar (Ho ve ark., 2020). Kuersetin' in, orbital fibroblastlarda ve hepatositlerde anti fibrotik ve anti oksidan özellikler ortaya koyduğu belirtilmiştir. Bu nedenle kuersetin, fibrotik hastalıkların tedavisinde fayda sağlayabilecek potansiyel bir antifibrotiktir (McKay ve ark., 2015).

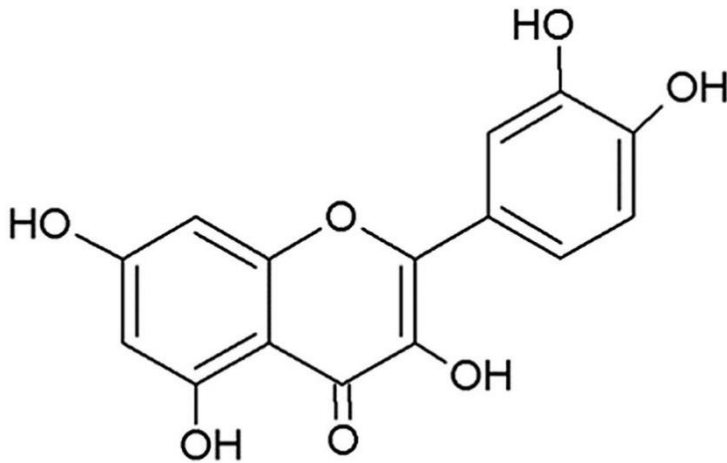
Keratokonus, görmeyi ciddi şekilde bozan oküler bir hastalıktır. Keratokonuslu hastalarda, kornea hücre dışı matriksi kaybolur, laktat önemli ölçüde yükselir ve kornea yavaş yavaş incelerek öne doğru çıkıntı yapar. İleri evrelerde, akut kornea ödemi, kornea skarlaşması, ciddi görme kaybı görülür. Sonunda bu durum kornea nakli tedavisi gerektirir. Şu anda, hücre dışı matriks kaybını tersine çevirmek, geri yüklemek veya normal stromal benzeri bir kornea üretmek için bir yöntem yoktur (Sharif ve ark., 2018). Kuersetin' in antioksidan ve antifibrotik aktiviteleri, keratokonus ve diğer fibrozis ile ilişkili hastalıklarda skarlaşmayı azaltmaya yardımcı olur. Keratokonuslu hastalarda kollajen mekanik özelliklerinin, kollajen yapısının ve kollajen-ligaz aktivitesinin bozulması, hücre dışı matriks düzeneğinin değişmesine ve kornea yapılarının kusurlu olmasına neden olabilir. Ek olarak, enerji metabolizması yollarındaki değişiklikler, hücrelerde büyük miktarda laktat birikmesine yol açabilir (De Azevedo Magalhães ve ark., 2021).

Kuru göz hastalığı (KGH), görme bozukluklarına neden olarak yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyen kronik bir oküler yüzey bozukluğudur. KGH' nın çeşitli semptomları hastanın günlük yaşamını etkileyebilir (Rouen ve White, 2018; Markoulli ve Hui, 2019). Araştırmacılar tarafından kuru gözlü fare modellerinde KGH tedavisini iyileştirmek için bazı çabalar sarf edilmiştir. Kuersetin' in topikal uygulaması, kornea yüzey düzensizliğini azaltabilir ve kuru gözün oküler yüzey bozukluklarını iyileştirmek

için gözyaşı hacmini ve kadeh hücre yoğunluğunu artırabilir. Ek olarak, kuersetin' in lakrimal bezin fonksiyonel birimleri üzerindeki anti-enflamatuar etkileri de KGH tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (Oh ve ark., 2015).

Kataraktın patogenezi karmaşıık olup beslenme, metabolizma, evre ve kalıtım gibi birçok faktörle ilişkilidir. Epidemiyolojik alışmalar, radyasyona maruz kalma, vücut hasarı, hipertansiyon, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, sigara içme ve ařırđ alkol tüketiminin katarakt oluşumu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Liu ve ark., 2017). Günümüzde kataraktın patogenezinde serbest radikal hasarı, lens epitel hücrelerinin ařırđ apoptozu ve lens proteinlerinin hasar görmesi önemli bir rol oynamaktadır (Patil ve ark., 2019). Çok sayıda in vitro çalışma ve hayvan modeli, kuersetin' in antioksidan ve şelatlama özelliklerinin, lensi oksidatif hasardan koruyabileceğini ve katarakt oluşumunu önleyebileceğini göstermiştir. Kuersetin ve metabolitleri, lensin penetrasyon iyon dengesini, protein seviyelerini ve řeffaflđđđđ koruyabilir (Ferlemi ve ark., 2016).

Kuersetin, güçlü antioksidan, anti-enflamatuar, immunomodülatör, anti-kanserojen, vasküler koruma, nöroproteksiyon ve diğer biyolojik aktiviteleri nedeniyle oftalmoloji alanında yaygın olarak arařtırđlıp çalışılmaktadır. Oftalmik hastalıklar için potansiyel etkili bir terapötik ilaç olarak hareket etmesi beklenmektedir. Bununla birlikte, çoğu çalışma in vitro ve in vivo (hayvan modelleri ile) deneylere odaklanmıştır (Di Petrillo ve ark., 2022).



şekil 4. Kuersetin' in kimyasal yapısı (Micek ve ark., 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 23/12/2021 tarih ve 2021/12-25 sayılı karar numarası ile izin alınarak başlandı. Çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yürütüldü. Histopatolojik ve immunohistokimyasal analizler Van YYÜ Tıp Fakültesi Histoloji, biyokimyasal analizler ise Van YYÜ Sağlık Meslek Yüksek Okulu Biyokimya laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1. Hayvan Materyali

Çalışmada, ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, 64 adet erişkin Wister Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Ratların ortama uyum sağlaması için çalışma başlamadan 1 hafta önce deney ortamına yerleştirildi. Çalışma öncesi tüm ratların göz muayeneleri oftalmoskoplara yapılarak, kornealarının sağlıklı olup olmadığına bakıldı. Muayene sonucu sağlıklı gözlerle sahip ratlar çalışmaya dahil edildi. Hayvanlar ad-libitum olarak beslendi ve günlük olarak taze su verildi. Ratlar 12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde, $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ derece sıcaklıkta, %50-60 nem oranına sahip ısı ve nem kontrollü ortamlarda barındırıldı. Çalışma boyunca ratlar üst kısmı tel ızgaralı, refaha uygun, sert ve şeffaf polikarbon kafeslerde barındırıldı (Şekil 5).



Şekil 5. Hayvanların barındırıldığı ortam.

3.2. Çalışmada Kullanılan Sarf Malzemeleri, Test Kitleri ve Kimyasallar

Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri, test kitleri ve kimyasallar Tablo1’ de sunulmuştur.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri, test kitleri ve kimyasal maddeler.

Ksilazin HCl	Rompun %2, Bayer, İstanbul, Türkiye
Ketamin HCl	Ketasol %10, İnterhas, Ankara, Türkiye
İsofloran	Isoflurane USP %100, Adeka, Samsun, Türkiye
Proparacain HCl	Alcaine %0.5 Alcon Laboratories, İstanbul, Türkiye
DMSO	Merck, 116743, Germany
NaOH	Merck, 106498, Germany
PBS	Tek-Path, İstanbul Türkiye
Serum fizyolojik	Polifleks, Polifarma, İstanbul, Türkiye
Kuersetin	Sigma-aldrich, 04951, Steinheim, Germany
Floresein strip kağıdı	ERC, Ankara, Türkiye
Whatman filtre kağıdı	Sigma-aldrich, 1003-323, Steinheim, Germany
Disposable enjektör	Beybi, İstanbul Türkiye
Damlalık	Koçak, İstanbul, Türkiye
Deney tüpü	İsolab
Ependorf	İsolab
Hidrofil pamuk	İpek, İstanbul, Türkiye
Gazlı bez	Dermateks, İstanbul, Türkiye
VEGF elisa test kiti	BT Lab, E0659Ra, Zhejiang, China
TGF- β elisa test kiti	BT Lab, E1688Ra, Zhejiang, China
TNF- α IHK kiti	Bios, bs-2081R, Massachusetts, USA
Kaspaz-3 IHK kiti	Bios, bs-0081R, Massachusetts, USA
IL-6 IHK kiti	Bios, bs-0782R, Massachusetts, USA

3.3. Çalışmada Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar Tablo 2’ de sunulmuştur.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar.

Fotoğraf makinesi	Canon EOS 200D
Kobalt mavisi ışık kaynağı	PerLED
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu (-80 °C)	Panasonic
Santrifüj cihazı	Nüve-NF 1200 R
Hassas terazi	Kern- ABJ 220-4NM
Elisa okuyucu	BiotekELx 800
Homojenizatör	Isolab
Otomatik pipet	Isolab
Pens	Bahadır
Makas	Bahadır
Anestezi cihazı	Desco

3.4. Çalışmada Kullanılan Damlalar

Çalışmada tedavi amacıyla; %0.1, %0.5 ve %1’ lik kuersetin solüsyonları kullanıldı (Şekil 6). Kuersetin (Sigma-aldrich, 04951, Steinheim, Germany), %5’ lik DMSO içerisinde çözdürüldü. %5’lik DMSO çözeltisini hazırlamak için 5 kısım saf DMSO, 95 kısım PBS karıştırılarak hazırlanan solüsyon steril renkli cam damlalıklar içerisinde +4 °C’ de muhafaza edildi ve kontrol grubu için kullanıldı.

%0.1’ lik kuersetin içeren oftalmik damla, %5’ lik DMSO içeren 10 ml çözelti içerisinde saf kuersetin’ den 10 mg kullanılarak hazırlandı. Hazırlanan solüsyon steril renkli cam damlalıklar içerisinde +4 °C’ de muhafaza edildi.

%0.5’ lik kuersetin içeren oftalmik damla, %5’ lik DMSO içeren 10 ml çözelti içerisinde saf kuersetin’ den 50 mg kullanılarak hazırlandı. Hazırlanan solüsyon steril renkli cam damlalıklar içerisinde +4 °C’ de muhafaza edildi.

%1’ lik kuersetin içeren oftalmik damla, %5’ lik DMSO içeren 10 ml çözelti içerisinde saf kuersetin’ den 100 mg kullanılarak hazırlandı. Hazırlanan solüsyon steril renkli cam damlalıklar içerisinde +4 °C’ de muhafaza edildi.



Şekil 6. Çalışmada kullanılan kuersetin.

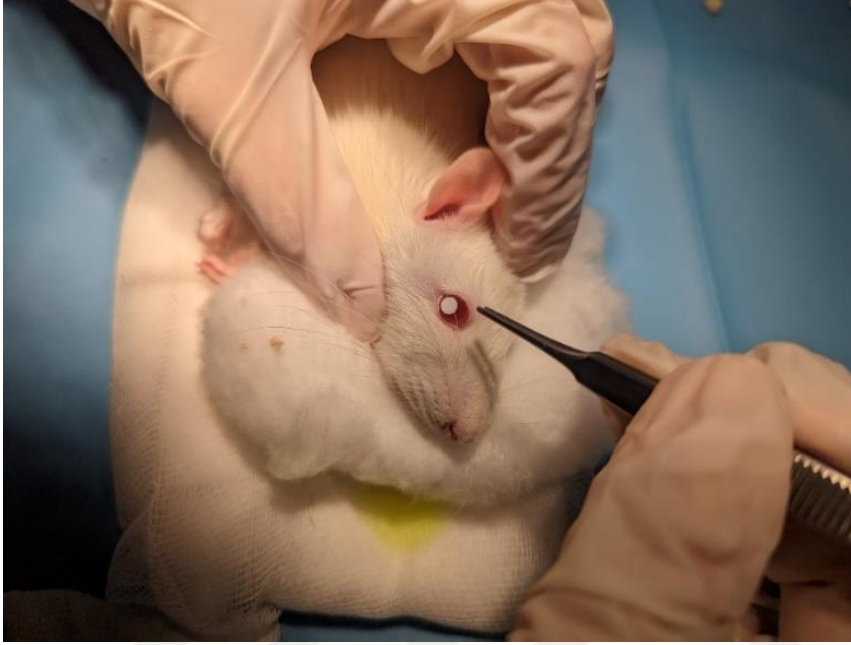
3.5. Anestezi Protokolü

Korneada alkali yanık oluşturulacak olan ratlara premedikasyon amacıyla 8 mg/kg dozunda ksilazin hidroklorid (Rompun %2, Bayer, İstanbul, Türkiye) ve genel anestezi amacıyla 80 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid (Ketasol %10, İnterhas, Ankara, Türkiye) periton içi uygulandı. Genel anestezi altındaki ratların alkali yanık oluşturulacak sağ gözlerine lokal anestezi ve korneal analjeziyi sağlamak amacıyla 1-2 damla proparakain hidroklorür (Alcaine %0.5, Alcon Laboratories, İstanbul, Türkiye) damlatıldı.

3.6. Korneada Deneysel Alkali Yanık Oluşturma

Anestezi protokolü uygulandıktan sonra, asepsi-antisepsi kurallarına uyularak ratlar operasyon masasına sağ gözü üstte kalacak şekilde yan yatırılarak tespit edildi. 25 µl 1 N NaOH emdirilmiş 3 mm çaplı Whatman #3 filtre kağıdı diskleri pupilla ortalanarak kornea merkezine steril bir penset yardımıyla yerleştirildi ve 1 dakika süreyle burada tutuldu. Ardından diskler uzaklaştırıldı ve kornea yüzeyi 1 dakika boyunca 20 ml serum fizyolojik (Polifleks %0.9 İzotonik sodyum klorür, Polifarma, İstanbul, Türkiye) ile yıkandı. Daha sonra sırasıyla; lezyonlar fotoğraflandı, floresein

boyama yapıldı, lezyonların boyama sonrası tekrar fotoğrafları çekildi, klinik değerlendirme skalaları uygulandı ve grupların sağaltım protokollerine başlandı. Ratların sağ gözlerinde alkali ajanla korneada sınırlı lezyon oluşturulan gün, 0. gün olarak kabul edildi (Şekil 7).



Şekil 7. Rat korneasında alkali yanık oluşturulması.

3.7. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve Tedavi Protokolü

Sağ kornealarında alkali yanık oluşturulan ratlar rastgele her bir grupta 16 rat olacak şekilde 4 ana gruba ayrıldı. Bu gruptaki hayvanlar 7 ve 14. günlerde sakrifiye edilmek üzere kendi arasında her bir grupta 8 hayvan olacak şekilde rast gele 2 alt gruba ayrıldı.

K grubu=kontrol grubu (n=16): Kuersetin' in çözündürüldüğü taşıt madde olarak kullanılan DMSO' nun %5' lik solüsyonu çalışma süresince günde 3 defa birer damla olarak bu gruptaki ratların gözlerine damlatıldı.

D grubu=%0.1' lik kuersetin grubu (n=16): %0.1' lik kuersetin içeren oftalmik damla, çalışma süresince günde 3 defa birer damla olarak bu gruptaki ratların gözlerine damlatıldı.

O grubu=%0.5' lik kuersetin grubu (n=16): %0.5' lik kuersetin içeren oftalmik damla, çalışma süresince günde 3 defa birer damla olarak bu gruptaki ratların gözlerine damlatıldı.

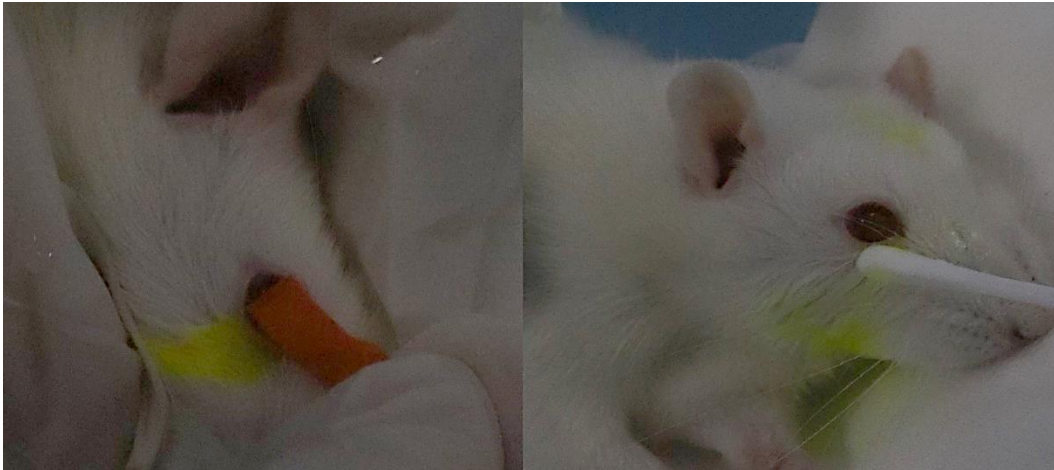
Y grubu=%1' lik kuersetin grubu (n=16): %1' lik kuersetin içeren oftalmik damla, çalışma süresince günde 3 defa birer damla olarak bu gruptaki ratların gözlerine damlatıldı.

3.8. Klinik Değerlendirme

Korneada alkali yanık oluşturulduktan sonra çalışmanın 0, 3, 7 ve 14. günlerinde, grupların ilaç uygulamaları dikkate alınarak günün belirli saatlerinde (08:00-12:00) göz muayeneleri yapıldı. Bu amaçla ratlar isoflurane inhalasyon anestezisi ile anestezi kutusunda genel anestezide alındı. Anestezide giren hayvan anestezi kutusundan çıkarılarak rutin göz muayenesiyle birlikte sırasıyla; fotoğraflama, floresein boyama, boyama sonrası tekrar fotoğraflama ardından kobalt mavisi ışık kaynağı altında yeniden fotoğraflama işlemleri yapıldı.

3.8.1. Floresein boya uygulaması

Gruplardaki tüm ratlara 0, 3, 7 ve 14. gün olmak üzere 4 defa floresein strip kağıdı (ERC Floresein Sodyum Strip) ile boya uygulaması yapıldı. Ardından boyanan gözler serum fizyolojik ile yıkanarak gözün çevresindeki fazla boyalar temizlendi (Şekil 8).



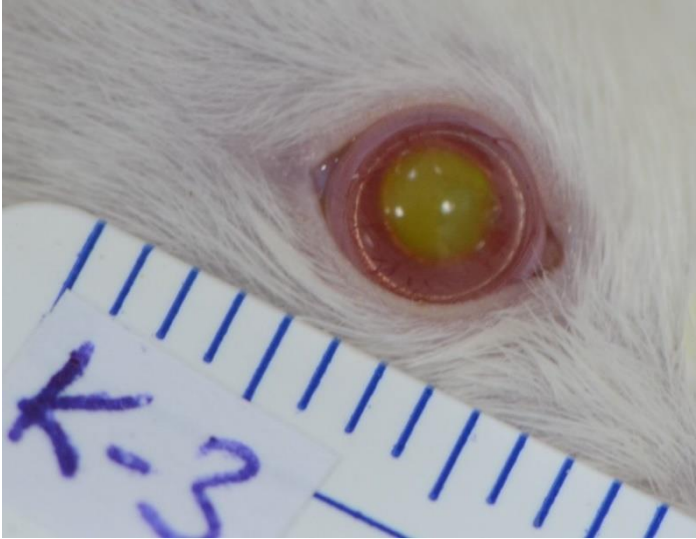
Şekil 8. Floresein boya uygulaması.

3.8.2. Fotoğrafların çekilmesi

Tüm ratlarda alkali yanık oluşturulduktan hemen sonra ve floresein boya uygulamasını takiben hem normal hem de kobalt mavisi ışık kaynağı altında gözün kenarına şerit şeklinde kağıt cetvel yerleştirilerek dijital yüksek çözünürlüklü fotoğraf makinesi ile fotoğrafları çekildi. Fotoğrafların tüm hayvanlarda aynı mesafeden ve aynı açıdan çekilmesine özen gösterildi (Şekil 9, 10).



Şekil 9. Çalışmada kullanılan kobalt mavisi ışık kaynağı.



Şekil 10. Floresein boyama sonrası korneal lezyonun görünümü.

3.8.3. Korneal neovaskülarizasyonun değerlendirilmesi

Fotoğraflar bilgisayar ortamında Ammassam Veettil ve ark. (2023) kullandığı korneal neovaskülarizasyon skorlaması modifiye edilerek oluşturulan aşağıdaki korneal neovaskülarizasyon skorlaması baz alınarak 3 farklı gözlemci tarafından değerlendirilerek ortalamaları kayıt altına alındı.

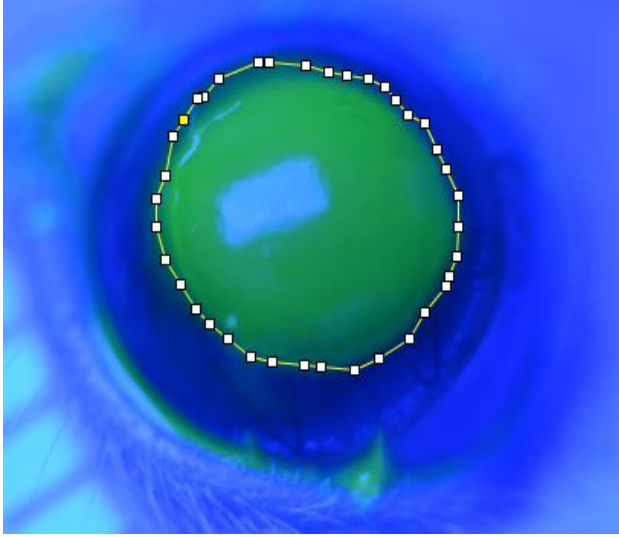
Tablo 3. Neovaskülarizasyon skorlaması.

0= Neovaskülarizasyon yok	: Limbus da damar yok.
1= Hafif neovaskülarizasyon	: Limbustan kaynaklanan yeni damarlar var
2= Orta derecede neovaskülarizasyon	: Limbustan kaynaklanan ve korneanın merkezine doğru hafif ilerleyen damarlar var.
3=Yoğun neovaskülarizasyon	: Limbustan kaynaklanan ve korneanın merkezine yaklaşan damarlar var.
4= Şiddetli neovaskülarizasyon	: Limbustan kaynaklanan ve korneanın merkezine ulaşan damarlar var.

3.8.4. Korneal epitel defekt alanının ölçümü

Korneanın floresein ile boyanan kısımları, korneal epitel defekt alanları olarak kabul edildi. Floresein boyama, test stripleri kullanılarak yapıldı. Fotoğraflar, dijital fotoğraf makinesiyle tüm hayvanlarda aynı mesafeden ve aynı açıdan çekilmesi için özen gösterildi. Fotoğrafları çekerken görüntü analiz programına referans olarak tanıtılması amacıyla fotoğraf alanının içine girecek şekilde yerleştirilen şerit şeklinde kağıt cetveller kullanıldı. Bilgisayar ortamına aktarılan bu görüntülerdeki korneal epitel defekt alanları (mm^2), İmage J (Image Processing and Analysis in Java) adlı görüntü analiz programıyla ölçüldü (Şekil 11). Ardından tüm gruplarda korneal epitel defekt alanların yüzdelik kapanma oranı aşağıdaki formüle göre hesaplandı (Wang ve ark. 2021). Ölçüm değerleri, farklı gözlemciler tarafından yapılan 3 ölçümün ortalaması alınarak elde edildi (Şekil 11).

% Reepitelizasyon	0. gün ölçülen alan (mm^2)	-	3. 7. veya 14. gün ölçülen alan (mm^2)	X 100
	0. gün ölçülen alan (mm^2)			



Şekil 11. Korneal epitel defekt alanının image J programı ile ölçümü.

3.9. Biyokimyasal Değerlendirme

Kornea dokuları -80 °C derecede muhafaza edildikleri derin dondurucudan çıkartılıp çözündürüldükten sonra tartıldı. Küçük parçalara ayrıldıktan sonra 9 katı PBS (pH 7,4) içinde homojenizatör ile homojenize edildi. Ardından homojenatlar 5000×g'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi.

3.9.1. VEGF düzeyinin ölçülmesi

VEGF düzeyleri ELISA kit (Cat.No: E0659Ra) uygulama protokollerine uygun olarak yapıldı. Optik yoğunluk, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen değer, VEGF konsantrasyonu ile doğru orantılı saptandı. Numunelerin optik yoğunluğu standart eğri ile karşılaştırılarak VEGF konsantrasyonu pg/ml cinsinden hesaplandı.

3.9.2. TGF- β düzeyinin ölçülmesi

TGF- β düzeyleri ELISA kit (Cat.No: E1688Ra) uygulama protokollerine uygun olarak yapıldı. Optik yoğunluk, 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen değer, TGF- β konsantrasyonu ile doğru orantılı saptandı. Numunelerin optik yoğunluğu standart eğri ile karşılaştırılarak TGF- β konsantrasyonu pg/ml cinsinden hesaplandı (Şekil 12).



Şekil 12. Biyokimya laboratuvarında biyokimyasal analiz çalışması.

3.10. Histopatolojik Değerlendirme

Sıçanların sağ gözlerinde korneal alkali yanık oluşturulduktan sonraki 7 ve 14. günlerde her bir ana gruptan rastgele seçilen 4 adet sıçan genel anestezi altında sakrifiye edilerek sıçanlardan alınan göz dokuları %10'luk tamponlu formaldehit içerisinde fikse edildi. Rutin histolojik doku takip aşamalarından geçirilen göz dokuları parafine gömüldü. Parafine gömülen dokulardan mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alınarak histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Boyanan doku kesitleri Olympus DP74 kamera ataçmanlı ışık mikroskopunda (Olympus BX53, Japonya) incelenerek korneadaki histopatolojik incelemede epitel doku kaybı, neovaskülarizasyon ve kollajen lif kaybı kesitler histopatolojik özelliklerine göre (-) yok, (+) hafif, (++) orta ve (+++) şiddetli olarak skorlanarak değerlendirildi.

3.11. İmmunohistokimyasal Değerlendirme

Çalışma sonunda sıçanlardan alınan göz dokuları, %10'luk tamponlu formaldehit çözeltisinde 48 saat boyunca tespit edildikten sonra, rutin histolojik takip aşamalarının ardından parafin içerisine gömülerek blok haline getirildi. Parafin içerisine gömülen bloklardan mikrotom ile 5 µm kalınlığında adhezivli (poly-L-Lysin) kaplı lamlara kesitler alındı. Lam üzerine alınan dokular deparafinizasyon işlemi için lam taşıma sepetlerine yerleştirildi ve ardından İHK boyama aşamaları uygulandı (Tablo 4). Çalışmada immünohistokimyasal değerlendirmeler için ticari firmasından temin edilen

Kaspaz-3 (Bios, bs-0081R, Massachusetts, USA), TNF- α (Bios, bs-2081R, Massachusetts, USA) ve IL-6 (Bios, bs-0782R, Massachusetts, USA) primer antikorları kullanıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirmelerde ışık mikroskobu kullanıldı (Olympus BX53, Tokyo, Japan). Ekspresyon şiddetleri boyanmanın yoğunluğuna göre; negatif (-), zayıf (+), orta (++) ve güçlü (+++) olarak belirlendi. IHK boyama aşamaları Tablo 4’te sunulmuştur.

Tablo 4. IHK boyama aşamaları.

Dokuları etüvde (60°C) bekletme	1 saat
Ksilen 1-2-3 serilerinden geçirme	5’ er dk
Azalan alkol (%100, %96, %80, %70) serilerinden geçirme	5’ er dk
Distile su 1-2 serilerinde bekletme	5’ er dk
H ₂ O ₂ ’ de bekletme	10 dk
PBS 1-2-3 serilerinde bekletme	5’ er dk
Anti-retrival (sitrat buffer solüsyonu) ile 500 watt mikrodalga fırında kaynatma	10 dk sürelerle 2 kez kaynatma (İlk kaynatmadan sonra soğuması beklenip ikinci kez tekrar 10 dk kaynatılır)
Citrat buffer solüsyonunda soğumaya bırakılan dokuların soğuma sonrası 3 PBS serisinden geçirilmesi	5’ er dk
Dokuların etrafının Pap Pen hidrofobik doku sınırlama kalemiyle çizilmesi	
Dokuların üzerine protein blok (Large Volume Ultra V Block) damlatılması	20 dk bekleme
Dokuların 3 PBS serisinden geçirilmesi	5’ er dk

Dokuların üzerine primer antikor damlatılması (Kaspaz-3, TNF- α , IL-6)	İnkübasyon için bir gece buzdolabında +4 °C’de bekletme
PBS 1-2-3 serilerinde bekletilmesi	5’ er dk
Biyotinlenmiş sekonder antikor (Biotynitlated Goat Anti-Polyvalant) damlatılması	30 dk bekletme
PBS 1-2-3 serilerinde bekletilmesi	5’ er dk
HRP Conjugat (Streptavidin peroxidase) eklenmesi	30 dk bekletme
PBS 1-2-3 serilerinde bekletilmesi	5’ er dk
DAB’ ın doku üzerine pipetle damlatılması ve kahverengi renk görülünce preparatların hemen distile suda yıkanması	
Hematoksilende bekletilmesi	1 dk
Çeşme suyunda yıkama	
Artan alkol serilerinden geçirme (%70, %80, %96, %100)	5’ er dk
Ksilen 1 ve 2 serilerinden geçirilmesi	5’ er dk
Entellan damlatıp lamelle kapatma	

3.12. İstatistiksel Analiz

Değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Tanımlayıcı analizlerde, normal dağılıma uyan değişkenler ortalama ($\pm$ standart sapma), normal dağılıma uymayan değişkenler ise, medyan + (minimum-maksimum) değerleri verildi. Normal dağılıma uyan değişkenler One-Way ANOVA testi ile değerlendirildi, varyansların homojenitesi de test edildi.

Normal dağılıma uymayan değişkenlerde Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasında fark olup olmadığı belirlendi. Daha sonra Mann-Whitney U testi kullanılarak ikili gruplar karşılaştırıldı ve ikili kıyaslamalar yapıldı. Varyanslar eşit ise Posthoc testlerinden Bonferroni, eşit değilse Tamhane kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p<0.05$ kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmamızda 1 N NaOH ile oluşturulan korneal alkali yanığın 14 günlük çalışma süresince gözde enfeksiyon, perforasyon gibi herhangi bir komplikasyona rastlanılmadı.

4.1. Klinik Bulgular

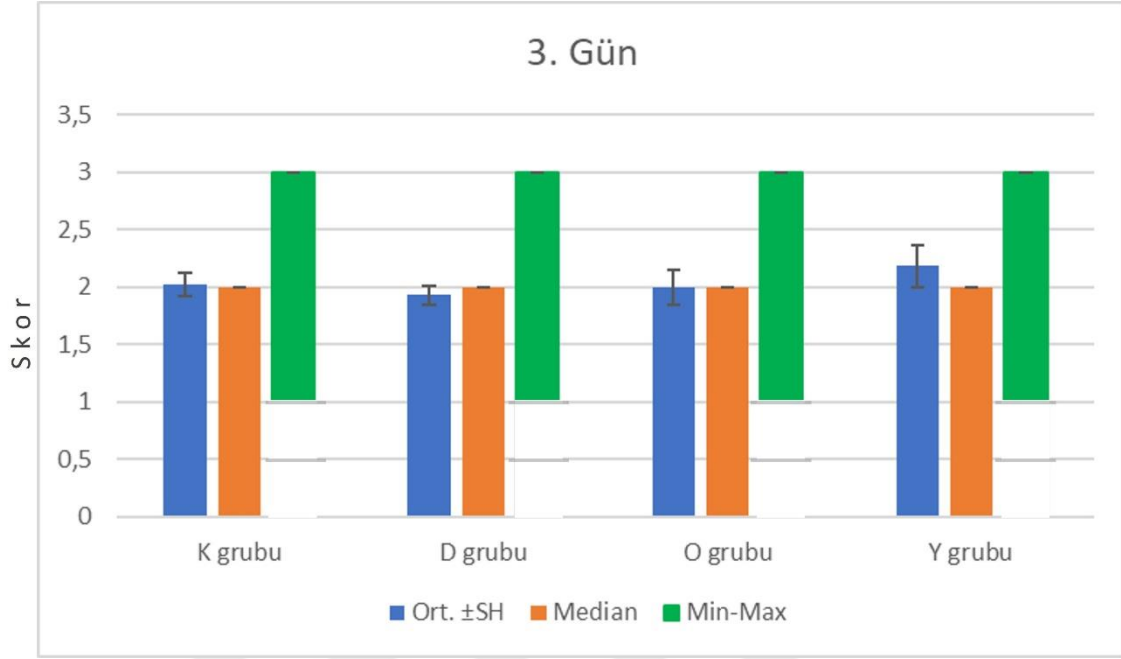
Tüm ratların gözlerinde kornea yüzeyinde alkali yanık modeli başarılı bir şekilde oluşturuldu. Korneada alkali yanık oluşturulduktan sonra çalışmanın 0, 3, 7 ve 14. günlerinde, çekilen fotoğraflar bilgisayara aktarılarak yeni damar oluşumu ile korneada şekillenen epitel defekt alanları hesaplandı.

4.1.1. Korneal neovaskülarizasyon bulguları

Korneal neovaskülarizasyonu, çalışmanın 3, 7 ve 14. günlerinde çekilen kornea fotoğrafları bilgisayar ortamına aktarılarak bilgisayar ekranından 3 farklı gözlemci tarafından 0 ile 4 arasında skorlama yapılarak değerlendirildi ve ortalamaları alındı. Elde edilen bulgular Tablo 5 ve Tablo 7’ de verilmiştir. 3. ve 7. gün bulgularında neovaskülarizasyon en az D grubunda gözlemlendi. D grubunu sırayla O, K ve Y grupları izledi. 14. gün bulgularında ise neovaskülarizasyon en az O grubunda belirlendi. O grubunu sırayla D, K ve Y grupları izledi. İstatiksel olarak gruplar kontrol grubuna göre kıyaslandığında yalnızca 7. gün de D grubunda anlamlı fark saptandı ($p<0.05$) (Tablo 6). Korneal neovaskülarizasyona ait fotoğraflar Şekil 16-19’ da sunulmuştur.

Tablo 5. 3. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.

	3. gün		
Gruplar	Ort±SH	Median	Min-Max
K grubu	2.02±0.10	2.0	1.0 – 3.0
D grubu	1.93±0.08	2.0	1.0 – 3.0
O grubu	2.00±0.15	2.0	1.0 – 3.0
Y grubu	2.18±0.18	2.0	1.0 – 3.0

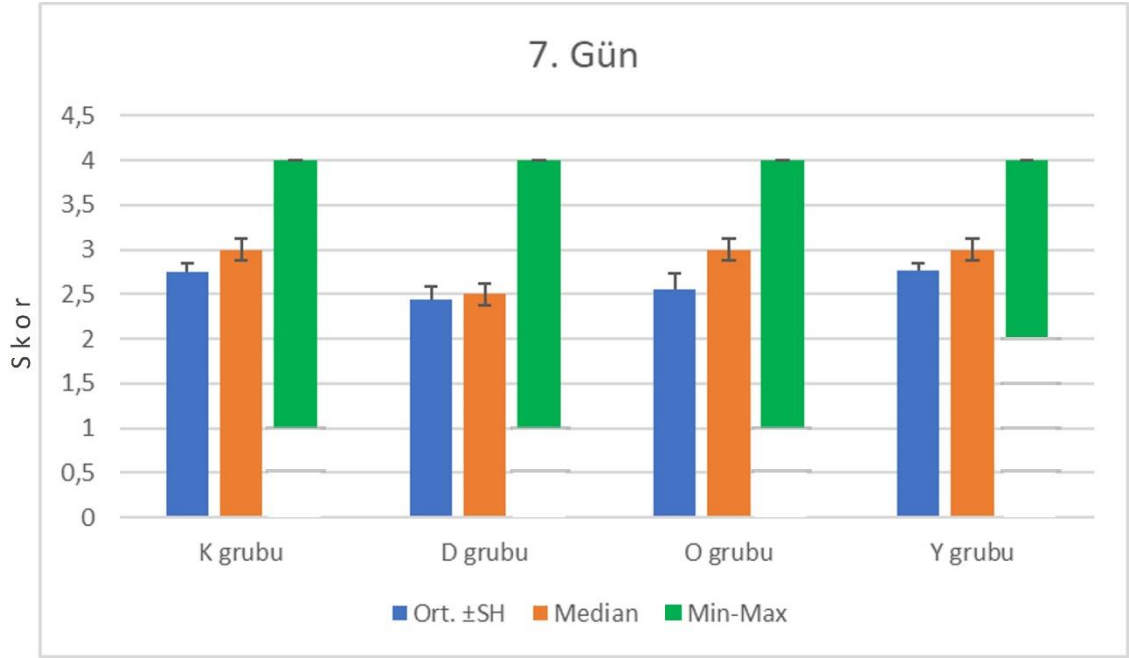


Şekil 13. 3. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.

Tablo 6. 7. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.

	7. gün		
Gruplar	Ort±SH	Median	Min-Max
K grubu	2.65±0.10	3.0	1.0 – 4.0
D grubu	2.44±0.15*	2.5	1.0 – 4.0
O grubu	2.56±0.17	3.0	1.0 – 4.0
Y grubu	2.77±0.08	3.0	2.0 – 4.0

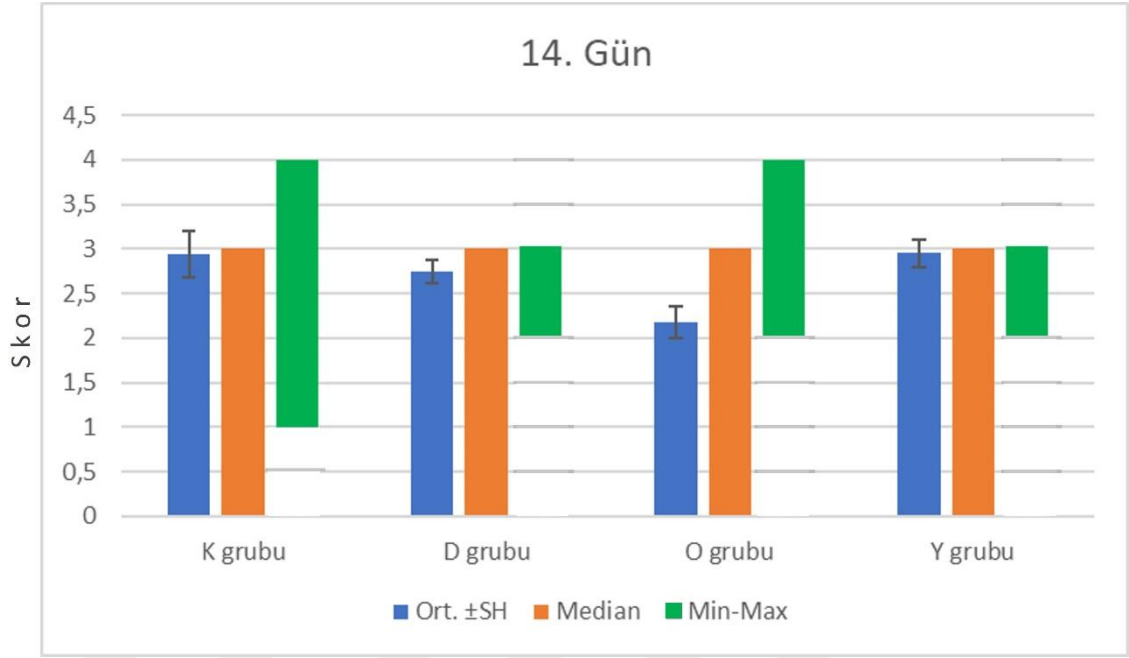
*p<0.05



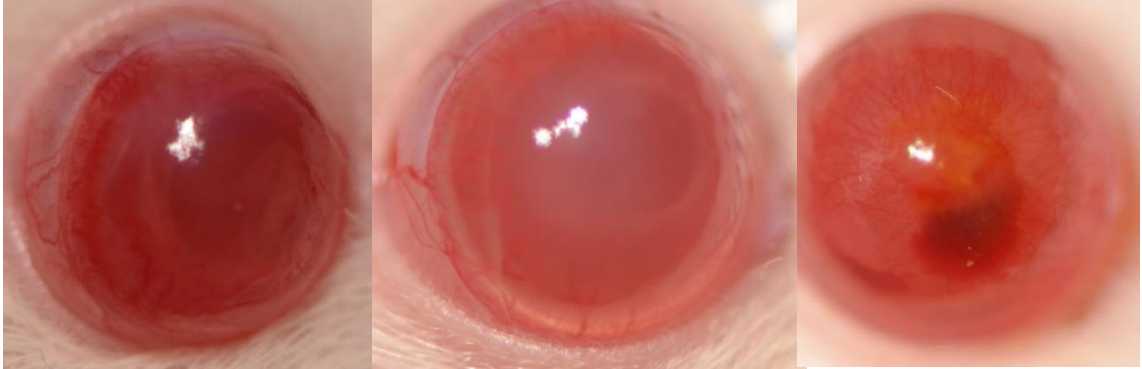
Şekil 14. 7. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.

Tablo 7. 14. gün korneal neovaskülarizasyon skorları.

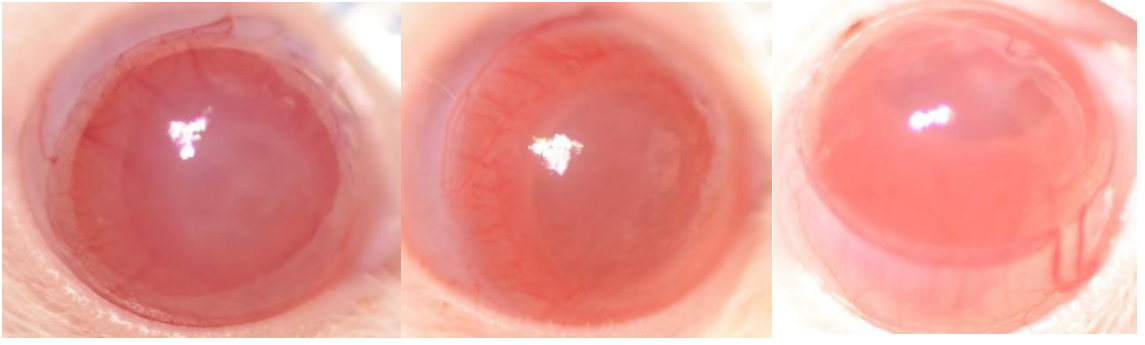
	14. gün		
Gruplar	Ort $\pm$ SH	Median	Min-Max
K grubu	2.94 $\pm$ 0.26	3.0	1.0 – 4.0
D grubu	2.75 $\pm$ 0.13	3.0	2.0 – 3.0
O grubu	2.18 $\pm$ 0.18	3.0	2.0 – 4.0
Y grubu	2,95 $\pm$ 0.16	3.0	2.0 – 3.0



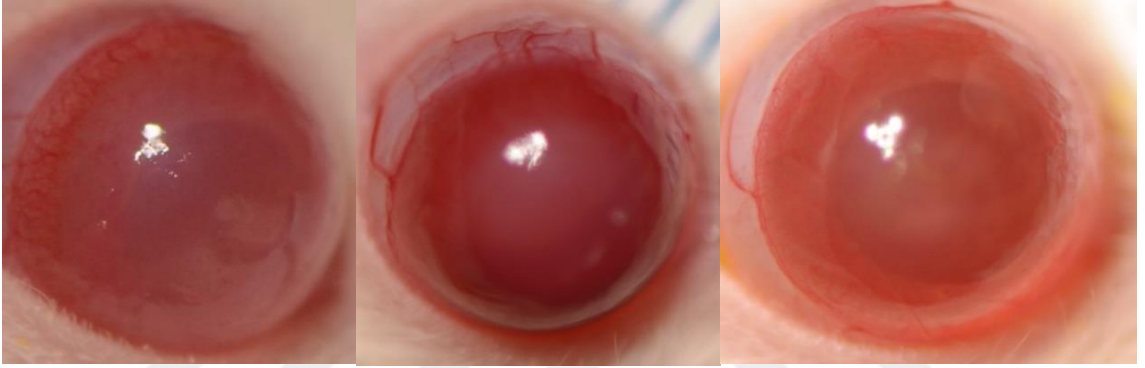
Şekil 15. 14. gün korneal neovaskülarizasyon skorları



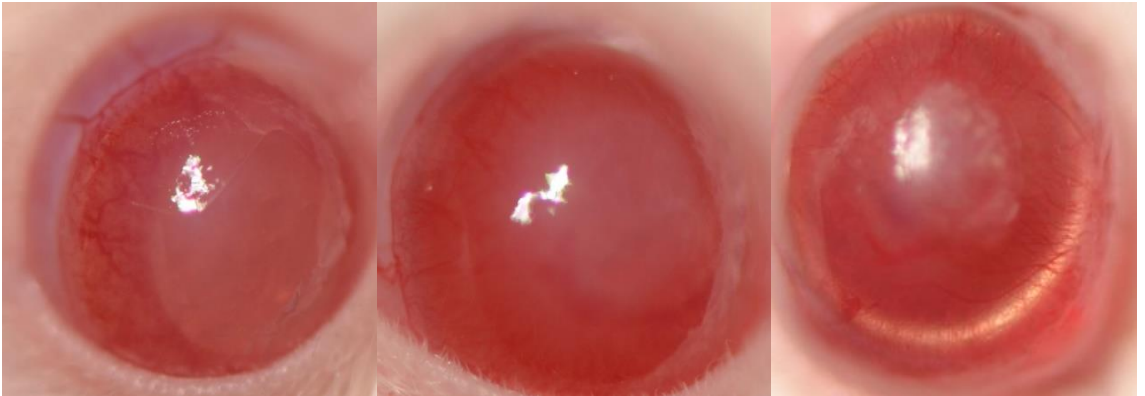
Şekil 16. K grubunda 3.,7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon



Şekil 17. D grubunda 3.,7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.



Şekil 18. O grubunda 3.,7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.



Şekil 19. Y grubunda 3.,7. ve 14. gün korneal neovaskülarizasyon.

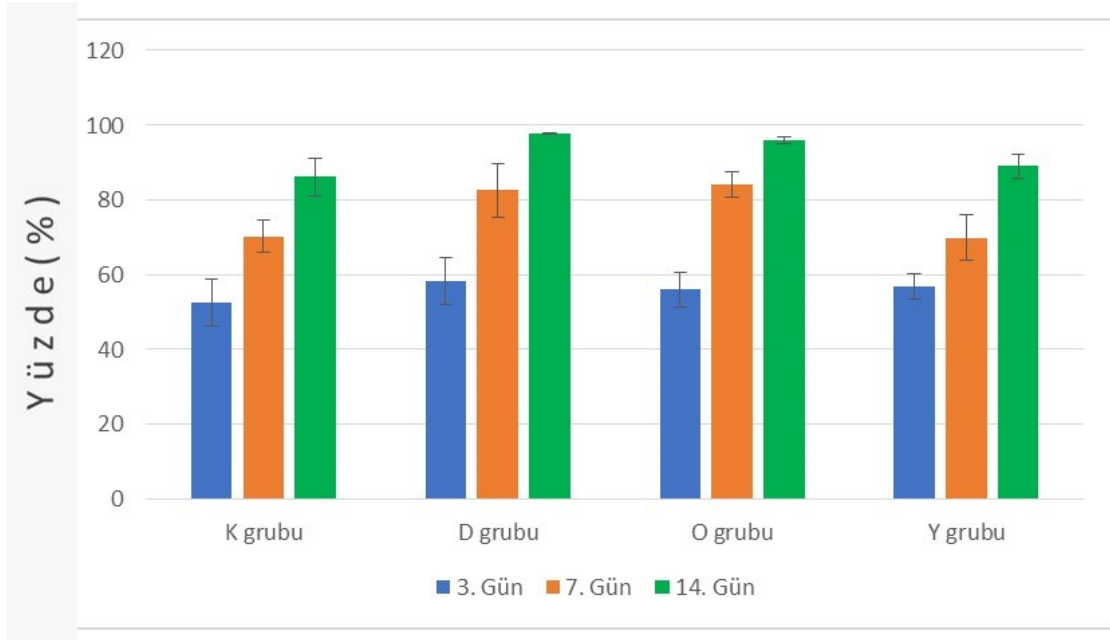
4.1.2. Korneal epitel defekt bulguları

Korneal epitel defekt alanı ölçümleri, çalışmanın 0, 3, 7 ve 14. günlerinde çekilen kornea fotoğrafları bilgisayar ortamına aktarılarak ImageJ programı ile 3 farklı ölçüm yapılarak değerlendirildi ve ortalamaları alındı. Elde edilen bulgular Tablo 8’ de verilmiştir. Çalışmanın 0. gün elde edilen ölçümlerde epitel kapanma oranı sıfır kabul edildi. Çalışmanın 3. gününde reepitelizasyon oranı çalışma grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olmadığı saptandı ($p>0.05$). 7. günde korneal reepitelizasyon oranı çalışma gruplarında kontrol grubuna göre kıyaslandığında D ve O grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). 7. günde en hızlı reepitelizasyon O grubunda gözlemlendi. O grubunu sırasıyla D, K ve Y grubu takip etti. 14. gün ölçümlerde ise reepitelizasyon oranı çalışma gruplarında kontrol grubuna göre kıyaslandığında D ve O grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). 14. günde en hızlı reepitelizasyon oranı D grubundaki ratlarda tespit edildi. D grubunu sırasıyla O, Y ve K grubu izledi. Korneal epitel defekt alanlarına ait fotoğraflar Şekil 21-24’ te sunulmuştur.

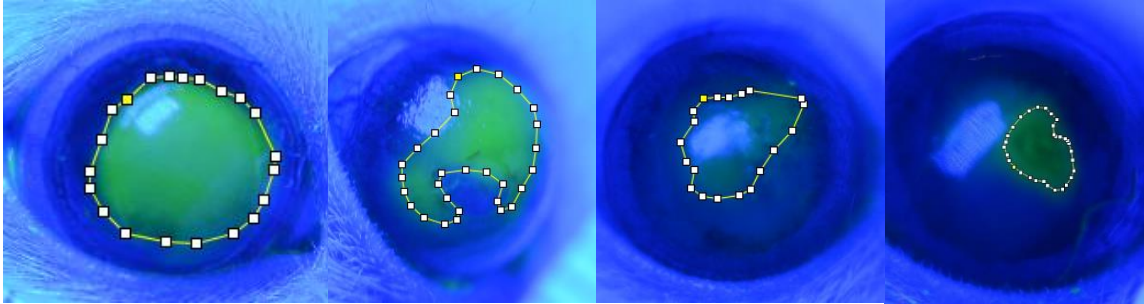
Tablo 8. Korneal reepitelizasyon oranları (%).

	3. gün	7. gün	14. gün
K grubu	52.50±6.25	70.22±4.22	86.16±5.07
D grubu	58.21±6.45	82.48±7.11*	97.74±0.25*
O grubu	55.97±4.71	84.00±3.49*	95.83±0.83*
Y grubu	56.91±3.37	69.87±6.24	89.08±3.22

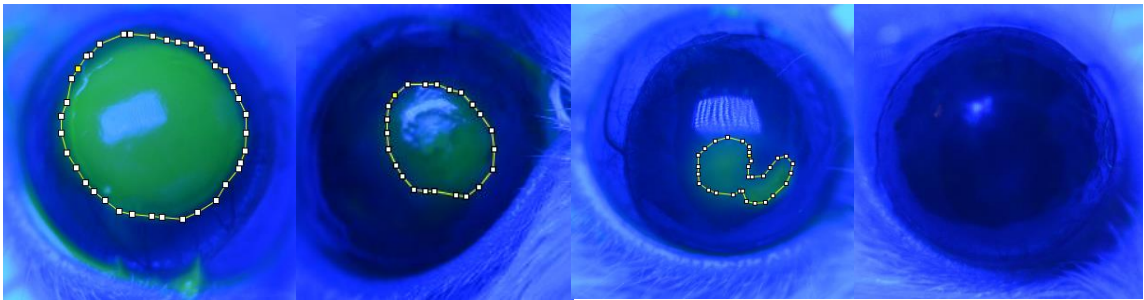
* $p<0.05$



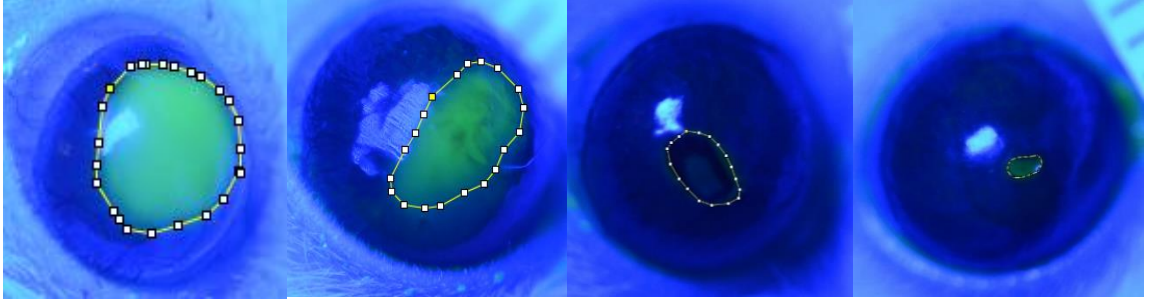
Şekil 20. Korneal reepitelizasyon oranları (%).



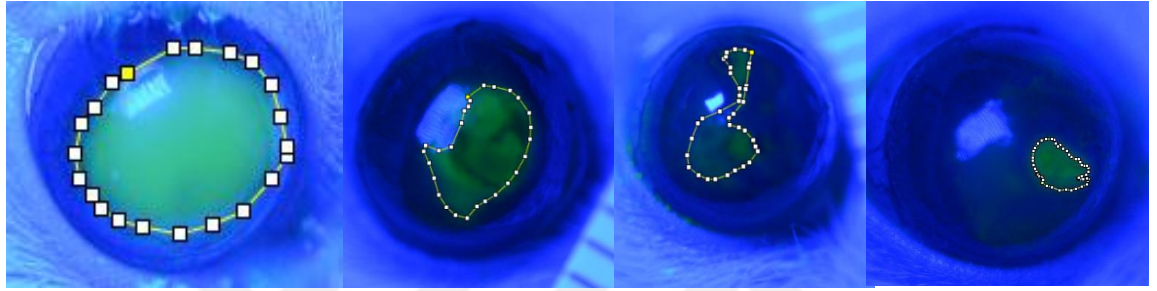
Şekil 21. K grubunda 0.,3.,7. ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.



Şekil 22. D grubunda 0, 3, 7 ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.



Şekil 23. O grubunda 0, 3, 7 ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.



Şekil 24. Y grubunda 0, 3, 7 ve 14. gün korneal epitel defekt alanları.

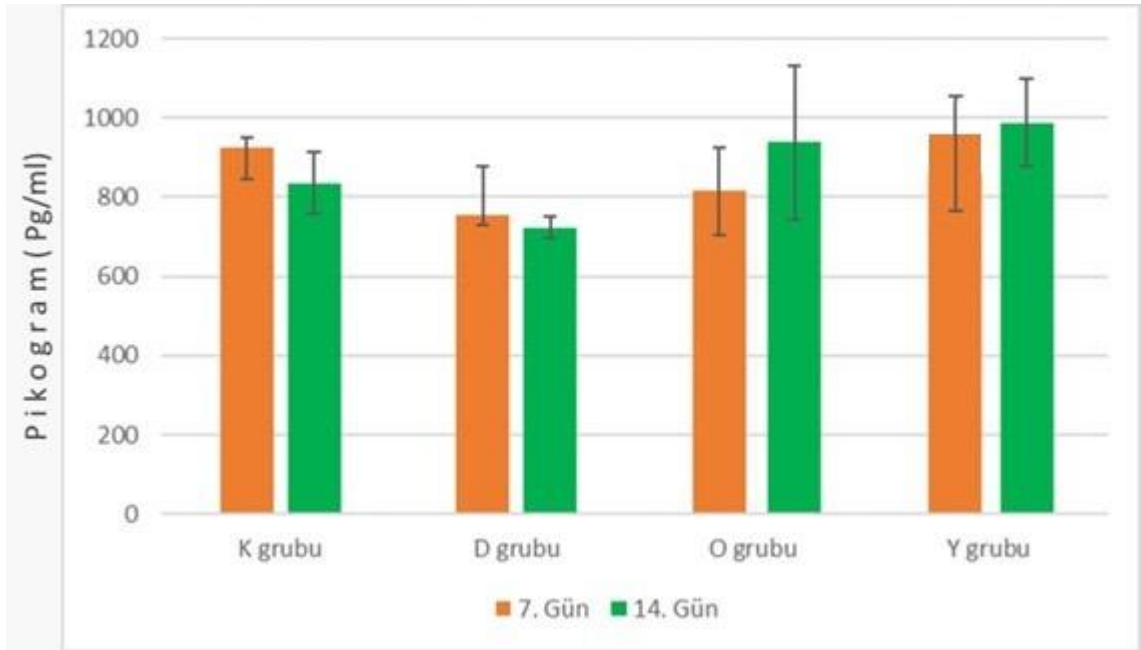
4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Kornea dokusunun VEGF düzeyi

Korneada alkali yanık oluşturulduktan sonraki 7. ve 14. günlerde kornea dokusundan elisa yöntemi ile ölçülen VEGF düzeyleri Tablo 9 ve Şekil 25' te sunulmuştur. 7. gün verileri incelendiğinde çalışma gruplarının VEGF düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece D grubunda anlamlı ölçüde daha düşük olduğu görüldü ($p < 0.05$). VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre O grubunda düşük ve Y grubu yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). 14. gün verileri incelendiğinde çalışma gruplarının VEGF düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece D grubunda anlamlı ölçüde daha düşük olduğu görüldü ($p < 0.05$). O ve Y grubu VEGF düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 9. Kornea dokusunun VEGF düzeyleri (pg/ml).

	7. gün	14. gün
K grubu	925.02±26.05	835.09±78.24
D grubu	753.50±125.82*	723.47±25.96*
O grubu	814.36±110.07	937.70±195.04
Y grubu	959.92±94.03	987.67±109.54



Şekil 25. Kornea dokusunun VEGF düzeyleri.

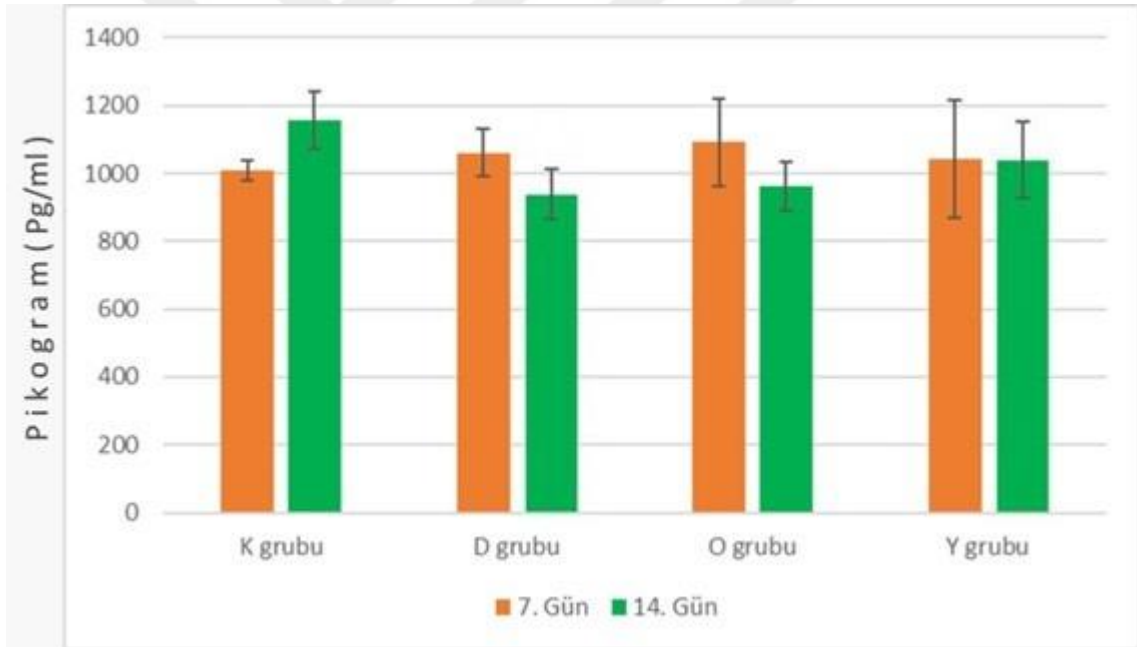
4.2.2. Kornea dokusunun TGF-β düzeyi

Korneada alkali yanık oluşturulduktan sonraki 7. ve 14. günlerde kornea dokusundan elisa yöntemi ile ölçülen TGF-β düzeyleri Tablo 10 ve Şekil 26' da sunulmuştur. 7. gün verileri incelendiğinde çalışma gruplarının TGF-β düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çok az yüksek olmasına karşın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$). 14. gün verileri incelendiğinde çalışma gruplarının TGF-β

düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece D ve O grubunda anlamlı ölçüde daha düşük olduğu görüldü ($p<0.05$).

Tablo 10. Kornea dokusunun TGF- β düzeyleri (pg/ml).

	7. gün	14. gün
K grubu	1008.67 $\pm$ 28.15	1156.35 $\pm$ 84.71
D grubu	1061.06 $\pm$ 68.62	938.1 $\pm$ 73.83*
O grubu	1091.12 $\pm$ 129.07	960.6 $\pm$ 72.26*
Y grubu	1042.08 $\pm$ 174.61	1040.18 $\pm$ 112.45



Şekil 26. Kornea dokusunun TGF- β düzeyleri.

4.3. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirme için gruptaki her bir hayvan için ortalama 15 alan rastgele örnekleme ile değerlendirildi. Kesitler histopatolojik özelliklerine göre (-) yok, (+) hafif, (++) orta ve (+++) şiddetli olarak değerlendirildi. Kornea dokularından alınan örnekler mikroskopik olarak incelendiğinde, 7 ve 14. günlerde gözlenen histopatolojik bulguların skorlanmaları Tablo 11 ve Tablo 12’ de verilmiştir.

Tablo 11. 7. günde gözlenen histopatolojik bulguların skorlanması.

Gruplar	Histopatolojik Parametre		
	Epitelyal kayıp	Neovaskülarizasyon	Kollajen lif kaybı
K	+++	++	++
Y	+++	+++	++
D	++	++	+
O	++	++	++

7. günde gözlenen histopatolojik bulgular

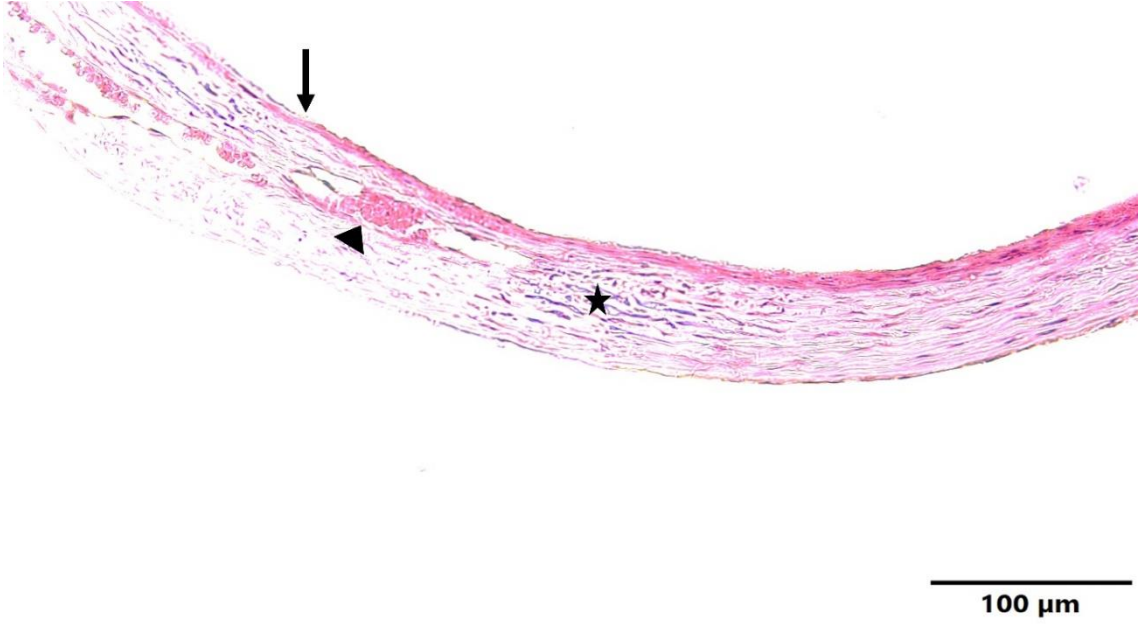
Kornea dokularından alınan kesitlerin mikroskopik incelenmesinde;

Kontrol (K) grubunda; kornea dış yüzeyinde şiddetli epitel hasarı ile epitel katın altında longitudinal dizilim gösteren kollajen fibrillerde orta şiddette hasar, orta şiddette korneal neovaskülarizasyon ve damarlarda hiperemi dikkati çekmektedir (Şekil 27).

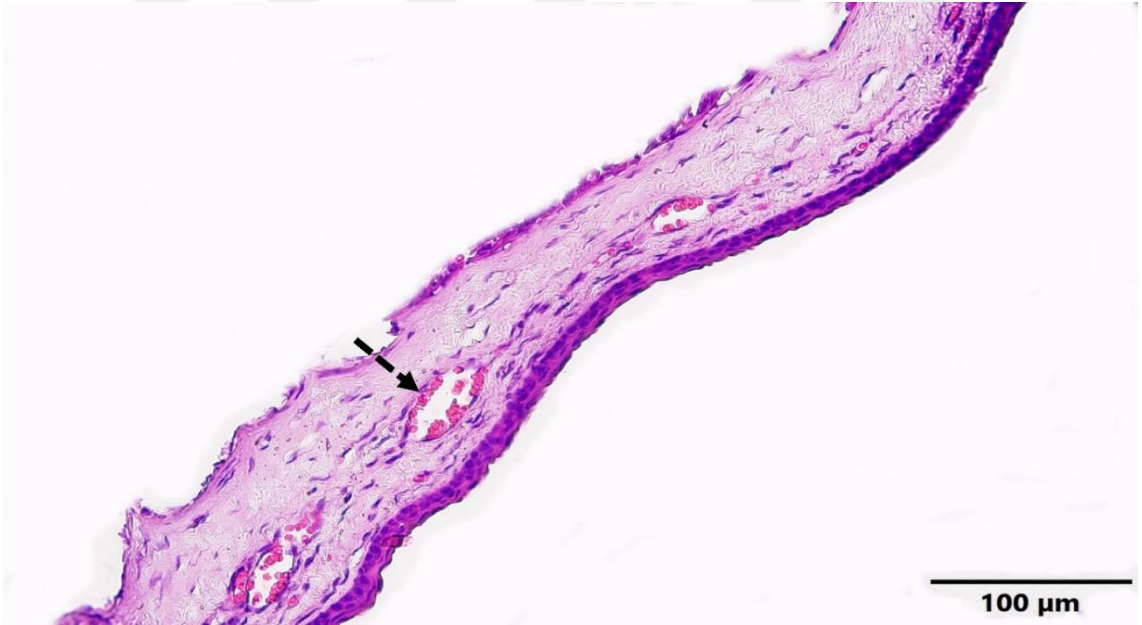
Yüksek doz kuersetin (Y) grubunda; şiddetli epitel kaybı ve neovaskülarizasyon alanları ile orta şiddette kollajen hasarı gözlemlendi (Şekil 28).

Düşük doz kuersetin (D) grubunda; orta düzeyde epitel hasarı ve korneal neovaskülarizasyon ile hafif düzeyde kollajen lif kaybına rastlandı (Şekil 29).

Orta doz kuersetin (O) grubunda; orta düzeyde epitel ve kollajen hasarı ile birlikte orta şiddette korneal neovaskülarizasyon tespit edildi (Şekil 30).



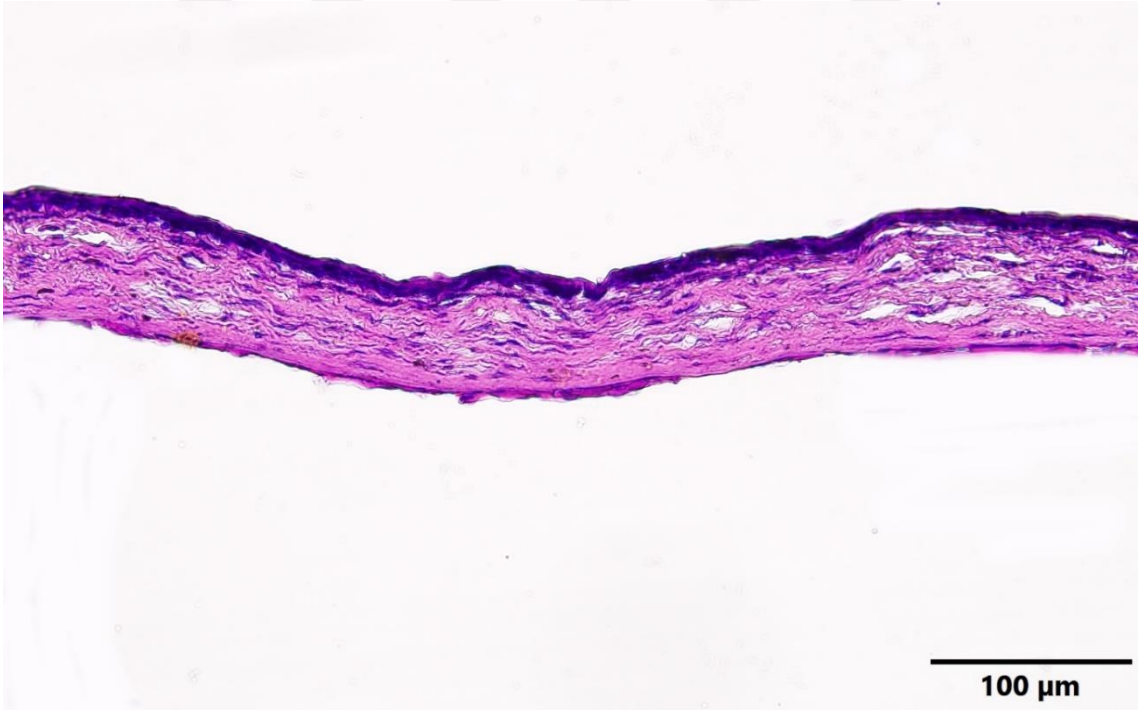
Şekil 27. Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, korneal epitel (ok), damarda hiperemi (okbaşı) ve kollajen lifler (yıldız) görülmekte. H&E, 40x.



Şekil 28. Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, neovaskülarizasyon odakları (kesikli ok) görülmekte. H&E, 40x.



Şekil 29. Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, korneal epitel (ok), içi boş neovaskülarizasyon alanları (kesikli ok) H&E, 40x.



Şekil 30. Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, H&E, 40x.

Tablo 12. 14. günde gözlenen histopatolojik bulguların skorlanması.

Gruplar	Histopatolojik Parametre		
	Epitelyal kayıp	Neovaskülarizasyon	Kollajen lif kaybı
K	++	++	++
Y	++	++	+
D	+	+	+
O	+	+	+

14. günde gözlenen histopatolojik bulgular

Kornea dokularından alınan kesitlerin mikroskopik incelenmesinde;

Kontrol (K) grubunda; orta düzeyde epitel ve kollajen hasarı ile birlikte orta şiddette korneal neovaskülarizasyon ve yer yer hemoraji alanları gözlemlendi (Şekil 31).

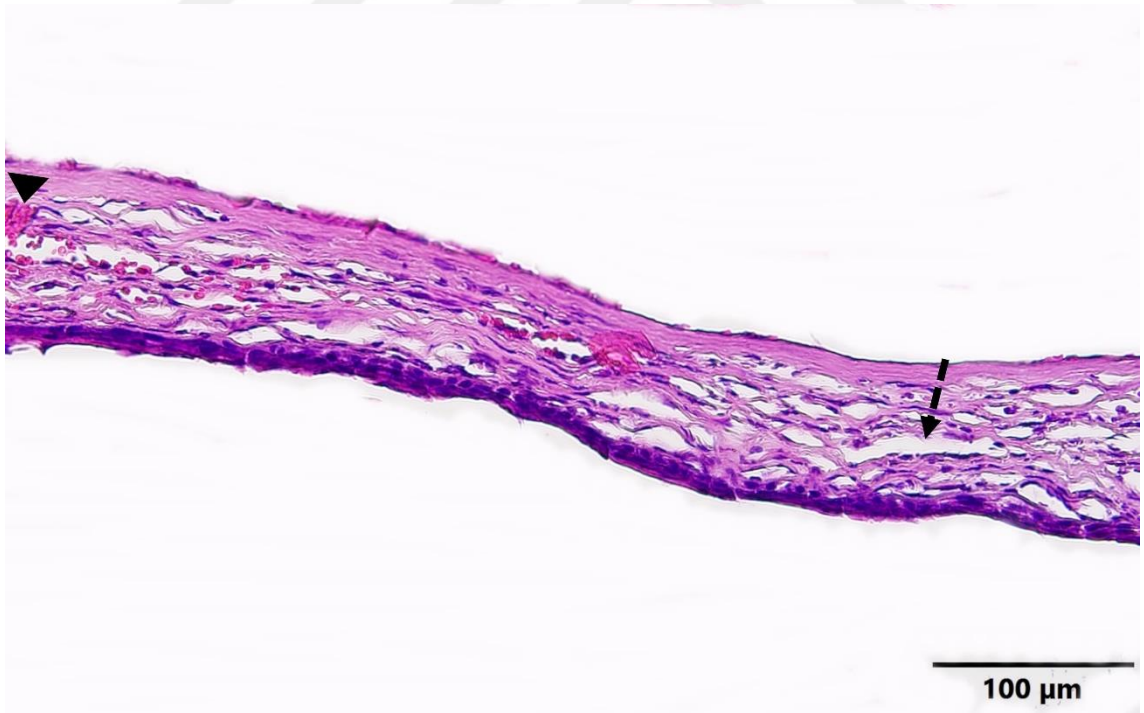
Yüksek doz kuersetin (Y) grubunda; orta düzeyde epitel hasarı ve korneal neovaskülarizasyon ile hafif düzeyde kollajen lif kaybı ve hemoraji alanları gözlenen bulgular arasındaydı (Şekil 32).

Düşük doz kuersetin (D) grubunda; hafif düzeyde epitel ve kollajen hasarı ile birlikte hafif düzeyde neovaskülarizasyon alanları tespit edildi (Şekil 33).

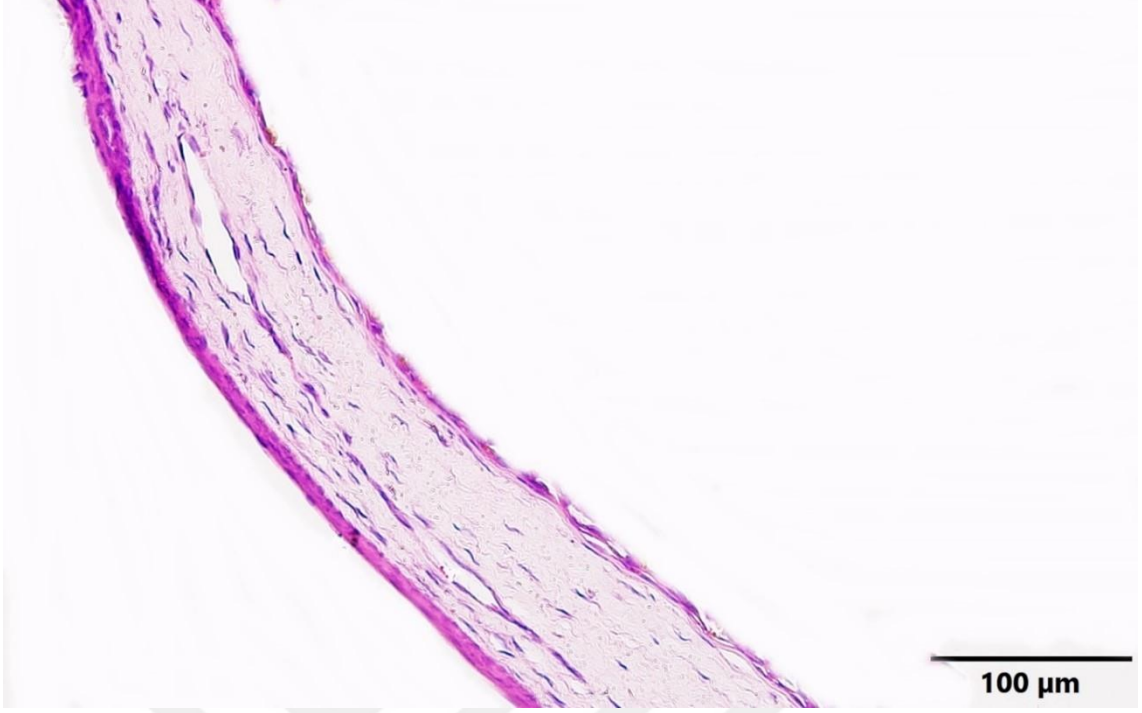
Orta doz kuersetin (O) grubunda; hafif düzeyde epitel ve kollajen hasarı ile hafif düzeyde korneal neovaskülarizasyon alanları görüldü (Şekil 34).



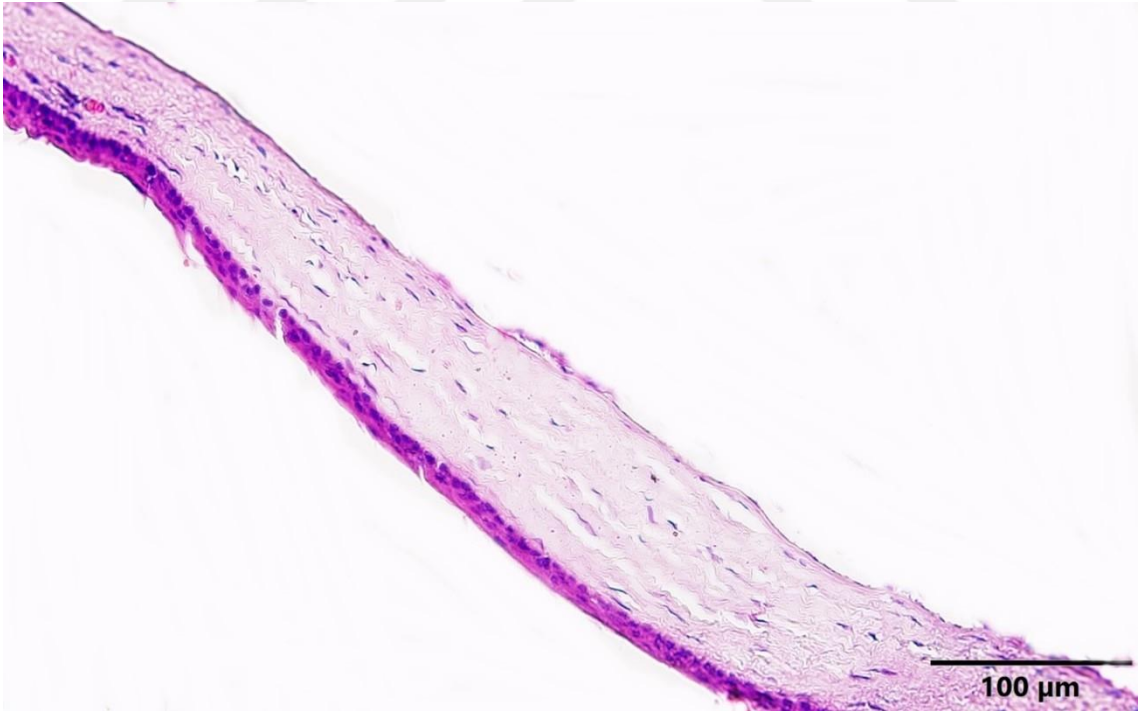
Şekil 31. Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, korneal epitel (ok), neovaskülarizasyon (kesikli ok), hemoraji (okbaşı) H&E, 40x.



Şekil 32. Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, neovaskülarizasyon (kesikli ok), hemoraji (okbaşı) H&E, 40x.



Şekil 33. Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, H&E, 40x.



Şekil 34. Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, H&E, 40x.

4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

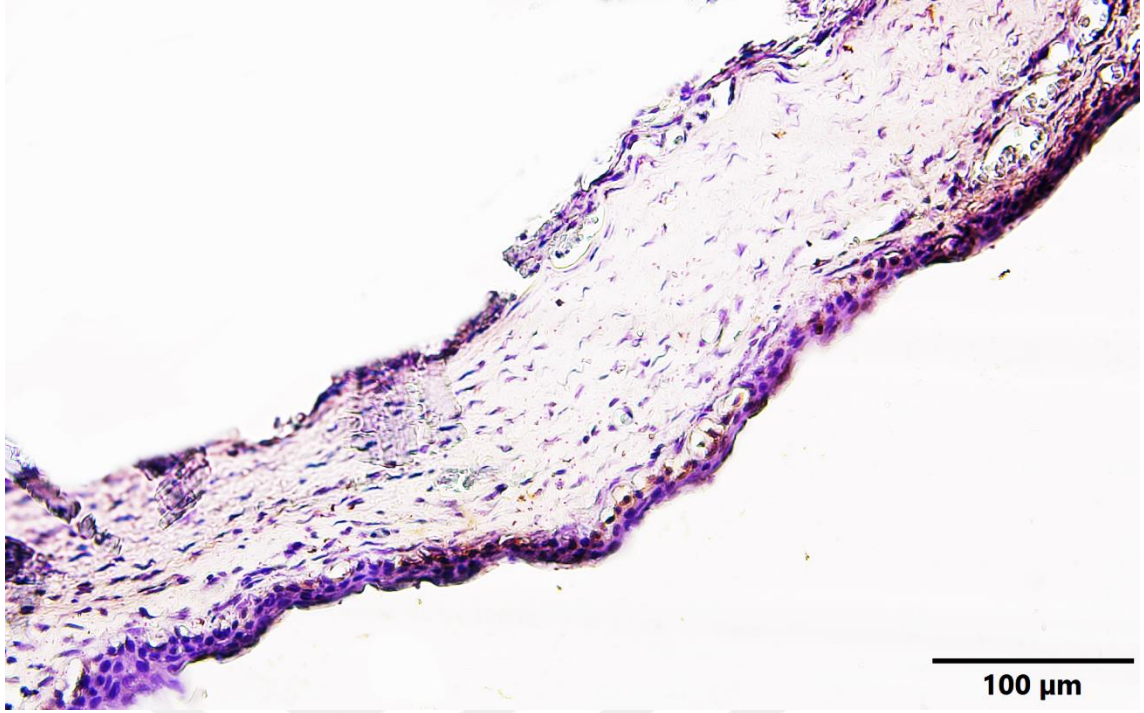
Dokulardan elde edilen Kaspaz-3, TNF- α ve IL-6 ekspresyonları immünohistokimyasal olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler için 40x büyütmede kornea dokularından rastgele seçilen 10 farklı alan incelenerek boyanmanın şiddeti semikantitatif olarak değerlendirildi. Ekspresyon şiddetleri boyanmanın yoğunluğuna göre; negatif (-), zayıf (+), orta (++) ve güçlü (+++) olarak belirlendi. Tüm gruplarda 7. ve 14. günlerdeki Kaspaz-3, TNF- α ve IL-6 ekspresyonları karşılaştırıldı (Tablo 13 ve Tablo 14).

7. günde gözlenen immünohistokimyasal bulgular

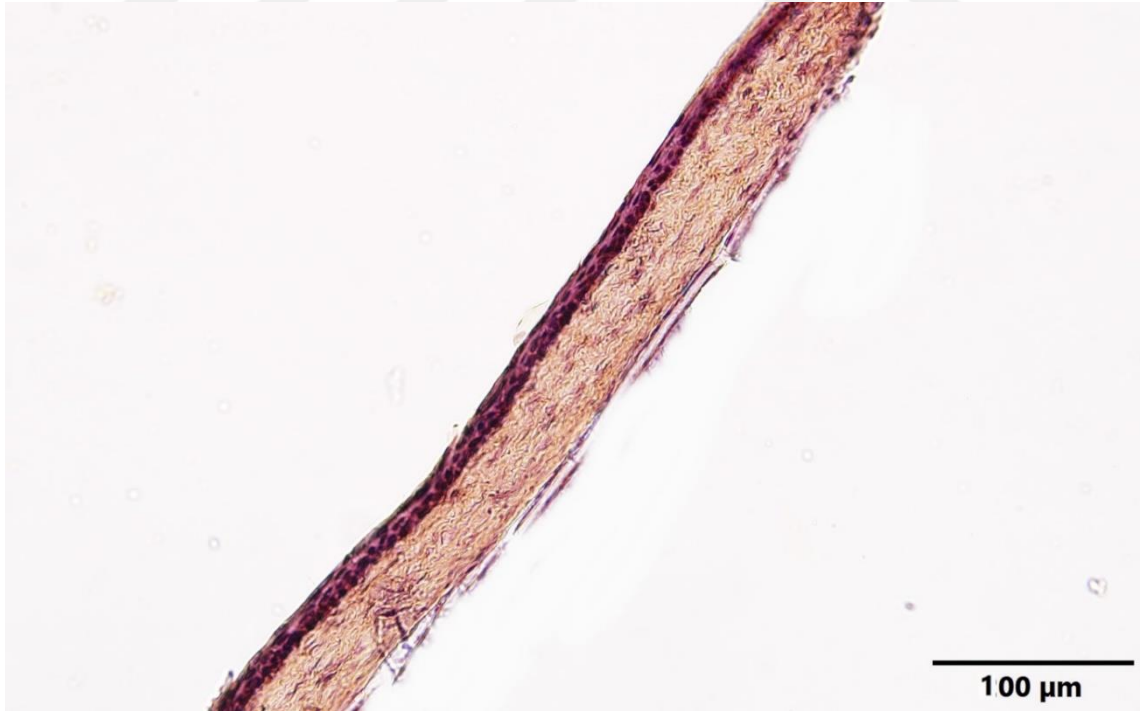
Kornea dokularında yapılan immunohistokimyasal incelemelerde, 7. günde Kontrol (K) grubu sıçanlarda güçlü kaspaz-3 (Şekil 35), TNF- α (Şekil 39) ve IL-6 (Şekil 43) ekspresyonlarına rastlanırken, yüksek doz (Y) grubu sıçanlarda güçlü kaspaz-3 (Şekil 36), TNF- α (Şekil 40) ve orta şiddette IL-6 (Şekil 44) ekspresyonu gözlemlendi. Düşük doz (D) grubu sıçanlarda orta şiddette kaspaz-3 (Şekil 37), TNF- α (Şekil 41) ve IL-6 (Şekil 45) ekspresyonu saptanırken, orta doz (O) grubu sıçanlarda güçlü kaspaz-3 (Şekil 38), orta şiddette TNF- α (Şekil 42) ve IL-6 (Şekil 46) ekspresyonları tespit edildi.

Tablo 13. 7. günde gözlenen Kaspaz-3, TNF- α ve IL-6'nın korneal ekspresyonları.

GRUPLAR	İHK ANTİKORU		
	Kaspaz-3	TNF- α	IL-6
K	+++	+++	+++
Y	+++	+++	++
D	++	++	++
O	+++	++	++



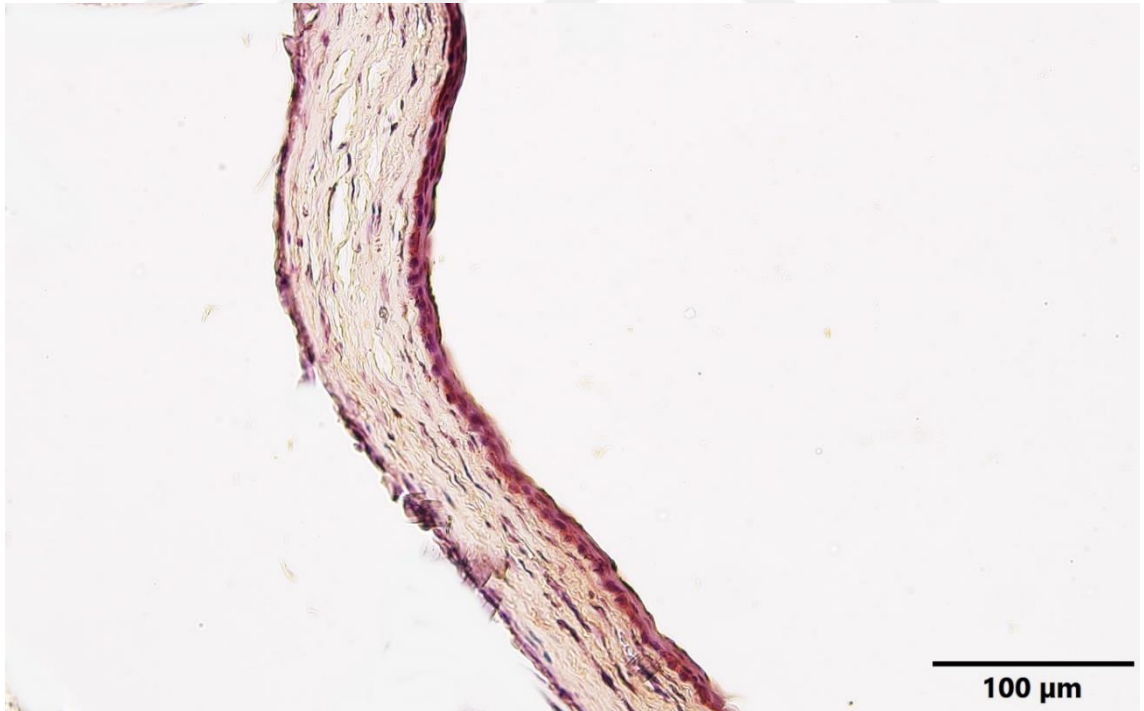
Şekil 35. Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 36. Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 37. Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, orta şiddette kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.,



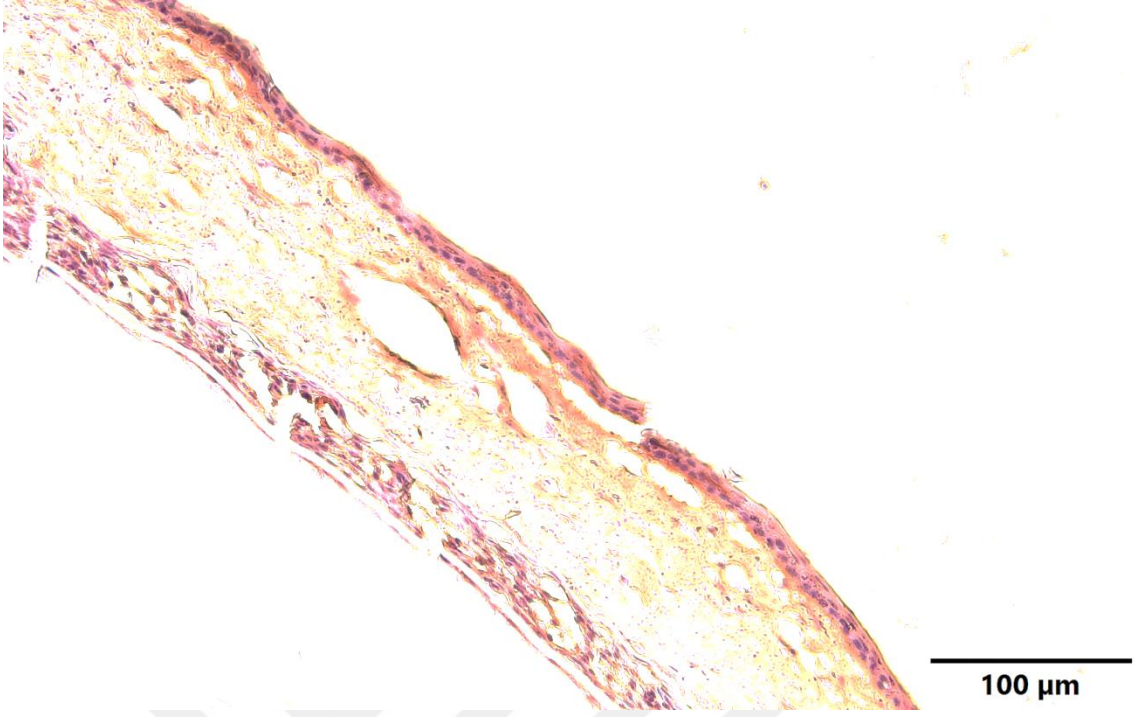
Şekil 38. Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



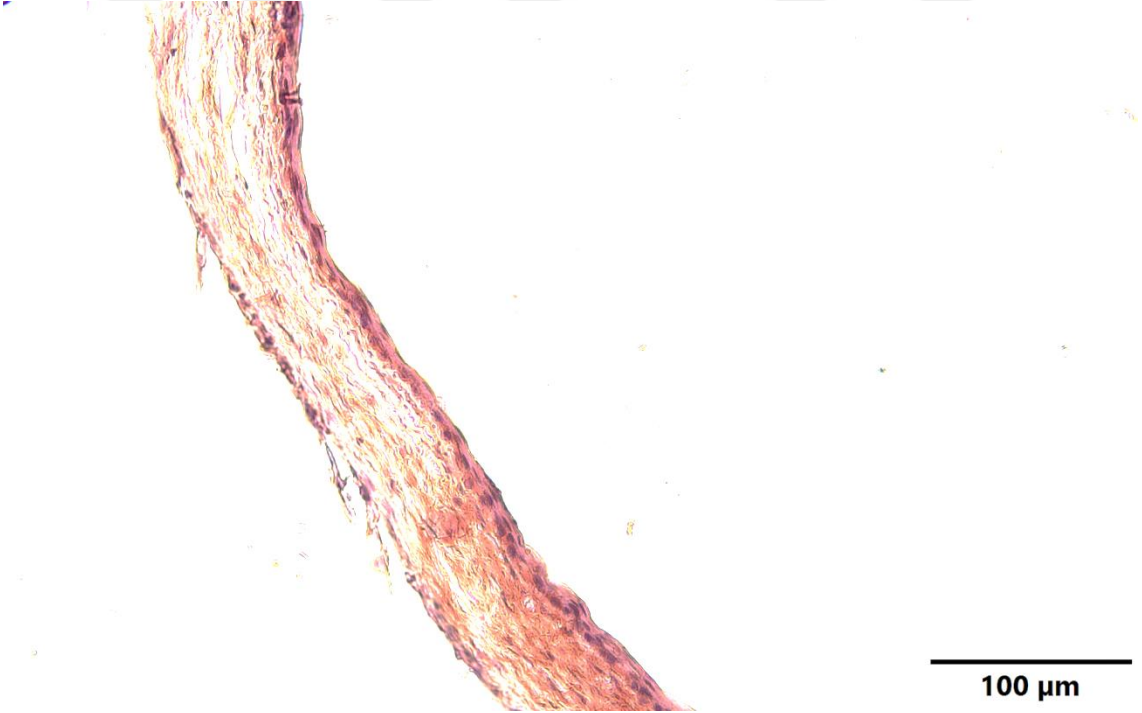
Şekil 39. Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, güçlü TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



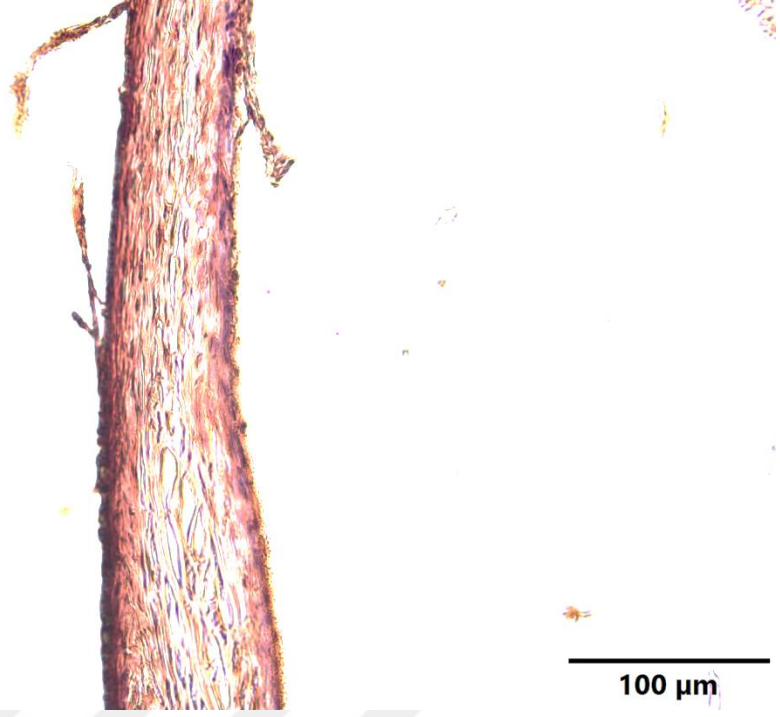
Şekil 40. Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, güçlü TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



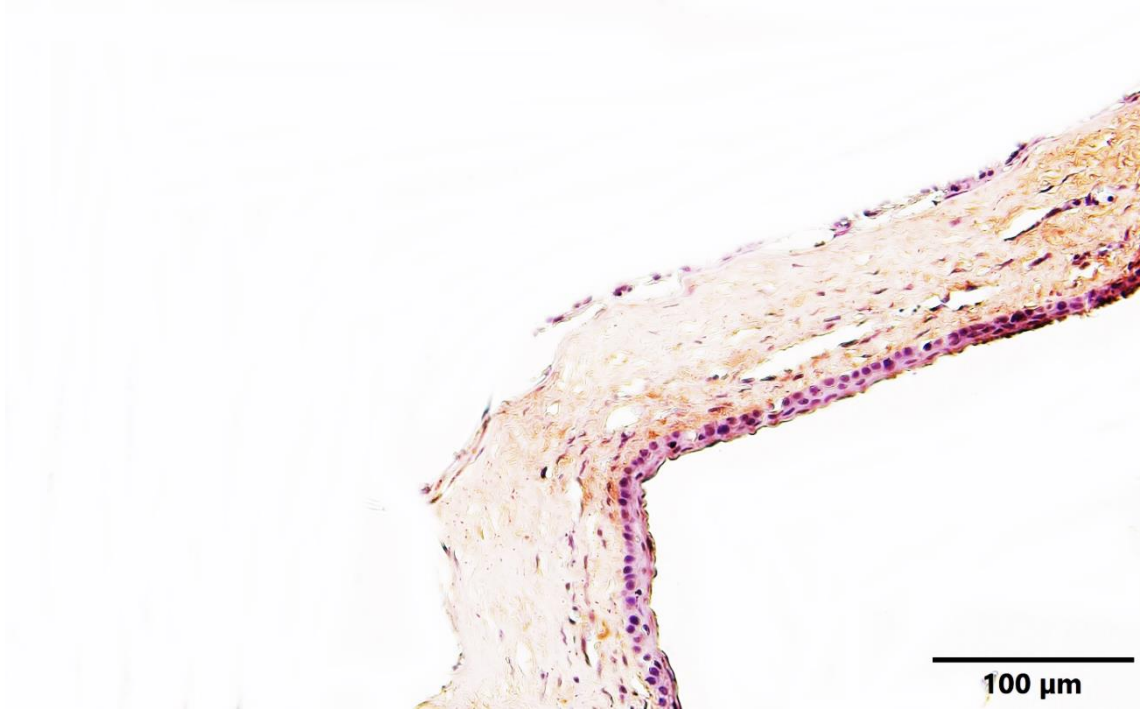
Şekil 41. Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 42. Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 43. Kornea dokusu, 7. gün, K grubu, güçlü IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 44. Kornea dokusu, 7. gün, Y grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 45. Kornea dokusu, 7. gün, D grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 46. Kornea dokusu, 7. gün, O grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.

14. günde gözlenen immünohistokimyasal bulgular

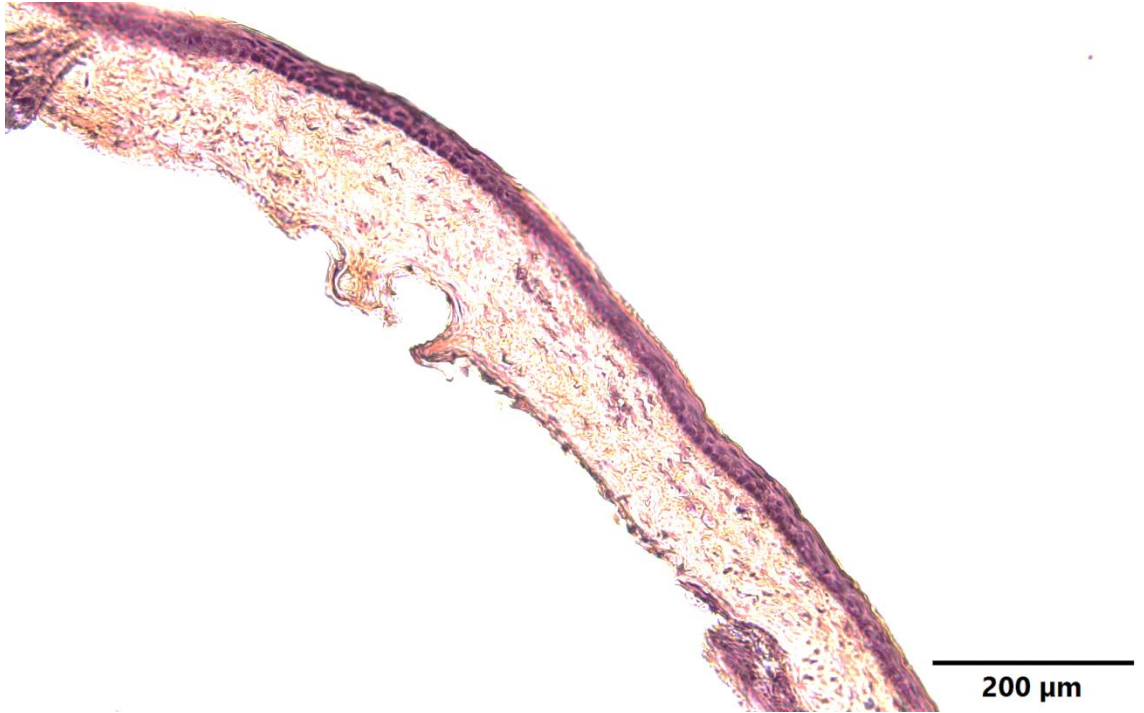
Kornea dokularında yapılan immunohistokimyasal incelemelerde, 14. günde Kontrol (K) grubu sıçanlarda güçlü kaspaz-3 (Şekil 47), orta şiddette TNF- α (Şekil 51) ve IL-6 (Şekil 55) ekspresyonları gözlenirken, Yüksek doz (Y) grubu sıçanlarda güçlü kaspaz-3 (Şekil 48), TNF- α (Şekil 52) ve zayıf IL-6 (Şekil 56) ekspresyonları saptandı. Düşük doz (D) grubu sıçanlarda zayıf kaspaz-3 (Şekil 49), orta şiddette TNF- α (Şekil 53) ve zayıf IL-6 (Şekil 57) ekspresyonları belirlenirken, orta doz (O) grubu sıçanlarda orta şiddette kaspaz-3 (Şekil 50), zayıf TNF- α (Şekil 54) ve IL-6 (Şekil 58) ekspresyonları tespit edildi.

Tablo 14. 14. günde gözlenen Kaspaz-3, TNF- α ve IL-6'nın korneal ekspresyonları.

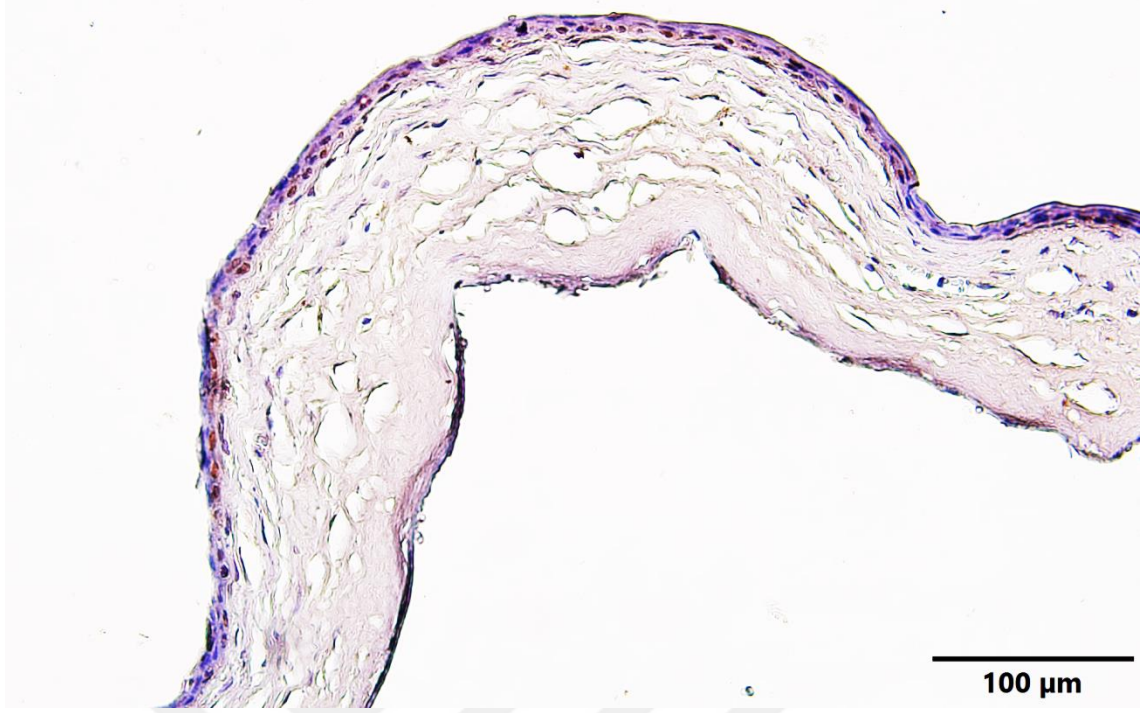
GRUPLAR	İHK ANTİKORU		
	Kaspaz-3	TNF- α	IL-6
K	+++	++	++
Y	+++	+++	+
D	+	++	+
O	++	+	+



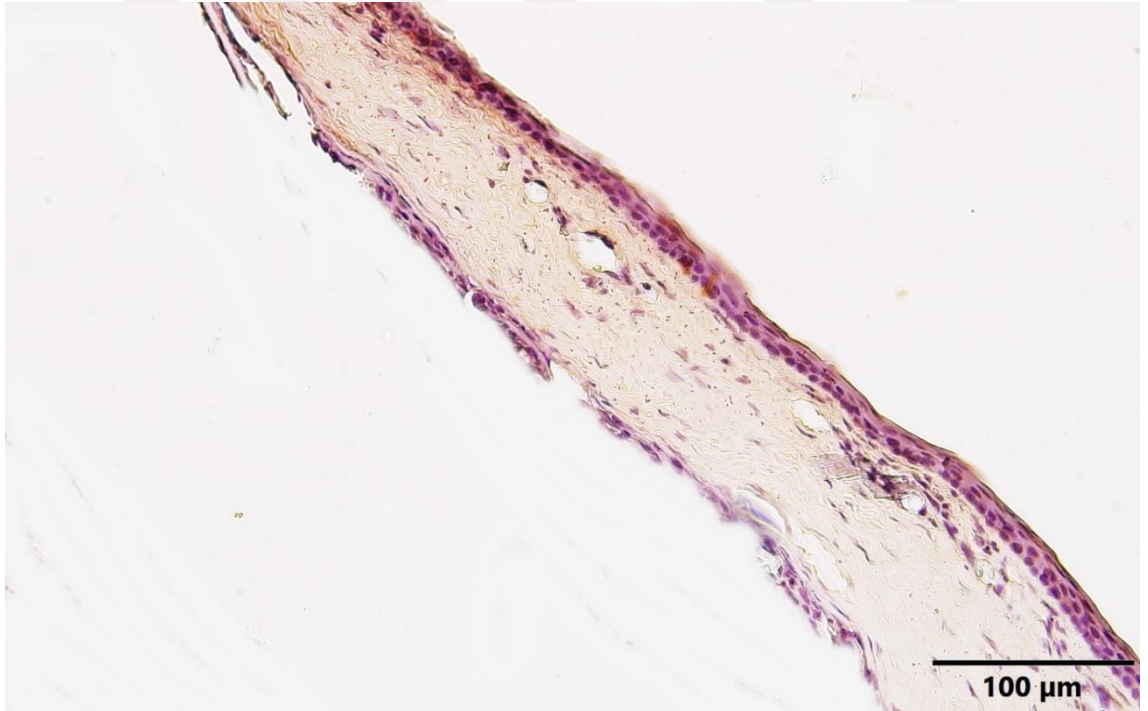
Şekil 47. Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



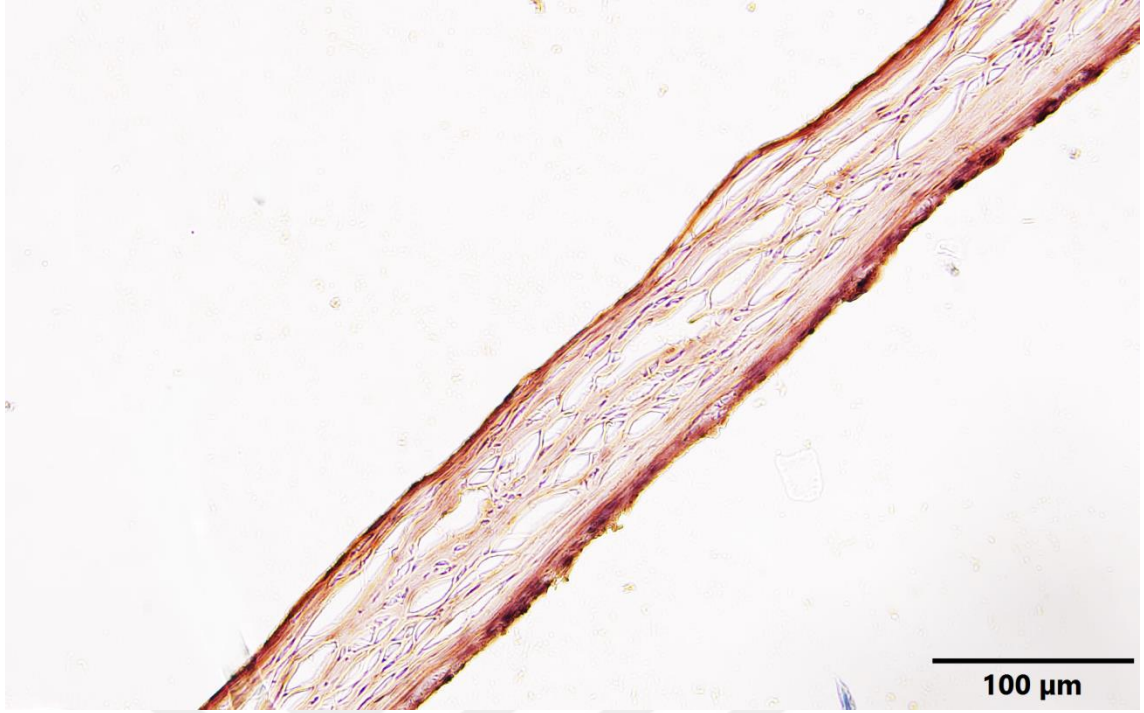
Şekil 48. Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, güçlü kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 49. Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, zayıf kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



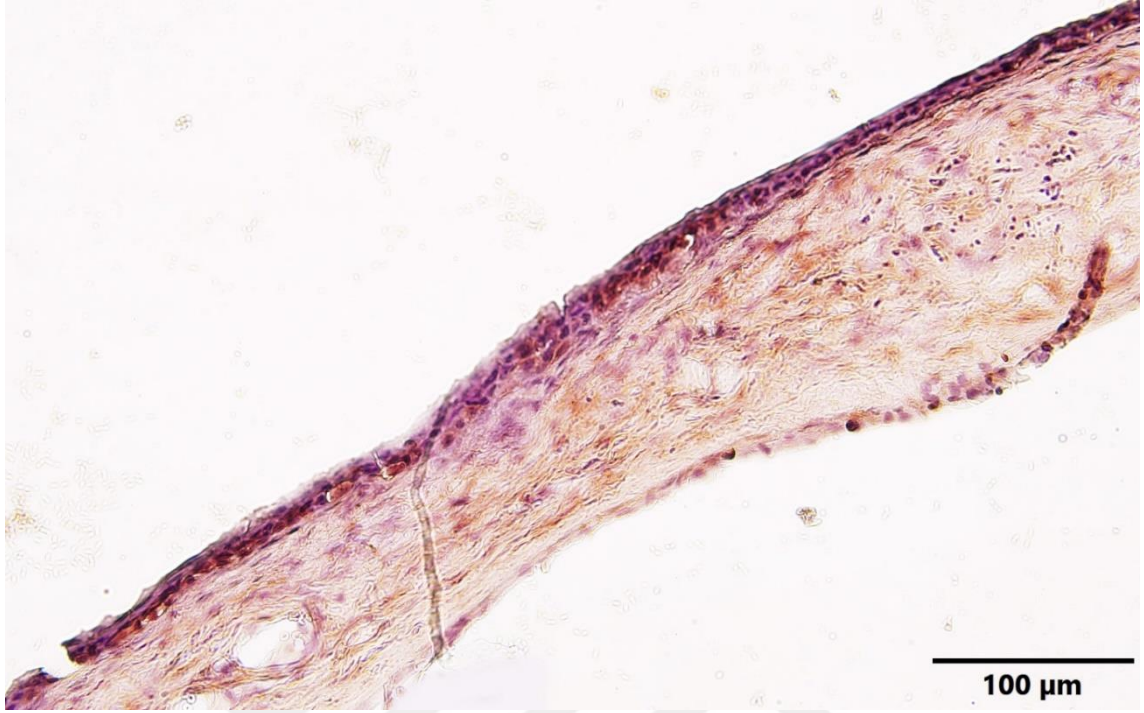
Şekil 50. Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, orta şiddette kaspaz-3 ekspresyonu, İHK, 40x.



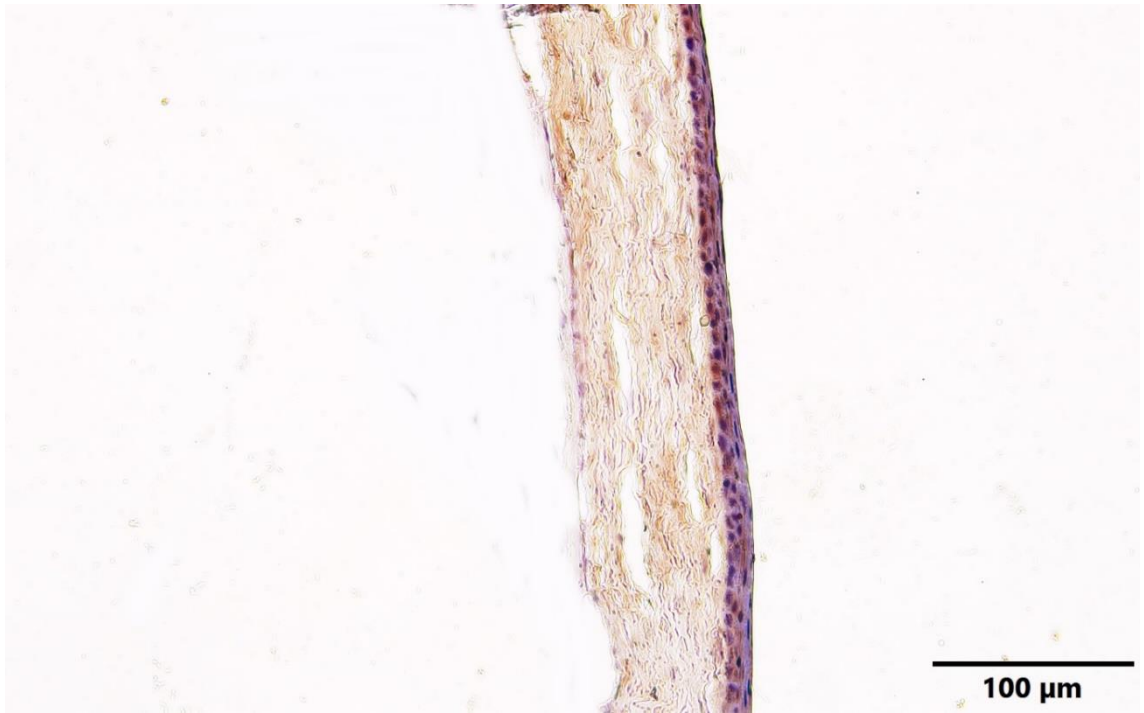
Şekil 51. Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



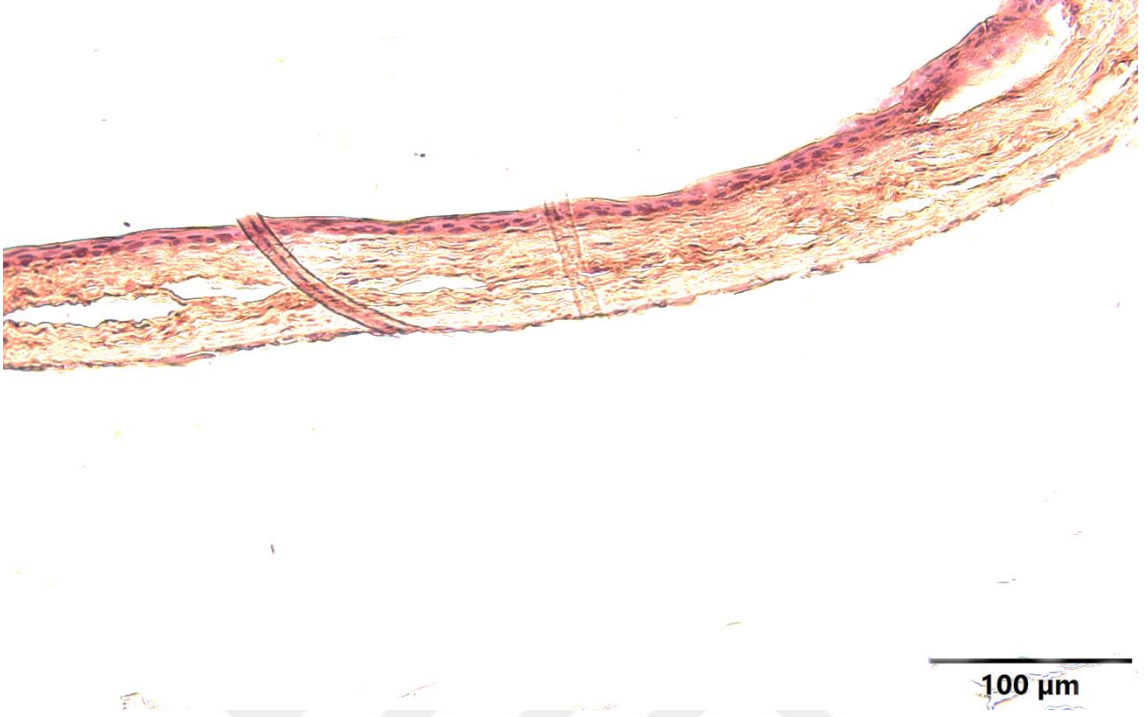
Şekil 52. Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, güçlü TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



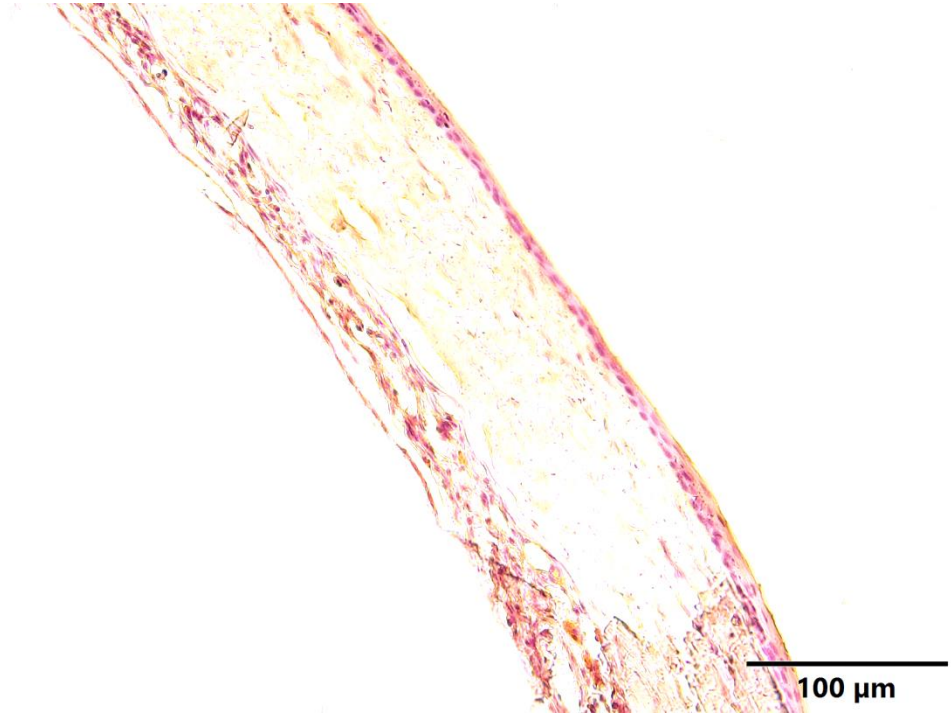
Şekil 53. Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, orta şiddette TNF- α ekspresyonu, İHK, 40x.



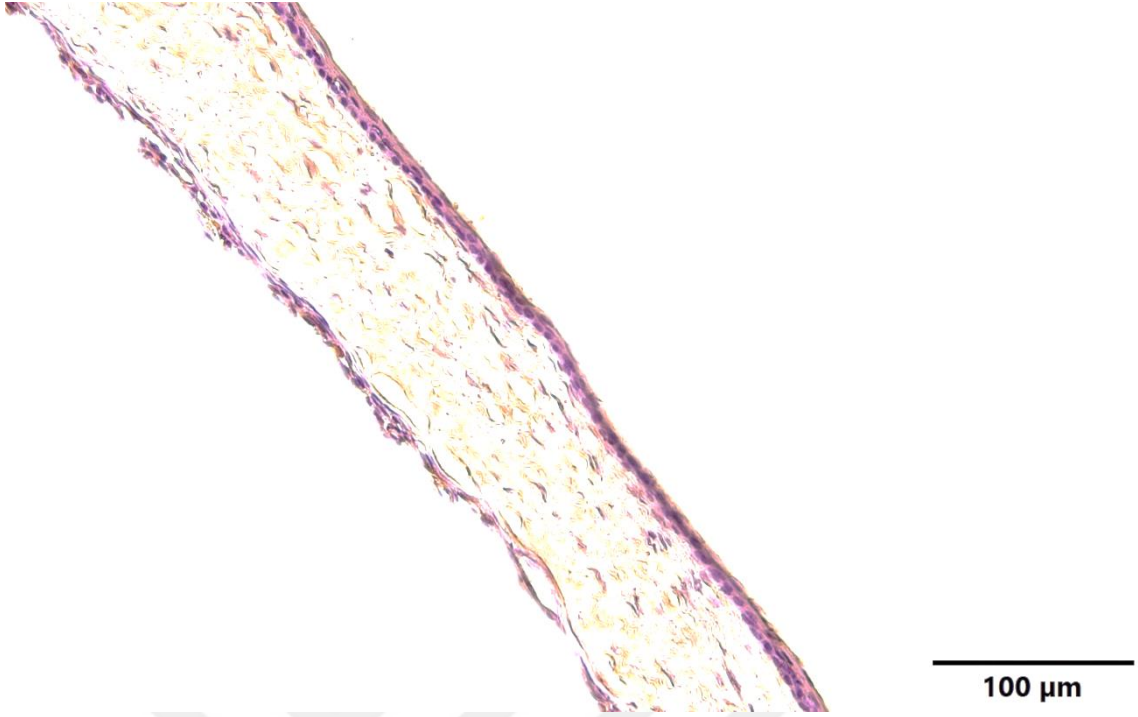
Şekil 54. Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, zayıf TNF- α ekspresyonu, İHK, 40



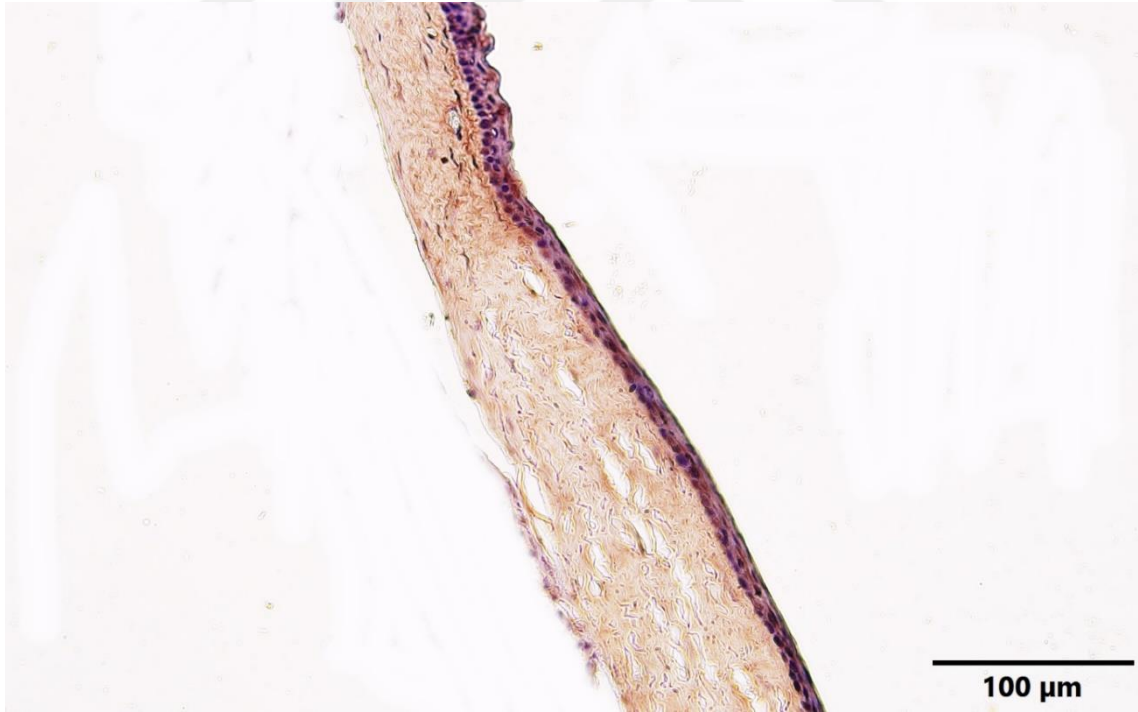
Şekil 55. Kornea dokusu, 14. gün, K grubu, orta şiddette IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 56. Kornea dokusu, 14. gün, Y grubu, zayıf IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 57. Kornea dokusu, 14. gün, D grubu, zayıf IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.



Şekil 58. Kornea dokusu, 14. gün, O grubu, zayıf IL-6 ekspresyonu, İHK, 40x.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyolojik bir kamera olarak görev yapan göz, tüm canlıların dünyaya açılan bir penceresidir (Patel ve ark., 2020). Evcil hayvanlarda göz yalnızca görsel algıları için değil, aynı zamanda genel sağlıkları ve iletişimleri için de hayati bir rol oynar. Tıpkı insanlarda olduğu gibi, iyi bir göz sağlığına sahip olmak evcil hayvanların genel refahı için önemlidir (Savalli ve ark., 2016). Evcil hayvan sahipleri ve klinisyenler arasındaki göz sağlığı farkındalık eksikliği nedeniyle, evcil hayvanlardaki göz hastalıkları her geçen gün daha da artmaktadır (Patel ve ark., 2020).

Göz hastalıkları içerisinde kornea ülserleri, görme kaybına yol açabilen ve veteriner hekimlikte karşılaşılan en yaygın göz hastalıklarından biridir (Ionaşcu ve ark., 2020; Patel ve ark., 2020; Deepika ve ark., 2023). Ülkemizde yapılan bir çalışmada pet hayvanlarında kornea ülseri görülme sıklığı kedilerde % 21,80, köpekler de ise %21,62 oranında olduğu saptanmıştır (Erkan, 2019). Korneada şekillenen ülser, yalnızca kornea epitel tabakasının hasarını kapsıyorsa yüzeysel kornea ülseri, kornea epitel tabakasının hasarı ile birlikte stroma tabakasının hasarını da içeriyorsa derin kornea ülseri olarak tanımlanır (Pratumjorn ve ark., 2022).

Kornea ülserlerinin etiyolojileri arasında kimyasal yanıklarda yer almaktadır (Belknap, 2015; Moore, 2018). Oküler kimyasal yanıklar özellikle korneanın kimyasal yanıkları, insanlarda, köpeklerde ve kedilerde oftalmolojisinin en ciddi sorunlardan biridir (Charalambidou ve ark., 2019).

Gözdeki kimyasal yanıklar genel olarak asidik ve alkali yanıklar olarak gruplandırılır. Asidik yanıklar daha çok yüzeysel ve ilerleyici olmayan yanıklardır. Asidik maddeler korneada protein presipitasyonuna ve koagülasyonuna neden olurlar. Şekillenen bu tablo korneada bir bariyer oluşturarak hasarın göze daha fazla nüfuz etmesini engeller (Yates ve ark., 2024).

Buna karşılık, alkali yanıklar korneanın epitel, keratosit ve endotel hücrelerinde yıkıma neden olarak daha ciddi hasara yol açma eğilimindedirler. Alkali maddelerin lipofilik yapısı, hidroksil iyonları tarafından hücre zarı yağ asidinin sabunlaşmasına ve hücre ölümüne neden olur. Ayrıca pH'daki değişiklik nedeniyle proteinlerin hidrolizi ve

denatürasyonu meydana gelir. Sonuçta oluşan inflamatuvar yanıt, proteazların üretimini tetikleyerek daha fazla hasara neden olur (Yates ve ark., 2024; Charalambidou ve ark., 2019).

Yapılan çalışmalarda korneal yanık modellerinde deney hayvanı olarak daha çok tavşan, rat ve fare kullanılmıştır (Paschalis ve ark., 2017; Wang ve ark., 2021; Ergen ve ark., 2022). Bu çalışmada ise korneal yanık modeli için deney hayvanı olarak erkek rat kullanılmıştır ve alkali yanık modeli başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Birçok araştırmada (Göktaş ve ark., 2014; Wang ve ark., 2021; Riau ve ark., 2024) ratlarda ksilazin ketamin kombinasyonu ile sağlanan genel anestezi takiben göze proparakain lokal anestezi uygulandıktan sonra korneada hasar oluşturulmuştur. Yürütülen bu çalışmada ise ip yolla 8 mg/kg dozunda ksilazin ve 80 mg/kg dozunda ketamin kombinasyonunu takiben göze 1-2 damla proparakain lokal anestezi uygulanmıştır. Bu anestezi protokolünün alkali yanık modeli oluşturmak için yeterli ve başarılı olduğu gözlenmiştir.

Alkali maddeler özellikle evlerde kullanılan temizlik ürünlerinin ve inşaat malzemelerinin bileşeni olduğundan asidik maddelere göre daha yaygın olarak bulunurlar. Bu nedenle insan ve evcil hayvanlarda asidik yanıklardan daha çok alkali yanıklar yaygın olarak gözlenmektedir (Charalambidou ve ark., 2019). Bu durum göz önüne alınarak bu çalışmada ratların korneasında alkali yanık modeli kullanılmıştır.

Alkali yanıkları, kornea yara iyileşmesi çalışmalarında kullanılan en yaygın modellerden biridir. Araştırmacılar, sodyum hidroksit konsantrasyonu, uygulama yöntemleri ve maruz kalma süresi bakımından farklılık gösteren kornea alkali yanıkları oluşturmak için farklı koşullar kullanmışlardır (Villabona-Martinez ve ark., 2023). Bu çalışmada etik kurallar çerçevesinde genel anesteziyi takiben lokal anestezi uygulanan ratların yalnızca sağ kornealarında alkali yanık oluşturmak için en çok kullanılan sodyum hidroksit 25 µl 1 N NaOH emdirilmiş 3mm çapındaki filtre kağıdı 1 dakika süreyle burada tutuldu. Ardından filtre kağıdı uzaklaştırıldı ve kornea yüzeyi 1 dakika boyunca 20 ml serum fizyolojik ile yıkanarak kornea merkezinde korneal defekt oluşturuldu.

Floresein korneada şekillenen epitel ve stromal hasarın sınırlarını ve boyutunu görmemize olanak sağlayan ve hasarlı alanı yeşile boyayan turuncu renkli, suda çözünen bir boyadır. Sağlam kornea lipofiliktir ve bu nedenle boya alınmasına izin vermez ancak epitel hasar şekillendiğinde açığa çıkan stroma hidrofilik yapıya dönüşerek boya alır (Turner, 2008).

Literatürlerde damla şeklindeki floresein boya potansiyel olarak patojenik bakteriler tarafından kolayca kontamine oldukları için floresein emdirilmiş test şeritlerinin kullanılması tavsiye edilmektedir. Test şeritleri bir damla steril serum fizyolojik ile nemlendirildikten sonra kornea yüzeyine uygulanır. Ardından fazla boya yine steril serum fizyolojik yıkanarak uzaklaştırılır. Hasarlı kornea yüzeyi parlak yeşil renge boyanır. Kobalt mavisi ışıkla aydınlatılmasının ardından boyanan alanlar daha net ve parlak floresan alanlar görülür (Featherstone ve Heinrich, 2021; Sall ve ark., 2023). Yapılan bu çalışmada korneal yanık oluşturulduktan hemen sonra (0. gün), 3, 7 ve 14. günlerde literatürle paralel olarak kornea floresein emdirilmiş şeritler ile boyandı ve kobalt mavisi ışık kaynağı altında korneanın hasarlı alanlarının parlak floresan bir şekilde boya aldığı görüldü ve fotoğrafları çekildi.

Kimyasal akut göz yanıklarının geleneksel tedavisinde temel amaç, korneadaki hasarı en aza indirmek, temas eden kimyasalın ve meydana gelen yangı ürünlerinin uzaklaştırılmasını sağlamak için olabildiğince erken dönemde serum fizyolojik, laktatlı ringer solüsyonları veya su ile gözün irrigasyonu yapılmalıdır. Ardından reepitelizasyonu desteklemek, inflamasyonu azaltmak ve enfeksiyonu önlemektir (Eslani ve ark., 2014; Sharma ve ark., 2018; Bizrah ve ark., 2019).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, kornea hasarlarının tedavisinde amniyon sıvısı, tigesilin, hyaluronik asit, asetil sistein, PRP, infiliksimeb, fidgetin benzeri 2 enzimi, glikozaminoglikanlar, aprotinin kondrotin sülfat antibiyotik kombinasyonları, aminokaptotik asit, retinoik asit, keratinosit büyüme faktörü, sinir biyime faktörü, insülin büyüme faktörü ve kolajenaz inhibitörleri gibi birçok medikal tedavi seçenekleri epitelizasyonu stimüle etmek, yangıyı ve neovaskülerizasyonu azaltmak için subkonjunktival ve lokal olarak kullanılmıştır (Gönenci ve ark., 2009; Göktaş ve ark., 2014; Paschalis ve ark., 2017; Sharma ve ark., 2018; Charalambidou ve ark., 2019;

Ionaşcu ve ark., 2020; Wang ve ark., 2021; Whitley ve Hamor, 2021, Ergen ve ark., 2022).

Doğal bir flavonol olan kuersetin antioksidan, antiinflamatuvar ve diğer biyolojik özelliklerinden dolayı keratokonus, konjonktivit, katarakt, kuru göz hastalığı, retinopati gibi oftalmolojik hastalıkların tedavisinde etkili olabildiği vurgulanmaktadır (McKay ve ark., 2017; Zhao ve ark., 2021). Bu araştırmada güçlü antioksidan, anti-inflamatuvar, anti-fibrozis ve yeni damar oluşumunu önleyici etkilere sahip olduğu bildirilen (Zhao ve ark., 2021) kuersetin'in deneysel olarak oluşturulan korneal alkali yanıklarının tedavisinde klinik, biyokimyasal, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır. Yaptığımız literatür taramalarında kuersetinin kornea yanıklarının tedavisinde yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışma kornea yanıklarında doğal bir flavonol olan kuersetin'in göz damlası formülasyonunda lokal olarak kullanılan ilk in vivo yapılan araştırma olduğu kanaatindeyiz.

Literatürlerde kuersetinin suda çözünmediği için, etkilerinin araştırıldığı in vivo çalışmalarda genellikle oral yolla uygulandığı bu yüzden uygulama alanının sınırlı kaldığı vurgulanmaktadır (Brodie ve ark., 2015). Ancak farelerde deneysel kuru göz modelinde kuersetinin DMSO içinde çözündürülerek %0.5'lik yoğunlukta göz damlası olarak lokal kullanıldığı bir çalışmada kuersetinin antiinflamatuvar etki gösterdiği gözyaşı hacmini ve goblet hücre yoğunluğunu artırdığı için damla formunda kullanılabileceği rapor edilmektedir. Aynı çalışmada daha önce yaptıkları ön çalışmada DMSO içinde çözdürdükleri %0.1, %0.5 ve %1'lik kuersetinin %0.5'lik yoğunlukta formunun daha etkili bulunduğu ve çalışmalarında bu formunun kullanıldığı ifade edilmektedir (Oh HN ve ark., 2015). Bu çalışmada literatür verilerine göre (Oh HN ve ark., 2015) % 5'lik DMSO içinde çözündürülen kuersetinin %0.1, %0.5 ve %1'lik yoğunlukta formlarının, taşıt madde olarak kullanılan %5'lik DMSO solüsyonuna göre kornea alkali yanıklarının üzerine etkileri araştırıldı.

Altan ve Oğurtan'ın (2017) tavşanlarda yaptıkları deneysel bir çalışmada, %2'lik hidroflorik asit ile oluşturulan kornea yanıklarının tedavisinde lokal %40'lık DMSO'un kontrol grubuna göre reepitelizasyonu yeterli düzeyde sağladığı ve gözde herhangi bir toksik etki oluşturmadığı kornea bozukluklarının tedavisinde kullanılabilir olduğunu

ortaya koydukları için bu çalışmada taşıt madde olarak %5'lik DMSO solüsyonu kullanıldı.

Kornea, anjiyojenik bir ayrıcalık oluşturarak şeffaflığını koruyan avasküler bir dokudur. Korneanın hasar görmesi inflamasyona, neovaskülarizasyona ve fibroza neden olabilir. Korneanın neovaskülarizasyonu, anjiyogenezin patolojik bir formudur ve limbustan avasküler korneaya kan ve lenf damarlarının büyümesini içerir ve korneanın şeffaflığını bozarak görüşü olumsuz etkiler. Alkali yanıklar, korneal neovaskülarizasyona yol açan en yaygın göz travması formlarından biridir (Ammassam Veettil ve ark., 2023). Alkali yanıktan kaynaklanan kornea ve konjonktival epitel hasarı, çok yönlü limbal kök hücreye zarar vererek limbal kök hücre eksikliğine neden olabilir. Ardından inflamasyon, anti-anjiyojenik ve pro-anjiyojenik faktörlerdeki dengesizlik nedeniyle gelişen kornea hipoksisi kan damarlarının gelişmesine neden olur (Bakunowicz-Łazarczyk ve Urban, 2016). Tedavi edilmeyen kornea neovaskülarizasyonu, stromada protein ve lipid birikimi, kronik inflamasyon, kornea ülserasyonu, kornea ödemi ve skar oluşumuna neden olur (Drzyzga ve ark., 2024).

Deneyisel çalışmalarda kornea neovaskülarizasyonunun tedavisinde steroidler, non-steroid antiinflamatuvarlar, sitokin ve büyüme faktörlerinin kendileri veya inhibitörlerinin inflamatuvar reaksiyonu kontrol ederek anti-lenf/anjiyojenik özellikler sergileyerek korneal neovaskülarizasyonu engellediği bildirilmektedir (Zhu ve ark., 2012; Dursun ve ark., 2012; Özdemir ve ark., 2014).

Son yıllarda literatürlerde, düşük toksisite ve çevre dostu özellikleri nedeniyle doğal biyoaktiflerin kullanımında önemli bir artış olmuştur. In vitro ve bazı hayvan modelleri, bitkilerden elde edilen biyoaktif bir molekül olan kuersetin'in, düşük toksisite profiliyle antioksidan, antikarsinojenik, antiinflamatuvar, antidiabetik, antifibrozis, immünomodülatör ve antiviral aktiviteler de dahil olmak üzere geniş bir biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri nedeniyle kapsamlı bilimsel araştırmaların konusu olmaya devam ettiği vurgulanmaktadır (Li ve ark., 2016; Aghababaei ve Hadidi, 2023). Düşük toksisite ve çeşitli biyolojik aktiviteler nedeniyle kuersetin oftalmik hastalıkların tedavisinde dikkate değer iyileştirici etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir. Özellikle antioksidan, antiinflamatuvar ve diğer etkileri nedeniyle keratokonus, konjonktivit,

katarakt, kuru göz hastalığı, retinopati ve diğer oftalmolojik hastalıkların tedavisinde etkili olduğu bildirilmektedir (Zhao ve ark., 2021).

Kuersetinin in vitro olarak anjiyogenezis üzerine etkilerini vasküler endotel hücre tüpü oluşum testi ile araştırdıkları bir çalışmada hem hücre zarındaki sinyal iletiminde hem de hücre büyümesinin indüklenmesinde anahtar bir enzim olan protein kinaz C'i inhibe ettiğini ortaya konulmuştur. Bu enzim inhibisyonu sonucu kuersetinin doza bağlı vasküler endotel hücrelerinin tüp oluşumunu, hücre büyümesini ve hücre göçünü inhibe ettiği buna bağlı olarak yeni damar oluşumunu engelleyebileceği rapor edilmektedir (Igura ve ark., 2001). Pratheeshkumar ve ark. (2012) kuersetinin antianjiyogenik aktivitesini ex vivo, in vivo ve in vitro modeller kullanarak yaptıkları bir araştırmada, kuersetinin doza bağlı olarak kollajen matriks invazyonunu, proliferasyonunu ve insan göbek kordonu endotel hücrelerinin tüp oluşumunu inhibe ettiğini bildirdiler. Aynı araştırmacılar kuersetinin anti-anjiyogenezi incelemek için bir model olarak yaygın şekilde kullanılan koryoallantoik membran testinde (CAM) ex vivo olarak neovaskülarizasyonu önemli ölçüde inhibe ettiğini bildirmektedirler.

DMSO içinde çözündürülerek hazırlanan %0.03, %0.1 ve %0.3' lük konsantrasyondaki kuersetin ratlarda tam kalınlıktaki deri yaralarının tedavisinde 20 gün boyunca günde bir kez topikal olarak uygulandığı bir çalışmada, yara iyileşmesinin erken dönemlerinde (7. günde) tüm kuersetin ile tedavi edilen gruplarda neovaskülarizasyonun daha fazla olduğu, 14. günde gruplar arasında kan damarı sayısında önemli bir fark olmadığı ifade edilmektedir. Ayrıca %0.3'lük kuersetin VEGF ve TGF- β 'nın ekspresyonunu artırarak neovaskülarizasyon diğer gruplardan daha yüksek düzeyde tespit edildiği belirtilmektedir (Kant ve ark., 2020).

Tavşanlarda deneysel ensizyonel kornea yaralarının tedavisinde 1 mg/kg ve 5 mg/kg dozunda 10 gün boyunca günde bir kez oral olarak kullanılan kuersetinin kornea yara iyileşmesine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 11. ve 42. günlerde kornea dokuları histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. On birinci gün histopatolojik bulgulara, düşük doz grubunda neovaskülarizasyon skoru 0, kontrol grubunda 0.33 ve yüksek doz grubunda ise 0.60 olarak belirlendiği ifade edilmektedir. Kırk ikinci gün histopatolojik bulgulara ise kontrol ve yüksek doz gruplarında neovaskülarizasyon skoru 0 iken düşük doz grubunda 0.2 olarak bulunmuştur (Yaşar Z, 2023).

Bu çalışmada 3, 7 ve 14. günlerinde çekilen kornea fotoğraflarının bilgisayar ortamına aktararak bilgisayar ekranından yapılan neovaskülarizasyon değerlendirilmesinde 3. günde D grubunda düşük skor olmasına karşın gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. 7. gün de ise D grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşük skor belirlendi. 14. günde O grubunda kontrol grubuna karşın düşük skor tespit edilmesine rağmen anlamlı fark bulunmadı. Histopatolojik bulgulara ise 7. gün Y grubunda diğer gruplara göre neovaskülarizasyon skoru yüksek, 14. gün verilerinde ise D ve O grubunda K ve Y grubuna göre daha düşük skor belirlendi. Bu bulgulara göre düşük dozlarda kullanılan kuersetin kornea alkali yanıklarının iyileşmesinde neovaskülarizasyonu düşürdüğü, yüksek dozlarda ise neovaskülarizasyonu artırdığı gözlemlendi. Düşük dozlarda (%0.1 ve %0.5) lokal olarak göze uyguladığımız kuersetinin protein kinaz C enzimini ederek kuersetinin doza bağlı vasküler endotel hücrelerinin büyümesini ve hücre göçünü inhibe ettiği buna bağlı olarak yeni damar oluşumunu engelleyebileceği düşünüldü (Igura ve ark., 2001). Yüksek dozda lokal uyguladığımız kuersetin muhtemelen konsantrasyon yoğunluğuna bağlı erkek dönem düşük konsantrasyondaki gruplara göre kornea iyileşmesinde inflamasyonu arttırarak yeni kan damarı oluşumunu stimüle edebileceği kanısına varıldı (Kant ve ark., 2020).

Bir çalışmada %1'lik parafin içinde hazırlanan kuersetin kremi, ratlarda yara topikal olarak uygulandığında yara kontraksiyonunu ve epitel rejenerasyon hızını artırdığı ifade edilmektedir (Gopalakrishnan ve ark., 2016). Taskan ve ark., (2021) gliserin/alkol karışımı ile hazırladıkları %5 kuersetin içeren jeli, ratlarda palatal yara iyileşmesi üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada hem fotoğraflar üzerinden yapılan ölçümlerde hem de histopatolojik incelemelerde reepitelizasyonu hızlandırarak yara kapanma hızını kontrol grubuna göre artırdığı bildirilmektedir. 50 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulanan kuersetinin ratlarda deri flebinin sağkalımı üzerindeki etkilerinin makroskopik ve histopatolojik olarak araştırıldığı bir çalışmada, kuersetinin inflamasyonu, epidermal hasarı azalttığı buna karşın damar sayısında ise anlamlı bir değişiklik yapmadığı aktarılmaktadır (Bi, 2024). Yine in vitro insan kornea epitel hücrelerinde yapılan bir çalışmada kuersetin, fosfataz ve tensin homologu (PTEN)/ fosfatidilinositol 3-kinazlar (PI3K) / protein kinaz B (AKT) yolu dahil olmak üzere inflamasyon seviyelerini düzenleyen çeşitli hücre içi sinyal yollarını inhibe ederek insan

kornea epitel hücrelerin proliferasyonunu artırabileceği bildirilmektedir (Huang ve ark., 2024).

Yapılan çalışmada 3, 7. ve 14. günlerinde çekilen kornea fotoğraflarının bilgisayar ortamına aktarılarak ImageJ programı ile yapılan ölçümlerde 3. günde reepitelizasyon oranlarında çalışma grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olmadığı saptandı. 7. ve 14. günlerde korneal repitelizasyon oranı çalışma gruplarında kontrol grubuna göre kıyaslandığında D ve O grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0.05$). 14. günde en hızlı repitelizasyon oranı D grubundaki ratlarda tespit edildi. D grubunu sırasıyla O, Y ve K grubu izledi. Bu verilere göre düşük dozlarda (%0.1 ve %0.5) kullanılan kuersetin kornea alkali yanıklarının iyileşmesinde 7. ve 14. günlerde reepitelizasyonu artırarak kontrol ve yüksek doz gruba göre daha iyi bir iyileşme sağladığı belirlendi. Ayrıca bu bulgularımız 7. ve 14. günkü histopatolojik epitel kayıp bulguları ile uyumludur. Düşük yoğunluktaki gruplardan elde ettiğimiz bulgular bu konuda yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Gopalakrishnan ve ark., 2016; Taskan ve ark., 2021; Huang ve ark., 2024).

Kornea kollajeni, doku içindeki ana yapısal bileşen olarak rolünü yerine getirmesini sağlayan bir dizi özelliğe sahiptir. Lifler dar, çapları tekdüze ve hassas bir şekilde düzenlenmiştir. Bu özellikler, şeffaflığı korumak, şekli sürdürmek ve güç sağlamak için gerekli biyomekanik ön koşulları sağlamak için hayati öneme sahiptir (Meek, 2009). Kollajenaz konsantrasyonundaki anormallikler, korneanın normal kollajeninin yıkımına yol açabilirken, kollajenaz aktivitesindeki bir azalma, kornea kollajeninin bozulmasını azaltabilir (Zhou ve ark., 2017). Yapılan çeşitli çalışmalarda kuersetinin kollajenaz inhibitör etkisi olduğu bildirilmektedir (Sin ve Kim, 2005; Sutjiatmo ve ark., 2020). Daha önce yapılan bir çalışmada kollajenaz ile tendinopati oluşturulmuş ratlarda oral kullanılan kuersetinin kollajenaz kaynaklı tendinopatiye karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. Çalışmada ratların tendon dokularına kollajenaz enjeksiyonunun dokudaki ICAM-1 seviyelerinde artışa neden olduğu ancak, kuersetin verilen ratların tendonlarındaki ICAM-1 seviyeleri önemli ölçüde azaldığı ve bu sonuca göre kuersetinin kollajenazı inhibe edebileceği bildirilmektedir (Semis ve ark., 2022). Ratlarda diyabetik yara tedavisinde lokal olarak DMSO ile birlikte uygulanan kuersetin

yara iyileşmesinde histolojik ve immünohistokimyasal olarak, kollajen yoğunluğunu, fibroblast dağılımını DMSO grubuna göre artırarak yaraların iyileşmesini desteklediği ifade edilmektedir (Fu ve ark., 2019). Yine bir çalışmada ratlarda diyabetik yaralarda DMSO içinde çözdürülmüş %1, %2 ve %4 yoğunlukta kuersetin lokal olarak uygulanmış ve yara iyileşmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda kuersetinin artan dozla birlikte yara kontraksiyonunu ile inflamasyonu azalttığı, kollajen oluşumunu ise artırdığı rapor edilmektedir. Bu çalışmada 7. ve 14. gün alınan kornea dokularında histopatolojik olarak kollajen lif kaybı değerlendirildiğine 7. günde D grubunda diğer gruplara göre daha az bir kollajen lif kaybı tespit edildi. Hem kontrol hem de diğer çalışma gruplarında ise benzer sonuçlar alındı. 14. günde ise çalışma gruplarında kontrol grubuna göre kollajen lif kaybı daha az bulundu. %0.1 yoğunlukta uygulanan kuersetinin 7. ve 14. günlerde, %0.5 ve %1 yoğunlukta kuersetin ise sadece 14. günde kollajen oluşumuna katkı sağlaması araştırmacıların bildirdiği üzere (Sin ve Kim, 2005; Sutjiatmo ve ark., 2020) muhtemelen kuersetinin kollajenaz enzimini inhibe ederek kollajen yıkımını azalttığı düşünüldü.

TGF- β , kornea da dahil olmak üzere vücudun birçok yerindeki çeşitli temel hücresel süreçleri düzenleyen çok işlevli bir sitokindir. Korneal TGF- β ekspresyonu, kornea bütünlüğünün ve korneal yara iyileşmesinin sürdürülmesi için gereklidir (Tandon ve ark., 2010). Kornea yaralanması üzerine, TGF- β hızla hücre dışı ortama salınır, hücre göçünü ve çoğalmasını, keratositlerin miyofibroblastlara farklılaşmasını ve onarım sürecinin başlamasını tetikler. TGF- β , epitel yara kapanması için gerekli olan kornea epitel hücre göçünü ve çoğalmasını tetikler. Ancak, aşırı TGF- β seviyeleri anormal kollajen birikimine yol açarak kornea yara izine ve görme bozukluğuna neden olabilir (Ogata ve ark., 2024). Aynı zamanda epitel debridmanının göç eden kornea epitel hücrelerinin TGF- β reseptör ekspresyonunun yukarı regülasyonuna neden olduğunu bildirmiştir (Joyce ve Zieske, 1997). Birçok durumda TGF β 'nin iki yönlü işlevsel yetenekleri vardır ve bu da bir bağlamda çeşitli hücresel süreçleri engellerken başka bir bağlamda aynı süreçleri uyarmasına olanak tanır. Ayrıca TGF- β 'nin farklı ortamlarda farklı hücrelerde çeşitli etkileri vardır (Streuli ve ark., 1993). Yapılan çalışmada kornea iyileşmesinin erken döneminde özellikle D ve O grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kornea dokusunda TGF- β seviyesini artırdığını tespit ettik. 14. gün bulgularımızda ise D ve O grubunda TGF- β seviyesinde kontrol ve Y grubuna göre

anlamalı bir azalma gözlenmiştir. Literatürlerde bildirildiği üzere kornea iyileşmesinin erken döneminde epitel debridmanının etkisiyle yükseldiği, geç dönemde ise reepitelizasyon D ve O grubunda hızlı olmasından dolayı TGF- β seviyesinin azaldığını kanısına varıldı (Joyce ve Zieske, 1997).

Proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α , IL-1 ve IL-6 kornea yaralanmalarından sonra kornea inflamatuvar yanıtında ve yara iyileşmesinde rol oynar. TNF- α ; fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyararak IL-1, IL-6 gibi sitokinlerin ve kemokinlerin sentezini arttırabilir. TNF- α , IL-1 ve IL-6 ile sinerjik etki göstermesinin yanında, birçok proinflamatuvar süreçlerde görev alırlar. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, diyabetik kornealarda IL-1 β 'nin yükseldiği kornea epitel yara iyileşmesinin gecikmesine neden olduğu bildirilmiştir (Yan ve ark., 2016). TNF- α 'nın kornea epitel bariyerinin işlevini bozarak kuru göz gelişimine yol açtığı ve aynı zamanda kornea epitel hücrelerinin göçünü yavaşlatarak kornea epitel yara iyileşmesini de bozduğu gösterilmiştir (Okada ve ark., 2007).

Kuersetin, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar medyatörleri baskılayarak güçlü anti-inflamatuvar etkiye sahip bir biyoflavonoid bileşiğidir. Anti-inflamatuvar etkisi, esas olarak MAPK yolu gibi çeşitli sinyal moleküllerini modüle ederek, makrofaj hücrelerinin TNF- α aracılı inflamasyonunu ve siklooksijenaz ve lipoksijenaz üretimlerini inhibe ederek meydana gelir (Ribeiro ve ark., 2015; Li ve ark., 2016). Kuersetin ile yapılan yara iyileşmesi çalışmalarında hem inflamatuvar hücre sayısında hem de TNF- α 'da özellikle iyileşmenin erken döneminde önemli bir azalma olduğu ortaya konuldu (Taskan ve ark., 2021). Kant ve ark. (2020) rat yara modeli çalışmasında DMSO içinde çözdürülmüş farklı dozlarda (%0,03, %0,1 ve %0,3) topikal olarak uygulanan kuersetinin yara iyileşmesinin 3. ve 7. günlerinde özellikle %0,3'lük kuersetinin TNF- α 'nın ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamalı olarak azalttığını rapor etmektedirler. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada kuersetin in vitro bir çalışmada fare peritonundan izole edilen makrofajlar üzerinde IL-10' u artırarak STAT3 protein fosforilasyonunu azaltarak proinflamatuvar IL-6 veya TNF- α 'yı inhibe edebileceği bildirilmektedir (Liao ve Lin, 2020). Fu ve ark. (2020) %10 DMSO içinde çözdürülerek hazırladıkları %1, %2 ve %4 yoğunluktaki kuersetin içeren solüsyonları ratlarda diyabetik yaralara günde bir kez 14 gün uyguladılar. Kuersetin ile tedavi

ettikleri gruplarda inflamatuvar hücre sayısının, IL-6 ve TNF- α düzeylerinin anlamlı bir şekilde azaldığını ifade etmektedirler.

Bu çalışmada 7. gün yapılan immunohistokimyasal incelemede K ve Y gruplarında güçlü, D ve O gruplarında ise orta şiddette TNF- α ekspresyonu gözlemlendi. 14. gün analizlerinde ise Y grubunda güçlü, K ve D grubunda orta, O grubunda ise hafif şiddette TNF- α ekspresyonu tespit edildi. IL-6 ekspresyonu değerlendirildiğinde 7. günde K grubunda güçlü, diğer gruplarda orta, 14. günde ise K grubunda orta diğer gruplarda ise hafif şiddette olduğu ortaya konuldu. TNF- α ekspresyonunun kuersetin tarafından 7. günde D ve O gruplarında 14 günde ise O grubunda kontrol grubuna göre baskılandığı görüldü. Hem 7. hem de 14. günlerde kuersetin gruplarının hepsinde IL-6 ekspresyonunun kontrol grubuna göre daha düşük şiddette olduğu fark edildi. Bu sonuçlara göre bazen düşük doz bazen de orta doz kuersetinin kornea alkali yanıklarında proinflamatuvar stokininleri baskıladığı ve buna bağlı inflamasyonu azalttığı düşünüldü. Ayrıca D ve O grubundaki kornea reepitelizasyonun diğer gruplara göre daha hızlı olması, kuersetinin TNF- α ekspresyonunun baskılanması sonucu kornea iyileşmesine katkı sağlayabileceği kanaatine varıldı (Okada ve ark., 2007). Elde edilen TNF- α ve IL-6 ekspresyon sonuçları yapılan diğer çalışmalar ile uyumluluk arz etmektedir (Okada ve ark., 2007; Ribeiro ve ark., 2015; Li ve ark., 2016; Yan ve ark., 2016; Kant ve ark., 2020; Liao ve Lin, 2020).

Apoptozis, hücrenin küçülmesi, kromatinin yoğunlaşarak çekirdek zarında toplanması, apoptoz cisimciklerinin oluşması ve fagositoz ile karakterize edilen kontrollü bir hücre ölümüdür. Bu süreç, nekrozun aksine inflamasyona yol açmaz ve hücre içeriğinin çevre dokulara zarar vermeden yok edilmesini sağlar. Apoptozis normalde sağlıklı kornea stromasında ve endotel tabakasında görülmezken, yüzeysel epitelde sınırlı sayıda apoptoz hücresi görülebilir (Podskochy ve ark., 2000). Alkali yanık sonrası korneada meydana gelen hasar sonrası epitel, keratoosit ve endotel hücrelerinde apoptozis şekillenir. Aşırı apoptoz, dokuya daha fazla zarar verebilecek inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu indükler (Han ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda alkali yanıktan sonra korneal apoptozisin azaltılması, inflamasyon ve neovaskülarizasyonu azaltarak kornea iyileşmesine katkıda bulunacağı bildirilmektedir (Han ve ark., 2012; Arıkan ve ark., 2016).

Genel olarak kuersetin gerek in vitro gerekse in vivo çalışmalarda hücre çoğalması ve döngüsünü engelleyerek farklı kanser hücre tiplerinde apoptozu indüklediği ortaya konmuştur. (Reyes-Farias ve Carrasco-Pozo, 2019). Artan dozlarda kullanılan kuersetinin (1-20 nM) kronik miyeloid lösemi kök hücreleri üzerine ansitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kuersetinin doza bağlı olarak kaspaz-3 enzim aktivitesini artırarak kanser hücrelerinde apoptozisi indüklediği bildirilmektedir (Aydın, 2017).

Bununla birlikte, kuersetin bazı tümör oluşturmeyen hücrelerde ise apoptozu inhibe etmektedir. Kuersetinin anti-apoptotik etkisi, antioksidan etkisiyle ayrılmaz bir şekilde bağlantılıdır. Oksidatif stres mitokondriyal DNA hasarına, hücre içi protein denatürasyonuna, lipid peroksidasyonuna ve inflamasyona ve apoptozise neden olabilir. Ayrıca, mitokondri hasar gördükten sonra daha fazla reaktif oksijen türleri üretir ve bu da hücre apoptozunu hızlandırır. In vitro hücre modelleri, kuersetinin P38 sinyallemesini aktive ederek antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığını, böylece reaktif oksijen türlerinin üretimini azalttığını mitokondriyal hasarı hafiflettiğini ve böylece mitokondriyal yol apoptozunu inhibe ettiği ortaya konmuştur (Reyes-Farias ve Carrasco-Pozo, 2019; Zhang ve ark., 2023).

Çalışmalarda kaspaz-3, DNA parçalanması veya çok sayıda proteinlerin bozunumu gibi hücresel yapıların yıkımını koordine etmedeki rolü nedeniyle aktive olmuş kaspaz-3'ün tespiti, doku kesitlerinde apoptotik hücreleri tanımlamak için belirteç olarak kullanılabileceği vurgulanmaktadır. Aktive edilmiş kaspaz-3 immünohistokimyasının doku kesitlerinde apoptotik hücrelerin tanımlanması ve ölçülmesi için spesifik, basit ve güvenilir bir yöntem olduğu bildirilmektedir (Duan ve ark., 2003). Yapılan çalışmada apoptozisi belirlemek amacıyla çalışmanın 7. ve 14. günlerinde alınan doku örneklerinde immünohistokimyasal boyama metoduyla kaspaz-3 ekspresyonunu araştırıldı. İmmünohistokimyasal inceleme sonunda 7. günde D grubunda orta diğer gruplarda güçlü, 14. günde ise D grubunda hafif, O grubunda orta, K ve Y gruplarında ise güçlü şiddette kaspaz-3 ekspresyonu tespit edildi. Bu verilere göre kuersetin düşük doz (D grubu) grubunda 7. ve 14. günlerde, orta doz (O grubu) grubunda ise sadece 14. günde kornea alkali yanıklarda apoptozisi azaltmada etkin olduğu gözlenirken, yüksek dozda bu etki gözlenmedi. Kuersetinin antioksidan özelliği

sayesinde apoptozisi azalttığı (Reyes-Farias ve Carrasco-Pozo, 2019) ve buna bağlı olarak kornea iyileşmesine katkı sağladığı (Han ve ark., 2012) kanaatine varıldı.

Sonuç olarak; bu tez çalışmasında, ratlarda deneysel olarak oluşturulan kornea alkali yanıklarının tedavisinde %5'lik DMSO içinde çözdürülen %0.1, %0.5 ve %1'lik yoğunlukta üç farklı dozda hazırladığımız kuersetin göz damlasının korneal iyileşme üzerine olan etkinliği klinik, biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak araştırıldı. Elde ettiğimiz bulgulara göre; düşük dozlarda kuersetin neovaskülarizasyonu, kollajen lif kaybını, TNF- α ve IL-6 ekspresyonunu baskılayarak inflamasyonu, kaspaz-3 ekspresyonunu baskılayarak apoptozisi azaltarak, kornea epitelizasyonunu arttırarak kornea alkali yanıklarının tedavisinde kornea iyileşmesine katkı sağladığı kanısına varıldı. Bu sonucu en iyi %0.1'lik düşük doz grubunda ardından ise %0.5'lik orta doz grubunda gözlemledik. Yüksek doz grubunda ise kornea iyileşmesine herhangi bir katkı sağlamadı. Yaptığımız literatür taramalarında, bu çalışma alkali kornea yanıklarında kuersetinin damla formunda lokal olarak kullanılan ilk in vivo araştırma olduğu kanaatindeyiz. Kuersetinin klinik uygulamalardaki etkinliğini ve güvenilirliğini daha net ortaya koyabilmek için, farklı çözücülerde, farklı dozajlarda özellikle %0,5-0,1 aralığı dozlar olmak üzere ve daha düşük dozlarda ileri düzeyde kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abarca E. Vitreous and ocular fundus. 2nd ed. Florida, USA: CRC Press; 2018. Ophthalmic disease in veterinary medicine; p.565-649.
- Abass A, Vinciguerra R, Lopes BT, Bao F, Vinciguerra P, Ambrósio JrR, ve ark. Positions of ocular geometrical and visual axes in Brazilian, Chinese and Italian populations. *Curr Eye Res.* 2018;43(11):1404-14.
- Aghababaei F, Hadidi M. Recent advances in potential health benefits of quercetin. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023;16(7):1020. DOI:10.3390/ph16071020.
- Akın F, Samsar E. Göz hastalıkları. 1. Baskı. Malatya: Medipres Yayıncılık; 2005.
- Akın F, Samsar E. Göz hastalıkları. Ankara: Medipres Yayıncılık; 2001.
- Allan DJ, Harmon BV. The morphologic categorization of cell death induced by mild hyperthermia and comparison with death induced by ionizing radiation and cytotoxic drugs. *Scan Electron Microsc.* 1986;3:1121-33.
- Almalki A, Naglah AM, Refat MS, Hegab MS, Adam AMA, Al Omar MA. Liquid and solid-state study of antioxidant quercetin donor and tene acceptor interaction: Focusing on solvent affect on the morphological properties. *J Mol Liq.* 2017;233:292-302.
- Alsaqr A, Fagehi R, Abu Sharha A, Alkhudair M, Alshabrami A, Muammar AB, ve ark. Ethnic differences of corneal parameters: A cross-sectional study. *Open Ophthalmol J.* 2021;15(1):27-30.
- Altan S, Oğurtan Z. Dimethyl sulfoxide but not indomethacin is efficient for healing in hydrofluoric acid eye burns. *Burns.* 2017;43(1):232-44.
- Altunkaynak BZ, Özbek E. Programlanmış hücre ölümü: Apoptoz nedir? *Tıp Araştırmaları Dergisi.* 2008;6(2):93-104.
- Altunyuva AY. Elazığ ve Mersin Yöresinde; Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi ve Özel Kliniklere Getirilen Kedi ve Köpeklerde Görülen Göz Hastalıklarının İnsidansı [Doktora tezi]. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2024.
- Ammassam VR, Li W, Pflugfelder SC, Koch DD. A mouse model for corneal neovascularization by alkali burn. *J Vis Exp.* 2023;(196):18. DOI:10.3791/65289.
- Arffa RC. Grayson's diseases of the cornea. 4th ed. St. Louis: Mosby-Year Book. 1997.
- Arikan S, Karaca T, Ertekin YH, Comez AT, Ersan I, Demirtas S, ve ark. Effect of topically applied azithromycin on corneal epithelial and endothelial apoptosis in a rat model of corneal alkali burn. *Cornea.* 2016;35(4):543-9.
- Asadi M, Taghizadeh S, Kaviani E, Vakili O, Taheri-Anganeh M. Caspase-3; structure, function, and biotechnological aspects. *Biotechnol Appl Biochem.* 2021;1(13):27-32.

Aspinall V, Cappellom M, Phillips C. Introduction to animal and veterinary anatomy and physiology textbook. 3th ed. China: Elsevier; 2015. p. 65-70.

Aydın G. Quercetin'in KML Kök Hücreleri Üzerine Sitotoksik Etkilerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Kayseri: Erciyes Üniversitesi; 2017.

Azari AA, Kanavi MR, Lucarelli M, Lee V, Lundin AM, Potter HD, ve ark. Angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia of the orbit and ocular adnexa: Report of 5 cases. JAMA Ophthalmol. 2014;132(5):633-36.

Baden T, Euler T, Berens P. Understanding the retinal basis of vision across species. Nat Rev Neurosci. 2020;21(1):5-20.

Bakunowicz-Łazarczyk A, Urban B. Assessment of therapeutic options for reducing alkali burn-induced corneal neovascularization and inflammation. Adv Med Sci. 2016;61(1):101-12. DOI:10.1016/j.advms.2015.10.003.

Belknap EB. Corneal emergencies. Top Companion Anim Med. 2015;30(3):74-80. DOI:10.1053/j.tcam.2015.07.006.

Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: Biochemical properties of growth factors and their receptors. Am J Surg. 1993;165:728-37.

Bergmanson JPG. Contact lenses. Sixth ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. Chapter 2, Anatomy and physiology of the cornea and related structures; p.35-49.

Bi K. Ratlarda Dorsal Ada Flebinin Yaşayabilirliği Üzerinde Cerrahi Delay Fenomeni ve Quercetin Uygulamasının Etkisinin Karşılaştırılması [Uzmanlık tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2024.

Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M, Hsueh AJW. Apoptosis in testis germ cells; developmental changesin gonadotropin dependence and localization to selective tubule stages. Endocrinology. 1995;136(1):5-12.

Bizrah M, Yusuf A, Ahmad S. An update on chemical eye burns. Royal Col Ophthalmol. 2019;33(9):1362-77.

Bonaventura P, Lamboux A, Albarède F, Miossec P. Differential effects of TNF- α and IL-1 β on the control of metal metabolism and cadmium-induced cell death in chronic inflammation. Plos One. 2018;13(5):17-20.

Boots AW, Haenen GR, Bast A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. Eur J Pharmacol. 2008;585(2-3):325-37.

Bouktaib M, Atmani A, Rolando C. Regio-and stereoselective synthesis of the major metabolite of quercetin, quercetin-3-o- β -d-glucuronide. Tetrahedron Lett. 2002;43(35):6263-66.

Brady RT, Madden PW. The use of animal models to assess engineered corneal tissue. Ahearne M. editor. Corneal Regeneration: Methods and Protocols. Humana, New York: Springer; 2020. p. 215-30.

- Brayton CF. Dimethyl sulfoxide (DMSO): A review. *Cornell Vet.* 1986;76(1):61-90.
- Brodie J, Davis B, Turner L, Nizari S, Cordeiro MF. Eyedrop formulation and evaluation of quercetin - a component of Ginkgo biloba. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;(56):4156.
- Brodrick EA, Roberts NW, Sumner-Rooney L, Schlepütz CM, How MJ. Light adaptation mechanisms in the eye of the fiddler crab *Afruca tangeri*. *J Comp Neurol.* 2021;529.3:616-34.
- Brooks DE, Ollivier FJ. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. *Vet Clin North Small Anim Pract.* 2004;34:611-22.
- Buchweitz M, Kroon PA, Rich GT, Wilde PJ. Quercetin solubilisation in bile salts: A comparison with sodium dodecyl sulphate. *Food Chem.* 2016;211:356-64.
- Canalis E. Growth factors and their potential clinical value. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75 (1):1-4.
- Ceylan C, Koç Y, Karaman M. Köpeklerde deneysel oluşturulan değişik tip intestinal strangülasyon obstrüksiyonlarında dimetilsülfoksitin (DMSO) koruyucu etkisinin klinik, laboratuvar ve histopatolojik olarak araştırılması. VIII. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi: 3-6 Temmuz 2002; Van, Türkiye.
- Chae JJ, Shin YJ, Lee JD, Seo K, Elisseeff JH. Nictitating membrane fixation improves stability of the contact lens on the animal corneal surface. *Plos One.* 2018;13(3):25-28.
- Charalambidou G, Kofidou E, Papaioannou N, Karampatakis V, Komnenou A. The effect of intrastromal PRP and oral doxycycline in corneal wound healing after alkali burn. *J Hel Vet Med Soc.* 2019;69(4):1213–26.
- Cheng S, Gao N, Zhang Z, Chen G, Budhreja A, Ke Z, ve ark. Quercetin induces tumor-selective apoptosis through downregulation of Mcl-1 and activation of Bax. *Clin Cancer Res.* 2010;16(23):5679-91.
- Chittasupho C, Manthaisong A, Okonogi S, Tadtong S, Samee W. Effects of quercetin and curcumin combination on antibacterial, antioxidant, in vitro wound healing and migration of human dermal fibroblast cells. *Int J Mol Sci.* 2021;23(1):142.
- Cho J. Eye. Gregory RL, editors. John Wiley & Sons, Inc: 2021; Chapter 27, Point-of-care ultrasound techniques for the small animal practitioner; p. 551-78.
- Cook CS, Peiffer RL, Landis ML. Clinical basic science. Peiffer B, Peterson-Jones S, editors. Small animal ophthalmology: A problem-oriented approach. 4th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2009.
- Corbett M, Maycock N, Rosen E, O'Brart D, Corbett M, Maycock N, ve ark. Corneal topography: Principles and applications. 2nd ed. Berlin, Germany: Springer; 2019. Assessment of corneal shape; p. 3-15.

Crispin S. The cornea. Crispin S, Petersen-Jones S, editors. BSAVA manual of small animal ophthalmology. 2nd ed. Gloucester, England: British Small Animal Veterinary Association; 2002.

Cross M, Dexter TM. Growth factors in development, transformation and tumorigenesis. *Cell*. 1991;64:271–80.

Curatolo A, Birkenfeld JS, Martinez-Enriquez E, Germann JA, Muralidharan G, Palací J, ve ark. Multi-meridian corneal imaging of air-puff induced deformation for improved detection of biomechanical abnormalities. *Biomed Opt Express*. 2020;11(11):6337-55.

Dayan YB, Kaveri SV, Kazatchkine MD, Shoenfeld Y. Is cancer an autoimmune process dependent on anti-apoptotic autoantibodies. *Med Hypotheses*. 2000;55 (2):103–08.

De Azevedo Magalhães O, Gonçalves MC, Gatinel D. The role of environment in the pathogenesis of keratoconus. *Curr Opin Ophthalmol*. 2021;32(4):379-84.

Deepika A, Nagaraj P, Kumar AV, Rani UM. Clinico-ophthalmic findings of corneal ulcers in dogs. *Int J Vet Sci Animal Husbandary*. 2023;8(5):220-24.

Deepika PK, Maurya PK. Health benefits of quercetin in age-related diseases. *Molecules*. 2002;27(8):2498.

Di Petrillo A, Orrù G, Fais A, Fantini MC. Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: A comprehensive review. *Phytother Res*. 2022;36(1):266-78.

Dinelli G, Bonetti A, Minelli M, Marotti I, Catizone P, Mazzanti A. Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus Vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chem*. 2006;99(1):105-14.

Drzyzga Ł, Śpiewak D, Dorecka M, Wyględowska-Promieńska D. Available therapeutic options for corneal neovascularization: A review. *Int J Mol Sci*. 2024;25(10):5479. DOI:10.3390/ijms25105479.

Duan WR, Garner DS, Williams SD, Funckes-Shippy CL, Spath IS, Blomme EA. Comparison of immunohistochemistry for activated caspase-3 and cleaved cytokeratin 18 with the TUNEL method for quantification of apoptosis in histological sections of PC-3 subcutaneous xenografts. *J Pathol*. 2003;199(2):221-28. DOI:10.1002/path.1289.

Dubielzig RR, Ketrang K, McLellan GJ, Albert DM. Veterinary ocular pathology a comparative review. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2010. Chapter 8, Disease of the cornea and sclera; p. 201-43.

Dursun A, Arici MK, Dursun F, Ozec AV, Toker MI, Erdogan H, ve ark. Comparison of the effects of bevacizumab and ranibizumab injection on corneal angiogenesis in an alkali burn induced model. *Int J Ophthalmol*. 2012;5(4):448-51. DOI:10.3980/j.issn.2222-3959.2012.04.08.

- Elmalı A, Koc I, Ciftci SY, Nemutlu E, Surucu S, Kiratli H, ve ark. Radiotherapy-induced alterations in vitreous humor: A new potential critical structure. *Exp Eye Res.* 2021;212.108802.
- Erdoğan BB. Apoptozis mekanizmaları: Tümör gelişiminde fas-faslı bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi.* 2003;4:165-74.
- Ergen SK, Subasi S, Rencber SF, Duruksu G, Yazir Y. Evaluation of clinical and histological effects of KGF-2 and NGF on corneal wound healing in an experimental alkali burn rabbit model. *Exp Eye Res.* 2022;223.109190. DOI:10.1016/j.exer.2022.109190.
- Erkan Z. Kliniğimize Getirilen Kedi ve Köpeklerde Karşılaşılan Kornea Hastalıklarının Tanı ve Sağaltımı Üzerine Çalışmalar [Yüksek Lisans Tezi]. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2019.
- Erlund I. Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutr Res.* 2004;24(10):851-74.
- Eslani M, Baradaran-Rafii A, Movahedan A, Djalilian AR. The ocular surface chemical burns. *J Ophthalmol.* 2014;1(9):84
- Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. *Exp Eye Res.* 2020;198.108137.
- Estil S, Kravik K, Haaskjold E, Refsum SB, Bjerknes R, Wilson G. Pilot study on the time course of apoptosis in the regenerating corneal epithelium. *Acta Ophthalmol Scand.* 2002;80:517-23.
- Eurell JA, Frappier BL. Dellmann's textbook of veterinary histology. 6th ed. New Jersey: Blackwell Publishing; 2013.
- Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine storm. *N Engl J Med.* 2020;383(23):2255-73.
- Farjo AA, McDermott ML, Soong HK. Corneal anatomy, physiology, and wound healing. *Ophthalmology.* 2009;44(2):203-08.
- Featherstone HJ, Heinrich CL. The eye examination and diagnostic procedures. Gelatt KN, editor. *Veterinary Ophthalmology.* Inc USA: John Wiley & Sons; 2021.
- Ferlemi AV, Makri OE, Mermigki PG, Lamari FN, Georgakopoulos CD. Quercetin glycosides and chlorogenic acid in highbush blueberry leaf decoction prevent cataractogenesis in vivo and in vitro: Investigation of the effect on calpains, antioxidant and metal chelating properties. *Exp Eye Res.* 2016;145:258-68.
- Fernald RD. Evolution of eyes. *Curr Opin Neurobiol.* 2000;10(4):444-50.
- Fernald RD. The evolution of eyes brain, behavior and evolution. *Karger.* 1997;50(4): p. 253-59.

- Ferrara 3N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;161(2):851-58.
- Fish R, Davidson RS. Management of ocular thermal and chemical injuries, including amniotic membrane therapy. *Curr Opin Ophthalmol.* 2010;21(4):317-21.
- Fisher DA, Lakshmanan J. Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals. *Endocrinol Rev.* 1990;11(3):418-22.
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med.* 1995;1(1):27-31.
- Franz-Odenaal TA. Skeletons of the eye: An evolutionary and developmental perspective. *Anat Rec (Hoboken).* 2020;303(1):100-09.
- Fu J, Huang JJ, Li Z, Xie TT, You TH. Effect of quercetin on healing of diabetic wound healing and its related mechanisms. *J of Guangdong Pharmac Univer.* 2019;35(3):395-401.
- Fu J, Huang JJ, Lin M, Xie TT, You TH. Quercetin promotes diabetic wound healing via switching macrophages from m1 to m2 polarization. *J Surg Res.* 2020;246:213-23. DOI:10.1016/j.jss.2019.09.011.
- Gelatt KN, Brooks DE. Surgery of the cornea and sclera. Gelatt KN, Gelatt JP, editors. *Veterinary ophthalmic surgery.* Gainesville, USA: Saunders Elsevier; 2011.
- Gholami M, Khayat ZK, Anbari K, Obidavi Z, Varzi A, Boroujeni MB, ve ark. Quercetin ameliorates peripheral nerve ischemia–reperfusion injury through the NF-kappa B pathway. *Anat Sci Int.* 2017;92(3):330-37.
- Gironi B, Kahveci Z, McGill B, Lechner BD, Pagliara S, Metz J ve ark. Effect of DMSO on the mechanical and structural properties of model and biological membranes. *Biophys J.* 2020;119(2):274-86.
- Gopalakrishnan A, Ram M, Kumawat S, Tandan ST, Kumar D. Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by increasing levels of VEGF and TGF- β 1. *Indian J Exp Biol.* 2016;54:187-95.
- Gope R. The effect of epidermal growth factor and platelet derived growth factor on wound healing process. *Indian J. Med. Res.* 2002;116:201-06.
- Göktaş S, Erdogan E, Sakarya R, Sakarya Y, Yılmaz M, Ozcimen M, ve ark. Inhibition of corneal neovascularization by topical and subconjunctival tigecycline. *J Ophthalmol.* 2014;(1):5-8.452685. DOI:10.1155/2014/452685.
- Gönenci R, Altuğ ME, Koç A, Yalçın A. Effect of amniotic fluid on acute corneal alkali burns in the rat. *JAVA.* 2009;8:817-23.
- Greene CA, Misra SL, Lee H, McKelvie J, Kapadia K, McFarlane R, ve ark. The sheep cornea: Structural and clinical characteristics. *Curr Eye Res.* 2018;43(12):1432-38.

- Hamid HH, Taha AM. Anatomical and histological structure of the cornea in Sparrow hawk *Accipiter nisus*. *Iraqi J Vet Sci*. 2021;35(3):437-42.
- Han Y, Shao Y, Lin Z, Qu YL, Wang H, Zhou Y, ve ark. Netrin-1 simultaneously suppresses corneal inflammation and neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(3):1285-95. DOI:10.1167/iovs.11-8722.
- Hassaan MK. The Animal eye anatomy and development. *Acta Scientific Vet Sci*. 2022;4(1):11-17.
- Haziroğlu RM, Çakır A, Yıldız B, Yıldız H, Oto Ç, Orhan İÖ, ve ark. Temel veteriner anatomi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi Yayınevi; 2019.
- Ho TY, Lo HY, Liu IC, Lin KA, Liao YF, Lo YC, ve ark. The protective effect of quercetin on retinal inflammation in mice: The involvement of tumor necrosis factor/nuclear factor- κ B signaling pathways. *Food & Function*. 2020;11(9): 8150-60.
- Holz PH. Anatomy and physiology of the reptile renal system. *Veterinary Clinics: Exot Anim Pract*. 2020;23(1):103-14.
- Huang Y, Xia X, Li M, Li D, Xie S, Li J, ve ark. Quercetin inhibits hypertonicity-induced inflammatory injury in human corneal epithelial cells via the PTEN/PI3K/AKT pathway. *Tissue and Cell*. 2024;89:102465.
- Huppertz B, Frank HG, Kaufmann P. The apoptosis cascade; morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anat. Embryol*. 1999;200:1-18.
- Igura K, Ohta T, Kuroda Y, Kaji K. Resveratrol and quercetin inhibit angiogenesis in vitro. *Cancer Lett*. 2001;171(1):6-11. DOI:10.1016/s0304-3835(01)00443-8.
- Ionaşcu I, Argăseală A, Uzun S, Gîrdan G, Gîrloanță A, Calentaru V. A new eye drop formulation used in the management of corneal ulcers in dogs and cats. *AgroLife Scientif J*. 2020;9(1):164-71.
- Jacob SW, Herschler AI. Pharmacology of DMSO. *Cryobiology*. 1986;23(1):14-27.
- Javadinia SS, Abbaszadeh-Goudarzi K, Mahdian D, Hosseini A, Ghaleynovi M, Javan R. A review of the protective effects of quercetin-rich natural compounds for treating ischemia-reperfusion injury. *Biotechnic & Histochemistry*. 2022;97(4):237-46.
- Joyce NC, Zieske JD. Transforming growth factor- β receptor expression in human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38:1922–28.
- Kanclerz P, Khoramnia R, Wang X. Current developments in corneal topography and tomography. *Diagnostics*. 2021;11(8):1466.
- Kaneda K, Kashii S, Kurosawa T, Kaneko S, Akaike A, Honda Y, ve ark. Apoptotic DNA fragmentation and upregulation of Bax induced by transient ischemia of the rat retina. *Brain Res*. 1999;815:11-20.

- Kant V, Jangir BL, Kumar V, Nigam A, Sharma V. Quercetin accelerated cutaneous wound healing in rats by modulation of different cytokines and growth factors. *Growth Factors*. 2020;38(2):105-19. DOI:10.1080/08977194.2020.1822830.
- Kaufman HE, Barron BA, McDonald MB. *The cornea*. 2nd ed. Boston: Butterworth-Heinemann; 1998.
- Kelly GS. Quercetin. *Alternative Medicine Review*. 2011;16(2):172-95.
- Khanal L. Development of eye [Internet]. 2024 [Erişim Tarihi 10 Eylöl 2024]. Erişim adresi: <https://www.slideshare.net/NamXal1/development-of-eye-73959989#1>.
- Kim T, Pak JH, Tchah H, Lee SA, Kook MS. Ceramide-induced apoptosis in rabbit corneal fibroblasts. *Cornea*. 2005;24(1):72-79.
- Ko BY, Kim YS, Baek SG. Inhibition of corneal neovascularization by subconjunctival and topical bevacizumab and sunitinib in a rabbit model. *Cornea*. 2013;32(5):689-95.
- Koplin RS, Wu EI, Ritterband DC, Seedor JA. *The Scrub's Bible*. 2nd ed. New York: Springer Science & Business Media; 2013.
- Krummel TM, Michna BA, Thomas BL, Sporn MB, Nelson JM, Salzberg AM, ve ark. Transforming growth factor beta (TGF- β) induces fibrosis in a fetal wound model. *J. Pediatr. Surg*. 1988;23(7):647-52.
- Kuckelkorn R, Schrage N, Keller G, Redbrake C. Emergency treatment of chemical and thermal eye burns. *Acta Ophthalmol Scand*. 2002;80(1):4-10.
- Kul Keser AE. *Kliniğimize Getirilen Kedi ve Köpeklerde Karşılaşılan Göz Hastalıklarının Tanısında Ultrasonografinin Etkinliğinin Araştırılması [Yüksek Lisans Tezi]*. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2021.
- Lagali N. Corneal stromal regeneration: current status and future therapeutic potential. *Curr Eye Res*. 2020;45(3):278-90.
- Lawrence WT, Diagemann RF. Growth factor on wound healing. *Clin Dermatol*. 1994;12:157-69.
- Lennon SV, Martin SJ, Cotter TC. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli. *Cell Prolif*. 1991;24(2):203-14.
- Levinger E, Sorkin N, Sella, S, Trivizki O, Lapira M, Keren S. Posterior corneal surface changes after pterygium excision surgery. *Cornea*. 2020;39(7):823-26.
- Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, ve ark. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients*. 2016;8(3):167. DOI:10.3390/nu8030167.
- Liao YR, Lin JY. Quercetin modulates cytokine expression and inhibits tlr2 expression and stat3 activation in mouse activated inflammatory macrophages. *J Explor Res Pharmacol*. 2020;5(3):31–41.

- Liu YC, Wilkins M, Kim T, Malyugin B, Mehta JS. Cataracts. *The Lancet*. 2017;390(10094): 600-12.
- Maggs DJ. Cornea and sclera. DJ Maggs, PE Miller, R Ofri, editors. *Fundamentals of veterinary ophthalmology*. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2008.
- Malkoç İ. Göz küresinin tabakaları anatomik ve histolojik bir derleme. *Eurasian J Med*. 2006;38,124-29.
- Markoulli M, Hui A. Emerging targets of inflammation and tear secretion in dry eye disease. *Drug Discov Today Technol*. 2019;24(8):1427-32.
- Martínez-Chacón G, Vela FJ, Campos JL, Abellán E, Yakhine-Diop SM, Ballestín A. Autophagy modulation in animal models of corneal diseases: A systematic review. *Mol Cell Biochem*. 2020;474:41-55.
- Masterton S, Ahearne M. Mechanobiology of the corneal epithelium. *Exp Eye Res*. 2018;(177):122-29.
- McCracken TO, Kainer RA. *Color atlas of small animal anatomy*. Iowa, USA: WileyBlackwell; 2008.
- McKay TB, Karamichos D. Quercetin and the ocular surface: What we know and where we are going. *Exp Biol Med*. 2017;242(6):565-72. DOI:10.1177/1535370216685187.
- McKay TB, Sarker-Nag A, Lyon D, Asara JM, Karamichos D. Quercetin modulates keratoconus metabolism in vitro. *Cell Biochem Funct*. 2015;33(5):341-50.
- Medeiros CS, Marino GK, Santhiago MR, Wilson SE. The corneal basement membranes and stromal fibrosis. *Inv Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59(10):4044-53. DOI:10.1167/iovs.18-24428.
- Meek KM. Corneal collagen-its role in maintaining corneal shape and transparency. *Biophys Rev*. 2009;1(2):83-93. DOI:10.1007/s12551-009-0011-x.
- Meekins JM. *Ophthalmology of castorimorpha: Beavers, gophers, and relatives*. Switzerland: Springer International Publishing; 2022. Chapter 2, In wild and exotic animal ophthalmology; p. 445-47.
- Meshida K, Lin S, Domning DP, Reidenberg JS, Wang, PC, Gilland E. The unique rectus extraocular muscles of cetaceans: Homologies and possible functions. *J Anatomy*. 2022;240(6):1075-94.
- Metzler AG. Evaluation and treatment of canine corneal disease. *Indiana Vet Med Assoc Conf*. 2015.
- Micek J, Jurikova T, Skrovankova S, Sochor J. Quercetin and its anti-allergic immune response. *Molecules*. 2016;21(5):623.
- Michaelson IC. The mode of development of the vascular system of the retina with some observations on its significance for certain retinal disorders. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1948;68:137-80.

- Mirkovitch V, Winistörfer B. Effect of dimethyl sulfoxide on the function and structure of the intact and ischemic canine ileum. *Res Exp Med*. 1987;187(4):295-302.
- Miyazone K, Oloffson A, Colosetti P, Helding CH. A role of the latent TGF- β 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF- β 1. *EMBO J*. 1991;10:1091–110.
- Mohammadi SF, Khorrami-Nejad M, Hamidirad M. Posterior corneal astigmatism: A review article. *Clin Exp Optom*. 2019;85-96.
- Mohan RR, Liang QL, Kim WJ, Helena MC, Baerveldt F, Wilson SE. Apoptosis in the cornea: Further characterization of fas/fas ligand system. *Exp Eye Res*. 1997;65:575-89.
- Moore PA. Cornea and sclera. *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. 2019;(2):315-410.
- Murphy PJ, Patel S, Marshall J. A new non-contact corneal aesthesiometer (NCCA) *Ophthal. Physiol. Opt*. 1996;16:101–07.
- Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res Ther*. 2002;4(3):233.
- Nasissse MP, Wilkie DA, Whittaker C. Surgery of the cornea. Nasissse MP, editor. *The veterinary clinics of North of America small animal practice: surgical management of ocular disease*. Philadelphia: WB Saunders Co; 1997.
- Neuhouser ML. Flavonoids and cancer prevention: What is the evidence in humans? *Pharmac Biology*. 2004;42(1):36-45.
- Ogata FT, Verma S, Coulson-Thomas VJ, Gesteira TF. TGF- β -Based therapies for treating ocular surface disorders. *Cells*. 2024;13(13):1105. DOI:10.3390/cells13131105.
- Oh HN, Kim CE, Lee JH, Yang JW. Effects of quercetin in a mouse model of experimental dry eye. *Cornea*. 2015;34(9):1130-36.
- Okada Y, Ikeda K, Yamanaka O, Miyamoto T, Kitano A, Kao WW, et al. TNF alpha suppression of corneal epithelium migration. *Mol Vis*. 2007;13:1428-35.
- Okumura N, Koizumi N. Regeneration of the corneal endothelium. *Curr Eye Res*. 2020;45(3):303-12.
- Olashav NE, O’Keefe Ej, Pledger WJ. Platelet-derived growth factor modulates epidermal growth factor receptors by a mechanism distinct from that of phorbol esters. *Proc Natl Acad Sci. USA*. 1986;83:3834–38.
- Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest*. 2000;117(4):1162-72.
- Özdemir O, Altintas O, Altintas L, Ozkan B, Akdag C, Yüksel N. Comparison of the effects of subconjunctival and topical anti-VEGF therapy (bevacizumab) on experimental corneal neovascularization. *Arq Bras Oftalmol*. 2014;77(4):209-13. DOI:10.5935/0004-2749.20140054.

- Paschalis EI, Zhou C, Lei F, Scott N, Kapoulea V, Robert MC, ve ark. Mechanisms of retinal damage after ocular alkali burns. *Am. J. Pathol.* 2017;187(6):1327-42. DOI:10.1016/j.ajpath.2017.02.005.
- Patel KP, Parikh PV, Mahla JK, Ashwath SN, Kelawala DN. Incidence of corneal ulcer in dogs – a retrospective study. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2020;9(08):3174-79.
- Patil KK, Meshram RJ, Barage SH, Gacche RN. Dietary flavonoids inhibit the glycation of lens proteins: Implications in the management of diabetic cataract. *3 Biotech*: 2019;9:1-15.
- Podskochy A, Gan L, Fagerholm P. Apoptosis in UV-exposed rabbit corneas. *Cornea.* 2000;19(1):99-103. DOI:10.1097/00003226-200001000-00019.
- Porter AG, Jänicke RU. Emerging roles of Caspase-3 in apoptosis. *Cell Death & Differentiation.* 1999;6(2):99-104.
- Pradeep T, Mehra D, Le PH. Histology eye. *Europe PMC.* 2019;112(1):1-3.
- Pratheeshkumar P, Budhraja A, Son YO, Wang X, Zhang Z, Ding S, ve ark. Quercetin inhibits angiogenesis mediated human prostate tumor growth by targeting VEGFR- 2 regulated AKT/mTOR/P70S6K signaling pathways. *PLoS One.* 2012;7(10):e47516.
- Pratumjorn N, Pumipuntu N, Kusolsongkhrookul R, Lorsirigool A. The use of soft contact bandage lenses for corneal ulcer in dogs and cats: A review. *World Vet. J.* 2022;12(2):128-32.
- Price DA, Kelley M, Price JrW, Price MO. Five-year graft survival of descemet membrane endothelial keratoplasty (EK) versus descemet stripping EK and the effect of donor sex matching. *Ophthalmology.* 2021;125(10):1508-14.
- Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia.* 2011;82(4):513-23.
- Rahmoun DE, Lieshchova MO, Lieshchova MA, Lieshchova M, Lieshchova M, Lieshchova M, ve ark. Anatomical and histological characteristics of the dromedary eye (*Camelus Dromedarius*). *Theoretical and Appl Vet Med.* 2020;8(2).
- Raygude KS, Kandhare AD, Ghosh P, Ghule AE, Bodhankar SL. Evaluation of ameliorative effect of quercetin in experimental model of alcoholic neuropathy in rats. *Inflammopharmacology.* 2012;20(6):331-41.
- Ren H, Wilson G. Apoptosis in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37:1017-25.
- Reyes-Farias M, Carrasco-Pozo C. The anti-cancer effect of quercetin: Molecular implications in cancer metabolism. *Int J Mol Sci.* 2019;20(13):3177. DOI:10.3390/ijms20133177.

- Riau AK, Look Z, Yam GHF, Boote C, Ma Q, Han EJY, ve ark. Impact of keratocyte differentiation on corneal opacity resolution and visual function recovery in male rats. *Nat Commun.* 2024;15(1):4959. DOI:10.1038/s41467-024-49008-3.
- Ribeiro D, Freitas M, Lima JL, Fernandes E. Proinflammatory pathways: The modulation by flavonoids. *Med Res Rev.* 2015;35(5):877-936. DOI:10.1002/med.21347.
- Richardson S, Deykin AR. Surgical treatment of conjunctival hemangioma and hemangiosarcoma: A retrospective study of 52 dogs. *Vet Ophthalmol.* 2021;24(5):432-41.
- Ross MH, Pawlina W. *Histology a text and atlas with correlated cell and molecular biology.* 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
- Rouen PA, White ML. Dry eye disease: Prevalence, assessment, and management. *Home Healthcare Now.* 2018;36(2):74-83.
- Saikia P, Medeiros CS, Thangavadivel S, Wilson SE. Basement membranes in the cornea and other organs that commonly develop fibrosis. *Cell Tissue Res.* 2018;374(3):439-53. DOI: 10.1007/s00441-018-2934-7.
- Sall K, Foulks GN, Pucker AD, Ice KL, Zink RC, Magrath G. Validation of a modified national eye institute grading scale for corneal fluorescein staining. *Clin. Ophthalmol.* 2023;17:757-67. DOI:10.2147/OPTH.S398843.
- Salzman M, O'Malley RN. Updates on the evaluation and management of caustic exposures. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2007;25(2):76-86.
- Sanmartín-Suárez C, Soto-Otero R, Sánchez-Sellero I, Méndez-Álvarez E. Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective antioxidants. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2011;63(2):209-15.
- Savalli C, Resende B, Gaunet F. Eye contact is crucial for referential communication in pet dogs. *PLoS One.* 2016;11(9):15.e0162161. DOI:10.1371/journal.pone.0162161.
- Semis HS, Gur C, Ileriturk M, Kandemir FM, Kaynar O. Evaluation of therapeutic effects of quercetin against achilles tendinopathy in rats via oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and metalloproteinases. *Am J Sports Med.* 2022;50(2):486-98. DOI:10.1177/03635465211059821.
- Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science.* 1983;219:983-85.
- Sha Y, Chen X, Niu B, Chen Q. The interaction mode of groove binding between quercetin and calf thymus DNA based on spectrometry and simulation. *Chemistry & Biodiversity.* 2017;14(10):25.e1700133.
- Sharif R, Bak-Nielsen S, Hjortdal J, Karamichos D. Pathogenesis of keratoconus: The intriguing therapeutic potential of prolactin-inducible protein. *Prog Retin Eye Res.* 2018;67:150-67.

Sharma N, Kaur M, Agarwal T, Sangwan VS, Vajpayee RB. Treatment of acute ocular chemical burns. *Surv. Ophthalmol.* 2018;63(2):214-35. DOI:10.1016/j.survophthal.2017.09.005.

Shi Y, Williamson G. Comparison of the urinary excretion of quercetin glycosides from red onion and aglycone from dietary supplements in healthy subjects: A Randomized, single-blinded, cross-over study. *Food & Function.* 2015;6(5):1443-48.

Shimizu S, Simon RP, Graham SH. Dimethyl sulfoxide (DMSO) treatment reduces infarction volume after permanent focal cerebral ischemia in rats. *Neurosci Lett.* 1997;239: 125-27.

Sin BY, Kim HY. Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Arch Pharm Res.* 2005;28(10):1152-55.

Singh P, Tyagi M, Kumar Y, Gupta KK, Sharma PD. Ocular chemical injuries and their management. *Oman J Ophthalmol.* 2013;6(2):83-6.

Singhal D, Sahay P, Goel S, Asif MI, Maharana PK, Sharma N. Descemet membrane detachment. *Surv Ophthalmol.* 2020;65(3):279-93.

Sivak JG, Sivak JM. Conserved characteristics of ocular refractive development—did the eye evolve once. *Exp Eye Res.* 2019;183: p. 84-7.

Slatter D. Basic diagnostic techniques. *Fundamentals of veterinary ophthalmology.* 2nd ed. WB Saunders, Philadelphia. 1990;84:123.

Slatter D. Cornea and sclera. D Slatter, editor. *Fundamentals of veterinary ophthalmology.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2001.

Spencer E. Animal anatomy and physiology. *Mosby's comprehensive review for veterinary technicians.* 5th ed. Ontario, Canada: Elsevier; 2019.

Spiess BM. Ophthalmic disease in veterinary medicine. 2nd ed. London: CRC Pres; 2018.

Sprugel KH, Mc Pherson JM, Clowes AW. Effect of growth factors in vivo. *Am J Pathol.* 1987;129:601–13.

Steenfos HH. Growth factors and wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1994;28(2):95-105.

Steiner JL, Lang CH. Etiology of alcoholic cardiomyopathy: Mitochondria, oxidative stress and apoptosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2017;89:125-35.

Stjernschantz J, Astin M. Anatomy and physiology of the eye. *Physiological aspects of ocular drug therapy in biopharmaceutics of ocular drug delivery.* CRC Press. 2019;1-25.

Streuli CH, Schmidhauser C, Kobrin M, Bissell MJ, Derynck RJ. Extracellular matrix regulates expression of the TGF-beta 1 gene. *J Cell Biol.* 1993;120(1):253-60. DOI:10.1083/jcb.120.1.253.

Strom AR, Maggs DJ. Corneal opacities in dogs and cats. *Today's Veterinary Practice*. 2015;6(3):105-13.

Suganthi N, Devi KP, Nabavi SF, Braidy N, Nabavi SM. Bioactive effects of quercetin in the central nervous system: Focusing on the mechanisms of actions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;84:892-908.

Sultana B, Anwar F. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*. 2008;108(3):879-84.

Sutjiatmo AB, Edriyani N, Mulyasari TE, Hermanto F, Fahrauk, Sukandar EY, ve ark. Antioxidant and antiaging assays of *ageratum conyzoides* (L.) Ethanolic Extract. *Pharm. Sci. Res*. 2020;7:4. DOI:10.7454/psr.v7i3.1061.

Tandon A, Tovey JC, Sharma A, Gupta R, Mohan RR. Role of transforming growth factor beta in corneal function, biology and pathology. *Curr Mol Med*. 2010;10(6):565-78. DOI:10.2174/1566524011009060565.

Tashrifi Z, Khanaposhtani MM, Larijani B, Mahdavi M. Dimethyl sulfoxide: Yesterday's solvent, today's reagent. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2020;362(1):65-86.

Taskan MM, Yuce BH, Karatas O, Gevrek F. Topical quercetin gel application improved wound healing in Wistar rats. *Annals Med Res*. 2021;26(10):2397-404.

Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the eye of the cytokine storm. *Microbiol Mol Biol*. 2012.

Tuft SJ, Shortt AJ. Surgical rehabilitation following severe ocular burns. *Eye*. 2009;23(10):1966-71.

Turner SM. Saunders solutions in veterinary practice. Nind F, editor. Small animal ophthalmology. UK: Elsevier Health Sciences; 2008.

Ulusoy HG, Sanlier NA. Minireview of quercetin: From its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(19):3290-303.

Umare V, Pradhan V, Nadkar M, Rajadhyaksha A, Patwardhan M, Ghosh KK, ve ark. Effect of proinflammatory cytokines (IL-6, TNF- α and IL-1 β) on clinical manifestations in Indian SLE patients. *Mediators of Inflammation*. 2014.

Unsal V, Toroğlu S, Kurutaş EB, Taner SŞ, Atalay F, Bahar G. Dereotu, Semizotu ve Roka'da antioksidan ve antimikrobiyal aktivitenin araştırılması. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*. 2015;3(2):25-32. DOI:10.17100/nevbiltek.210914.

Vereertbrugghen A, Galletti JG. Corneal nerves and their role in dry eye pathophysiology. *Exp Eye Res*. 2022;(222):109191.

Villabona-Martinez V, Sampaio LP, Shiju TM, Wilson SE. Standardization of corneal alkali burn methodology in rabbits. *Exp Eye Res*. 2023;230:25.109443. DOI:10.1016/j.exer.2023.109443.

- Wagoner MD. Chemical injuries of the eye: Current concepts in pathophysiology and therapy. *Surv Ophthalmol.* 1997;41(4):275-313.
- Wang J, Dey A, Kramer AH, Miao Y, Liu J, Baker L, ve ark. A novel therapeutic approach to corneal alkaline burn model by targeting fidgetin-like 2, a microtubule regulator. *Transl Vis Sci Technol.* 2021;10(1):17. DOI:10.1167/tvst.10.1.17.
- Wang Y, Li W, Wang M, Lin C, Li G, Zhou X, ve ark. Quercetin reduces neural tissue damage and promotes astrocyte activation after spinal cord injury in rats. *J Cell Biochem.* 2018;119(2):2298-306.
- Whitley RD, Hamor RE. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. Gelatt KN, editor. *Veterinary ophthalmology.* Inc USA: John Wiley & Sons; 2021.
- Wilson CH, Kumar S. Caspases in metabolic disease and their therapeutic potential. *Cell Death & Differentiation.* 2018;25(6):1010-24.
- Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2020;197.108089.
- Wyman M. Comparative anatomy and physiology of the mammalian eye. Habson DW, editor. *Dermal and ocular toxicology: Fundamentals and methods.* London: CRC Press; 2020.
- Yan C, Gao N, Sun H, Yin J, Lee P, Zhou L, ve ark. Targeting imbalance between IL-1 β and IL-1 receptor antagonist ameliorates delayed epithelium wound healing in diabetic mouse corneas. *Am J Pathol.* 2016;186(6):1466-80. DOI:10.1016/j.ajpath.2016.01.019.
- Yaşar Z. Deneysel Kornea Yarası Oluşturulan Tavşanlarda Quercetin ve E-PRP Uygulamalarının Yara İyileşmesine Etkisinin Klinik, Biyokimyasal ve Histopatolojik Olarak Araştırılması. [Doktora tezi]. Afyon: Kocatepe Üniversitesi; 2023.
- Yates KL, Robertson KC, Crowe YC, Billson FM. Ocular findings in dogs and cats following chemical injury by the Bronze Orange Bug (*Musgraveia Sulciventris*). *Vet Ophthalmol.* 2024; DOI:10.1111/vop.13308.
- Yavru N, Samsar E, Akın F. Büyük ve küçükbaş hayvanların bazı travmatik lezyonlarında DMSO (Dimethylsulfoxide) uygulamaları üzerinde klinik çalışmalar. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg.* 1987;3(1):221-32.
- Yew DT, Sha O, Li WWY, Lam TT, Lorke DE. Proliferation and apoptosis in the epithelium of the developing human cornea and conjunctiva. *Life Sci.* 2001;68:2987-3003.
- Yusufhan Y. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) reseptörleri ve fonksiyonları. *Cumhuriyet Üniv Tıp Fakültesi Dergisi.* 2007;29(3):128-36.
- Yücel R. Veteriner özel cerrahi. 2. Baskı. İstanbul: Pethask Veteriner Hekimliği Yayınları; 1998, s. 361-366.

Zhang X, Tang Y, Lu G, Gu J. Pharmacological activity of flavonoid quercetin and its therapeutic potential in testicular injury. *Nutrients*. 2023;15(9):2231. DOI:10.3390/nu15092231.

Zhang Y, Yi B, Ma J, Zhang L, Zhang H. Quercetin promotes neuronal and behavioral recovery by suppressing inflammatory response and apoptosis in a rat model of intracerebral hemorrhage. *Neurochem Res*. 2015;40(1):195-203.

Zhao L, Wang H, Du X. The therapeutic use of quercetin in ophthalmology: Recent applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021;137:28-32.111371.

Zhou HY, Cao Y, Wu J, Zhang WS. Role of corneal collagen fibrils in corneal disorders and related pathological conditions. *Int J Ophthalmol*. 2017;10(5):803-11. DOI:10.18240/ijo.2017.05.24.

Zhu L, Zhang C, Chuck RS. Topical steroid and non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit inflammatory cytokine expression on the ocular surface in the botulinum toxin B-induced murine dry eye model. *Mol Vis*. 2012;18:1803-12.

ÖZGEÇMİŞ



EKLER

EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi



EK 2. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



G19 –TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	Ratlarda Deneysel Oluşturulan Kornea Alkali Yanıklarının Sağaltımında Kuersetin' in Etkilerinin Araştırılması			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
14	2	89	1	110
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih	Benzerlik oranı %	
Turnitin		11 /02 / 2025	% 13	
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayfası hariç, - Gereç ve yöntemler hariç, - Teşekkür hariç, - Kaynakça hariç, - İçindekiler hariç, - Alıntılar hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç, - 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Müslüm EKİN				

Öğrencinin Adı Soyadı	Müslüm EKİN
Anabilim Dalı	Cerrahi Anabilim Dalı
Öğrenci No	o18930001044
Programı	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Abdullah KARASU	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR